

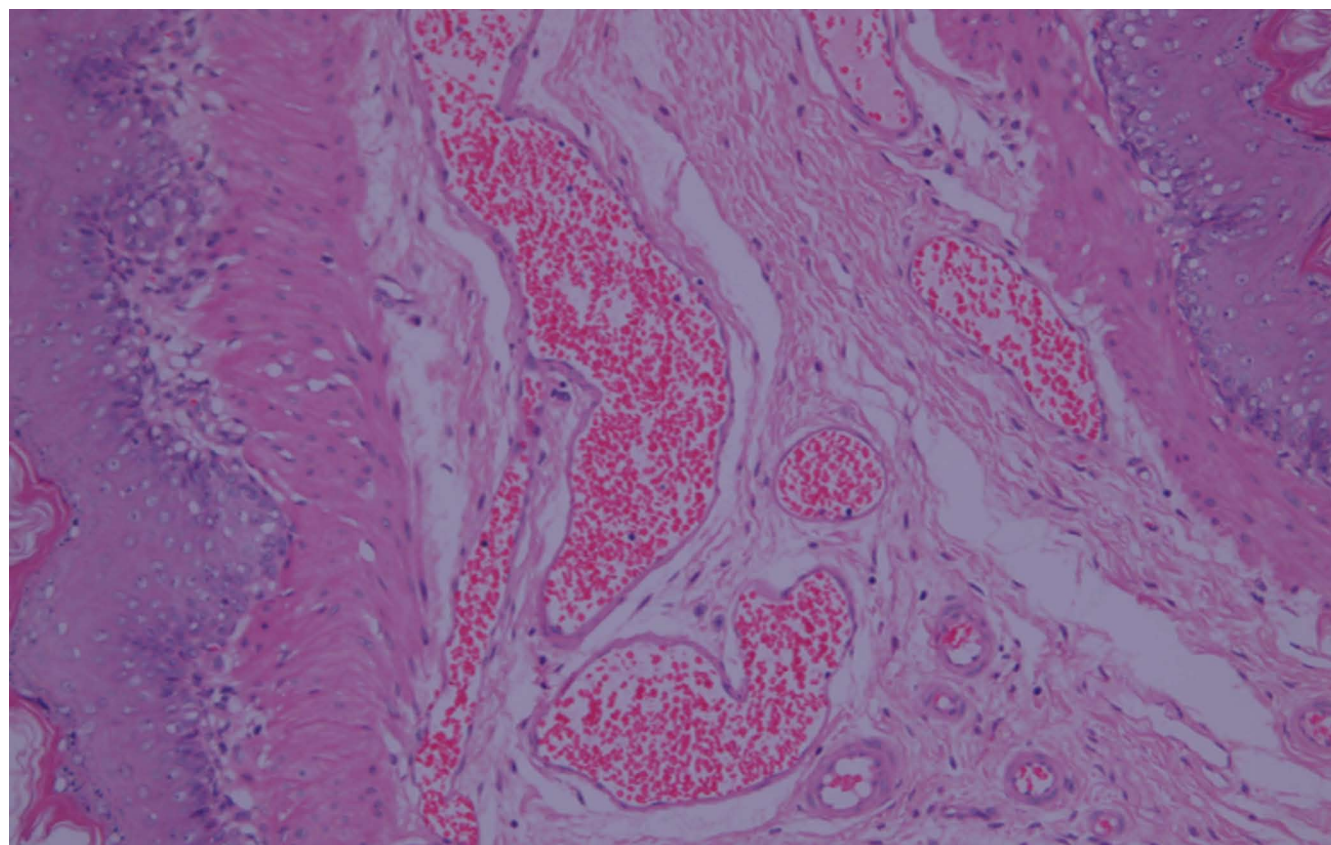
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 1 月 8 日      第 22 卷      第 1 期      (Volume 22 Number 1)**



**1 / 2014**

ISSN 1009-3079



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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授



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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 1 月 8 日 第 22 卷 第 1 期 (总第441期)

述 评	1 HIF-1在肝癌中作用的研究进展 罗东君, 吴俊华
基础研究	9 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1/Smad信号传导通路的影响 黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥 17 过表达FAF1对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响 袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英
临床研究	24 ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与术后辅助化疗预后的关系 王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎
文献综述	31 HER2在胃癌靶向治疗中的作用及意义 毛必静, 张志敏, 陈川, 王东, 王阁 39 促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用 王冬青, 丁西平, 殷实 46 树突状细胞疫苗在胃癌免疫治疗中的研究进展 吴凤丽, 李国华 53 胃癌遗传易感性基因的研究进展 于国伟, 梁会 59 肝细胞性肝癌相关分子信号通路的研究进展 刘强, 刘静 67 特异性核基质结合区结合蛋白1在消化系肿瘤中的研究进展 毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 璐坚
研究快报	74 四氯化碳法制备肝硬化大鼠模型中重要脏器的病理改变 张云巍, 胡亚卓, 徐丽娟, 潘美妍, 阎丽 80 HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系 王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏 86 Sirtinol对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU敏感性的影响 张军港, 石英, 王知非, 洪德飞
临床经验	91 进展期胃癌应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂3周方案新辅助化疗的临床效果 李涛, 梁美霞, 冯道夫, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凇 96 HIF-1 $\alpha$ 表达在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性 周晓刚, 陈宁波, 沈小钢 101 声辐射力脉冲成像对非酒精性脂肪性肝病诊断价值的Meta分析 李曼蓉, 王跃, 宋雯, 陆伦根, 卜平 107 慢性乙型肝炎湿热中阻证的血浆代谢组学 刘友平, 李波, 张光海, 米绍平, 李洪, 魏媚 114 肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系 刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋 119 PIWIL1在肝细胞癌中的表达及临床意义 范正军, 杨飞龙, 孙涛, 程波 125 外周血端粒酶检测对肝细胞癌诊断价值的Meta分析 郑倩, 姜政, 赵亚楠 133 血清及胆汁中NGAL对于区分良恶性胆道狭窄的临床意义 韩美玲, 吕志武 140 胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术 陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义 144 黄术灌肠液对肠易激综合征患者TNF- $\alpha$ 表达的影响 庄李磊, 胡国敏, 黄思付, 黄更新 149 奥沙利铂联合氟尿嘧啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效 姚彪, 徐润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬



	153 清热活血法在痔病术后的用药规律 赵红波, 吴晓晶, 杨云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁
附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	23 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 30 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 38 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》影响因子0.775 52 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 58 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 85 《世界华人消化杂志》外文字符标准 100 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 106 《世界华人消化杂志》栏目设置 124 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥. 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1/Smad信号传导通路的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 9-16 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-01-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## January 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 1

<b>EDITORIAL</b>	1	Roles of HIF-1 in hepatocellular carcinoma <i>Luo DJ, Wu JH</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	9	Valsartan improves portal hypertensive gastropathy in rats possibly via TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway <i>Huang W, Qian JR, Chen YX</i>
	17	Effects of FAF1 overexpression on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma HGC-27 cells <i>Yuan YL, Liu AQ, Feng J, Chen JW, Ge LY</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	24	ERCC1 and TS expression and prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy <i>Wang WM, Deng JL, Gu XC, Tang YH, Zhang GQ, Zhou Y</i>
<b>REVIEW</b>	31	Significance and role of HER2 in targeted therapy of gastric cancer <i>Mao BJ, Zhang ZM, Chen C, Wang D, Wang G</i>
	39	Roles of proinflammatory cytokines in precancerous lesions of gastric cancer <i>Wang DQ, Ding XP, Yin S</i>
	46	Dendritic cell vaccines in gastric cancer immunotherapy <i>Wu FL, Li GH</i>
	53	Gastric cancer susceptibility genes <i>Yu GW, Liang H</i>
	59	Signaling pathways in hepatocellular carcinoma <i>Liu Q, Liu J</i>
	67	Role of special AT rich sequence binding protein 1 in digestive system neoplasms <i>Bi HZ, Wang W, Hu MM, Ju J</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	74	Pathological changes in major organs of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis <i>Zhang YW, Hu YZ, Xu LJ, Pan MY, Yan L</i>
	80	Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein <i>Wang J, He SS, Liu YN, Zhang P, Yao JH</i>
	86	Effects of Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells <i>Zhang JG, Shi Y, Wang ZF, Hong DF</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	91	Efficacy of S-1 and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer <i>Li T, Liang MX, Feng DF, Yuan J, Guo X, Li T, Chen L</i>
	96	Correlation between gastric HIF-1 $\alpha$ expression and gastric cancer recurrence <i>Zhou XG, Chen NB, Shen XG</i>
	101	Diagnostic value of acoustic radiation force impulse imaging for non-alcoholic fatty liver disease: A Meta-analysis <i>Li MR, Wang Y, Song W, Lu LG, Bu P</i>
	107	Metabonomic analysis of plasma samples from chronic hepatitis B patients with damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome <i>Liu YP, Li B, Zhang GH, Mi SP, Li H, Wei M</i>
	114	Relationship between liver ultrasonography and immunohistochemistry indicators in patients with hepatocellular carcinoma <i>Liu YL, Jin Y, Fu XD, Han Q</i>
	119	Clinical significance of expression of PIWIL1 protein in hepatocellular carcinoma <i>Fan ZJ, Yang FL, Sun T, Cheng B</i>
	125	Diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis <i>Zheng Q, Jiang Z, Zhao YN</i>
	133	Serum and bile NGAL for clinically distinguishing malignant biliary strictures from benign biliary strictures <i>Han ML, Lv ZW</i>
	140	Pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas <i>Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Lu WL, Qin RY</i>
	144	Effects of Huangshu enema on serum levels of TNF- $\alpha$ in patients with irritable bowel syndrome <i>Zhuang LL, Hu TM, Huang SF, Huang GX</i>
	149	Oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate for metastatic colorectal cancer <i>Yao B, Xu R, Wei WG, Shang NY, Yang LF</i>



	153 Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery <i>Zhao HB, Wu XJ, Yang Y, Liang TY, Ge ZM, Wu XN</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Huang W, Qian JR, Chen YX. Valsartan improves portal hypertensive gastropathy in rats possibly via TGF-β1/Smad signaling pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 9-16</i> <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** January 8, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

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

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

# HIF-1在肝癌中作用的研究进展

罗东君, 吴俊华

罗东君, 南京医科大学附属鼓楼临床医学院肝胆外科 江苏省南京市 210008

吴俊华, 南京大学医学院 江苏省南京市 210093

罗东君, 在读硕士, 主要从事新型抗肝癌化合物的发现与作用机制的研究。

作者贡献分布: 本文综述由罗东君完成; 吴俊华审校。

通讯作者: 吴俊华, 副教授, 210093, 江苏省南京市鼓楼区汉口路22号, 南京大学医学院. wujunhua@nju.edu.cn  
电话: 025-83593374

收稿日期: 2013-09-17 修回日期: 2013-10-24

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-08

## Roles of HIF-1 in hepatocellular carcinoma

Dong-Jun Luo, Jun-Hua Wu

Dong-Jun Luo, Department of Hepatobiliary Surgery, Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Jun-Hua Wu, School of Medicine, Nanjing University, Nanjing 210093, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jun-Hua Wu, Associate Professor, School of Medicine, Nanjing University, 22 Hankou Road, Gulou District, Nanjing 210093, Jiangsu Province, China. wujunhua@nju.edu.cn

Received: 2013-09-17 Revised: 2013-10-24

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-08

## Abstract

Hypoxia inducible factor-1 (HIF-1) is a key regulator of the cellular response to hypoxia. Since cell growth is out of control in hepatocellular carcinoma (HCC), HIF-1 activity is significantly enhanced in HCC to help cells adapt to the hypoxic microenvironment. HIF-1 plays a critical role in the occurrence and development of HCC through activating the target genes that participate in the regulation of cell proliferation and apoptosis, energy metabolism, angiogenesis, invasion and metastasis, resistance to chemotherapy and radiotherapy. Given the specific expression and regulation of HIF-1 in HCC growth, HIF-1 may become a new target for drug therapy and gene therapy, which provides a new avenue for neoadjuvant therapy of HCC in the future.

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

**Key Words:** Hypoxia inducible factor-1; Hepatocellular carcinoma; Targeted therapy

Luo DJ, Wu JH. Roles of HIF-1 in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 1-8 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.1>

## 摘要

低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)是细胞在低氧环境下调控的关键因子。当肝癌的失控生长导致细胞缺氧时, HIF-1的活性显著增强。为了使肝癌细胞适应低氧微环境, HIF-1通过激活多种与肿瘤生长相关的靶基因, 参与调节了细胞增殖和凋亡、能量代谢、血管生成、侵袭转移以及耐受放疗和化疗等过程, 最终促进了肝癌的发生和发展。由于HIF-1在肝癌细胞中的特异性表达以及介导肿瘤生长的特性, 以HIF-1为新靶点的药物治疗和基因治疗已经成为目前的热门研究。这也为今后研发出肝癌的新辅助治疗技术提供了更广阔的思路。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 低氧诱导因子; 肝癌; 靶向治疗

**核心提示:** 低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)在肝癌细胞的增殖凋亡、血管生成、侵袭转移和放疗化疗耐受性等方面都发挥了重要作用, 因此以HIF-1为新靶点的肝癌辅助治疗得到了人们的广泛关注。

罗东君, 吴俊华. HIF-1在肝癌中作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 1-8 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.1>

## 0 引言

原发性肝癌是最常见的消化系统恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在我国均排名前3位。与其他很多恶性肿瘤一样, 肝癌细胞由于增殖失控, 导致供氧不足, 使细胞处于低氧的微环境中。而低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)

## ■背景资料

低氧诱导因子1(hypoxia inducible factor 1, HIF-1)作为细胞在低氧条件下调控的关键因子, 通过转录激活多种与肿瘤生长相关的靶基因, 参与调节了肿瘤发生发展的多个环节。研究HIF-1与肝癌的关系, 一直是被人们所关注。而HIF-1作为肝癌治疗靶点的可能性使得这方面研究更具临床意义。

## ■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗内科



## ■ 研发前沿

目前,除了进一步探讨HIF-1的调节转录机制外,针对HIF-1的肿瘤靶向治疗一直是研究的重点和热点。而以HIF-1为靶点的药物治疗和基因治疗有望成为肝癌辅助治疗的新策略。

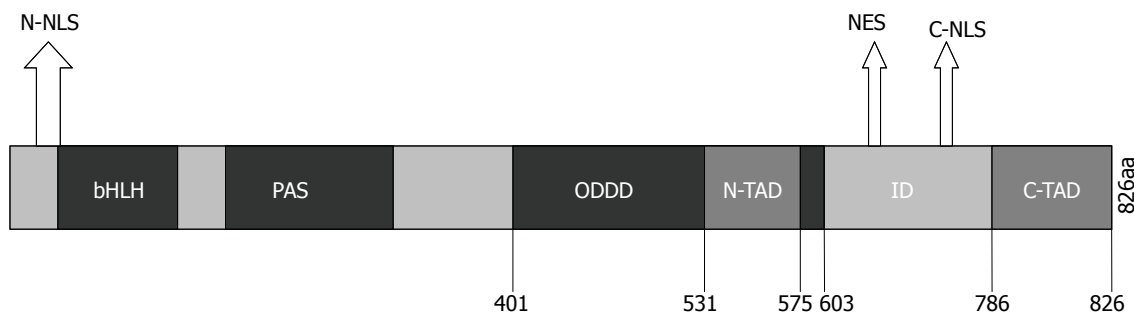


图1 HIF-1 $\alpha$ 的结构分布。NLS: 核定位信号; bHLH: 碱性螺旋-环-螺旋结构域; ODDD: 氧依赖性降解结构域; TAD: 反式激活区; ID: 抑制结构域; NES: 细胞核输出信号。

是低氧条件下最为重要的转录调节因子。目前,针对HIF-1的研究主要集中在两方面: 一方面是HIF-1的转录调节机制; 另一方面是以HIF-1为靶点的肿瘤治疗。而研究HIF-1与肝癌发生发展的关系在肝癌治疗中就具有了重要的意义。已有临床实验发现, 肝癌患者血清中检测出的HIF-1明显高于其他肝病, 而HIF-1的表达对肝癌的诊断和预后都存在价值<sup>[1]</sup>。近几年来, 很多研究显示HIF-1参与了肝癌的细胞增殖、血管生成、侵袭转移等过程, 并且针对HIF-1的肝癌靶向治疗也获得了进展。因此, 本文综述了HIF-1的调节激活过程, 着重探讨了其在肝癌领域的研究进展。

## 1 HIF-1概述

### 1.1 HIF-1的蛋白结构

HIF-1是生物细胞为适应低氧条件而产生的一种关键转录因子, 在生理和病理过程中都发挥着重要作用。HIF-1作为一个异源二聚体, 是由功能型 $\alpha$ 亚基和构成型 $\beta$ 亚基共同组成的, 而其生物效应主要是由HIF-1 $\alpha$ 来完成实现的。HIF-1 $\alpha$ 由826个氨基酸组成, N端具有一个碱性螺旋-环-螺旋结构域(basic-helix-loop-helix domain, bHLH)和一个PAS(Per-ARNT-Sim)结构域, 这两个结构域共同参与了HIF-1 $\alpha$ 和HIF-1 $\beta$ 的异二聚化以及与靶基因上的低氧反应元件(hypoxia response element, HRE)结合。HIF-1的C端包括两个反式激活区(transactivation domain, TAD), 即N-TAD和C-TAD, 研究表明N-TAD在特异性调节HIF-1靶基因上起主要作用<sup>[2]</sup>, 而C-TAD的主要功能是富集p300/CBP<sup>[3]</sup>等多种辅助转录因子。这两个TAD之间的区域称为抑制结构域(inhibitory domain, ID), 在常氧情况下明显抑制HIF-1 $\alpha$ 的蛋白活性。此外, 在结构中还存在氧依赖性降解结构域(oxygen-dependent-degradation domain, ODDD), 主要负责常氧下的蛋白降解。而与介导HIF-1 $\alpha$ 进出细胞核相关

的结构则是两个核定位信号(nuclear localization signal, NLS)及一个细胞核输出信号(nuclear export signal, NES), 其结构分布详如图1。HIF-1 $\beta$ 亚基又称芳香烃受体核转运蛋白(aryl hydrocarbon receptor nuclear translocator, ARNT), 在细胞核内不受氧浓度的影响, 表达稳定。

### 1.2 HIF-1 $\alpha$ 的合成

在常氧条件下, HIF-1 $\alpha$ 蛋白的合成主要受磷脂酰肌醇-3激酶(phosphatidylinositol 3-kinase, PI3K)及促分裂源活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路调节。两条通路分别通过Akt(protein kinase B)mTOR<sup>[4]</sup>(mammalian target of rapamycin)和细胞外信号调节激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)来介导和启动HIF-1 $\alpha$ 的翻译。而在缺氧情况下, 大部分蛋白质的合成会受到明显抑制, 但是HIF-1 $\alpha$  mRNA的翻译仍可以连续进行, 其机制尚不清楚。有研究发现, miRNAs可以调节HIF-1 $\alpha$  mRNA的翻译过程, 这些小的RNA分子通过与靶基因mRNA碱基配对, 来降解mRNA并阻碍其翻译<sup>[5]</sup>。

### 1.3 HIF-1 $\alpha$ 的降解及稳定性

合成后的HIF-1 $\alpha$ 在常氧状态下迅速在细胞质中降解。HIF-1 $\alpha$ 主要是在脯氨酸羟化酶(prolyl hydroxylases domain-containing protein, PHD)的作用下, ODDD区中第402位和第564位的脯氨酸残基发生羟基化, 羟基化的HIF-1 $\alpha$ 与肿瘤抑制蛋白VHL(von Hippel-Lindau tumour suppressor protein, pVHL)结合, 后者募集elonginB、elonginC、cullin-2和RBX1(ring-box 1)形成E3泛素连接酶复合体, 使HIF-1 $\alpha$ 泛素化, 最终被26S蛋白酶体介导降解。在这个降解过程中, PHD是起关键作用的酶。经研究, PHD2在调节HIF-1 $\alpha$ 方面, 比其他3种PHD成员(PHD1、PHD2、P4H-TM)更占优势<sup>[6]</sup>。PHD2具有氧依赖性, 在缺氧条件下不具有活性, 最终导致了HIF-1 $\alpha$ 在细胞质中的稳定聚集。

HIF-1 $\alpha$ 的降解除了受氧依赖性通路的调节外, 其他一些调节因子也影响着HIF-1 $\alpha$ 的稳定性. 乙酰基转移酶可以使HIF-1 $\alpha$  532位的赖氨酸残基乙酰化, 从而加强pVHL与HIF-1 $\alpha$ 的结合能力, 使其最终降解. 此外, 接头蛋白RACK1(receptor for activated protein C kinase 1)和热休克蛋白90(heat shock protein 90, Hsp90)通过竞争结合HIF-1 $\alpha$ 的PAS区域, RACK1增强了HIF-1 $\alpha$ 与E3连接酶的结合从而促进降解的发生, 而Hsp90则阻止其降解, 起到了稳定HIF-1 $\alpha$ 的作用. 总之, HIF-1 $\alpha$ 的稳定性受多方面因素的影响, 目前还有待进一步的研究以完善其调节机制.

**1.4 HIF-1 $\alpha$ 的转录活性及相关靶基因** HIF-1 $\alpha$ 可以通过经典的C-NLS-importin  $\alpha/\beta$ 通路进入细胞核<sup>[7]</sup>, 此外importin 4和7也可以介导HIF-1 $\alpha$ 的细胞核输入<sup>[8]</sup>. 在p42/p44 MAPK的作用下, HIF-1 $\alpha$ 发生磷酸化, 使其在细胞核中积累, 并增强了转录活性. 磷酸化的HIF-1 $\alpha$ 与HIF-1 $\beta$ 异二聚化形成HIF-1, 然后通过其活化结构域N-TAD和C-TAD与p300/CBP等辅助激活因子结合, 最后形成能识别靶基因的转录复合物.

在常氧状态下, 低氧诱导因子-1抑制因子(factor-inhibiting HIF-1 $\alpha$ , FIH-1)可以催化C-TAD上的803位天冬酰胺(Asn803)羟基化, 使HIF-1 $\alpha$ 不能与CBP/p300相互作用, 抑制其转录活性. 然而, FIH-1的催化作用同PHD类似, 也需要氧气和2-酮戊二酸作为底物. 因此, 在缺氧状态下, FIH-1活性明显下降, 进而允许HIF-1 $\alpha$ 与辅助因子的结合, 从而发挥转录活性. Lim等<sup>[9]</sup>研究发现Sirtuin1是一种组蛋白去乙酰酶, 可以抑制HIF-1 $\alpha$ 的乙酰化水平. 缺氧时细胞内NAD<sup>+</sup>的减少导致Sirt1活性降低, 间接升高HIF-1 $\alpha$ 的乙酰化水平, 最终增强HIF-1 $\alpha$ 对靶基因的转录激活.

HIF-1通过与低氧反应元件结合, 激活一百多种下游靶基因的转录表达, 目前大致可以分为5个方面(表1). 这些靶基因除参与缺氧时细胞稳态的维持、胚胎发育和细胞分化外, 他们在肿瘤生长中发挥的作用成为目前研究的重点.

## 2 HIF-1与肝癌的关系

**2.1 HIF-1与肝癌细胞的增殖和凋亡** 肿瘤细胞的快速增殖, 需要消耗大量的能量和氧, 从而导致肿瘤组织处于低氧环境. 在低氧条件下, 肿瘤细胞发生从有氧代谢到无氧代谢的转变. 研究表明, 这种细胞通过无氧糖酵解产生ATP以提供能量的过程, 主要是由HIF-1来调控的<sup>[10,11]</sup>.

HIF-1通过激活相关靶基因, 转录表达出的产物加快肿瘤细胞的糖酵解途径, 大致可分为3个方面: (1)HIF-1激活转录与葡萄糖代谢和糖酵解相关的关键酶类, 如磷酸甘油酸酯激酶1(phosphoglycerate kinase 1, PGK1)、丙酮酸激酶M2(pyruvate kinase M2, PKM2)、己糖激酶2、醛缩酶A等; (2)低氧环境下, HIF-1的高表达会上调其下游靶基因葡萄糖转运蛋白GLUT1和GLUT3, 从而增加肝癌细胞对葡萄糖的摄入量; (3)HIF-1转录表达线粒体相关的酶类, 如丙酮酸脱氢酶激酶1(pyruvate dehydrogenase kinase 1, PDK1)可以抑制丙酮酸转化为乙酰辅酶A, 使线粒体氧化磷酸化的水平降低, 减少对氧气的消耗<sup>[12]</sup>. HIF-1除了能调控肿瘤细胞的糖代谢以外, 还可以上调诸如EPO、胰岛素样生长因子2、转化生长因子 $\alpha$ 、细胞周期素D1等多种生长因子, 使肝癌细胞得以增殖分化, 适应低氧微环境.

HIF-1对肿瘤细胞的凋亡存在双重的作用. 一方面, 凋亡前体蛋白BNIP3可被HIF-1激活表达, 前者作为促凋亡因子, 诱导细胞的凋亡<sup>[13]</sup>. 经研究, p53作为一种抑癌基因, 可以直接与HIF-1的ODDD区相结合, 从而诱导细胞程序性死亡<sup>[14]</sup>. 另一方面, 目前也有很多的报道认为, HIF-1具有抗肝癌细胞凋亡作用. Xu等<sup>[15,16]</sup>研究发现, Omi/HtrA2在参与肝癌细胞凋亡过程中发挥重要作用, 可能成为肝细胞癌的一个预后指标. 而HIF-1通过阻止Omi/HtrA2从线粒体中释放, 抑制了Omi/HtrA2的表达, 达到抗肝癌细胞凋亡的作用. 研究发现, 针对在低氧条件下培养的HepG2肝癌细胞, HIF-1通过影响细胞周期素A、D的表达, 可促进细胞增殖和阻滞细胞周期, 同时HIF-1也通过诱导生存素和Bcl-2的表达, 抑制了细胞凋亡<sup>[17]</sup>. Jeon等<sup>[18]</sup>发现萝卜硫素可以诱导包括肝癌在内的一些肿瘤细胞发生凋亡, 其作用机制是下调了HIF-1的表达, 从而间接说明了HIF-1具有抗肝癌细胞凋亡能力. 总之, HIF-1对于细胞凋亡的影响, 到底是促凋亡还是抗凋亡, 可能与肿瘤类型, 细胞分化水平以及细胞缺氧程度有关, 目前尚不清楚, 还需要做更多的研究来证实.

**2.2 HIF-1与肝癌血管生成** 肿瘤的迅速生长需要通过新生的血管来运输并获取氧气和营养物质, 而新血管的生成是一个复杂的过程<sup>[19]</sup>, 包括细胞外基质的降解, 血管内皮细胞的激活、增殖、迁移, 重建形成新的血管网. 在血管生成的各个阶段中, 最重要的调节因子是血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 其

### ■ 相关报道

HIF-1在恶性肿瘤发病机制中的研究是近几年来研究的热点, 目前有大量文献报道了HIF-1与消化系肿瘤的关系, 特别是肝癌、结直肠癌的研究较多, 而胃癌、胰腺癌的研究相对较少.



### ■创新盘点

本文系统的介绍了HIF-1的蛋白结构,合成及降解过程,转录活性的调节,并且着重探讨了其在肝癌发生发展各个环节中的作用,最后提出了研发靶向HIF-1的肝癌药物治疗和基因治疗具有广阔的前景和临床价值。

表 1 HIF-1的相关靶基因或其产物

相关类型	靶基因或其产物(举例)
血管发生	血管内皮生长因子、一氧化氮合酶-2、血小板衍生生长因子B
红细胞生成	促红细胞生成素、铁传递蛋白、血浆铜蓝蛋白、亚铁氧化酶
糖代谢	糖酵解酶-1、醛缩酶A、葡萄糖载体1和3
细胞增殖、分化	胰岛素样生长因子-2、转化生长因子、成纤维细胞生长因子
细胞凋亡	细胞凋亡蛋白酶-3、p53、BNIP3

特异性地促进了血管内皮细胞分裂、增殖和迁移。在肿瘤低氧条件下,大量累积的HIF-1上调了一系列以VEGF为代表的促血管生成因子的表达,并且增强了VEGF mRNA的稳定性,最终实现其对肿瘤血管生成的调控。Lee等<sup>[20]</sup>用吡啶黄素抑制HIF-1 $\alpha$ 与HIF-1 $\beta$ 的异二聚化结合,发现肿瘤细胞VEGF表达量明显下降,再次证明了HIF-1对VEGF的激活调控作用。Wang等<sup>[21]</sup>通过小鼠模型实验发现,在肝癌发生20 wk后检测出的HIF-1 $\alpha$ 、VEGF蛋白及mRNA水平比20 wk前明显增高,提示了HIF-1和VEGF在肝癌发展中发挥了重要作用。索拉菲尼作为一种多重激酶的抑制剂,在肝癌临床试验上发挥了明显的抗癌能力,其作用机制也被证实与抗肿瘤血管生成密切相关。Liu等<sup>[22]</sup>研究发现,索拉菲尼通过有效抑制HIF-1 $\alpha$ 的表达,从而降低了VEGF蛋白的表达,最终导致了肿瘤血管生成的减少。

除了VEGF外,如血管生成素2(angiopoietin 2)、胎盘生长因子(placental growth factor)、血小板衍生生长因子B(platelet derived growth factor B)和基质衍生因子1(stromal derived factor 1)等许多促血管生成因子也会在低氧条件下,通过HIF信号通路呈现高表达,促进肿瘤新血管的生成<sup>[23]</sup>。Li等<sup>[24]</sup>研究发现血管生成素相关蛋白4是HIF-1的一个目的靶基因产物,其通过血管细胞黏附分子和整合素 $\beta$ 1,在肝癌的血管生成和转移方面都发挥了重要作用。

**2.3 HIF-1与肝癌的侵袭转移** 肝癌细胞发生肝内和肝外转移是肝癌患者预后不佳的主要原因。肿瘤的侵袭转移是一个复杂的过程,首先要经历的就是一个从上皮细胞向间充质细胞的转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT),在EMT过程中,具有极性的上皮细胞转化成为具有移动性的间质细胞,从而获得了可以向远处转移的能力。在低氧状态下,HIF-1对EMT的进程发挥了关键性作用,其主要是通过表达调控一系列的相关基因来实现的<sup>[25]</sup>。钙黏蛋白E作为一种

细胞黏附因子,一旦失活,细胞间的黏附性减弱,移动性增强,从而导致EMT的发生。HIF-1通过上调钙黏蛋白E的转录抑制因子SNAI1和SIPI1,二者抑制钙黏蛋白E的表达,使肿瘤细胞易于发生侵袭转移<sup>[26]</sup>。针对肝癌,Zhang等<sup>[27]</sup>最新研究表明,HIF-1可以通过与SNAI1基因启动子上的两个低氧反应元件(hypoxia response elements, HREs)相结合,来调控SNAI1,影响着钙黏蛋白E、钙黏蛋白N以及波形蛋白的表达水平,使肝癌细胞发生EMT,促进肝癌的转移和侵袭。

细胞基质的降解也是肿瘤转移的重要环节。低氧条件下,HIF-1会诱导细胞分泌很多的基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs),其通过降解细胞外基质分子,使肿瘤细胞向基底层浸润<sup>[28,29]</sup>。赖氨酰氧化酶(lysyl oxidase, LOX)存在于细胞外基质中,也影响着基质的结构以促进EMT,而LOX同样是直接由HIF-1来调节的<sup>[30]</sup>。Xiang等<sup>[31]</sup>通过临床分组实验,分别对36例肝癌淋巴结转移阳性和阴性的患者进行基因检测,结果发现阳性组中瘤内的HIF-1 $\alpha$ 、VEGF和MMP-2蛋白水平明显高于阴性组,从而推测出这3个基因可能是肝癌淋巴结转移的生物学标志物。研究证明腺病毒介导的短发夹RNA可以抑制肝癌的生长和转移,其机制也是通过抑制HIF-1来减少血管生成因子和MMP蛋白的表达<sup>[32]</sup>。

最新研究发现PROX1是一个促进肝癌转移的重要因子,而其促转移活性是由于上调了HIF-1 $\alpha$ 转录,并通过招募组蛋白脱乙酰基酶1(histone deacetylase 1, HDAC1)阻止HIF-1 $\alpha$ 乙酰化,从而稳定了HIF-1 $\alpha$ 蛋白,最终诱导肝癌细胞EMT发生所致<sup>[33]</sup>。Zhang等<sup>[34]</sup>最近发现Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路可以提高HIF-1 $\alpha$ 转录活性和阻止肝癌细胞凋亡,诱导肝癌细胞发生EMT,参与肝癌转移。这些研究不仅为我们提供了有潜力的肝癌预后标记物及治疗新靶点,也再次验证了HIF-1在肝癌侵袭转移方面不可替代的作用。

## 2.4 HIF-1与肝癌放化疗的耐受性

**2.4.1 放疗耐受性:** 低氧与肿瘤的研究最初是在肿瘤放射治疗方面获得进展的. 在放疗过程中氧气被激发产生氧自由基, 通过杀伤肿瘤靶细胞来达到放疗的效果. 然而在肿瘤低氧区, 细胞因缺氧产生较少的氧自由基, 从而对放疗产生耐受. 研究表明, 低氧状态下的关键因子HIF-1在肿瘤细胞放疗耐受方面起到了重要作用, 其机制可能与HIF-1促进VEGF及其他血管因子的大量表达, 使血管内皮细胞免受放射线的损伤有关<sup>[35]</sup>. 而在肝癌方面, 也有研究显示, 用RNA干扰技术抑制HIF-1的表达后, 肝癌细胞对放疗的敏感性明显增强<sup>[36]</sup>. 这也启示我们, 在肝癌临床治疗中, 放疗合并抑制HIF-1的方法可能会起到一个更好的抗癌效果.

**2.4.2 化疗耐受性:** 实体肿瘤细胞由于处在缺血缺氧的微环境中, 对多种化学药物产生了耐药抵抗作用. 在这个耐药机制中, HIF-1的活性影响了肿瘤细胞的微环境, 并且调控着与耐药相关的因子. Comerford等<sup>[37]</sup>在10年前就发现HIF-1可以与多药耐药基因(multiple drug resistance 1, *MDR1*)启动子上的HRE相结合, 从而转录激活MDR1, 最终用来抵抗化疗药物对肿瘤细胞的损伤. Zhu等<sup>[38]</sup>最近也证实在肝癌细胞中, HIF-1 $\alpha$ 由ERK/MAPK通路调节, 并且调控表达了多种MDR相关基因, 而后者参与了耐药反应. 三氧化二砷(arsenic trioxide, ATO)作为肝癌的化疗药, 可以起到诱导细胞凋亡, 抑制转移的作用. 然而研究表明, HIF-1参与了肝癌对ATO的耐药, 这一结果也为今后如何克服ATO耐药提供了分子靶点<sup>[39]</sup>.

## 3 以HIF-1为靶点的肝癌治疗

HIF-1在低氧条件下肝癌细胞发生发展的各个环节中都起到了非常重要的作用. 因此以HIF-1作为分子靶点的抗癌药物和基因治疗成为目前研究的两个热点.

**3.1 HIF-1抑制剂的应用** 现今, 我们已经筛选出了很多能够有效抑制HIF-1的化学物质. 这些药物有的已经进入临床试验阶段, 而更多的还在实验室阶段. 他们的作用机制包括了抑制HIF-1 $\alpha$ 蛋白的合成、降解水平、与DNA的结合能力以及转录活性等各个方面<sup>[40]</sup>. 此外, 有些药物则是阻止诸如PI3K/Akt通路、MAPK通路等HIF-1信号通路的抑制剂<sup>[41]</sup>. 3-(5'-羟甲基-2'-呋喃基)-1-苯甲基吡唑[3-(5'-hydroxymethyl-2'-

furyl)-1-benzyl indazole, YC-1]作为这类抑制剂的代表, 近年来成为研究的重点. Shin等<sup>[42]</sup>发现YC-1可以降低肝癌细胞中HIF-1 $\alpha$ 蛋白及其多种下游靶基因的表达, 从而有效抑制了肝癌的侵袭和转移.

近几年来, 研究者把肝癌细胞作为实验对象, 研制出了不少的HIF-1抑制剂. 最近, 有研究发现EF24作为一种与姜黄素相似的分子, 通过上调pVHL来降解HIF-1 $\alpha$ , 从而克服肝癌对索拉菲尼的耐药作用. 这表明了EF24与索拉菲尼联合用药可以增强抗癌效果<sup>[43]</sup>. Yamasaki等<sup>[44]</sup>利用HepG2人类肝癌细胞, 首次提出了共轭亚油酸可以抑制HIF-1 $\alpha$ 的稳定性, 从而为今后研发出这类药物提供了思路. Tanaka等<sup>[45]</sup>发现LS081是促进铁摄入的小分子, 他能够通过增强PHD的活性, 来降解HIF-1 $\alpha$ 蛋白以达到抗肝癌的作用. 经导管动脉栓塞术(transcatheter arterial embolization, TAE)是一种肝癌非手术的姑息治疗, Liang等<sup>[46]</sup>通过动物模型, 对白兔VX2肝癌细胞进行了分组试验, 结果发现肝癌细胞在TAE术后其HIF-1 $\alpha$ 蛋白水平有明显升高. 而羟基喜树碱(hydroxycamptothecin, HCPT)作为HIF-1的抑制剂, 能有效抑制HIF-1的表达, 并且抵抗TAE术后肝癌的血管生成, 增强TAE的治疗效果<sup>[47]</sup>.

**3.2 基因靶向治疗** 随着生物分子学技术的迅速发展, 以各种功能基因作为靶点的肿瘤治疗方法成为目前研究的一个热点. 针对HIF-1与肝癌的关系, 研究者把HIF-1 $\alpha$ 作为目的基因, 抑制其过表达以及对下游靶基因的激活, 使得以HIF-1 $\alpha$ 为靶点的基因治疗成为肝癌治疗的一种新辅助手段.

RNA干扰(RNA interfering, RNAi)技术是一种基因沉寂新技术, 其通过构建HIF-1编码基因的小干扰RNA(siRNA)并转染到肿瘤细胞中, 与目的基因mRNA结合使其降解, 以此来抑制HIF-1 $\alpha$ 的表达. Xu等<sup>[48]</sup>最近用HIF-1 $\alpha$ 的siRNA转染小鼠的CBRH-7919肝癌细胞, 结果显示HIF-1 $\alpha$ 失去活性, 抑制了肝癌细胞的增殖生长. 有研究表明, 靶向HIF-1 $\alpha$ 和VEGF的siRNA共转染入Hep3B肝癌细胞, 可以起到抗血管生成的作用, 阻止肝癌的转移<sup>[49]</sup>. 在动物模型实验中, Chen等<sup>[50]</sup>利用RNAi技术灭活HIF-1 $\alpha$ , 发现可以增强TAE术治疗肝癌的效果. MicroRNA(miRNA)是内源性大小与siRNA相似的非编码RNAs, 关于miRNA负性调节肝癌细胞中的HIF-1 $\alpha$ , Wang等<sup>[51]</sup>在临床实验中发现体内呈高水平miRNA-199b的肝癌患者, 存活

### ■应用要点

随着HIF-1抑制剂的不断研发, 以及针对HIF-1的基因疗法如RNA干扰、反义寡核苷酸技术的不断成熟, HIF-1将成为肝癌防治研究的一个新靶点, 这对肝癌的辅助治疗具有新应用前景.

### ■同行评价

本文选题新颖,有一定的临床价值。内容阐述明确,将HIF-1与肝癌的相关性联系起来,并引用最新文献,具有一定的前瞻性。

率较高。而且miRNA-199b能抵抗肿瘤细胞生长,提高放疗的敏感性。这些作用机制都是通过抑制HIF-1 $\alpha$ 蛋白来实现的。

反义寡核苷酸(antisense oligonucleotides, ASO)技术也是目前研究的重点。ASO是和mRNA完全互补的一个寡聚核苷酸片段,能够特异性阻断目的mRNA的翻译。研究发现, HIF-1 $\alpha$ 的ASO技术可以抑制肝癌细胞增殖,而且降低了HIF-1 $\alpha$ 的mRNA表达和蛋白质合成,这一发现也证明了ASO技术在肝癌治疗中的发展前景<sup>[52]</sup>。此外,也有研究证实,在小鼠体内反义HIF-1 $\alpha$ 基因疗法可增强化疗药阿霉素对抗肝癌的疗效,两者结合可以更加有效地下调VEGF的表达,抑制肿瘤血管生成和细胞增殖,促进细胞凋亡<sup>[53]</sup>。

## 4 结论

HIF-1作为肝癌细胞适应低氧微环境的重要调节因子,通过调控下游多个靶基因,在肝癌细胞的增殖凋亡、血管生成、侵袭转移和放化疗耐受性等方面都起到了重要作用。而HIF-1作为肝癌治疗的一个新靶点,也得到了广泛关注。但是目前针对HIF-1的药物疗法尚处在实验室或临床前研究阶段,要想真正应用到临床中去,仍有不少现实问题亟待解决。如很多研发出的HIF-1抑制剂特异性不高,对肿瘤的杀伤作用不明显,尚需要开发或筛选出特异性更高的抑制剂,方能在临床上应用。而对于YC-1等研究较为成熟的抑制剂来说,仍需进一步研究他们的药理和毒理作用,探讨对正常细胞的不良反应,以及临床疗效的评估。以HIF-1为靶点的基因治疗虽然给肝癌治疗带来了新的希望,但是寻找目的基因只是第一步,接下来如何去构建安全高效的载体,如何寻找肝癌的特异性转录调控元件,如何合理应用多基因联合治疗,只有真正解决了这些问题,才能使肝癌的基因治疗从动物实验转向临床应用。因此, HIF-1在肝癌中的作用仍需进一步深入研究,而HIF-1的肝癌靶向治疗依然任重道远。

## 5 参考文献

- Li S, Yao D, Wang L, Wu W, Qiu L, Yao M, Yao N, Zhang H, Yu D, Ni Q. Expression characteristics of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  and its clinical values in diagnosis and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepat Mon* 2011; 11: 821-828 [PMID: 22224081 DOI: 10.5812/kowsar.1735143X.771]
- Hu CJ, Sataur A, Wang L, Chen H, Simon MC. The N-terminal transactivation domain confers target gene specificity of hypoxia-inducible factors HIF-

1 $\alpha$  and HIF-2 $\alpha$ . *Mol Biol Cell* 2007; 18: 4528-4542 [PMID: 17804822 DOI: 10.1091/mbc.E06-05-0419]

- Arany Z, Huang LE, Eckner R, Bhattacharya S, Jiang C, Goldberg MA, Bunn HF, Livingston DM. An essential role for p300/CBP in the cellular response to hypoxia. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 12969-12973 [PMID: 8917528 DOI: 10.1073/pnas.93.23.12969]
- Jiang BH, Liu LZ. Role of mTOR in anticancer drug resistance: perspectives for improved drug treatment. *Drug Resist Updat* 2008; 11: 63-76 [PMID: 18440854 DOI: 10.1016/j.drug.2008.03.001]
- Cha ST, Chen PS, Johansson G, Chu CY, Wang MY, Jeng YM, Yu SL, Chen JS, Chang KJ, Jee SH, Tan CT, Lin MT, Kuo ML. MicroRNA-519c suppresses hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression and tumor angiogenesis. *Cancer Res* 2010; 70: 2675-2685 [PMID: 20233879 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2448]
- Berra E, Benizri E, Ginouvès A, Volmat V, Roux D, Pouyssegur J. HIF prolyl-hydroxylase 2 is the key oxygen sensor setting low steady-state levels of HIF-1 $\alpha$  in normoxia. *EMBO J* 2003; 22: 4082-4090 [PMID: 12912907 DOI: 10.1093/emboj/cdg392]
- Depping R, Steinhoff A, Schindler SG, Friedrich B, Fagerlund R, Metzen E, Hartmann E, Köhler M. Nuclear translocation of hypoxia-inducible factors (HIFs): involvement of the classical importin  $\alpha$ /beta pathway. *Biochim Biophys Acta* 2008; 1783: 394-404 [PMID: 18187047 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2007.12.006]
- Chachami G, Paraskeva E, Mingot JM, Braliou GG, Görlich D, Simos G. Transport of hypoxia-inducible factor HIF-1 $\alpha$  into the nucleus involves importins 4 and 7. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390: 235-240 [PMID: 19788888 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.09.093]
- Lim JH, Lee YM, Chun YS, Chen J, Kim JE, Park JW. Sirtuin 1 modulates cellular responses to hypoxia by deacetylating hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$ . *Mol Cell* 2010; 38: 864-878 [PMID: 20620956 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.05.023]
- Semenza GL. HIF-1: upstream and downstream of cancer metabolism. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 51-56 [PMID: 19942427 DOI: 10.1016/j.gde.2009.10.009]
- Semenza GL. Regulation of cancer cell metabolism by hypoxia-inducible factor 1. *Semin Cancer Biol* 2009; 19: 12-16 [PMID: 19114105 DOI: 10.1016/j.semcancer.2008.11.009]
- Denko NC. Hypoxia, HIF1 and glucose metabolism in the solid tumour. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 705-713 [PMID: 19143055 DOI: 10.1038/nrc2468]
- Zhang H, Bosch-Marce M, Shimoda LA, Tan YS, Baek JH, Wesley JB, Gonzalez FJ, Semenza GL. Mitochondrial autophagy is an HIF-1-dependent adaptive metabolic response to hypoxia. *J Biol Chem* 2008; 283: 10892-10903 [PMID: 18281291 DOI: 10.1074/jbc.M800102200]
- Sermeus A, Michiels C. Reciprocal influence of the p53 and the hypoxic pathways. *Cell Death Dis* 2011; 2: e164 [PMID: 21614094 DOI: 10.1038/cddis.2011.48]
- Xu ZQ, Chen XP, Niu J, Liu EY, Li CH, Peng C. [The prognostic significance of Omi/HtrA2 expression, and correlation between Omi/HtrA2 and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in primary hepatocellular car-



- cinoma cells]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2012; 50: 49-52 [PMID: 22490291]
- 16 Xu Z, Chen X, Peng C, Liu E, Li Y, Li C, Niu J. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  suppressed hepatocellular carcinoma cell apoptosis through influencing on Omi/HtrA2 expression and its releasing from the mitochondrion. *Oncol Res* 2012; 20: 213-220 [PMID: 23581228 DOI: 10.3727/096504013X13589503482815]
  - 17 Xu Z, Liu E, Peng C, Li Y, He Z, Zhao C, Niu J. Role of hypoxia-inducible-1 $\alpha$  in hepatocellular carcinoma cells using a Tet-on inducible system to regulate its expression in vitro. *Oncol Rep* 2012; 27: 573-578 [PMID: 22075557 DOI: 10.3892/or.2011.1533]
  - 18 Jeon YK, Yoo DR, Jang YH, Jang SY, Nam MJ. Sulforaphane induces apoptosis in human hepatic cancer cells through inhibition of 6-phosphofructo-2-kinase/fructose-2,6-biphosphatase4, mediated by hypoxia inducible factor-1-dependent pathway. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1814: 1340-1348 [PMID: 21640852 DOI: 10.1016/j.bbapap.2011.05.015]
  - 19 Payne SJ, Jones L. Influence of the tumor microenvironment on angiogenesis. *Future Oncol* 2011; 7: 395-408 [PMID: 21417903 DOI: 10.2217/fon.11.13]
  - 20 Lee K, Zhang H, Qian DZ, Rey S, Liu JO, Semenza GL. Acriflavine inhibits HIF-1 dimerization, tumor growth, and vascularization. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 17910-17915 [PMID: 19805192 DOI: 10.1073/pnas.0909353106]
  - 21 Wang W, Xu GL, Jia WD, Wang ZH, Li JS, Ma JL, Ge YS, Xie SX, Yu JH. Expression and correlation of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , vascular endothelial growth factor and microvessel density in experimental rat hepatocarcinogenesis. *J Int Med Res* 2009; 37: 417-425 [PMID: 19383236 DOI: 10.1177/147323000903700217]
  - 22 Liu LP, Ho RL, Chen GG, Lai PB. Sorafenib inhibits hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  synthesis: implications for antiangiogenic activity in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5662-5671 [PMID: 22929805 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-0552]
  - 23 Semenza GL. Defining the role of hypoxia-inducible factor 1 in cancer biology and therapeutics. *Oncogene* 2010; 29: 625-634 [PMID: 19946328 DOI: 10.1038/onc.2009.441]
  - 24 Li H, Ge C, Zhao F, Yan M, Hu C, Jia D, Tian H, Zhu M, Chen T, Jiang G, Xie H, Cui Y, Gu J, Tu H, He X, Yao M, Liu Y, Li J. Hypoxia-inducible factor 1  $\alpha$ -activated angiopoietin-like protein 4 contributes to tumor metastasis via vascular cell adhesion molecule-1/integrin  $\beta$ 1 signaling in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2011; 54: 910-919 [PMID: 21674552 DOI: 10.1002/hep.24479]
  - 25 Lu X, Kang Y. Hypoxia and hypoxia-inducible factors: master regulators of metastasis. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 5928-5935 [PMID: 20962028 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-1360]
  - 26 Evans AJ, Russell RC, Roche O, Burry TN, Fish JE, Chow VW, Kim WY, Saravanan A, Maynard MA, Gervais ML, Sufan RJ, Roberts AM, Wilson LA, Betten M, Vandewalle C, Bex G, Marsden PA, Irwin MS, Teh BT, Jewett MA, Ohh M. VHL promotes E2 box-dependent E-cadherin transcription by HIF-mediated regulation of SIP1 and snail. *Mol Cell Biol* 2007; 27: 157-169 [PMID: 17060462 DOI: 10.1128/MCB.00892-06]
  - 27 Zhang L, Huang G, Li X, Zhang Y, Jiang Y, Shen J, Liu J, Wang Q, Zhu J, Feng X, Dong J, Qian C. Hypoxia induces epithelial-mesenchymal transition via activation of SNAI1 by hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer* 2013; 13: 108 [PMID: 23496980 DOI: 10.1186/1471-2407-13-108]
  - 28 Erdozain OJ, Pegrum S, Winrow VR, Horrocks M, Stevens CR. Hypoxia in abdominal aortic aneurysm supports a role for HIF-1 $\alpha$  and Ets-1 as drivers of matrix metalloproteinase upregulation in human aortic smooth muscle cells. *J Vasc Res* 2011; 48: 163-170 [PMID: 20938207 DOI: 10.1159/000318806]
  - 29 Du R, Lu KV, Petritsch C, Liu P, Ganss R, Passegue E, Song H, Vandenberg S, Johnson RS, Werb Z, Bergers G. HIF1 $\alpha$  induces the recruitment of bone marrow-derived vascular modulatory cells to regulate tumor angiogenesis and invasion. *Cancer Cell* 2008; 13: 206-220 [PMID: 18328425 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.01.034]
  - 30 Erler JT, Giaccia AJ. Lysyl oxidase mediates hypoxic control of metastasis. *Cancer Res* 2006; 66: 10238-10241 [PMID: 17079439 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3197]
  - 31 Xiang ZL, Zeng ZC, Fan J, Tang ZY, Zeng HY, Gao DM. Gene expression profiling of fixed tissues identified hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , VEGF, and matrix metalloproteinase-2 as biomarkers of lymph node metastasis in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5463-5472 [PMID: 21712445 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-3096]
  - 32 Choi SH, Shin HW, Park JY, Yoo JY, Kim do Y, Ro WS, Yun CO, Han KH. Effects of the knockdown of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  expression by adenovirus-mediated shRNA on angiogenesis and tumor growth in hepatocellular carcinoma cell lines. *Korean J Hepatol* 2010; 16: 280-287 [PMID: 20924210 DOI: 10.3350/kjhep.2010.16.3.280]
  - 33 Liu Y, Zhang JB, Qin Y, Wang W, Wei L, Teng Y, Guo L, Zhang B, Lin Z, Liu J, Ren ZG, Ye QH, Xie Y. PROX1 promotes hepatocellular carcinoma metastasis by way of up-regulating hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  expression and protein stability. *Hepatology* 2013; 58: 692-705 [PMID: 23505027 DOI: 10.1002/hep.26398]
  - 34 Zhang Q, Bai X, Chen W, Ma T, Hu Q, Liang C, Xie S, Chen C, Hu L, Xu S, Liang T. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling enhances hypoxia-induced epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma via crosstalk with hif-1 $\alpha$  signaling. *Carcinogenesis* 2013; 34: 962-973 [PMID: 23358852 DOI: 10.1093/carcin/bgt027]
  - 35 Schwartz DL, Bankson J, Bidaut L, He Y, Williams R, Lemos R, Thitai AK, Oh J, Volgin A, Soghomonian S, Yeh HH, Nishii R, Mukhopadhyay U, Alauddin M, Mushkudiani I, Kuno N, Krishnan S, Bornman W, Lai SY, Powis G, Hazle J, Gelovani J. HIF-1-dependent stromal adaptation to ischemia mediates in vivo tumor radiation resistance. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 259-270 [PMID: 21364021 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-10-0469]
  - 36 Yang W, Sun T, Cao J, Fan S. Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  downregulation by small interfering RNA inhibits proliferation, induces apoptosis, and enhances radiosensitivity in chemical hypoxic human hepatoma SMMC-7721 cells. *Cancer Biother Radiopharm* 2011; 26: 565-571 [PMID: 21950556 DOI: 10.1089/cbr.2011.0955]

- 37 Comerford KM, Wallace TJ, Karhausen J, Louis NA, Montalto MC, Colgan SP. Hypoxia-inducible factor-1-dependent regulation of the multidrug resistance (MDR1) gene. *Cancer Res* 2002; 62: 3387-3394 [PMID: 12067980]
- 38 Zhu H, Luo SF, Wang J, Li X, Wang H, Pu WY, Zhang H, Zhuang ZX. Effect of environmental factors on chemoresistance of HepG2 cells by regulating hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ . *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 1095-1103 [PMID: 22613537 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2012.06.024]
- 39 Tung JN, Cheng YW, Hsu CH, Liu TZ, Hsieh PY, Ting LL, Ko HL, Chang YJ, Chiou JF, Wu AT. Normoxically overexpressed hypoxia inducible factor 1-alpha is involved in arsenic trioxide resistance acquisition in hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 1492-1500 [PMID: 21181559 DOI: 10.1245/s10434-010-1444-y]
- 40 Onnis B, Rapisarda A, Melillo G. Development of HIF-1 inhibitors for cancer therapy. *J Cell Mol Med* 2009; 13: 2780-2786 [PMID: 19674190 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00876.x]
- 41 Wilson WR, Hay MP. Targeting hypoxia in cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 393-410 [PMID: 21606941 DOI: 10.1038/nrc3064]
- 42 Shin DH, Kim JH, Jung YJ, Kim KE, Jeong JM, Chun YS, Park JW. Preclinical evaluation of YC-1, a HIF inhibitor, for the prevention of tumor spreading. *Cancer Lett* 2007; 255: 107-116 [PMID: 17502124 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.03.026]
- 43 Liang Y, Zheng T, Song R, Wang J, Yin D, Wang L, Liu H, Tian L, Fang X, Meng X, Jiang H, Liu J, Liu L. Hypoxia-mediated sorafenib resistance can be overcome by EF24 through Von Hippel-Lindau tumor suppressor-dependent HIF-1 $\alpha$  inhibition in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2013; 57: 1847-1857 [PMID: 23299930 DOI: 10.1002/hep.26224]
- 44 Yamasaki M, Nagatomo T, Matsuyama T, Ikeho Y, Kato E, Nishiyama K, Sakakibara Y, Suiko M, Nishiyama K. Conjugated linoleic acids inhibit hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  stabilization under hypoxic condition in human hepatocellular carcinoma cells. *J Oleo Sci* 2012; 61: 491-496 [PMID: 22975783]
- 45 Tanaka H, Li Z, Ikuta K, Addo L, Akutsu H, Nakamura M, Sasaki K, Ohtake T, Fujiya M, Torimoto Y, Glass J, Kohgo Y. Iron facilitator LS081 reduces hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  protein and functions as anticancer agent in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2012; 103: 767-774 [PMID: 22181812 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2011.02192.x]
- 46 Liang B, Zheng C, Feng G, Wang Y, Zhao H, Liang H, Xiao E. Expression of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in liver tumors after transcatheter arterial embolization in an animal model. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2009; 29: 776-781 [PMID: 20037826 DOI: 10.1007/s11596-009-0621-3]
- 47 Liang B, Zheng C, Feng G, Wu H, Wang Y, Zhao H, Li X, Qian J, Liang H. Experimental evaluation of inhibitory effect of 10-hydroxycamptothecin on hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  expression and angiogenesis in liver tumors after transcatheter arterial embolization. *J Vasc Interv Radiol* 2010; 21: 1565-1572 [PMID: 20810290 DOI: 10.1016/j.jvir.2010.05.028]
- 48 Xu LF, Ni JY, Sun HL, Chen YT, Wu YD. Effects of hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  silencing on the proliferation of CBRH-7919 hepatoma cells. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1749-1759 [PMID: 23555163 DOI: 10.3748/wjg.v19.i11.1749]
- 49 Forooghian F, Das B. Anti-angiogenic effects of ribonucleic acid interference targeting vascular endothelial growth factor and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ . *Am J Ophthalmol* 2007; 144: 761-768 [PMID: 17869204 DOI: 10.1016/j.ajo.2007.07.022]
- 50 Chen C, Wang J, Liu R, Qian S. RNA interference of hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  improves the effects of transcatheter arterial embolization in rat liver tumors. *Tumour Biol* 2012; 33: 1095-1103 [PMID: 22407533 DOI: 10.1007/s13277-012-0349-8]
- 51 Wang C, Song B, Song W, Liu J, Sun A, Wu D, Yu H, Lian J, Chen L, Han J. Underexpressed microRNA-199b-5p targets hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in hepatocellular carcinoma and predicts prognosis of hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1630-1637 [PMID: 21557766 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06758.x]
- 52 WeiXing C, Tiantian H, Qun N, Chaohui Y, Ping X. Inhibitory effect of hypoxia inducible factor-1 antisense oligonucleotide on growth of human hepatocellular carcinoma cells. *Med Oncol* 2008; 25: 88-92 [PMID: 18188720 DOI: 10.1007/s12032-007-0050-8]
- 53 Liu F, Wang P, Jiang X, Tan G, Qiao H, Jiang H, Krissansen GW, Sun X. Antisense hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  gene therapy enhances the therapeutic efficacy of doxorubicin to combat hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2008; 99: 2055-2061 [PMID: 19016766 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00905.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1/Smad信号传导通路的影响

黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥

黄蔚, 钱静蓉, 上海市普陀区利群医院消化科 上海市 200333  
陈岳祥, 上海市长征医院消化科 上海市 200003  
黄蔚, 副主任医师, 主要从事肝硬化门脉高压临床和基础研究。  
上海市普陀区卫生系统自主创新科研基金资助项目, No. 普科委[2010]33号

作者贡献分布: 黄蔚与钱静蓉对此文所作贡献均等; 此课题由黄蔚设计, 并得到长征医院消化科陈岳祥教授的精心指导; 研究过程由黄蔚与钱静蓉负责操作完成; 研究所用试剂及分析工具由黄蔚提供; 数据分析由钱静蓉完成; 本论文写作由黄蔚与钱静蓉完成。

通讯作者: 黄蔚, 副主任医师, 200333, 上海市普陀区桃浦路910号, 上海市普陀区利群医院. huangwei\_71\_0502@126.com

电话: 021-52780030 传真: 021-52766654

收稿日期: 2013-09-28 接受日期: 2013-11-05

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

## Valsartan improves portal hypertensive gastropathy in rats possibly via TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway

Wei Huang, Jing-Rong Qian, Yue-Xiang Chen

Wei Huang, Jing-Rong Qian, Department of Gastroenterology, Liqun Hospital, Shanghai 200333, China

Yue-Xiang Chen, Department of Gastroenterology, Changzheng Hospital, Shanghai 200003, China

Supported by: the Independent Innovation Scientific Research Project of Shanghai Putuo District Health System, No. [2010]33

Correspondence to: Wei Huang, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Li Qun Hospital, 910 Taopu Road, Shanghai 200333, China. huangwei\_71\_0502@126.com

Received: 2013-09-28 Revised: 2013-11-05

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the efficacy and mechanisms of action of valsartan on portal hypertensive gastropathy in rats with gastric mucosa lesions.

**METHODS:** Forty-eight SD rats were randomly divided into a sham-operated group, a portal hypertension gastropathy group, a valsartan prevention group, a normal dose valsartan group and a high dose valsartan group. Portal hypertensive gastropathy was induced by the partial portal vein ligation method. Gastric mu-

cosa TGF- $\beta$ 1 expression and microvessel density (MVD) were detected by immunohistochemical staining method. Gastric mucosa Smad2 and Smad7 protein expression was detected by Western blot. Plasma levels of rennin activity (PRA), angiotensin II (Ang II), alanine aminotransferase (ALT), and albumin (ALB) were determined by ELISA.

**RESULTS:** Compared with the model group, gastric mucosa TGF- $\beta$ 1 ( $11.58 \pm 2.27$ ,  $13.29 \pm 2.82$ ,  $13.15 \pm 3.36$  vs  $24.25 \pm 3.48$ , all  $P < 0.05$ ) and Smad2 ( $0.86 \pm 0.59$ ,  $0.82 \pm 0.36$ ,  $0.83 \pm 0.49$  vs  $1.60 \pm 0.77$ ,  $P < 0.05$ ) protein expression was significantly decreased in the valsartan prevention group, normal dose valsartan group and high dose valsartan group. Smad7 protein expression in the valsartan prevention group, normal dose valsartan group and high dose valsartan group was significantly higher than that in the model group ( $1.59 \pm 0.72$ ,  $1.65 \pm 0.80$ ,  $1.69 \pm 0.85$  vs  $0.58 \pm 0.35$ , all  $P < 0.05$ ). Plasma PRA ( $16.49$  ng/mL  $\pm 2.77$  ng/mL,  $15.92$  ng/mL  $\pm 4.30$  ng/mL,  $16.72$  ng/mL  $\pm 5.48$  ng/mL vs  $11.49$  ng/mL  $\pm 2.12$  ng/mL, all  $P < 0.05$ ) and Ang II ( $1664.44$  pg/mL  $\pm 285.47$  pg/mL,  $1686.82$  pg/mL  $\pm 499.16$  pg/mL,  $1734.07$  pg/mL  $\pm 326.66$  pg/mL vs  $1110.38$  pg/mL  $\pm 193.85$  pg/mL, all  $P < 0.01$ ) were also significantly higher in the valsartan prevention group, normal dose valsartan group and high dose valsartan group than in the model group.

**CONCLUSION:** Valsartan can improve portal hypertensive gastropathy probably by down-regulating TGF- $\beta$ 1 and Smad2 expression and up-regulating Smad7 expression.

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

**Key Words:** Valsartan; Portal hypertensive gastropathy; Transforming growth factor-beta 1; Signal transduction

Huang W, Qian JR, Chen YX. Valsartan improves

## ■背景资料

肝硬化门脉高压性胃病是肝功能失代偿期的表现, 其所致的上消化道出血仅次于食管胃底静脉曲张破裂出血。加之此类患者凝血功能差, 常导致肝脏功能进一步恶化, 加速肝性脑病、肝肾综合征等并发症出现, 影响患者预后。选择既能平稳降低门脉压力, 又能改善肝脏功能药物已经成为人们关注的热点。

## ■同行评议者

陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科



## ■ 研发前沿

肝硬化门脉高压症是导致门脉高压性胃病的重要发病机制之一,有效降低门脉高压理论上可以阻止和改善胃黏膜病变。目前治疗方法包括手术、介入和药物。肝移植手术费用高,肝源少;TIPS短期内能够降低门脉高压,但远期并发症较多;药物治疗是目前研究热点。

portal hypertensive gastropathy in rats possibly via TGF- $\beta$ 1/Smad signaling pathway. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 9-16 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9>

## 摘要

**目的:**探讨缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜病变的疗效和作用机制。

**方法:**48只♂SD大鼠随机分为假手术组、门静脉高压性胃病模型组、缬沙坦预防组、缬沙坦常规剂量组和缬沙坦加倍剂量组。采用部分门静脉主干缩窄法制备门静脉高压性胃病模型。免疫组织化学染色法检测各组大鼠胃黏膜组织转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)表达、微血管密度(microvessel density, MVD), Western blot分析胃黏膜组织Smad2、Smad7蛋白表达。ELISA法检测各组血清肾素(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)、谷氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)水平。

**结果:**缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜组织中TGF- $\beta$ 1( $11.58 \pm 2.27$ ,  $13.29 \pm 2.82$ ,  $13.15 \pm 3.36$ )明显低于造模组( $24.25 \pm 3.48$ )( $P < 0.05$ );缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜微血管密度值( $12.08 \pm 2.34$ ;  $13.13 \pm 1.42$ ;  $12.04 \pm 1.02$ )亦明显低于造模组( $17.09 \pm 5.52$ )( $P < 0.05$ );缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜组织中Smad2蛋白表达( $0.86 \pm 0.59$ ,  $0.82 \pm 0.36$ ,  $0.83 \pm 0.49$ )较造模组( $1.60 \pm 0.77$ )明显下降( $P < 0.05$ ),但高于假手术组;Smad7蛋白表达( $1.59 \pm 0.72$ ,  $1.65 \pm 0.80$ ,  $1.69 \pm 0.85$ )较模型组( $0.58 \pm 0.35$ )明显升高( $P < 0.05$ ),但低于假手术组。缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组血PRA( $16.49 \text{ ng/mL} \pm 2.77 \text{ ng/mL}$ ;  $15.92 \text{ ng/mL} \pm 4.30 \text{ ng/mL}$ ;  $16.72 \text{ ng/mL} \pm 5.48 \text{ ng/mL}$ )、Ang II( $1664.44 \text{ pg/mL} \pm 285.47 \text{ pg/mL}$ ,  $1686.82 \text{ pg/mL} \pm 499.16 \text{ pg/mL}$ ,  $1734.07 \text{ pg/mL} \pm 326.66 \text{ pg/mL}$ )水平较模型组( $11.49 \text{ ng/mL} \pm 2.12 \text{ ng/mL}$ ,  $1110.38 \text{ pg/mL} \pm 193.85 \text{ pg/mL}$ )比较明显升高( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:**缬沙坦能够改善门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜微血管病变,可能是通过下调TGF- $\beta$ 1、Smad2表达,上调Smad7表达发挥作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**缬沙坦; 门静脉高压性胃病; 转化生长因子- $\beta$ 1; 信号传导

**核心提示:**门脉高压性胃病时胃黏膜微血管内皮膜受损、管腔扩张、扭曲,微血管密度增加,转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)和Smad2表达明显升高,Smad7表达明显降低,提示胃黏膜血管病变形成。缬沙坦能够通过抑制胃黏膜TGF- $\beta$ 1和Smad2表达,增加Smad7蛋白表达,对胃黏膜血管病变具有一定治疗作用。

黄蔚, 钱静蓉, 陈岳祥. 缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1/Smad信号传导通路的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 9-16 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/9.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.9>

## 0 引言

门静脉高压性胃病(portal hypertension gastropathy, PHG)主要见于肝硬化门脉高压症(portal hypertension, PHT)患者。其主要病理机制<sup>[1]</sup>是一种累及胃黏膜的血管性病变,组织学特征为黏膜和黏膜下水肿,小血管扩张,而炎症细胞浸润不明显。胃镜下表现为胃底和胃体黏膜充血水肿、糜烂甚至溃疡,是上消化道出血的常见原因之一。PHT是PHG发生的始动因素,任何能够降低门静脉压力的因素都能改善PHG<sup>[2]</sup>。近年来研究发现缬沙坦作为一种血管紧张素II(angiotensin II, Ang II)1型受体拮抗剂有降低门静脉压力、抗肝纤维化和改善胃黏膜血供的作用,其作用机制可能与抑制转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor beta 1, TGF- $\beta$ 1)的合成和激活有关<sup>[3,4]</sup>。大量研究证实TGF- $\beta$ 1在肝脏纤维化的发生和发展过程中发挥重要作用,缬沙坦直接或间接抑制TGF- $\beta$ 1与TGF- $\beta$ 1 II型受体的合成和表达减轻肝纤维化程度<sup>[4-6]</sup>。本课题组前期研究发现缬沙坦通过抑制门静脉TGF- $\beta$ 1的表达,降低胶原纤维的合成,改善门静脉血管病变的程度,提示缬沙坦对PHG大鼠门静脉血管病变具有一定治疗作用<sup>[7]</sup>,但关于其对胃黏膜血管病变的影响,国内报道甚少。本实验拟观察缬沙坦对门静脉高压性胃病大鼠胃黏膜微血管构型的影响及其作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验动物为成年健康♂ Sprague-Dawley (SD)大鼠48只,体质量200-220 g,由上

海第二军医大学实验动物中心提供[许可证号scxk(沪)2008-0016]。缬沙坦(商品名代文,北京诺华制药有限公司馈赠,批号X0830);TGF- $\beta$ 1抗体(Santa Cruz公司,货号为sc-146);Smad抗体(Santa Cruz公司,Smad2货号sc-135644;Smad7货号sc-11392);CD34抗体(福州迈新生物技术开发有限公司);SABC试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司);蛋白提取试剂盒(碧云天生物技术研究提供)。

## 1.2 方法

**1.2.1 动物分组和模型建立:**大鼠随机分成5组,假手术组即对照组( $n=6$ )、模型组( $n=6$ )、缬沙坦预防组( $n=12$ )、缬沙坦常规剂量组( $n=12$ )、缬沙坦加倍剂量组( $n=12$ )。各组大鼠体质量、年龄相比无显著性差异。本实验参照国内段进东等<sup>[8]</sup>的造模方法,该方法可造成大鼠门静脉横截面积狭窄90%,2 wk就能形成PHG模型。具体方法如下:模型组大鼠实验前24 h禁食,自由饮水,3%戊巴比妥钠溶液0.11-0.13 mL/100 g体质量腹腔内注射麻醉;开腹后暴露并游离门静脉,沿其纵轴外置一20 G钝性针头,于近肝门处用3-0丝线结扎门静脉主干及外置针头后拔针,形成肝前性门静脉狭窄。假手术组仅游离门静脉主干而不结扎,4 wk后与药物干预组一起进行指标检测。缬沙坦预防组于造模开始每天清晨缬沙坦20 mg/kg体质量灌胃,1次/d,连续4 wk。缬沙坦常规剂量组和加倍剂量组在造模术后第3周给药,前者每天清晨20 mg/kg体质量灌胃,1次/d;后者40 mg/kg体质量灌胃,1次/d,连续2 wk。造模组和假手术组于术后第3周予等量0.9%NaCl溶液灌胃,连续2 wk。

**1.2.2 胃黏膜大体标本制备:**造模4 wk后大鼠禁食12 h,饮水,3%戊巴比妥0.1 mL/100 g腹腔内麻醉后暴露腹腔取出全胃,以0.9%NaCl溶液冲洗胃内容物,剪取胃底部2 mm $\times$ 4 mm大小的组织2块,1块放入4%多聚甲醛固定石蜡包埋,4  $\mu$ m厚连续切片,行HE染色。另一块胃底组织-80  $^{\circ}$ C保存。

**1.2.3 血清肾素(plasma renin activity, PRA)、血管紧张素 II(angiotensin II, Ang II)、谷氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)检测:**处死大鼠后腹腔静脉采血3 mL,按照ELISA方法测定PRA、Ang II、ALT、ALB浓度,具体步骤按照试剂盒说明书操作。

**1.2.4 免疫组织化学染色检测胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1表达:**采用SABC法。试剂盒购自武汉博士德生物工程有限公司,严格按说明书操作。免疫组织

化学染色后先在光镜下做定性观察,200倍高倍镜下每张切片测定3个视野,通过显微摄像系统摄取图像,在图像分析仪上应用免疫组织化学计算面积软件做定量分析代表阳性面积率,取其平均值。

**1.2.5 免疫组织化学染色检测胃黏膜微血管密度:**采用SABC法,试剂盒购自福州迈新生物技术开发有限公司产品,严格按说明书进行操作。MVD检测方法如下:(1)CD34阳性以血管内皮细胞呈棕色或棕褐色染色为标准。微血管计数以被染棕色或棕褐色的单个内皮细胞或内皮细胞簇作为一个血管计数。只要结构不相连,其分支结构也计作一个血管计数;(2)切片先在光镜下挑选微血管分布最高密度区域,再在200倍光镜下计数3个不重复热点区域中被CD34染成棕色或棕褐色的微血管数,取其平均值。

**1.2.6 Western印迹分析胃黏膜Smad2、Smad7蛋白表达:**将胃底组织粉碎后加入裂解液,蛋白提取过程按说明书操作进行。在提取的蛋白中加入5%SDS煮沸10 min,离心10 min,提取上清液,BCA法测定蛋白含量。取等量蛋白样本加入10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺(SDS-PAGE)凝胶中,电转至硝酸纤维素膜,室温下5%脱脂奶粉封闭2 h,以封闭非特异性蛋白结合位点。将膜放入用5%脱脂奶粉稀释的一抗稀释液中,4  $^{\circ}$ C摇床过夜,TBST洗3次,每次20 min,之后将膜放入用5%脱脂奶粉稀释的二抗稀释液中,4  $^{\circ}$ C摇床摇4 h,然后用TBST洗3次,每次20 min。采用ECL化学发光法检测蛋白含量,于暗室中用胶片显影、定影,并用扫描仪进行扫描。使用GENE公司图像处理软件分析,计算目的基因与 $\beta$ -actin的吸光度比值。

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件,所得数据以mean $\pm$ SD表示。多组间比较采用单因素方差分析;若方差齐性,两两比较采用LSD法,若方差不齐,采用Dunnett T3检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 造模情况** 缬沙坦加倍剂量组大鼠死亡3只,其中2只由于灌胃后呛咳、窒息死亡,1只为腹水伴腹腔感染,缬沙坦预防组和常规剂量组分别有2只大鼠死亡,死因为灌胃后呛咳、窒息。造模组和假手术组无大鼠死亡。

**2.2 胃组织病理学改变** 造模后1 wk大鼠开始厌食、懒动,2 wk后腹腔增大,厌食加剧。HE染色

## ■ 相关报道

研究报道肝硬化门脉高压性胃病是一种血管性疾病,血管紧张素II与肝硬化门脉高压症的形成密切相关。血管紧张素II 1型受体拮抗剂沙坦类药物能够降低门静脉压力,改善胃黏膜微循环,且不良反应少,不引起明显的血压、心率的改变。



### ■创新盘点

缬沙坦改善肝硬化门脉高压性胃黏膜病变的作用机制目前还不十分清楚。本课题发现缬沙坦能够抑制胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1的合成和分泌,通过上调Smad2表达、下调Smad7表达来调控TGF- $\beta$ 1发挥作用,从而减少胃黏膜血管损伤,减轻血管病变程度。

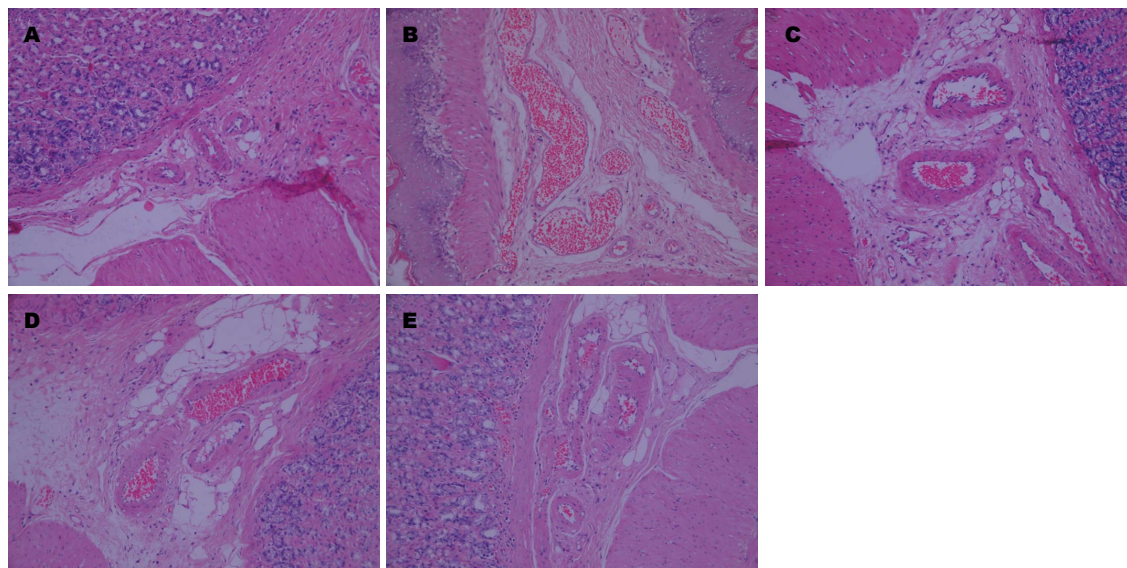


图1 胃黏膜HE染色结果( $\times 200$ ). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦常规剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

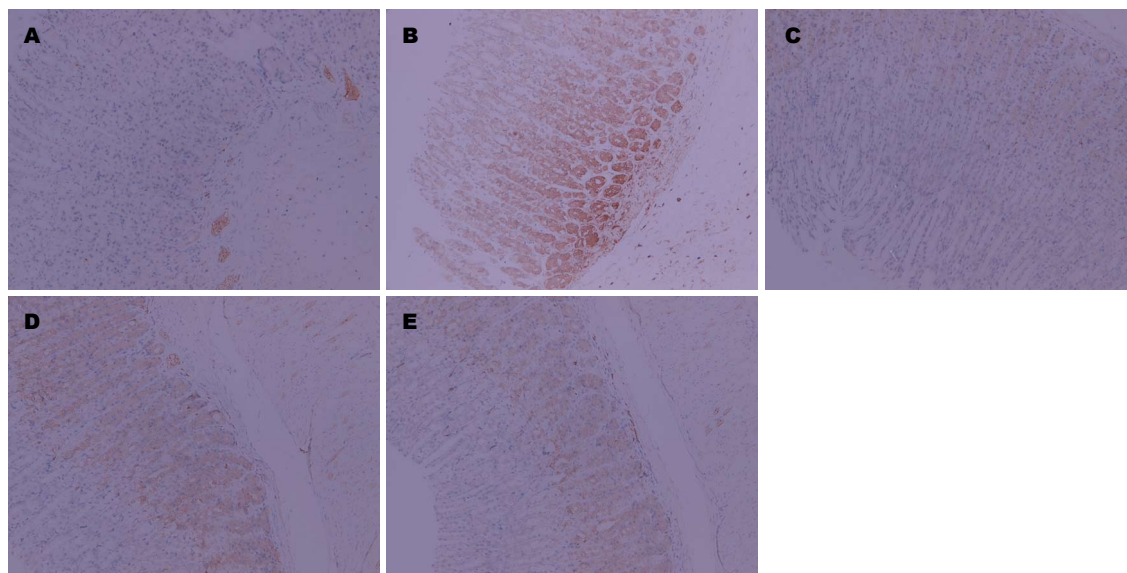


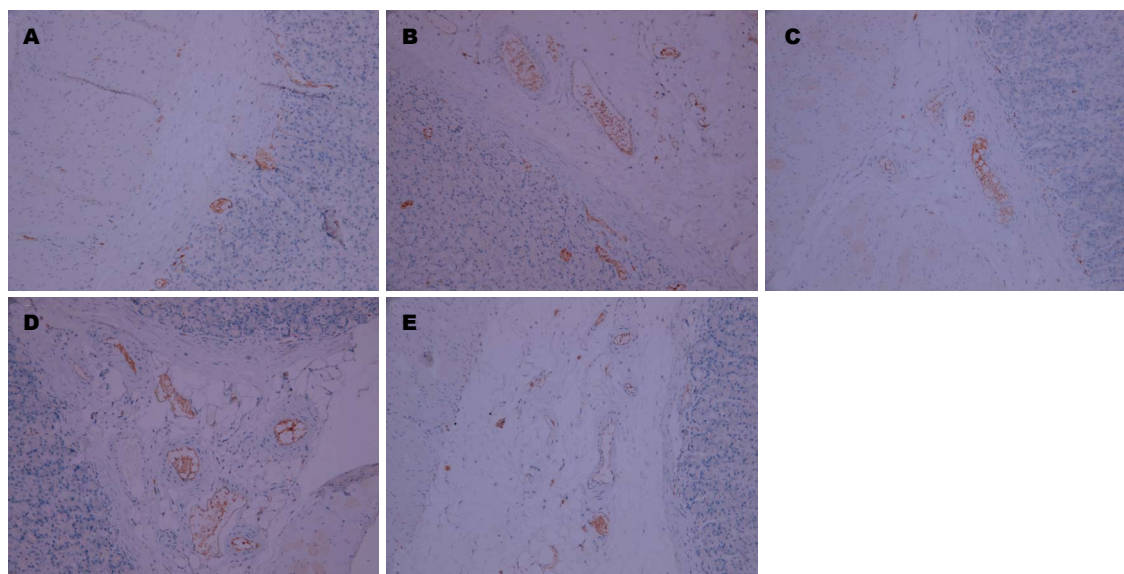
图2 免疫组织化学检测胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1表达情况(SABC  $\times 200$ ). A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦常规剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

结果显示,假手术组大鼠胃黏膜和黏膜下层微动静脉结构完整,腺体排列规整,管壁光滑;造模组大鼠胃黏膜腺体排列不整齐,黏膜下层间隙增宽,黏膜下微动静脉明显充血,管壁变薄,管腔内可见大量血细胞黏附,胃黏膜毛细血管重度扩张、膨胀。缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜腺体排列较整齐,黏膜下层稍增宽,微动静脉轻度充血,毛细血管轻度扩张(图1)。

**2.3 胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1表达和MVD的变化** 免疫组织化学结果显示, TGF- $\beta$ 1表达主要在胃黏膜上皮细胞的细胞浆和细胞膜,阳性结果为细胞

质染成棕黄色,细胞核染成淡蓝色。造模组大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1表达量明显增加,与假手术组大鼠比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1阳性表达率较造模组降低,差异均有统计学意义( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )(图2, 表1)。CD34阳性表达主要见于血管内皮细胞胞浆中,呈棕色或棕褐色染色。微血管一般呈管腔样结构,有些只见血管内皮细胞呈点状或线状不均匀分布。造模组大鼠胃黏膜组织微血管密度值明显增加,与假手术组大鼠比较差异有统计学意义( $P<0.01$ ),缬沙坦预防组、正常剂量组和加倍剂





**■应用要点**  
肝硬化门脉高压性胃病及其并发症是肝硬化患者的主要威胁。缬沙坦能够减少PHG大鼠胃黏膜血管损伤,减轻血管病变程度;并有降低血清丙氨酸转氨酶、升高白蛋白趋势,对肝脏功能具有一定保护作用,为临床使用缬沙坦提供了理论依据。

图3 免疫组织化学检测胃黏膜微血管密度情况(SABC × 200)。A: 假手术组; B: 造模组; C: 缬沙坦预防组; D: 缬沙坦常规剂量组; E: 缬沙坦加倍剂量组。

表1 各组大鼠胃组织TGF-β1、Smad2、Smad7表达和MVD变化 (mean ± SD)

分组	n	TGF-β1	MVD	Smad2	Smad7
假手术组	6	8.59 ± 1.10 <sup>b</sup>	8.54 ± 1.32 <sup>b</sup>	0.62 ± 0.33 <sup>b</sup>	2.02 ± 0.93 <sup>b</sup>
造模组	6	24.25 ± 3.48	17.09 ± 5.52	1.60 ± 0.77	0.58 ± 0.35
缬沙坦预防组	10	11.58 ± 2.27 <sup>b</sup>	12.08 ± 2.34 <sup>a</sup>	0.86 ± 0.59 <sup>a</sup>	1.59 ± 0.72 <sup>a</sup>
缬沙坦常规剂量组	10	13.29 ± 2.82 <sup>a</sup>	13.13 ± 1.42 <sup>a</sup>	0.82 ± 0.36 <sup>a</sup>	1.65 ± 0.80 <sup>a</sup>
缬沙坦加倍剂量组	9	13.15 ± 3.36 <sup>a</sup>	12.04 ± 1.02 <sup>a</sup>	0.83 ± 0.49 <sup>a</sup>	1.69 ± 0.85 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 造模组。MVD: 微血管密度; TGF-β1: 转化生长因子-β1。

表2 各组大鼠血清PRA、Ang-II、ALT、ALB含量比较 (mean ± SD)

分组	n	PRA(ng/mL)	Ang II (pg/mL)	ALT(U/L)	ALB(g/L)
假手术组	6	12.06 ± 1.93	955.99 ± 112.91	65.50 ± 16.80	27.37 ± 0.95
造模组	6	11.49 ± 2.12	1110.38 ± 193.85	79.00 ± 42.69	24.00 ± 1.89
缬沙坦预防组	10	16.49 ± 2.77 <sup>a</sup>	1664.44 ± 285.47 <sup>b</sup>	57.00 ± 10.00	25.48 ± 1.89
缬沙坦常规剂量组	10	15.92 ± 4.30 <sup>a</sup>	1686.82 ± 499.16 <sup>b</sup>	68.90 ± 29.48	27.86 ± 0.75
缬沙坦加倍剂量组	9	16.72 ± 5.48 <sup>a</sup>	1734.07 ± 326.66 <sup>b</sup>	67.22 ± 22.61	26.24 ± 0.92

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 造模组。PRA: 血清肾素; Ang II: 血管紧张素 II; ALT: 谷氨酸转氨酶; ALB: 白蛋白。

量组大鼠胃黏膜组织微血管密度值与造模组相比较, 差异均有统计学意义(P<0.05)(图3)。

**2.4 胃黏膜组织Smad2、Smad7蛋白表达情况**  
Western blot结果显示, 与假手术组相比, 造模组大鼠胃黏膜组织Smad2蛋白表达明显升高(P<0.01), 而Smad7蛋白表达明显降低(P<0.01)。缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组胃黏膜组织Smad2蛋白表达均低于造模组(P<0.05),

Smad7蛋白表达均高于造模组(P<0.05)(表1, 图4)。

**2.5 血清PRA、Ang-II、ALT、ALB含量**  
缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠血清PRA水平明显高于造模组(P<0.05); Ang-II含量均高于造模组(P<0.01); 缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组血清ALT水平低于造模组、ALB含量高于造模组, 但与造模组比较差异无统计学意义(表2)。

### 同行评价

本文具有较好的学术价值,具有一定指导意义。

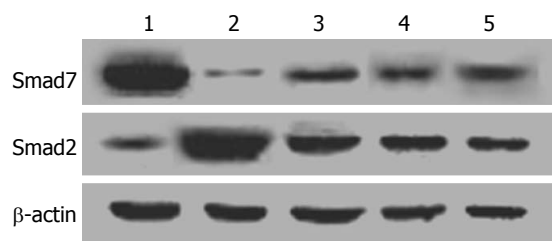


图4 Western blot分析胃黏膜组织Smad2、Smad7蛋白表达的电泳图。1:假手术组;2:造模组;3:缬沙坦预防组;4:缬沙坦常规剂量组;5:缬沙坦加倍剂量组。

### 3 讨论

目前多数学者认为,PHG是一种独立的血管性疾病<sup>[1,9]</sup>。门静脉高压导致胃的静脉回流受阻,使胃壁静脉淤血,加上胃的动脉血供增多,更加剧胃壁淤血。在长期的高压力血流作用下,胃壁的血管发生适应性代偿反应,胃黏膜毛细血管和小静脉形态和结构异常,表现为血管扩张,管壁增厚。血管内皮的增厚扩大了损伤因子作用的靶点,使得胃黏膜对损伤因子的易感性增强,导致黏膜下水肿,影响营养物质的弥散<sup>[1]</sup>。此外,门脉高压时胃黏膜血管再生能力减弱,直接影响胃黏膜损伤后修复,可能是引发胃黏膜出血的重要因素之一<sup>[10,11]</sup>。

本研究发现,假手术组大鼠4 wk后胃黏膜微血管结构完整,管壁光滑。造模组胃黏膜下微血管显著扩张,管壁变薄;毛细血管数量增加,管腔扩张、淤血,与文献报道一致<sup>[1,12]</sup>。缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜下微血管扩张扭曲减轻,毛细血管数量减少,管腔扩张减轻。由CD34标记的微血管密度值在造模组和缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组均明显高于假手术组,缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组微血管密度值与造模组比较有显著性差异( $P<0.05$ ),提示缬沙坦干预后胃黏膜水肿减轻,血管结构改变好转,扩张淤血减轻,胃黏膜的微循环得到改善,起到了一定治疗作用<sup>[12]</sup>。

降低门静脉压力是治疗PHG的关键,目前已有多种药物通过减少门静脉血流量或降低肝内血管阻力来降低门静脉压力<sup>[13-15]</sup>,但尚无一种药物即能降低门静脉压力,又能抗肝纤维化并无明显副作用。缬沙坦是一种口服有活性的强力特异性血管紧张素(Ang II) I型受体拮抗剂,他选择性作用于Ang II I型受体发挥降低血压作用,具有平稳降压和保护心、脑、肾等靶器官作用。研究证实,缬沙坦能够较好地降低肝硬化患

者门静脉压力,并具有一定的抗肝纤维化作用<sup>[16-18]</sup>;其抗纤维化作用可能是通过消除Ang II对TGF- $\beta$ 1自分泌的正调控作用,抑制TGF- $\beta$ 1及其受体(TR II mRNA)的合成和表达,抑制肝星状细胞活化、增殖和转化,减少细胞外基质的合成,从而发挥抗肝纤维化的作用,间接促进门静脉压力的降低<sup>[19-21]</sup>。

TGF- $\beta$ 1在调节细胞增殖、分化、血管形成和组织纤维化等方面起重要作用<sup>[22,23]</sup>。TGF- $\beta$ 1通过Smad信号转导通路发挥其生物学效应<sup>[24-27]</sup>,当TGF- $\beta$ 1与TGF- $\beta$ 1 II型受体(TGF- $\beta$ 1R II)结合后,继而活化TGF- $\beta$ 1 I型受体(TGF- $\beta$ 1R I),活性TGF- $\beta$ 1R I的激酶区直接使Smad2、3自动磷酸化,与共同介质型Smad4形成异源寡聚体复合物,该复合物随即转移到细胞核,介导TGF- $\beta$ 1的生物学效应。而抑制型Smad6、7是细胞中TGF- $\beta$ 1R I拮抗蛋白,能牢固的与TGF- $\beta$ 1R I结合,使之无法将Smad2、3磷酸化而阻断信号转导过程。已有研究证实,肝脏纤维化发生发展中,肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)大量表达TGF- $\beta$ 1和Smad2、4,而Smad7表达被抑制<sup>[28,29]</sup>。本实验发现造模组大鼠胃黏膜组织TGF- $\beta$ 1和Smad2蛋白表达明显增强,而Smad7蛋白表达明显降低,与假手术组比较差异有统计学意义( $P<0.01$ )。实验结果表明,正常胃黏膜组织内有大量Smad7表达而TGF- $\beta$ 1、Smad2较少,PHG大鼠胃黏膜组织内Smad7表达明显减少而TGF- $\beta$ 1、Smad2显著增多。应用缬沙坦干预后各组大鼠胃黏膜TGF- $\beta$ 1、Smad2和Smad7蛋白水平出现相应变化,缬沙坦预防组、常规剂量组和加倍剂量组大鼠胃黏膜组织中TGF- $\beta$ 1和Smad2蛋白表达均低于模型组;Smad7蛋白表达高于模型组,提示缬沙坦能够作用于TGF- $\beta$ 1下游信号通道蛋白Smad,提升PHG大鼠胃黏膜组织内Smad7,同时抑制Smad2蛋白表达,作用于TGF- $\beta$ 1的正负反馈环路,在各阶段阻断TGF- $\beta$ 1发挥病理作用。

本实验结果还显示,缬沙坦干预后大鼠血清PRA、Ang II水平明显升高( $P<0.05$ ),与缬沙坦拮抗Ang II受体,减少Ang II的消耗,并且减少对肾上腺皮质球状带的刺激,从而减少醛固酮的分泌,减轻水钠潴留有关。此外,缬沙坦干预各组大鼠血清白蛋白水平与造模组比较有所升高,丙氨酸转氨酶水平有所降低,虽然差异无统计学意义( $P>0.05$ ),可能与样本数量较少有关,但提示其具有一定的保护肝脏功能作用<sup>[13,30]</sup>。

总之, 缬沙坦具有降低门脉压力作用, 并可能通过抑制TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路来改善门静脉高压性胃黏膜血管病变, 但长期疗效和药物的不良反应仍有待进一步研究证实。

#### 4 参考文献

- 1 Khomeriki SG, Zhukov AG. [Morphological features of the gastric mucosa capillary network in patients with portal hypertension]. *Arkh Patol* 2011; 73: 43-47 [PMID: 22164432]
- 2 Al-Busafi SA, McNabb-Baltar J, Farag A, Hilzenrat N. Clinical manifestations of portal hypertension. *Int J Hepatol* 2012; 2012: 203794 [PMID: 23024865]
- 3 Hidaka H, Nakazawa T, Shibuya A, Minamino T, Takada J, Tanaka Y, Okuwaki Y, Watanabe M, Koizumi W. Effects of 1-year administration of olmesartan on portal pressure and TGF- $\beta$ 1 in selected patients with cirrhosis: a randomized controlled trial. *J Gastroenterol* 2011; 46: 1316-1323 [PMID: 21850387 DOI: 10.1007/s00535-011-0449-z]
- 4 霍丽娟, 刘莹, 张锁娟. 缬沙坦对肝硬化患者门静脉压力和肝纤维化指标的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1139-1142
- 5 Jia D, Duan F, Peng P, Sun L, Liu X, Wang L, Wu W, Ruan Y, Gu J. Up-regulation of RACK1 by TGF- $\beta$ 1 promotes hepatic fibrosis in mice. *PLoS One* 2013; 8: e60115 [PMID: 23555900 DOI: 10.1371/journal.pone.0060115]
- 6 Sun YC, Liang Q, Qian KL, Xiao L, Liu Q, Shi XF. [Effect of TGF- $\beta$ 1 siRNA-mediated silencing on Smad proteins in hepatic fibrosis rats]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2012; 20: 289-293 [PMID: 22964151]
- 7 黄蔚, 钱静蓉. 缬沙坦对门脉高压性胃病大鼠门静脉TGF- $\beta$ 1和胶原纤维的影响. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2765-2771
- 8 段进东, 管洪庚, 陈易人, 钱海鑫, 汪良. 一期门静脉缩窄法复制大鼠门脉高压性胃病模型. *中华实验外科杂志* 2000; 17: 356-357
- 9 Perini RF, Camara PR, Ferraz JG. Pathogenesis of portal hypertensive gastropathy: translating basic research into clinical practice. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 150-158 [PMID: 19190600 DOI: 10.1038/ncpgasthep1356]
- 10 Pan WD, Liu Y, Lin N, Xu R. The expression of PEDF and VEGF in the gastric wall of prehepatic portal hypertensive rats. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 2152-2155 [PMID: 22024088 DOI: 10.5754/hge11227]
- 11 Kalafateli M, Triantos CK, Nikolopoulou V, Burroughs A. Non-variceal gastrointestinal bleeding in patients with liver cirrhosis: a review. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2743-2754 [PMID: 22661272 DOI: 10.1007/s10620-012-2229-x]
- 12 黄会芳, 霍丽娟, 杨保元. 缬沙坦对肝硬化门静脉高压大鼠胃黏膜微循环及超微结构的影响. *山西医科大学学报* 2007; 38: 121-123
- 13 Biecker E. Portal hypertension and gastrointestinal bleeding: diagnosis, prevention and management. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5035-5050 [PMID: 23964137 DOI: 10.3748/wjg.v19.i31.5035]
- 14 Agasti AK, Mahajan AU, Phadke AY, Nathani PJ, Sawant P. Comparative randomized study on efficacy of losartan versus propranolol in lowering portal pressure in decompensated chronic liver disease. *J Dig Dis* 2013; 14: 266-271 [PMID: 23280243 DOI: 10.1111/1751-2980.12025]
- 15 Tang SH, Zhang MM, Wu XJ, Wang KJ. [A meta-analysis of the effect and safety of angiotensin II receptor blockers in treatment of portal hypertension in cirrhotic patients]. *Zhonghua Neike Zazhi* 2011; 50: 1013-1018 [PMID: 22333168]
- 16 Huo LJ, Zhang SJ, Liu Y. [Clinical evaluation of valsartan on portal hypertension in patients with hepatic cirrhosis]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2010; 18: 622-623 [PMID: 20825720 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2010.08.017]
- 17 Fierbinteanu-Braticevici C, Dragomir P, Tribus L, Negreanu L, Bengus A, Usvat R, Andronescu D. The effect of valsartan, an angiotensin II receptor antagonist, on portal and systemic hemodynamics and on renal function in liver cirrhosis. *J Gastrointest Liver Dis* 2006; 15: 337-342 [PMID: 17205144]
- 18 Moreno M, Gonzalo T, Kok RJ, Sancho-Bru P, van Beuge M, Swart J, Prakash J, Temming K, Fondevila C, Beljaars L, Lacombe M, van der Hoeven P, Arroyo V, Poelstra K, Brenner DA, Ginès P, Bataller R. Reduction of advanced liver fibrosis by short-term targeted delivery of an angiotensin receptor blocker to hepatic stellate cells in rats. *Hepatology* 2010; 51: 942-952 [PMID: 20044807 DOI: 10.1002/hep.23419]
- 19 Subeq YM, Ke CY, Lin NT, Lee CJ, Chiu YH, Hsu BG. Valsartan decreases TGF- $\beta$ 1 production and protects against chlorhexidine digluconate-induced liver peritoneal fibrosis in rats. *Cytokine* 2011; 53: 223-230 [PMID: 21129996 DOI: 10.1016/j.cyt.2010.11.004]
- 20 Qiang G, Zhang L, Yang X, Xuan Q, Shi L, Zhang H, Chen B, Li X, Zu M, Zhou D, Guo J, Yang H, Du G. Effect of valsartan on the pathological progression of hepatic fibrosis in rats with type 2 diabetes. *Eur J Pharmacol* 2012; 685: 156-164 [PMID: 22546234 DOI: 10.1016/j.ejphar.2012.04.028]
- 21 Peng J, Li X, Feng Q, Chen L, Xu L, Hu Y. Anti-fibrotic effect of Cordyceps sinensis polysaccharide: Inhibiting HSC activation, TGF- $\beta$ 1/Smad signaling, MMPs and TIMPs. *Exp Biol Med* (Maywood) 2013; 238: 668-677 [PMID: 23918878 DOI: 10.1177/1535370213480741]
- 22 Huo LJ, Huang HF, Yang BY. [The effect of angiotensin II type 1 receptor blocker valsartan in rats with portal hypertensive gastropathy]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2006; 14: 611-613 [PMID: 16938177]
- 23 Samarakoon R, Overstreet JM, Higgins PJ. TGF- $\beta$  signaling in tissue fibrosis: redox controls, target genes and therapeutic opportunities. *Cell Signal* 2013; 25: 264-268 [PMID: 23063463 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.10.003]
- 24 Zhang L, Li Y, Chen M, Su X, Yi D, Lu P, Zhu D. 15-LO/15-HETE Mediated Vascular Adventitia Fibrosis via p38 MAPK-Dependent TGF- $\beta$ . *J Cell Physiol* 2014; 229: 245-257 [PMID: 23982954 DOI: 10.1002/jcp.24443]
- 25 Kitao A, Sato Y, Sawada-Kitamura S, Harada K, Sasaki M, Morikawa H, Shiomi S, Honda M, Matsui O, Nakanuma Y. Endothelial to mesenchymal transition via transforming growth factor- $\beta$ 1/Smad activation is associated with portal venous stenosis in idiopathic portal hypertension. *Am J Pathol* 2009; 175: 616-626 [PMID: 19608867 DOI: 10.2353/ajpath.2009.081061]



- 26 任韞卓, 王晨, 史永红, 段惠军. 缬沙坦对人肾近端小管上皮细胞TGF- $\beta$ 1/Smad信号途径的影响. 中国药理学通报2008; 24: 960-964
- 27 Deng YL, Xiong XZ, Cheng NS. Organ fibrosis inhibited by blocking transforming growth factor- $\beta$  signaling via peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  agonists. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2012; 11: 467-478 [PMID: 23060391]
- 28 Xu W, Song S, Huang Y, Gong Z. Effects of perindopril and valsartan on expression of transforming growth factor-beta-Smads in experimental hepatic fibrosis in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1250-1256 [PMID: 16872305]
- 29 Bi WR, Yang CQ, Shi Q. Transforming growth factor- $\beta$ 1 induced epithelial-mesenchymal transition in hepatic fibrosis. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1960-1963 [PMID: 22369740 DOI: 10.5754/hge11750]
- 30 Sipal S, Halici Z, Kiki I, Polat B, Albayrak A, Albayrak F, Karakus E, Aksak S, Ozturk B, Gundogdu C. Comparative study of three angiotensin II type 1 receptor antagonists in preventing liver fibrosis in diabetic rats: stereology, histopathology, and electron microscopy. *J Mol Histol* 2012; 43: 723-735 [PMID: 22922994 DOI: 10.1007/s10735-012-9441-z]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 过表达FAF1对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响

袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英

袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英, 广西医科大学附属肿瘤医院内镜室 广西壮族自治区南宁市 530021  
袁燕玲, 2011级广西医科大学肿瘤学在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础和临床研究。  
广西自然科学基金资助项目, No. 2012GXNSFDA053021  
广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 重2012092  
作者贡献分布: 此课题由葛莲英与刘爱群设计; 实验由袁燕玲、冯洁及陈佳玮共同完成; 论文写作由袁燕玲与刘爱群完成。  
通讯作者: 葛莲英, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院内镜室。  
gelianying@hotmail.com  
电话: 0771-5310521  
收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-11-05  
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

## Effects of FAF1 overexpression on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma HGC-27 cells

Yan-Ling Yuan, Ai-Qun Liu, Jie Feng, Jia-Wei Chen, Lian-Ying Ge

Yan-Ling Yuan, Jie Feng, Ai-Qun Liu, Jia-Wei Chen, Lian-Ying Ge, Department of Endoscopy, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2012GXNSFDA053021; and the Guangxi Key Medical Research Project, No. 2012092  
Correspondence to: Lian-Ying Ge, Professor, Chief Physician, Department of Endoscopy, the Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. gelianying@hotmail.com  
Received: 2013-09-26 Revised: 2013-11-05  
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the influence of the overexpression of Fas-associated factor 1 (FAF1) on cell proliferation and apoptosis in human gastric cancer cell line HGC-27 to explore the relationship between FAF1 and gastric cancer.

**METHODS:** HGC-27 cells were divided into three groups: a negative control group, an empty vector transfection group (those transfected with empty vector particles  $1.0 \times 10^8$  TU/mL), and a FAF1 overexpression group (those transfected with recombinant FAF1 lentiviral particles  $1.0$

$\times 10^8$  TU/mL). Transfection efficiency was detected by laser scanning confocal microscopy. Protein expression level of FAF1 was detected by Western blot. Changes of cell ultrastructure were detected by transmission electron microscopy. Cell cycle distribution and apoptosis were observed by flow cytometry. Cell proliferation was detected by MTT assay.

**RESULTS:** The transfection efficiency was greater than 95% according to the green fluorescence. The expression of FAF1 protein was significantly higher in the FAF1 overexpression group than in the two control groups. The cell ultrastructure was normal in the two control groups; however, in the FAF1 overexpression group, cell nuclei split into pieces and apoptotic bodies and vacuoles formed. Overexpression of FAF1 inhibited HGC-27 cell growth, induced cell apoptosis, and changed the cell cycle progression. Compared to the negative control group and empty vector transfection group, cell doubling time was significantly extended, cell apoptosis was significantly increased ( $84.66\% \pm 5.92\%$  vs  $4.60\% \pm 3.80\%$ ,  $7.32\% \pm 3.82\%$ , both  $P < 0.05$ ), the percentage of cells in G0/G1 phase was significantly decreased ( $46.43\% \pm 2.43\%$  vs  $54.93\% \pm 3.5\%$ ,  $54\% \pm 0.3\%$ , both  $P < 0.05$ ), and the percentage of cells in G2/M phase was significantly increased ( $29.78\% \pm 3.91\%$  vs  $19.33\% \pm 3.82\%$ ,  $20.93\% \pm 2.46\%$ , both  $P < 0.05$ ) in the FAF1 overexpression group.

**CONCLUSION:** FAF1 overexpression could inhibit cell growth, induce cell apoptosis, and change cell cycle progression.

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

**Key Words:** Gastric cancer; Fas-associated factor 1; Proliferation; Apoptosis

Yuan YL, Liu AQ, Feng J, Chen JW, Ge LY. Effects of FAF1 overexpression on proliferation and apoptosis of gastric carcinoma HGC-27 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 17-23 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/17.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.17>

## ■背景资料

胃癌是人类第4大恶性肿瘤, 其死亡率居世界第2位, Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)能够增强Fas介导的细胞凋亡, 并且在胃癌组织中特异性低表达。FAF1 mRNA在癌组织中的表达水平明显低于正常组织, 并与肿瘤的分化程度、有无远处转移等临床病理特征有着明显的关联, 说明FAF1与胃癌细胞的分化及生存预后具有重要的关系, 他可能作为一个抑癌基因参与胃癌的发生发展过程。

## ■同行评议者

潘阳林, 副教授, 副主任医师, 第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

## ■研究前沿

目前的研究尚未见Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)在细胞水平调控的报告,本研究通过观察过表达FAF1后胃癌细胞增殖、凋亡的变化,进一步在细胞水平上探讨FAF1与胃癌发生发展的关系。

## 摘要

**目的:** 检测过表达Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响,探讨FAF1与胃癌发生发展的相关性。

**方法:** 实验分为阴性对照组(未转染组)、空载转染组(感染空载体慢病毒颗粒 $1.0 \times 10^8$  TU/mL)、过表达FAF1组(感染FAF1过表达慢病毒颗粒 $1.0 \times 10^8$  TU/mL)。激光共聚焦显微镜观察转染效率, Western blot检测FAF1蛋白的表达情况,透射电镜观察细胞超微结构变化,流式细胞仪检测细胞周期分布及凋亡情况, MTT检测细胞生长情况。

**结果:** 依据GFP绿色荧光可测定细胞转染效率达95%以上;与阴性对照组和空载转染组相比,过表达FAF1组FAF1蛋白明显高表达;阴性对照组和空载转染组均细胞膜完整,细胞核正常,两者超微结构无明显差异,而过表达FAF1组细胞核裂解成碎片状,可见凋亡小体形成;FAF1过表达能够抑制人胃癌细胞HGC-27的增殖,诱导细胞凋亡,改变细胞周期的分布,与阴性对照组和空载转染组相比,过表达FAF1组细胞的倍增时间显著延长,细胞凋亡率显著提高( $84.66\% \pm 5.92\%$  vs  $4.60\% \pm 3.80\%$ 和 $7.32\% \pm 3.82\%$ ,  $P < 0.05$ ),  $G_0/G_1$ 期细胞显著降低( $46.43\% \pm 2.43\%$  vs  $54.93\% \pm 3.5\%$ 和 $54\% \pm 0.3\%$ ,  $P < 0.05$ ),  $G_2/M$ 期细胞显著增多( $29.78\% \pm 3.91\%$  vs  $19.33\% \pm 3.82\%$ 和 $20.93\% \pm 2.46\%$ ,  $P < 0.05$ ),差异均有统计学意义。

**结论:** 构建的过表达FAF1慢病毒可以抑制胃癌细胞的生长,改变细胞周期的分布,促进胃癌细胞的凋亡。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌细胞; Fas相关蛋白1; 增殖; 凋亡

**核心提示:** Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)是新近发现的凋亡相关蛋白,在胃癌中特异性低表达。本课题组前期从组织学研究表明FAF1与胃癌的分化及生存预后具有重要的关系,但在细胞水平的作用尚不清楚,我们用慢病毒介导FAF1基因过表达转染人胃癌细胞HGC-27后,发现其能够改变胃癌细胞的周期分布,明显的促进细胞的凋亡及抑制细胞的增殖。

袁燕玲, 刘爱群, 冯洁, 陈佳玮, 葛莲英. 过表达FAF1对胃癌细胞HGC-27增殖及凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 17-23 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/17.asp>

DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.17>

## 0 引言

胃癌是人类第4大恶性肿瘤,其死亡率居世界第2位<sup>[1]</sup>. 其中50%的胃癌发生在东南亚国家尤其是中国、韩国、日本<sup>[2]</sup>. 2008年我国有35.2万例死于胃癌<sup>[3]</sup>. 研究胃癌发生发展的分子机制,对指导其预防和治疗十分重要. Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)是Fas死亡信号结合体(Fas-associated death domain protein, FADD)的成员之一<sup>[4]</sup>,能够增强Fas介导的细胞凋亡<sup>[5]</sup>,并且在胃癌组织中特异性低表达<sup>[6]</sup>,有可能是胃癌发生发展中的一个抑癌基因<sup>[7]</sup>. 本课题组前期从组织学研究表明FAF1 mRNA在胃癌组织中的表达水平明显低于正常组织,FAF1蛋白的阳性表达率随着肿瘤分化程度的降低,浸润深度的增加,伴有淋巴结转移和远处转移及TNM分期晚者明显减少,说明FAF1与胃癌细胞的分化及生存预后具有重要的关系,他可能作为一个抑癌基因参与胃癌的发生发展过程<sup>[8,9]</sup>. 目前的研究尚未见FAF1在胃癌细胞水平调控的报告,本研究通过观察过表达FAF1后胃癌细胞增殖、凋亡的变化,进一步在细胞水平上探讨FAF1与胃癌发生发展的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** HGC-27购自中南大学湘雅中心实验室,胎牛血清、RPMI 1640完全培养基为Hyclone公司产品,BCA蛋白检测试剂盒购自碧云天公司,FAF1抗体购自Abnova公司,小鼠抗人 $\beta$ -actin抗体购自CST公司,细胞周期检测试剂盒购自南京凯基生物科技发展有限公司,凋亡试剂盒购自eBioscienc公司,四甲基偶氮唑蓝(MTT)购自Amresco公司,FAF1过表达慢病毒颗粒和空载体慢病毒颗粒由上海吉凯基因化学技术有限公司负责设计、合成。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及慢病毒颗粒转染:** HGC-27细胞常规培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640完全培养基中,在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中常规培养.取对数生长期HGC-27细胞按2000/孔接种于96孔板中,用无抗生素的含10%胎牛血清的RPMI 1640完全培养基培养24 h后细胞融合度约30%,然后按照慢病毒使用说明书进行转染,慢病毒颗粒用量为10  $\mu$ L/孔,转染后12 h将培养液更换为含2.5  $\mu$ g/mL Polybrene的10%胎牛血清的



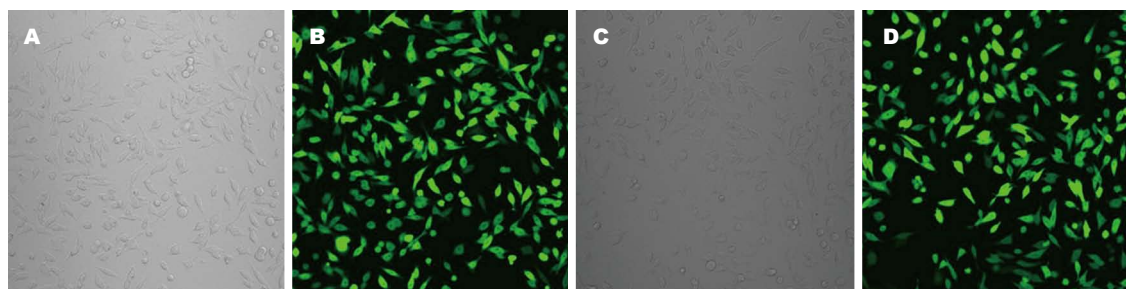


图1 细胞转染效率分析(×200). A: 空载转染组明视野; B: 空载转染组荧光视野; C: FAF1过表达组明视野; D: FAF1过表达组荧光视野. FAF1: Fas相关蛋白1.

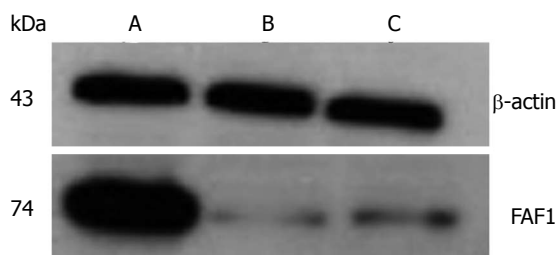


图2 Western blot检测转染后FAF1蛋白. A: 过表达FAF1组; B: 空载体转染组; C: 阴性对照组. FAF1: Fas相关蛋白1.

RPMI 1640完全培养基继续培养, 96 h后倒置显微镜下可见细胞出现绿色荧光, 扩大培养进行后续试验.

**1.2.2 激光共聚焦检测细胞转染效率:** 取对数生长期细胞, 制成单细胞悬液, 铺于35 mm<sup>2</sup>培养皿, 培养24 h后激光共聚焦显微镜观察细胞绿色荧光蛋白表达情况, 计算转染效率.

**1.2.3 Western blot检测FAF1蛋白的表达:** RIPA细胞裂解液抽提各组细胞总蛋白, BCA法定量. 作SDS-PAGE电泳, 分离胶浓度为10%, 电压100 V, 电泳90 min. 用电转仪将产物转移到PVDF膜上, 分别加入FAF1抗体(1:1000)及单克隆抗体β-actin(1:1000), 4℃孵育过夜, TBST充分洗膜后相应二抗(1:2000)室温孵育1 h, TBST洗膜后ECL化学发光检测蛋白质印迹, 将暗夹夹紧压片, 显影、定影、水冲洗胶片晾干后保存.

**1.2.4 透射电镜观察细胞超微结构改变:** 取对数生长期细胞, 用4℃预冷的PBS洗涤细胞2次后用2.5%戊二醛4℃固定过夜, 次日将固定的细胞团块送入电镜室制作成细胞切片, 在透射电镜下观察细胞超微结构.

**1.2.5 流式细胞术测细胞周期:** 收集对数生长期细胞, 用磷酸盐缓冲液洗涤细胞2次, 70%冰乙醇固定, 4℃过夜. 离心洗涤后, 加入100 μL RNase A 37℃水浴30 min, 再加入400 μL PI染色混匀, 4℃避光30 min. 流式细胞仪检测细胞周期分布,

记录激发波长488处红色荧光.

**1.2.6 流式细胞仪检测细胞的凋亡:** 取对数生长期细胞, 用不含EDTA的胰酶消化, 离心清洗3次后制成单细胞悬液, 取1×10<sup>6</sup>个细胞, 采用Annexin V/7-ADD法检测细胞凋亡.

**1.2.7 MTT法检测细胞增殖活性:** 将细胞以2×10<sup>3</sup>/孔密度接种于96孔培养板, 每组8孔, 于37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱培养. 到达观测时段时, 每孔加入5 mg/mL MTT 20 μL, 继续孵育4 h后, 弃上清液, 加DMSO 150 μL, 振荡10 min, 用酶标仪在492 nm波长下检测每孔的吸光度(A)值, 记录结果, 绘制生长曲线, 并且依据公式 $TD = t \times \lg 2 / \lg(Nt/N0)$  (Nt为t时间的细胞数, N0为初种细胞数)<sup>[10]</sup>计算细胞倍增时间.

**统计学处理** 采用SPSS16.0软件进行统计分析. 计量资料用mean±SD表示, 各组均数与标准差比较用独立样本t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 细胞转染效率测定** 根据镜下带绿色荧光的细胞数占细胞总数百分比, 计算转染效率均达到95%以上, 说明转染成功, 可进行后续试验(图1).

**2.2 FAF1蛋白水平测定** 在各组内参β-actin蛋白表达水平一致的同时, 过表达FAF1组FAF1蛋白表达量明显高于阴性对照组与空载体组, 而阴性对照组与空载体组之间FAF1蛋白表达无明显差异. 由此说明, 经慢病毒颗粒感染后, 细胞FAF1蛋白明显的过表达, 并且空载慢病毒对蛋白表达基本不影响(图2).

**2.3 细胞超微结构改变观察** 与两对照组相比, 实验组细胞体积变小, 细胞质固缩, 胞质电子致密度增高, 胞核裂解成碎片状, 沿核膜排列, 并且产生了数量不等, 体积不同的凋亡小体, 两对照

## ■相关报道

FAF1已经被证实, 在几种癌症中表达缺失或下调, 在胃癌组织中的低表达尤为明显, 其功能的缺失可以为某些肿瘤提供生存信号.

### ■创新盘点

通过慢病毒载体感染胃癌细胞成功过表达Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)后,验证了FAF1对胃癌细胞具有促凋亡作用,并且创新性的发现FAF1能够抑制细胞的生长,改变细胞周期的分布,但其具体机制尚不明确。我们将会在未来的研究中进一步探讨其可能的作用机制。

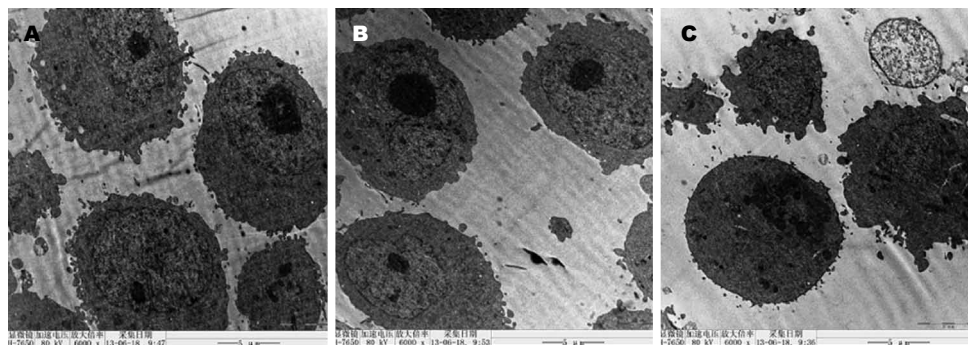


图3 细胞超微结构观察( $\times 6000$ )。A: 阴性对照组; B: 空载转染组; C: 过表达FAF1组。FAF1: Fas相关蛋白1。

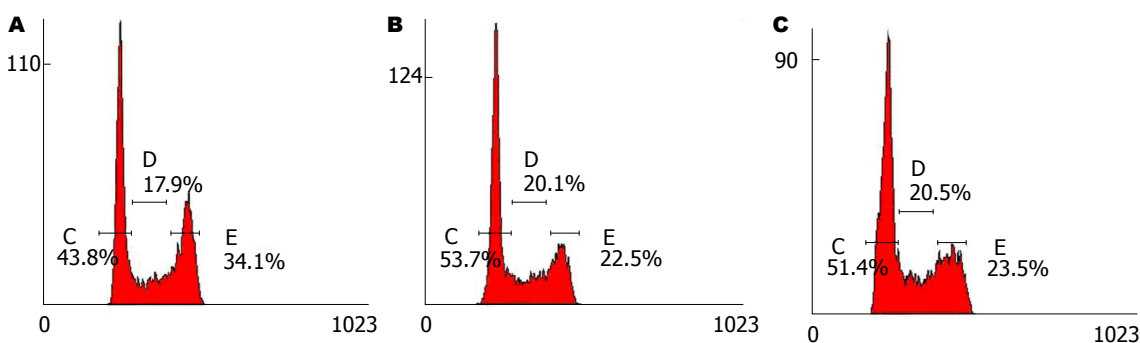


图4 细胞周期分析。A: 过表达FAF1组; B: 阴性对照组; C: 空载转染组。FAF1: Fas相关蛋白1。

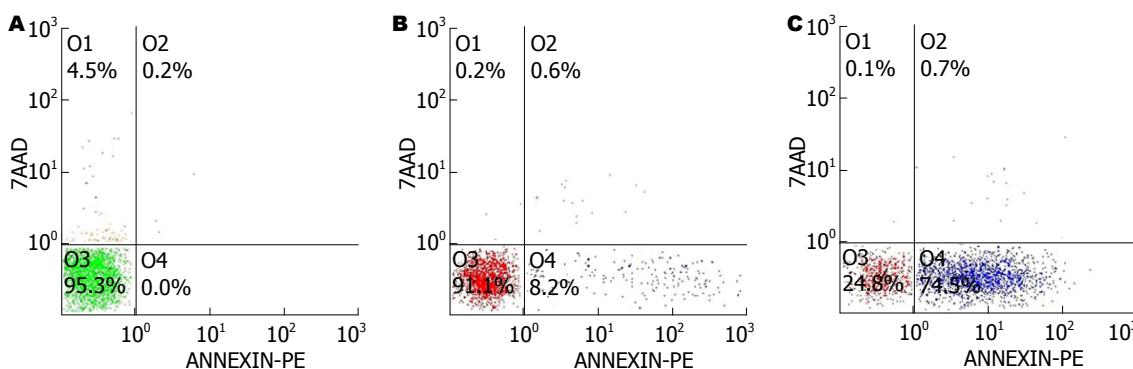


图5 细胞凋亡率分析。A: 阴性对照组; B: 空载转染组; C: 过表达FAF1组。FAF1: Fas相关蛋白1。

组超微结构无明显差异,细胞膜完整,细胞核正常(图3)。

**2.4 细胞周期分布测定** 流式细胞仪检测阴性对照组、空载转染组及过表达FAF1组细胞周期发现(图4),各组 $G_0/G_1$ 期比例分别为 $54.93\% \pm 3.5\%$ 、 $54\% \pm 0.3\%$ 、 $46.43\% \pm 2.43\%$ , $G_2/M$ 期比例分别为 $19.33\% \pm 3.82\%$ 、 $20.93\% \pm 2.46\%$ 、 $29.78\% \pm 3.91\%$ 。经统计学分析,过表达FAF1组 $G_0/G_1$ 期比例较其余两组下降( $P < 0.05$ ), $G_2/M$ 期比例较其余两组升高( $P < 0.05$ ),而阴性对照组与空载转染组相比差异无显著性,说明FAF1过表达后可阻滞胃癌细胞于 $G_2/M$ 期。

**2.5 细胞凋亡率的检测** 过表达FAF1组细胞凋亡率明显高于阴性对照组与空载转染组( $P < 0.05$ ),空载体转染与阴性对照组无明显差异(图5,图6),提示过表达FAF1能够促进细胞的凋亡。

**2.6 细胞生长速度的测定** 根据细胞培养5 d测得的吸光度值绘制生长曲线如图7所示,与阴性对照组和空载转染组相比;过表达FAF1组生长速度较慢,从第2天开始,每天的活细胞数目均少于另外两组( $P < 0.05$ ),阴性对照组、空载转染组,过表达FAF1组细胞倍增时间分别为26.64、23.52、45.12 h,表明FAF1表达升高后,细胞倍增时间明显延长,从而细胞生长速度减慢。

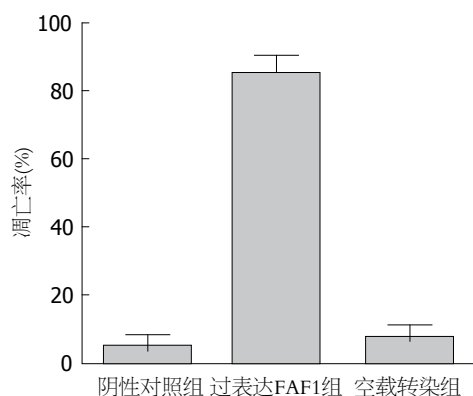


图6 凋亡率. FAF1: Fas相关蛋白1.

### 3 讨论

慢病毒载体是一种复制缺陷型逆转录病毒载体,对分裂细胞和非分裂细胞均具有感染能力,能够将肿瘤治疗基因安全高效地整合到人体内,使治疗基因长期、稳定、高效地表达,而不易诱发宿主免疫反应,是目前进行转基因和RNAi研究最好的工具之一<sup>[11]</sup>.

细胞增殖和凋亡的异常在胃癌的发病中起重要作用,已有大量相关研究的报道<sup>[12,13]</sup>.并且有研究表明,细胞的增殖,分化、衰老和凋亡均是细胞周期依赖性的,抑制肿瘤细胞周期蛋白的表达<sup>[14]</sup>.可以说细胞周期调节紊乱是恶性肿瘤细胞凋亡和增殖异常的重要原因,细胞周期的调控实际上就是对细胞周期调控点G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期、S期和G<sub>2</sub>/M期的调控,是以细胞周期蛋白的合成和降解为主的多因素参与过程<sup>[15]</sup>. FAF1已经被证实在这几种癌症中表达缺失或下调,在胃癌组织中的低表达尤为明显,其功能的缺失可以为某些肿瘤提供生存信号<sup>[6,16]</sup>.目前研究表明,FAF1可以促进细胞的凋亡,其机制可能为:(1)作为Fas死亡信号结合体的成员之一,增强Fas介导的细胞凋亡<sup>[5,17]</sup>; (2)FAF1氨基酸序列1到201为FAS死亡结构域绑定区域,181到381为类DED(death effect domains)区域,其作为Fas死亡诱导信号复合物的组成部分与FADD和Caspase8的DED相互作用,通过活化Caspase8后,随后出现Caspase家族的连锁反应(如Caspase3的活化),从而分解DNA促进细胞凋亡<sup>[4]</sup>; (3)FAF是细胞凋亡抑制剂CK2的调节亚单位之一,当受到DNA损伤时,FAF1与CK2全酶在细胞内形成复合物,抑制CK2从而诱导细胞的凋亡<sup>[18]</sup>; (4)FAF1的过表达会促进核浓缩,在缺乏外源信号的情况下,可以直接启动细胞凋亡<sup>[19]</sup>.

本研究中,我们成功用慢病毒颗粒感染

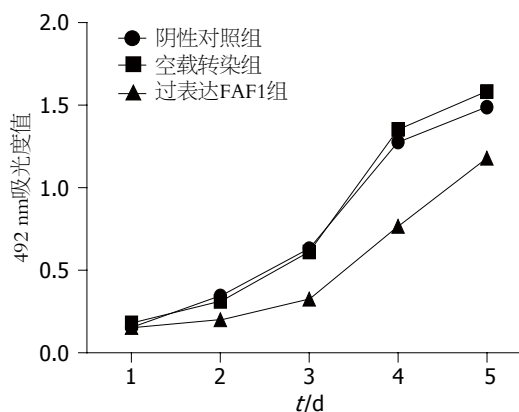


图7 细胞生长曲线. FAF1: Fas相关蛋白1.

HGC-27细胞,空载体组FAF1蛋白表达无明显改变,FAF1过表达组FAF1蛋白明显高表达,说明HGC-27过表达FAF1成功.结果表明,过表达FAF1后,胃癌细胞在形态学上呈现凋亡改变,凋亡率也明显的增加,进一步证实了FAF1促凋亡的作用,并且发现在没有FasL结合的情况下,FAF1过表达也能引起较为强烈的细胞凋亡,这可能与其过表达后活化Caspase8从而引起Caspase家族的级联反应有关<sup>[20]</sup>. MTT结果显示过表达FAF1后,细胞倍增时间延长,细胞增殖周期延长,生长速度减慢,说明FAF1能够抑制细胞的生长;FAF1过表达后,细胞周期的分布也发生改变,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞比例明显下降,G<sub>2</sub>/M期细胞比例明显增加,提示FAF1基因可使细胞周期重新分布,产生G<sub>2</sub>/M期阻滞. NF-κB是C-myc启动子的重要调节因子,他的激活有刺激细胞增殖的作用<sup>[21]</sup>,并且在多种肿瘤中活性是增强的<sup>[22,23]</sup>.有研究表明NF-κB活化后可以调节胃癌细胞产生一些促进细胞增殖的因子如粒细胞集落刺激因子等<sup>[24]</sup>,而FAF1能够抑制IκK复合物的激活和NF-κB P65亚基异位入核,从而抑制NF-κB活性<sup>[25]</sup>,我们猜想其能够抑制肿瘤细胞的增殖可能与此作用有关. G<sub>2</sub>/M期是细胞周期的两个检查点之一,是细胞增殖的重要阶段, G<sub>2</sub>/M期阻滞也是损伤DNA的修复期, DNA损伤在染色体分离前得不到修复,则退出增殖周期进入凋亡途径.因此,我们猜测FAF1产生G<sub>2</sub>/M期阻滞,抑制细胞增殖,可能与其促凋亡作用有关<sup>[26]</sup>.当然,FAF1参与G<sub>2</sub>/M期阻滞并与凋亡是否产生耦联及其机制,还需要进一步的研究.

Fas/FasL信号途径是细胞凋亡的核心途径之一<sup>[27]</sup>.而胃癌中FasL的表达是上调的,并且通过杀死Fas敏感的抗肿瘤免疫效应细胞来实现免

#### ■应用要点

用慢病毒颗粒感染HGC-27细胞,空载体组Fas相关蛋白1(Fas-associated factor 1, FAF1)表达无明显改变,FAF1过表达组FAF1蛋白明显高表达,说明HGC-27过表达FAF1成功,同时也证明慢病毒作为基因研究的载体具有低毒、高效的优点.



### ■同行评价

本文探讨了FAF1转染胃癌细胞系后发生的表型变化,发现FAF1可显著抑制细胞增殖、促进凋亡,对胃癌的恶性生物表型的机制研究有一定借鉴意义。

疫逃逸,同时抑制Fas介导的细胞凋亡<sup>[28,29]</sup>。Ohno等<sup>[30]</sup>的研究表明胃癌中自发性凋亡可作为独立的预后因素,而Fas表达阳性者较表达阴性者预后佳。FAF1作为Fas死亡信号结合体成员之一,能够通过多种途径促进细胞的凋亡,并且能够抑制细胞的增殖,深入研究其机制极有为胃癌的药物靶向治疗提供新的方向。

总之,本研究通过慢病毒载体感染胃癌细胞成功过表达FAF1后,验证了FAF1对胃癌细胞具有促凋亡作用,并且创新性的发现FAF1能够抑制细胞的生长,改变细胞周期的分布,但其具体机制尚不明确。我们将会在未来的研究中进一步探讨其可能的作用机制。

**志谢:** 感谢冯艳、沈筱芸等在实验过程中给予的帮助,谢谢!

### 4 参考文献

- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078]
- Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 代敏, 任建松, 李霓. 中国2008年肿瘤发病和死亡情况估计及预测. *中华流行病学杂志* 2012; 33: 57-61
- Ryu SW, Lee SJ, Park MY, Jun JL, Jung YK, Kim E. Fas-associated factor 1, FAF1, is a member of Fas death-inducing signaling complex. *J Biol Chem* 2003; 278: 24003-24010 [PMID: 12702723 DOI: 10.1074/jbc.M302200200]
- Chu K, Niu X, Williams LT. A Fas-associated protein factor, FAF1, potentiates Fas-mediated apoptosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 11894-11898 [PMID: 8524870]
- Björling-Poulsen M, Seitz G, Guerra B, Issinger OG. The pro-apoptotic FAS-associated factor 1 is specifically reduced in human gastric carcinomas. *Int J Oncol* 2003; 23: 1015-1023 [PMID: 12963981]
- Menges CW, Altomare DA, Testa JR. FAS-associated factor 1 (FAF1): diverse functions and implications for oncogenesis. *Cell Cycle* 2009; 8: 2528-2534 [PMID: 19597341 DOI: 10.4161/cc.8.16.9280]
- 刘爱群, 葛莲英, 罗小玲, 罗元, 林思彤. FAF1 mRNA在胃癌组织中的表达及其与幽门螺杆菌感染的相关性. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 2422-2426
- 刘爱群, 葛莲英, 邵红, 罗元, 林思彤. Fas相关因子1和Survivin在胃癌中的表达及其与患者预后的关系. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 21: 18
- 张良运, 凌晖, 苏琦, 宋颖, 梁晓秋. 二烯丙基二硫对人胃癌MGC803细胞生长的影响. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 1290-1293
- Cockrell AS, Kafri T. Gene delivery by lentivirus vectors. *Mol Biotechnol* 2007; 36: 184-204 [PMID: 17873406]
- Konturek PC, Kania J, Konturek JW, Nikiforuk A, Konturek SJ, Hahn EG. H. pylori infection, atrophic gastritis, cytokines, gastrin, COX-2, PPAR gamma and impaired apoptosis in gastric carcinogenesis. *Med Sci Monit* 2003; 9: SR53-SR66 [PMID: 12883469]
- Shiotani A, Iishi H, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Merchant JL. Epithelial cell turnover in relation to ongoing damage of the gastric mucosa in patients with early gastric cancer: increase of cell proliferation in paramalignant lesions. *J Gastroenterol* 2005; 40: 337-344 [PMID: 15870969 DOI: 10.1007/s00535-004-1549-9]
- Yu Q, Geng Y, Sicinski P. Specific protection against breast cancers by cyclin D1 ablation. *Nature* 2001; 411: 1017-1021 [PMID: 11429595 DOI: 10.1038/35082500]
- Obaya AJ, Sedivy JM. Regulation of cyclin-Cdk activity in mammalian cells. *Cell Mol Life Sci* 2002; 59: 126-142 [PMID: 11846025]
- MacDonald BT, Tamai K, He X. Wnt/beta-catenin signaling: components, mechanisms, and diseases. *Dev Cell* 2009; 17: 9-26 [PMID: 19619488 DOI: 10.1016/j.devcel.2009.06.016]
- Kim HJ, Song EJ, Lee YS, Kim E, Lee KJ. Human Fas-associated factor 1 interacts with heat shock protein 70 and negatively regulates chaperone activity. *J Biol Chem* 2005; 280: 8125-8133 [PMID: 15596450 DOI: 10.1074/jbc.M406297200]
- Park MY, Ryu SW, Kim KD, Lim JS, Lee ZW, Kim E. Fas-associated factor-1 mediates chemotherapeutic-induced apoptosis via death effector filament formation. *Int J Cancer* 2005; 115: 412-418 [PMID: 15688372 DOI: 10.1002/ijc.20857]
- Fraser AG, Kamath RS, Zipperlen P, Martinez-Campos M, Sohrmann M, Ahringer J. Functional genomic analysis of *C. elegans* chromosome I by systematic RNA interference. *Nature* 2000; 408: 325-330 [PMID: 11099033 DOI: 10.1038/35042517]
- 赵瑞杰, 李引乾, 王会, 王广彬, 娜日苏, 金大鹏, 关伟军, 马月辉. Caspase家族与细胞凋亡的关系. *中国畜牧杂志* 2010; 17: 73-78
- 崔嵩, 刘学锋, 吴斌. NF-κB在肿瘤中的研究进展. *现代肿瘤医学* 2009; 17: 134-137
- Dolcet X, Llobet D, Pallares J, Matias-Guiu X. NF-κB in development and progression of human cancer. *Virchows Arch* 2005; 446: 475-482 [PMID: 15856292 DOI: 10.1007/s00428-005-1264-9]
- Shin SR, Sánchez-Velaz N, Sherr DH, Sonenshein GE. 7,12-dimethylbenz(a)anthracene treatment of a c-rel mouse mammary tumor cell line induces epithelial to mesenchymal transition via activation of nuclear factor-kappaB. *Cancer Res* 2006; 66: 2570-2575 [PMID: 16510574 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-3056]
- 刘静, 刘冰熔, 刘婷, 刘静, 刘婷. NF-κB与胃癌的靶向治疗研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 181-186
- Park MY, Jang HD, Lee SY, Lee KJ, Kim E. Fas-associated factor-1 inhibits nuclear factor-kappaB (NF-kappaB) activity by interfering with nuclear translocation of the RelA (p65) subunit of NF-kappaB. *J Biol Chem* 2004; 279: 2544-2549 [PMID: 14600157 DOI: 10.1074/jbc.M304565200]
- 赵卫红, 寿好长. G2-M期阻滞与肿瘤. *国外医学: 肿瘤学分册* 1999; 26: 76-78
- 魏芳, 汪森明. 凋亡与自噬分子机制在肿瘤方面的研究进展. *实用医学杂志* 2012; 28: 850-852
- Bennett MW, O'connell J, O'sullivan GC, Roche D, Brady C, Kelly J, Collins JK, Shanahan F. Expression of Fas ligand by human gastric adenocarcinomas: a potential mechanism of immune escape in stomach

- cancer. *Gut* 1999; 44: 156-162 [PMID: 9895372 DOI: 10.1136/gut.44.2.156]
- 29 Osaki M, Kase S, Kodani I, Watanabe M, Adachi H, Ito H. Expression of Fas and Fas ligand in human gastric adenomas and intestinal-type carcinomas: correlation with proliferation and apoptosis. *Gastric Cancer* 2001; 4: 198-205 [PMID: 11846063]
- 30 Ohno S, Tachibana M, Shibakita M, Dhar DK, Yoshimura H, Kinugasa S, Kubota H, Masunaga R, Nagasue N. Prognostic significance of Fas and Fas ligand system-associated apoptosis in gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 750-757 [PMID: 11129423]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与术后辅助化疗预后的关系

王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎

## ■背景资料

结肠癌的治疗上首选手术, 但因其存在高转移、高复发的风险, 故术后辅助化疗起至关重要作用。通过对76例结肠癌组织标本中ERCC1、TS蛋白表达的检测, 探讨分子标志物联合检测在预测结肠癌术后辅助化疗疗效及预后中作用。

王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤科 江苏省宜兴市 214200

王维民, 硕士研究生, 主治医师, 主要从事恶性肿瘤的综合治疗。

作者贡献分布: 主要数据分析与文章起草由王维民完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理由王维民、邓建良、顾贤成、汤月华及张国强完成; 免疫组织化学分析与评分由王维民与邓建良完成; 课题设计、文章修改及审阅由周炎完成。

通讯作者: 周炎, 主任医师, 214200, 江苏省宜兴市通贞观路75号, 江苏大学附属宜兴医院肿瘤科。dryzhou@163.com

电话: 0510-87921000 传真: 0510-87921110

收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-11-08

接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2014-01-08

## ERCC1 and TS expression and prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy

Wei-Min Wang, Jian-Liang Deng, Xian-Cheng Gu, Yue-Hua Tang, Guo-Qiang Zhang, Yan Zhou

Wei-Min Wang, Jian-Liang Deng, Xian-Cheng Gu, Yue-Hua Tang, Guo-Qiang Zhang, Yan Zhou, Department of Oncology, Yixing Hospital Affiliated to Jiangsu University, Yixing 214200, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yan Zhou, Chief Physician, Department of Oncology, Yixing Hospital Affiliated to Jiangsu University, 75 Tongzhenguan Road, Yixing 214200, Jiangsu Province, China. dryzhou@163.com

Received: 2013-10-14 Revised: 2013-11-08

Accepted: 2013-11-20 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To explore the relationship between excision repair cross-complementing group 1 (ERCC1) expression, thymidylate synthase (TS) expression and the prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy.

**METHODS:** Seventy-six patients who were diagnosed with colon cancer for the first time were enrolled in our study. All the patients received radical operation, were pathologically diagnosed with stage II or III disease, accepted FOLFOX4 (L-OHP+5-Fu+CF) chemotherapy and were followed at least 3 years. Immunohistochemistry was used to detect ERCC1 and TS expression levels in colon cancer. The relationship between

the expression of ERCC1 and TS and postoperative survival was analyzed retrospectively.

**RESULTS:** The positive expression rates of ERCC1 and TS in colon cancer were 36.8% and 43.4%, respectively. There were a negative correlation between the positive expression of ERCC1 and TS and tumor differentiation ( $P = 0.019$  and  $0.024$ ). The median survival time was significantly longer in patients with negative ERCC1 expression than in those with positive expression ( $P < 0.05$ ), and in patients with negative TS expression than in those with positive expression ( $P < 0.05$ ). Cox multivariate regression analysis revealed that patients with positive ERCC1 and TS expression did not benefit from chemotherapy (HR = 3.50, 95%CI: 1.59-7.73,  $P = 0.002$ ; HR = 0.52, 95%CI: 0.35-0.87,  $P = 0.010$ ).

**CONCLUSION:** ERCC1 and TS may be biomarkers for predicting the prognosis of colon cancer patients receiving chemotherapy.

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

**Key Words:** Colon cancer; ERCC1; TS; Adjuvant chemotherapy; Prognosis

Wang WM, Deng JL, Gu XC, Tang YH, Zhang GQ, Zhou Y. ERCC1 and TS expression and prognosis in colon cancer after postoperative adjuvant chemotherapy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 24-30 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/24.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.24>

## 摘要

**目的:** 探讨结肠癌术后患者切除修复交叉互补基因1(excision repair cross-complementing group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)表达与术后辅助化疗预后的关系。

**方法:** 选取76例初次诊断为结肠癌、行结肠癌根治术、术后病理诊断为II、III期的患者;

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科



所有患者术后均采用FOLFOX4(L-OHP+5-Fu+CF)辅助化疗方案, 并进行3年以上随访。运用免疫组织化学方法检测患者癌组织中核苷酸ERCC1、TS蛋白表达。回顾性分析结肠癌患者组织中ERCC1、TS表达与术后辅助化疗预后的关系。

**结果:** 76例结肠癌患者组织中ERCC1和TS的阳性表达率分别为36.8%和43.4%。ERCC1和TS阳性表达率与患者肿瘤的分化程度存在负相关。P值分别为0.019和0.024。ERCC1阴性表达者中位无病生存期(33.08 mo)明显长于阳性表达者(27.86 mo), 两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。TS阴性表达者中位无病生存期(32.74 mo)明显长于阳性表达者(29.09 mo), 两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。多因素Cox回归分析表明, ERCC1、TS阳性患者术后辅助化疗预后差(HR = 3.50, 95%CI: 1.59-7.73,  $P = 0.002$ ; HR = 0.52, 95%CI: 0.35-0.87,  $P = 0.010$ )。

**结论:** ERCC1与TS表达水平可以作为预测结肠癌术后辅助化疗预测的分子标志物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结肠癌; ERCC1; TS; 辅助化疗; 预后

**核心提示:** 分析结肠癌患者组织中切除修复交叉互补基因1(exsicion repair cross-complementing group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)表达与FOLFOX4术后辅助化疗预后的关系。ERCC1阴性表达者中位生存期(33.08 mo)明显长于阳性表达者(27.86 mo)。TS阴性表达者中位生存期(32.74 mo)明显长于阳性表达者(29.09 mo), 比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。多因素Cox回归分析表明, ERCC1、TS阳性患者术后辅助化疗预后差。

王维民, 邓建良, 顾贤成, 汤月华, 张国强, 周炎. ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与术后辅助化疗预后的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 24-30 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/24.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.24>

## 0 引言

结肠癌是最常见的消化系统肿瘤之一<sup>[1]</sup>。其发病情况有显著的地区性差异。高发区主要集中在北美等发达国家<sup>[2,3]</sup>。我国尚处于低发区<sup>[4,5]</sup>。但是近几年来, 随着经济的发展, 人们的生活方式尤其是饮食结构的变化, 结肠癌已经成为我国发病

率上升最快的恶性肿瘤之一, 严重威胁着国人的生命和健康<sup>[6-8]</sup>。

结肠癌的治疗上首选根治性手术<sup>[9]</sup>。但因其存在高转移、高复发的风险, 故术后辅助化疗在肠癌的综合治疗中起至关重要作用<sup>[10-12]</sup>。根据NCCN指南, 奥沙利铂(L-OHP)与氟脲嘧啶类联合的FOLFOX6(L-OHP+5-Fu+CF)方案已成为结肠癌术后的标准化疗方案。其疗效亦得到肯定。但仍存在相当一部分患者术后易复发或转移<sup>[13-15]</sup>。为了能更有效的提高术后辅助化疗疗效, 我们通过对76例结肠癌术后患者的组织标本中核苷酸切除修复交叉互补基因1(exsicion repair cross-complementing group 1, ERCC1)、胸苷酸合成酶(thymidylate synthase, TS)蛋白表达的检测, 分析他们与临床病理特征的关系, 并探讨分子标志物联合检测在预测结肠癌术后辅助化疗疗效及预后中的作用, 为结肠癌的个体化治疗提供临床依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 76例标本取自江苏大学附属宜兴医院2006-01/2009-12手术治疗的结肠癌患者。均经病理证实为结肠癌患者。其中男45例, 女31例, 年龄31-72岁。中位年龄52岁。按1997年国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control, UICC)TNM标准进行分期: II期36例, III期40例。术后患者均应用FOLFOX4方案(奥沙利铂130 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注d1; 亚叶酸钙200 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注d1-d2; 5-氟尿嘧啶400 mg/m<sup>2</sup>, 静脉推注d1-d2; 5-氟尿嘧啶600 mg/m<sup>2</sup>, 静脉持续滴注d1-d2)。每2周重复, 至少完成6个周期的化疗。化疗后通过上门或电话的方式进行随访。直至患者死亡。若末次随访仍然存活则定为截尾值。随访截止时间2012-12。鼠抗人ERCC1、TS单克隆抗体购自Santa Cruz生物工程公司。二步法免疫组织化学试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司。石蜡切片机及漂片处理仪、图文分析系统为日本莱卡公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 实验:** 标本用4%甲醛固定, 石蜡包埋, 常规切片, 厚度4 μm。采用二步法免疫组织化学检测结肠癌组织ERCC1、TS蛋白的表达。常规脱蜡、水化后进行预处理。3%H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>室温培育10 min。蒸馏水洗3次, 每次2 min。分别滴加1:100稀释的抗ERCC1、TS单克隆抗体。室温培育20 min, DAB显色, 苏木精对比染色、脱水, 二甲苯透明,

**■ 研发前沿**  
探讨结肠癌术后患者ERCC1、TS表达与术后辅助化疗预后的关系。

## ■相关报道

陈建等研究发现 ERCC1-C8092A 位点为 A/A 或 A/C 型, TS-5'UTR 位点为 2R2R、2R3C 或 3C3C 型的晚期食管癌患者对顺铂联合 5-氟尿嘧啶治疗方案更为敏感。

表 1 ERCC1 蛋白表达与临床特征的关系  $n(\%)$ 

临床病理特征	$n$	ERCC1		$P$ 值
		阴性表达	阳性表达	
性别				0.235
男	45	31(68.89)	14(31.11)	
女	31	17(54.84)	14(45.16)	
年龄(岁)				0.348
$\geq 52$	41	28(68.29)	13(31.71)	
$< 52$	35	20(57.14)	15(42.86)	
病理类型				1.000
管状腺癌	40	25(62.5)	15(37.50)	
粘液腺癌/印戒细胞癌	15	10(66.67)	5(33.33)	
乳头状腺癌	21	13(61.90)	8(38.10)	
分化程度				0.019
高分化	23	5(21.8)	18(78.3)	
中分化	19	8(42.1)	11(57.9)	
低分化	34	20(58.8)	14(41.2)	
浸润程度				1.000
T1+T2	17	11(64.71)	6(35.29)	
T3+T4	59	37(62.71)	22(37.29)	
淋巴结转移				0.887
N0	26	17(65.38)	9(34.62)	
N1	30	19(63.33)	11(36.67)	
N2	20	14(70.00)	6(30.00)	
TNM分期				0.808
II 期	26	17(65.38)	9(34.62)	
III 期	50	31(62.00)	19(38.00)	

ERCC1: 切除修复交叉互补基因1.

中性树脂封固, 显微镜下观察.

1.2.2 免疫组织化学结果判断标准: ERCC1、TS 蛋白阳性染色者均在细胞核和/或细胞浆呈棕黄色沉着. 在光镜下(400倍视野)计算1000个肿瘤细胞中阳性细胞数. 阴性: 不表达或阳性细胞数  $< 10\%$ ; 阳性: 视野中阳性细胞数  $\geq 10\%$ . 病理结果由2位病理科医生在无法获知临床资料及预后的情况下独立阅片判定.

**统计学处理** 采用STATA10.0统计软件进行统计学分析. 定性资料比较采用Fisher确切概率法. 总体生存分析采用Kaplan-Meier生存曲线表示. 生存率的比较采用Log-rank检验. 影响因素分析采用Cox多因素回归模型. 检验水准  $\alpha = 0.05$  双侧,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义.

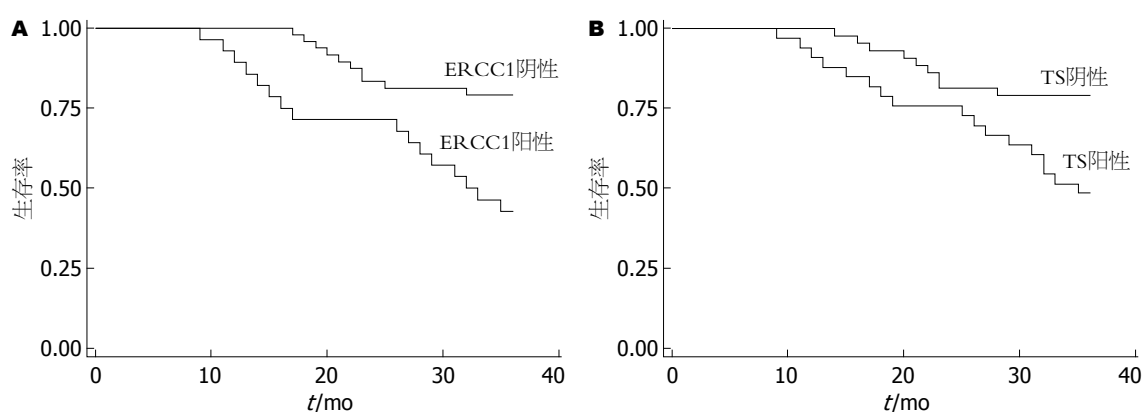
## 2 结果

2.1 ERCC1、TS在结肠癌组织中的表达及与临床特征的关系 76例结肠癌患者中, ERCC1蛋白阳性28例(36.8%). 阴性48例(63.2%); TS蛋白阳

性33例(43.4%). 阴性43例(56.6%). ERCC1、TS 蛋白表达与患者临床分期、年龄、性别均无明显相关性( $P > 0.05$ , 表1, 2). 但两者表达均随着肿瘤的分化程度降低而明显增高( $P < 0.05$ ).

2.2 ERCC1蛋白表达与生存期之间的关系 ERCC1 阴性表达者中位无病生存期(median disease-free survival, DFS)为33.08 mo(95%CI: 31.39-34.78). 而ERCC1阳性表达者DFS为27.86 mo(95%CI: 24.26-31.45). 两组间的差异有统计学意义. Kaplan-Meier生存曲线显示: ERCC1阴性表达者3年生存期优于阳性表达者, 差异有统计学意义( $P = 0.0009 < 0.01$ , 图1A). 多因素Cox回归模型分析表明, ERCC1阳性肠癌患者预后较差( $HR = 3.50$ , 95%CI: 1.59-7.73). 且分化程度越高的患者, 预后越好( $HR = 0.42$ , 95%CI: 0.23-0.76)(表3).

2.3 TS蛋白表达与生存期之间的关系 TS阴性表达者中位无病生存期(DFS)为32.74 mo(95%CI: 30.77-34.71). 而TS阳性表达者DFS为29.09 mo(95%CI: 25.99-32.19), 两组间的差异有统



■创新盘点  
首次提出ERCC1、TS表达水平与结肠癌术后化疗方案-FOLFOX4疗效的关系, 提高结肠癌术后化疗的有效率, 延长其总生存期。

图 1 ERCC1、TS蛋白表达与生存期之间的关系. A: ERCC1蛋白表达与生存期之间的关系; B: TS蛋白表达与生存期之间的关系. ERCC1: 切除修复交叉互补基因1; TS: 胸苷酸合成酶。

表 2 TS蛋白表达与临床特征的关系  $n(\%)$

临床病理特征	$n$	TS		$P$ 值
		阴性表达	阳性表达	
性别				0.250
男	45	28(62.22)	17(37.78)	
女	31	15(48.39)	16(51.61)	
年龄(岁)				1.000
$\geq 52$	41	23(56.10)	18(43.90)	
$< 52$	35	20(57.14)	15(42.86)	
病理类型				0.266
管状腺癌	40	20(50.00)	20(50.00)	
粘液腺癌/印戒细胞癌	15	8(53.33)	7(46.67)	
乳头状腺癌	21	15(71.43)	6(28.57)	
分化程度				0.024
高分化	23	4(17.4)	19(82.6)	
中分化	19	6(31.6)	13(68.4)	
低分化	34	18(52.9)	16(47.1)	
浸润程度				0.786
T1+T2	17	9(52.94)	8(47.06)	
T3+T4	59	34(57.63)	24(42.37)	
淋巴结转移				0.940
N0	26	15(57.69)	11(42.31)	
N1	30	18(60.00)	12(40.00)	
N2	20	11(55.00)	9(45.00)	
TNM分期				0.841
II 期	26	15(57.69)	11(42.31)	
III 期	50	36(60.00)	24(40.00)	

TS: 胸苷酸合成酶。

计学意义. Kaplan-Meier生存曲线显示: TS蛋白阴性表达者3年生存期优于阳性表达者, 差异有统计学意义( $P = 0.0070 < 0.01$ , 图1B)。

多因素Cox回归模型分析表明, TS阳性肠癌患者预后较差( $HR = 2.89$ , 95%CI: 1.29-6.50)。且分化程度越高的患者, 预后越好( $HR = 0.52$ , 95%CI:

0.35-0.87)(表3)。

### 3 讨论

ERCC1定位于19号染色体上, 是核苷酸切除修复(nucleotide excision repair, NER)活性的标志性基因<sup>[16,17]</sup>。NER是修复DNA损伤的最



## ■应用要点

ERCC1与TS表达水平可以作为预测结肠癌术后辅助化疗预测的分子标志物。

表 3 结肠癌患者癌组织中ERCC1、TS表达与临床病理资料变量单因素Cox回归分析 ( $n = 76$ )

变量	ERCC1		TS	
	HR (95%CI)	P值	HR (95%CI)	P值
年龄 ( $\leq 52$ vs $> 52$ )	0.90(0.41–1.94)	0.780	0.99(0.46–2.15)	0.987
性别 (男 vs 女)	1.68(0.74–3.80)	0.216	1.59(0.71–3.60)	0.263
浸润深度(T1/T2 vs T3/T4)	1.40(0.59–3.32)	0.451	1.42(0.60–3.38)	0.431
淋巴结转移(N0 vs N1/N2/N3)	1.05(0.47–2.33)	0.906	1.37(0.58–3.27)	0.476
TNM 分期 (III vs II)	2.10(0.93–4.77)	0.076	1.34(0.59–3.03)	0.479
组织类型	0.81(0.46–1.43)	0.475	0.94(0.52–1.69)	0.835
分化程度	0.42(0.23–0.76)	0.004	0.52(0.35–0.87)	0.032
ERCC1(阳性 vs 阴性)	3.50(1.59–7.73)	0.002	2.89(1.29–6.50)	0.010

ERCC1: 切除修复交叉互补基因1; TS: 胸苷酸合成酶。

主要途径,也是修复草酸铂所致的DNA伤的最主要途径。ERCC1与XPF/ERCC4形成异二聚体而发挥功能,参与DNA链的切割和损伤识别,能修复紫外线、多种化学物质所造成的损伤。是细胞存活必须的DNA修复基因<sup>[17,18]</sup>。

已有临床试验证实ERCC1在细胞水平和临床上,是一个好的奥沙利铂敏感性的标志物<sup>[19]</sup>。Kim等<sup>[20]</sup>通过免疫组织化学法检测64例进展期胃癌患者组织中ERCC1、TS和GSTP1的表达,发现ERCC1阳性对FOLFOX方案化疗的敏感性显著低于阴性患者( $P = 0.045$ )。ERCC1是标志肿瘤患者预后和铂类化疗的重要指标,在肿瘤治疗中具有重要作用<sup>[21,22]</sup>。

TS是胸苷酸合成的限速酶,他的功能是催化尿嘧啶脱氧核苷(dUMP)甲基化为胸腺嘧啶脱氧核苷(dTMP)。在dTMP生成过程中,TS先与dUMP及5,10-甲酰四氢叶酸(CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub>)形成三联复合物,然后通过甲基化、解离、释放TS、dTMP及FH<sub>2</sub>等步骤,最终合成DNA。5-FU进入体内被活化成氟尿嘧啶脱氧核苷酸(FdUMP),FdUMP替代dUMP与TS及CH<sub>2</sub>FH<sub>4</sub>形成之三联复合物不易解离,则抑制TS,不能合成dTMP,也就不能合成肿瘤细胞DNA,从而发挥抗肿瘤作用<sup>[22]</sup>。TS蛋白过表达将使FdUMP不能完全抑制TS的作用,诱发肿瘤细胞对5-FU产生耐药<sup>[23-26]</sup>,因此,TS是5-FU化疗敏感性的标志基因<sup>[23,27,28]</sup>。

Yeh等<sup>[29]</sup>发现胃癌TS表达水平与5-Fu的疗效呈负相关。Temminck等<sup>[30]</sup>对几种对5-Fu继发性耐药的人类H630结肠癌细胞株H630-RI、H630-R10和H630-R与其父系H630细胞株进行对比研究,发现各耐药细胞株对5-FU的耐药性

明显增加,细胞中TS水平也明显增加,不但说明TS水平高的肿瘤对5-FU的敏感性差,而且说明细胞持续暴露于5-FU也可以使细胞内TS基因突变导致基因扩增及蛋白的过度表达,从而引起对5-Fu的继发性耐药。

我们课题组应用免疫组织化学技术检测结肠癌术后患者的ERCC1、TS蛋白表达水平。结果显示: ERCC1蛋白在结肠癌组织中的阳性表达率高达36.8%, TS蛋白在结肠癌组织中的阳性表达率高达43.4%,两者随肿瘤的分化程度降低而明显增高( $P < 0.05$ )。ERCC1、TS蛋白低表达较高表达的结肠癌术后患者应用FOLFOX4方案化疗可获得生存受益( $P < 0.01$ )。

本研究初步表明, ERCC1蛋白表达可以预测结肠癌患者对铂类化疗的敏感性; TS蛋白表达可以预测5-FU化疗药物的敏感性; 两者联合运用可以预测FOLFOX4方案的有效率,可为结肠癌术后患者的个体化治疗提供临床理论依据。

## 4 参考文献

- 1 Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 739-750 [PMID: 19240699 DOI: 10.1038/ajg.2009.104]
- 2 Center MM, Jemal A, Ward E. International trends in colorectal cancer incidence rates. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1688-1694 [PMID: 19505900 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0090]
- 3 Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, Meade TW. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* 2010; 376: 1741-1750 [PMID: 20970847 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61543-7]
- 4 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/

- caac.20107]
- 5 Jemal A, Center MM, DeSantis C, Ward EM. Global patterns of cancer incidence and mortality rates and trends. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1893-1907 [PMID: 20647400 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0437]
  - 6 Xiong F, Wu C, Bi X, Yu D, Huang L, Xu J, Zhang T, Zhai K, Chang J, Tan W, Cai J, Lin D. Risk of genome-wide association study-identified genetic variants for colorectal cancer in a Chinese population. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 1855-1861 [PMID: 20530476 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-10-0210]
  - 7 Xu AG, Yu ZJ, Jiang B, Wang XY, Zhong XH, Liu JH, Lou QY, Gan AH. Colorectal cancer in Guangdong Province of China: a demographic and anatomic survey. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 960-965 [PMID: 20180234]
  - 8 Yang G, Zheng W, Xiang YB, Gao J, Li HL, Zhang X, Gao YT, Shu XO. Green tea consumption and colorectal cancer risk: a report from the Shanghai Men's Health Study. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1684-1688 [PMID: 21856996 DOI: 10.1093/carcin/bgr186]
  - 9 Jayne DG, Thorpe HC, Copeland J, Quirke P, Brown JM, Guillou PJ. Five-year follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of laparoscopically assisted versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg* 2010; 97: 1638-1645 [PMID: 20629110 DOI: 10.1002/bjs.7160]
  - 10 Lombardi L, Morelli F, Cinieri S, Santini D, Silvestris N, Fazio N, Orlando L, Tonini G, Colucci G, Maiello E. Adjuvant colon cancer chemotherapy: where we are and where we'll go. *Cancer Treat Rev* 2010; 36 Suppl 3: S34-S41 [PMID: 21129608 DOI: 10.1016/S0305-7372(10)70018-9]
  - 11 Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, D'Haens G, Pintér T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C, Tejpar S, Schlichting M, Nippgen J, Rougier P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408-1417 [PMID: 19339720 DOI: 10.1056/NEJMoa0805019]
  - 12 Tol J, Koopman M, Cats A, Rodenburg CJ, Creemers GJ, Schrama JG, Erdkamp FL, Vos AH, van Groenigen CJ, Sinnige HA, Richel DJ, Voest EE, Dijkstra JR, Vink-Börger ME, Antonini NF, Mol L, van Krieken JH, Dalesio O, Punt CJ. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 563-572 [PMID: 19196673 DOI: 10.1056/NEJMoa0808268]
  - 13 Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jasssem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Wolf M, Gansert J. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4697-4705 [PMID: 20921465 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.4860]
  - 14 Bertolini F, Malavasi N, Scarabelli L, Fiocchi F, Bagni B, Del Giovane C, Colucci G, Gerunda GE, Depenni R, Zironi S, Fontana A, Pettorelli E, Luppi G, Conte PF. FOLFOX6 and bevacizumab in non-optimally resectable liver metastases from colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 104: 1079-1084 [PMID: 21386839 DOI: 10.1038/bjc.2011.43]
  - 15 Peeters M, Price TJ, Cervantes A, Sobrero AF, Ducreux M, Hotko Y, André T, Chan E, Lordick F, Punt CJ, Strickland AH, Wilson G, Ciuleanu TE, Roman L, Van Cutsem E, Tzekova V, Collins S, Oliner KS, Rong A, Gansert J. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4706-4713 [PMID: 20921462 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.6055]
  - 16 Sertic S, Pizzi S, Lazzaro F, Plevani P, Muzi-Falconi M. NER and DDR: classical music with new instruments. *Cell Cycle* 2012; 11: 668-674 [PMID: 22373527 DOI: 10.4161/cc.11.4.19117]
  - 17 Bohanes P, Labonte MJ, Lenz HJ. A review of excision repair cross-complementation group 1 in colorectal cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2011; 10: 157-164 [PMID: 21855036 DOI: 10.1016/j.clcc.2011.03.024]
  - 18 Ciccio A, Elledge SJ. The DNA damage response: making it safe to play with knives. *Mol Cell* 2010; 40: 179-204 [PMID: 20965415 DOI: 10.1016/j.molcel.2010.09.019]
  - 19 Li P, Fang YJ, Li F, Ou QJ, Chen G, Ma G. ERCC1, defective mismatch repair status as predictive biomarkers of survival for stage III colon cancer patients receiving oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy. *Br J Cancer* 2013; 108: 1238-1244 [PMID: 23481186 DOI: 10.1038/bjc.2013.83]
  - 20 Kim KH, Kwon HC, Oh SY, Kim SH, Lee S, Kwon KA, Jang JS, Kim MC, Kim SJ, Kim HJ. Clinicopathologic significance of ERCC1, thymidylate synthase and glutathione S-transferase P1 expression for advanced gastric cancer patients receiving adjuvant 5-FU and cisplatin chemotherapy. *Biomarkers* 2011; 16: 74-82 [PMID: 21133646 DOI: 10.3109/1354750X.2010.533284]
  - 21 Li HY, Ge X, Huang GM, Li KY, Zhao JQ, Yu XM, Bi WS, Wang YL. GSTP1, ERCC1 and ERCC2 polymorphisms, expression and clinical outcome of oxaliplatin-based adjuvant chemotherapy in colorectal cancer in Chinese population. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3465-3469 [PMID: 22994779]
  - 22 Kim SH, Kwon HC, Oh SY, Lee DM, Lee S, Lee JH, Roh MS, Kim DC, Park KJ, Choi HJ, Kim HJ. Prognostic value of ERCC1, thymidylate synthase, and glutathione S-transferase pi for 5-FU/oxaliplatin chemotherapy in advanced colorectal cancer. *Am J Clin Oncol* 2009; 32: 38-43 [PMID: 19194123 DOI: 10.1097/COC.0b013e31817be58e]
  - 23 Subbarayan PR, Lee K, Ardan B. Arsenic trioxide suppresses thymidylate synthase in 5-FU-resistant colorectal cancer cell line HT29 In Vitro re-sensitizing cells to 5-FU. *Anticancer Res* 2010; 30: 1157-1162 [PMID: 20530422]
  - 24 Ozasa H, Oguri T, Uemura T, Miyazaki M, Maeno K, Sato S, Ueda R. Significance of thymidylate synthase for resistance to pemetrexed in lung cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 161-166 [PMID: 19811498 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01358.x]
  - 25 Ceppi P, Rapa I, Lo Iacono M, Righi L, Giorcelli J, Pautasso M, Billè A, Ardisson F, Papotti M, Scagliotti GV. Expression and pharmacological

## 同行评价

文章的内容对结肠癌术后个体化化疗方案选择提供了充足的有意义的信息。研究具有一定的新颖性。

- inhibition of thymidylate synthase and Src kinase in nonsmall cell lung cancer. *Int J Cancer* 2012; 130: 1777-1786 [PMID: 21618517 DOI: 10.1002/ijc.26188]
- 26 Lee KH, Hur HS, Im SA, Lee J, Kim HP, Yoon YK, Han SW, Song SH, Oh DY, Kim TY, Bang YJ. RAD001 shows activity against gastric cancer cells and overcomes 5-FU resistance by downregulating thymidylate synthase. *Cancer Lett* 2010; 299: 22-28 [PMID: 20727673 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.07.020]
- 27 Liu G, Hu X, Chakrabarty S. Vitamin D mediates its action in human colon carcinoma cells in a calcium-sensing receptor-dependent manner: downregulates malignant cell behavior and the expression of thymidylate synthase and survivin and promotes cellular sensitivity to 5-FU. *Int J Cancer* 2010; 126: 631-639 [PMID: 19621386 DOI: 10.1002/ijc.24762]
- 28 Kadota K, Huang CL, Liu D, Yokomise H, Haba R, Wada H. Combined therapy with a thymidylate synthase-inhibiting vector and S-1 has effective antitumor activity against 5-FU-resistant tumors. *Int J Oncol* 2011; 38: 355-363 [PMID: 21174056 DOI: 10.3892/ijo.2010.880]
- 29 Yeh CN, Jung SM, Chen TW, Hwang TL, Jan YY, Chen MF. Expression of thymidylate synthase determines the response of gastric cancer patients undergoing gastrectomy to 5-fluorouracil-based adjuvant chemotherapy. *Langenbecks Arch Surg* 2010; 395: 217-225 [PMID: 20012317 DOI: 10.1007/s00423-009-0573-x]
- 30 Temmink OH, Bijnsdorp IV, Prins HJ, Losekoot N, Adema AD, Smid K, Honeywell RJ, Ylstra B, Eijk PP, Fukushima M, Peters GJ. Trifluorothymidine resistance is associated with decreased thymidine kinase and equilibrative nucleoside transporter expression or increased secretory phospholipase A2. *Mol Cancer Ther* 2010; 9: 1047-1057 [PMID: 20371715 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-09-0932]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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



# HER2在胃癌靶向治疗中的作用及意义

毛必静, 张志敏, 陈川, 王东, 王阁

毛必静, 张志敏, 陈川, 王阁, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院野战外科研究所大坪医院放疗中心 重庆市 400042

王东, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院野战外科研究所大坪医院肿瘤中心 重庆市 400042

毛必静, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究.

作者贡献分布: 本文综述由毛必静完成; 张志敏、陈川及王东完善相关文献查阅; 王阁审核.

通讯作者: 王阁, 教授, 主任医师, 400042, 重庆市渝中区大坪长江支路10号, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院野战外科研究所大坪医院放疗中心. wangge70@hotmail.com

电话: 023-68757171

收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-11-10

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

## Significance and role of HER2 in targeted therapy of gastric cancer

Bi-Jing Mao, Zhi-Min Zhang, Chuan Chen, Dong Wang, Ge Wang

Bi-Jing Mao, Zhi-Min Zhang, Chuan Chen, Ge Wang, Department of Radiotherapy, Research Institute of Surgery & Daping Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

Dong Wang, Department of Oncology, Research Institute of Surgery & Daping Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Third Military Medical University, Chongqing 400042, China

Correspondence to: Ge Wang, Professor, Chief Physician, Department of Radiotherapy, Research Institute of Surgery & Daping Hospital, the Third Affiliated Hospital of the Third Military Medical University, 10 Daping Changjiang Zhilu, Yuzhong District, Chongqing 400042, China. wangge70@hotmail.com

Received: 2013-09-23 Revised: 2013-11-10

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

## Abstract

With the development of tumor molecular biology, the mechanisms responsible for metastasis and the proliferation and growth of tumor cells have become unmasking, which makes cancer treatment enter into a new era. HER2 is over-expressed or mutated in many kinds of tumors and have been associated with many malignant tumors, typically including advanced gastric and gastroesophageal junction cancer. The ToGA study is a milestone in the treatment of gastric cancer, which established the position of trastuzumab in the treatment of HER2-positive

gastric cancer. In this review, we discuss the biological characteristics of HER2 and its role in the treatment of gastric cancer, the application prospects of trastuzumab in the treatment of gastric cancer, and the Chinese experts' consensus statement on targeted therapies for advanced gastric cancer. We also summarize the latest advances in basic and clinical research of HER2 positive gastric cancer. All in all, HER2 has nothing to do with the prognosis of gastric cancer. The combination of target-therapies may become a promising weapon for treatment of gastric cancer.

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

Key Words: Gastric carcinoma; Human epidermal growth factor receptor 2; Trastuzumab; Targeted therapy; Pathogenesis

Mao BJ, Zhang ZM, Chen C, Wang D, Wang G. Significance and role of HER2 in targeted therapy of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 31-38 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/31.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.31>

## 摘要

随着肿瘤分子生物学的发展, 肿瘤细胞增殖和转移过程中信号通路作用机制研究的不断深入, 使肿瘤治疗进入全新的时代. 表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)过表达和/或突变与许多肿瘤相关, 其中典型的就晚期胃癌及胃食管交界癌. ToGA研究是胃癌治疗的一个里程碑, 他确立了曲妥珠单抗在胃癌HER2阳性患者的治疗地位. 本文总结HER2的生物学特性及在胃癌组织和血清中的表达和意义; 归纳曲妥珠单抗在HER2阳性胃癌的应用前景及晚期胃癌靶向治疗的中国专家共识; 概述关于HER2阳性胃癌最新的基础和临床研究状况. 总之, HER2与胃癌的预后无关, 各靶向治疗的有效联合很可能成为今后治疗的方向.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 胃癌; 人类表皮生长因子受2; 曲妥珠单抗;

## ■背景资料

随着胃癌的分子生物学的发展、分子病理学研究的深入发展, 胃癌的靶向治疗、化疗联合靶向治疗以及各靶向的有效联合治疗已逐渐成为今后主要的发展方向.

## ■同行评议者

俞继卫, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外科(胃肠外科)

## ■研发前沿

研究的热点转为发现新的胃癌预后靶标;以及曲妥珠单抗耐药的机制和如何解决其耐药的问题。同时,对于治疗后疾病进展是否仍继续使用分子靶向药以及术前予曲妥珠单抗化疗是否获益也亟待解决。

## 靶向治疗;发病机制

**核心提示:** 本文提出表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2)不能作为胃癌预后的因子,今后研究的热点将转为发现新的胃癌预后靶标以及曲妥珠单抗耐药的机制和如何解决其耐药的问题。同时指出胃癌未来的靶向治疗方向更倾向于多元化。

毛必静, 张志敏, 陈川, 王东, 王阔. HER2在胃癌靶向治疗中的作用及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 31-38 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/31.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.31>

## 0 引言

胃癌是世界上癌症相关性死亡的第2大因素,极大地危害人类的健康。全球胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第2位<sup>[1]</sup>。对于早期胃癌,手术切除是主要治疗手段;但大多数患者在确诊时分期偏晚,则失去了手术机会,生存率极低。但随着对肿瘤发生机制的不断研究以及对肿瘤的信号转导通路研究的不断深入,肿瘤的治疗进入了一个崭新的靶向治疗时代。表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, HER2)胃癌中高表达,与胃癌的发生发展关系密切,可能成为胃癌预后不良的一个标志物,同时也为胃癌的治疗提供一个新靶点,使部分进展期患者有了新的希望;临床上希望通过该基因的检测,能从分子靶向治疗中有所获益,这对于实现胃癌个体化治疗具有良好的应用前景。现就HER2和一些重大的基础及临床试验在HER2阳性胃癌中的应用前景进行综述,以便更好地指导晚期胃癌未来的治疗方向。

## 1 HER2的生物学特性、在胃癌中的表达及预后关系

HER2是表皮生长因子受体家族的成员,表皮生长因子及其受体分别于1962年与1978年被发现<sup>[2]</sup>,该家族由4个不同受体组成:HER1(表皮生长因子或ErbB-1)、HER2(ErbB-2或HER-2/neu)、HER3(ErbB-3)和HER4(ErbB-4)。他们都具有相同的结构,有一个胞外配体结合域,一个螺旋型的跨膜部分和一个胞内酪氨酸激酶域。当配体和受体相互作用后会导致二聚体和异二聚体的形成,可以激活其下游的两个主要信号转导途径:丝裂原活化蛋白激酶和磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶途径<sup>[3]</sup>。前者主要参与细胞

的有丝分裂,后者主要影响细胞的存活和凋亡。HER2是表皮生长因子受体家族的成员之一,定位于人染色体17q21,编码一种相对分子质量为185的跨膜糖蛋白,早期研究表明<sup>[4-6]</sup>,HER2在多种组织中都有表达,如:乳腺、胃肠、肾脏和心脏。他在这些组织中的主要作用就是促进细胞的增殖和抑制凋亡,在正常情况下处于非激活状态,当受到体内某些因素作用后被激活,具有肿瘤转化活性<sup>[7-10]</sup>,最终导致肿瘤的复发和转移。

HER2在很多种肿瘤中都有表达,例如:乳腺癌、卵巢癌、前列腺癌和非小细胞肺癌<sup>[11,12]</sup>。而HER2在胃癌中表达具有其自身特异性。在1986年,Sakai等<sup>[13]</sup>就首次报道了HER2在胃癌患者中有高表达;后又有文献报道,胃癌存在HER2基因扩增或过表达的比例为7%-34%<sup>[14-16]</sup>。并且,HER2的表达与胃癌组织学类型及原发部位也有密切关系,肠型胃癌的HER2阳性表达率明显高于弥漫型胃癌;而且,原发于胃食管连接部的胃癌,其HER2的阳性表达率比原发于胃部的胃癌高。寸英丽等<sup>[17]</sup>研究发现,HER2在胃癌组织中的表达最高,其次为癌周围组织。以上大多数研究均关注于HER2在胃癌组织中的表达,而未对HER2在血清中的表达做相关研究。其实,早在2007年,Kushlinskii等<sup>[18]</sup>就得出结论,HER2在乳腺癌组织中的表达与血清中的表达具有相关性。Narita等<sup>[19]</sup>对日本的胃癌患者其HER2在血清中的表达做了相关研究,研究共纳入105例胃癌患者,于手术前采集血清,结果显示:血清中HER2表达较高的见于分期较早的胃癌,这一结果与之前在乳腺癌中的研究结果相反,表明在胃癌中,T分期能影响HER2的血清学表达,而N分期则对其未产生影响。研究还指出,在入组的患者中,HER2的组织表达阳性率为6.7%,且所有HER2阳性的肿瘤组织均为高分化;血清HER2水平在高分化肿瘤中明显升高,与HER2在组织中的表达具有一致性。这一研究虽然表明了HER2在组织中与血清中表达的关系,但为了进一步评价其可能的临床意义,进行一些更大规模的临床实验是必不可少的。

HER2在胃癌的研究如火如荼,其根本原因是关注HER2的状态与患者预后的关系。很多的研究致力于评估HER2状态与胃癌患者的预后关系<sup>[20-30]</sup>。一些研究表明HER2阳性与预后不良有关;而一些研究则表明HER2状态与预后没有关系。Park等<sup>[28]</sup>研究入组了182例胃癌术后患

者, 结果显示, HER2状态为过表达和扩增者的患者, 其5年生存率明显低于阴性者。而复旦大学上海癌症中心的研究者们对中国胃癌患者的HER2状态做了一个回顾性的分析以及与预后的评价研究<sup>[31]</sup>。该研究是一个涉及上海、北京、广东和四川的多中心研究, 实验共纳入726例患者, HER2阳性率为13%(91/726), 且无论其运用的检测方法[免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)或荧光原位杂交(fluorescence *in situ* hybridization, FISH)和双色银染原位杂交(dual chromogen visualization with silver *in situ* hybridization, DSISH)], 在4个不同地区, HER2的检测状态没有统计学上得差异。同时, IHC和FISH检测以及FISH和DSISH检测的一致性较高。研究表明, 与之前研究结果<sup>[14,32,33]</sup>相似, HER2阳性多见于肠型、高-中分化、胃食管连接部胃癌以及男性; 与年龄、淋巴结转移情况、病理分期没有统计学上的差异。HER2阳性患者与阴性患者3年生存期无统计学差异。结果表明, HER2不是胃癌的一个预后指标, 其过表达并不影响预后。Barros-Silva等<sup>[34]</sup>也报道了HER2基因扩增与性别、年龄、淋巴结转移、临床分期和手术类型无明显关联。另外, 关于HER2状态对于放化疗是否有影响也进行了一些临床实验。在SWOG9008临床实验中<sup>[35]</sup>, 通过FISH检测, HER2基因扩增率为10.9%, 研究显示, HER2基因扩增的患者不能从放化疗中得到生存获益, 反之, HER2基因无扩增或无过表达的患者能从放化疗中获益。MAGIC<sup>[36]</sup>临床实验研究表明, 对于术前行ECF方案化疗是否获益, HER2不是一个临床有用的生物指标; 同时, 他也不是早期胃食管连接部胃癌的预测指标。可见, 目前HER2过度表达或扩增能否作为独立的预后判断因素仍有争议。这一争议存在的原因可能在于检查方法及客观标准的不一致。在ToGA试验中, 研究者评价了用IHC和FISH检测胃癌组织中HER2的状态。HER2阳性定义为IHC3<sup>+</sup>或者FISH阳性<sup>[21]</sup>, 值得注意的是HER2的表达不同主要是在原发肿瘤的部位和组织类型<sup>[37]</sup>。基于此结果, 美国和日本曲妥珠单抗被授予运用于HER2阳性的胃癌的标准是IHC3<sup>+</sup>或者FISH阳性; 在欧洲则是IHC3<sup>+</sup>或者IHC2<sup>+</sup>和FISH阳性<sup>[38]</sup>。在中国, 其专家共识指出: 对拟接受曲妥珠单抗治疗的胃癌患者, 必须进行HER2表达状态的检查。当IHC结果为2(+)时, 需行FISH检测明确HER2基因扩增情况, 以辅助判断HER2状态。即首选IHC进行检

测, 当IHC结果为2(+)时, 再予FISH检测; 当IHC结果为0或3(+)时均不需要再行FISH检测。

## 2 靶向药物-曲妥珠单抗对胃癌的治疗

曲妥珠单抗(trastuzumab, herceptin, 赫赛汀)是1998年美国FDA批准上市的第一种重组DNA衍生的人源化mAb(单克隆抗体), 通过与HER2受体特异性结合影响生长信号的传递, 他还可以下调血管内皮生长因子和其他血管生长因子活性, 其抗肿瘤机制主要为两方面: (1)通过阻断信号通路直接抑制肿瘤细胞增殖, 并激活肿瘤细胞凋亡信号; (2)通过抗体依赖性细胞介导的细胞毒性(ADCC效应)杀灭肿瘤细胞<sup>[39]</sup>。ToGA为一项前瞻性的III期临床实验研究<sup>[15]</sup>, 他是第一个证明靶向治疗能延长晚期胃癌患者生存期的国际多中心随机对照III期临床研究。其目的是评价曲妥珠单抗联合标准的氟尿嘧啶或希罗达+顺铂一线治疗HER2阳性晚期胃癌的疗效, 其主要的观测终点是总生存期, 次要终点是无进展生存期、进展时间、有效率和生活质量。该临床实验共纳入3803例晚期胃癌患者, 从中筛选594例随机接受共计6个周期的曲妥珠单抗(首剂8 mg/kg, 维持剂量6 mg/kg, 3 wk/1次), 联合标准化疗方案(卡培他滨加顺铂或静脉注射氟尿嘧啶+顺铂)或标准化疗。与单纯化疗组相比, 曲妥珠单抗联合化疗降低了HER2阳性晚期胃癌患者26%的死亡风险, 总生存期延长了2.7 mo, 客观有效率从35%提高到47%( $P = 0.0017$ )。在2009年和2010年ASCO GI<sup>[40,41]</sup>会议上, 分别报告了曲妥珠单抗联合化疗治疗晚期胃癌患者其疗效及生活质量评估的结果。ToGA研究的意义在于第1次证实曲妥珠单抗联合化疗可改善HER2阳性晚期胃癌患者的生存, 使患者的生存时间达到13.5 mo, 因通常晚期胃癌的平均生存时间仅10-12 mo; 同时使客观有效率提高了12%, 故该研究是胃癌治疗的一项里程碑, 其确立了曲妥珠单抗在胃癌中的治疗地位, 使其成为HER2阳性患者的重要治疗药物。中国也参与了此项国际多中心研究, 沈琳等我国研究学者针对中国患者人群进行了亚组分析。结果显示与ToGA研究总分析结果一致; 但与日本亚组数据比较其中位生存时间有较大差异, 分析其原因为患者的疾病特征和后续治疗的不同。

针对HER2阳性晚期胃癌分子靶向治疗, 中国专家也提出了共识: 曲妥珠单抗用于晚期胃癌二线治疗尚无明确的临床依据, 但鉴于在一

### ■相关报道

西班牙和德国正进行曲妥珠单抗作为HER2阳性胃癌术前化疗的临床实验; 日本对治疗后是否继续使用曲妥珠单抗的研究也在进行。目前评估帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗和化疗治疗HER2阳性转移性胃癌或胃食管连接部癌的研究也在进行中。



## ■创新盘点

HER2不能作为胃癌预后的因子,但仍是胃癌靶向治疗的一个靶点。同时该综述将目前最新的基础研究与临床研究进行分析、讨论及总结,提出未来胃癌的靶向治疗更倾向于多元化。

线治疗中的证据及晚期胃癌二线治疗的获益,且NCCN胃癌指南也推荐了该方案用于胃癌二线的治疗。目前,可尝试将曲妥珠单抗用于HER2过表达且既往未接受过抗HER2分子靶向治疗的晚期胃癌患者的二线治疗,但需与患者充分沟通,并获取知情同意。

目前,尽管在晚期胃癌的治疗方面取得了一些进展,但仍然面临一些挑战:一方面,对于治疗后疾病进展是否仍继续使用分子靶向药物尚无定论。近年来一些研究已在乳腺癌和结直肠癌中得到证实继续使用分子靶向药物能够获益<sup>[42-47]</sup>。这些研究结果对于胃癌治疗后疾病进展能继续使用曲妥珠单抗可能是一个曙光。目前日本对这方面的研究已经在进行之中<sup>[48,49]</sup>。另一方面,术前予以曲妥珠单抗化疗是否获益尚未明确。对于结直肠癌肝转移患者,很多临床研究已表明在术前化疗对比单纯手术或术后化疗能获益<sup>[50]</sup>。Cunningham等<sup>[51]</sup>报道对比单纯手术,术前给予表柔比星+顺铂+氟尿嘧啶化疗能减少胃癌肿瘤大小、降期以及改善无疾病生存期和总生存。一些个案报道表明术前化疗给予曲妥珠单抗对胃癌患者有所获益<sup>[52,53]</sup>。现有报道,西班牙和德国正进行评价曲妥珠单抗作为HER2阳性胃癌术前化疗<sup>[54]</sup>的临床实验。

## 3 新药及其应用前景

基于人们对HER2在胃癌中的意义的认识 and 了解,一些其他的抗HER2的分子靶向药物也陆续问世,其中包括拉帕替尼<sup>[55,56]</sup>和帕妥珠单抗。拉帕替尼是一种口服的小分子表皮生长因子酪氨酸激酶抑制剂,其进入细胞内部可同时阻断EGFR和HER2两个靶点,通过蛋白激酶和丝裂原活化蛋白激酶旁途径诱导胃癌细胞在G<sub>1</sub>期停滞。可见拉帕替尼理论上应有更好的疗效,但其II期临床试验数据并不十分理想。2011年发表在*Annals of Oncology*上的<sup>[57]</sup>评估拉帕替尼作为一线单药治疗47例晚期和转移性胃癌患者的疗效一文,其主要目的是评价其反应率,其次为生存时间、毒性反应。研究结果显示:只有4例患者(占9%)有确定的部分反应,1例患者(占2%)有未确定的部分反应,10例患者(占23%)病情稳定,平均治疗失败时间为1.9 mo,总体生存期较短(4.8 mo)。在2013年ASCO年会中,徐农教授口头评价了拉帕替尼联合XELOX方案(卡培他滨、奥沙利铂)在HER2阳性的不可切除局部晚期或转移性胃癌、食管及胃连接部腺癌中的作用,

指出拉帕替尼与化疗联合没有带来有统计学意义的OS获益,同时拉帕替尼组的腹泻和皮肤毒性反而更高。总之,拉帕替尼的作用似乎不敌赫赛汀。发表在*Molecular Cancer Therapeutics*上的一篇来自美国学者的研究<sup>[58]</sup>表明,HER2基因扩增的胃癌细胞对拉帕替尼耐药的原因可能与肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)/MET调节有密切关系;同时,有学者指出也可能与拉帕替尼在不同患者中的代谢和生物利用度存在差别有关;以及与HER2的二次突变、下游KRAS突变和PTEN的丢失有关。然而,在今年的*Gastric Cancer*上日本的研究学者发表了一项关于拉帕替尼针对曲妥珠单抗耐药的HER2阳性胃癌的基础研究<sup>[59]</sup>,结果表明对曲妥珠单抗抵抗的胃癌细胞对拉帕替尼仍有敏感性,拉帕替尼对这类胃癌细胞具有抗肿瘤作用,其机制为拉帕替尼可使细胞周期停滞在G<sub>1</sub>期;并通过PI3K/Akt和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)信号通路的阻断来诱导肿瘤细胞的凋亡。该研究结果为拉帕替尼对HER2阳性的曲妥珠单抗耐药的胃癌患者带来了临床治疗的希望。上述的这些研究表明,拉帕替尼对于HER2阳性的胃癌患者的治疗仍然是存在争议的,但值得注意的是,拉帕替尼在亚洲人群和年龄<60岁的患者中可能获益;而且对HER2高表达和白介素-8(interleukin-8, IL-8)低表达的患者使用拉帕替尼,其缓解率和生存可能获益。因此,对于拉帕替尼能否更多的带来生存获益,这一点还是值得进一步研究的。

帕妥珠单抗(Pertuzumab, 也被称作2C4)是第一个被称作“HER二聚化抑制剂”的单克隆抗体。他通过结合HER2,阻滞HER2与其他HER受体的杂二聚,从而减缓了肿瘤的生长。因其与曲妥珠单抗的不同点是其抑制配体诱导的二聚化而不依赖HER2表达水平,提示可能受益的人群更广。目前虽尚无帕妥珠单抗治疗胃癌的临床报道,但在基础研究中,帕妥珠单抗已开始崭露头角。发表在*Clinical Cancer Research*上的关于帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗能增强对HER2阳性的胃癌异种移植模型抗癌疗效<sup>[60]</sup>一文,其可能的机制是通过抑制细胞生长、促进肿瘤细胞凋亡和ADCC效应从而增强对HER2过表达的胃癌的细胞的抗肿瘤效应。目前一项双盲、安慰剂对照随机III期临床研究JACOB正在进行,目的在评估帕妥珠单抗联合曲妥珠单抗和化疗治疗HER2阳性转移性胃癌或胃食管连

接部癌的有效性和安全性. 其主要终点为总生存, 次要终点为无疾病进展期、目标应答率、应答持续时间、临床获益率、安全性、药物代谢动力学特征以及患者报告的结局. 期待帕妥珠单抗用于胃癌治疗将可能给胃癌患者带来更多的新希望.

#### 4 结论

胃癌是位居全世界第4位的常见恶性肿瘤, 在肿瘤相关死因中位居第2位. 据报道约60%的胃癌位于亚洲, 而中国就占了42%. 尽管ToGA临床实验确立了曲妥珠单抗在胃癌中的治疗地位, 给胃癌患者带来了一线希望, 但不可否认的HER2在胃癌中的过表达仅为20%左右, 并且即使HER2表达阳性, 大部分患者在应用曲妥珠单抗后也会出现耐药. 同时从1991年开始HER2是否作为胃癌预后因子一直存在争议, 2009年至今, 包括美国、欧洲和亚洲的(共5869例患者)11项研究表明HER2的状态与胃癌预后无关, HER2仅仅只与临床的一些参数有密切关系, 如: 肿瘤浸润深度、复发、远处转移等. 因此, 研究的热点转为发现其他新的胃癌预后因子和靶标; 以及曲妥珠单抗耐药的机制和如何解决胃癌曲妥珠单抗耐药的问题. 研究表明, KRAS、黏蛋白-2、PIK3CA、波形蛋白、胰岛素样生长因子1受体、长链非编码RNA HOTAIR、微卫星不稳定性幽门螺杆菌的状态均与胃癌患者生存预后以及治疗是否有效相关. 肿瘤的信号通路并不是单一、简单的上下游通路; 他是一个相互交错且纷繁复杂的网络系统. 因此, 对于曲妥珠单抗耐药的原因可能与胃癌异质性有关; 也可能由于曲妥珠单抗的长期作用, HER2受体出现敏感性降低、断裂、减少, 甚至另辟蹊径, 从其他的信号通路走行. 可见, 今后胃癌的靶向治疗更倾向于多元化. GRANITE-1研究表明依维莫司用于胃癌的二线和三线治疗延长了PFS, 但没有提高总的生存时间. 热休克蛋白90抑制剂与曲妥珠单抗联合作为二线治疗, 用于一线曲妥珠单抗治疗后进展的二期临床研究正在进行中. MET抑制剂与HER2靶向药物联合可能会在临床上带来获益. 总之, HER2虽然不能作为胃癌预后的因子, 但是他仍然是胃癌靶向治疗的一个靶标. 同时, 鉴于胃癌的异质性, 我们应更加关注中国人群的特殊性; 各种分子靶向药物的有效联合很有可能成为今后胃癌分子靶向治疗的方向.

#### 5 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Gschwind A, Fischer OM, Ullrich A. The discovery of receptor tyrosine kinases: targets for cancer therapy. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 361-370 [PMID: 15122207 DOI: 10.1038/nrc1360]
- 3 Shepard HM, Brdlik CM, Schreiber H. Signal integration: a framework for understanding the efficacy of therapeutics targeting the human EGFR family. *J Clin Invest* 2008; 118: 3574-3581 [PMID: 18982164 DOI: 10.1172/JCI36049]
- 4 Coussens L, Yang-Feng TL, Liao YC, Chen E, Gray A, McGrath J, Seeburg PH, Libermann TA, Schlessinger J, Francke U. Tyrosine kinase receptor with extensive homology to EGF receptor shares chromosomal location with neu oncogene. *Science* 1985; 230: 1132-1139 [PMID: 2999974 DOI: 10.1126/science.2999974]
- 5 Olayioye MA. Update on HER-2 as a target for cancer therapy: intracellular signaling pathways of ErbB2/HER-2 and family members. *Breast Cancer Res* 2001; 3: 385-389 [PMID: 11737890 DOI: 10.1186/bcr327]
- 6 Yamamoto T, Ikawa S, Akiyama T, Semba K, Nomura N, Miyajima N, Saito T, Toyoshima K. Similarity of protein encoded by the human c-erb-B-2 gene to epidermal growth factor receptor. *Nature* 1986; 319: 230-234 [PMID: 3003577 DOI: 10.1038/319230a0]
- 7 Sirica AE. Role of ErbB family receptor tyrosine kinases in intrahepatic cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 7033-7058 [PMID: 19084911 DOI: 10.3748/wjg.14.7033]
- 8 Neve RM, Lane HA, Hynes NE. The role of overexpressed HER2 in transformation. *Ann Oncol* 2001; 12 Suppl 1: S9-13 [PMID: 11521729 DOI: 10.1093/annonc/12.suppl\_1.S9]
- 9 Ménard S, Pupa SM, Campiglio M, Tagliabue E. Biologic and therapeutic role of HER2 in cancer. *Oncogene* 2003; 22: 6570-6578 [PMID: 14528282 DOI: 10.1038/sj.onc.1206779]
- 10 Rubin I, Yarden Y. The basic biology of HER2. *Ann Oncol* 2001; 12 Suppl 1: S3-S8 [PMID: 11521719 DOI: 10.1093/annonc/12.suppl\_1.S3]
- 11 Tai W, Mahato R, Cheng K. The role of HER2 in cancer therapy and targeted drug delivery. *J Control Release* 2010; 146: 264-275 [PMID: 20385184 DOI: 10.1016/j.jconrel.2010.04.009]
- 12 Yoshino I, Goedegebuure PS, Peoples GE, Parikh AS, DiMaio JM, Lysterly HK, Gazdar AF, Eberlein TJ. HER2/neu-derived peptides are shared antigens among human non-small cell lung cancer and ovarian cancer. *Cancer Res* 1994; 54: 3387-3390 [PMID: 7912166]
- 13 Sakai K, Mori S, Kawamoto T, Taniguchi S, Kobori O, Morioka Y, Kuroki T, Kano K. Expression of epidermal growth factor receptors on normal human gastric epithelia and gastric carcinomas. *J Natl Cancer Inst* 1986; 77: 1047-1052 [PMID: 3464796]
- 14 Grabsch H, Sivakumar S, Gray S, Gabbert HE, Müller W. HER2 expression in gastric cancer: Rare, heterogeneous and of no prognostic value - conclu-

#### ■应用要点

本综述系统阐述了针对HER2阳性的晚期胃癌的基本理论、重大临床实验; 以及最新的基础及大型临床研究, 提出了胃癌靶向治疗未来的方向.

# 同行评价

本文全面、系统地对HER2阳性晚期胃癌的靶向治疗进行了阐述,提出了一些重大、较新的临床研究报道;并指出了今后研究的热点、亟待解决的一些问题;提出未来的胃癌靶向治疗方向。

- sions from 924 cases of two independent series. *Cell Oncol* 2010; 32: 57-65 [PMID: 20208134 DOI: 10.3233/CLO-2009-0497]
- 15 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- 16 Matsubara J, Yamada Y, Hirashima Y, Takahari D, Okita NT, Kato K, Hamaguchi T, Shirao K, Shimada Y, Shimoda T. Impact of insulin-like growth factor type 1 receptor, epidermal growth factor receptor, and HER2 expressions on outcomes of patients with gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3022-3029 [PMID: 18483367 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1898]
- 17 寸英丽, 查勇. 胃癌组织中HER2蛋白的表达变化及意义. *山东医药* 2011; 51: 72-73
- 18 Kushlinskii NE, Shirokii VP, Gershtein ES, Yermilova VD, Chemeris GY, Letyagin VP. Soluble fragment of HER2/neu receptor in the serum of patients with breast cancer with different levels of this protein expression in the tumor. *Bull Exp Biol Med* 2007; 143: 449-451 [PMID: 18214297 DOI: 10.1007/s10517-007-0153-4]
- 19 Narita T, Seshimo A, Suzuki M, Murata J, Kameoka S. Status of Tissue Expression and Serum Levels of HER2 in Gastric Cancer Patients in Japan. *Hepato-gastroenterology* 2013 Jan 16. [Epub ahead of print] [PMID: 23321006 DOI: 10.5754/hge121022]
- 20 Dang HZ, Yu Y, Jiao SC. Prognosis of HER2 over-expressing gastric cancer patients with liver metastasis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2402-2407 [PMID: 22654433 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2402]
- 21 Gómez-Martin C, Garralda E, Echarri MJ, Ballesteros A, Arcediano A, Rodríguez-Peralto JL, Hidalgo M, López-Ríos F. HER2/neu testing for anti-HER2-based therapies in patients with unresectable and/or metastatic gastric cancer. *J Clin Pathol* 2012; 65: 751-757 [PMID: 22569536 DOI: 10.1136/jclinpath-2012-200774.]
- 22 Janjigian YY, Werner D, Pauligk C, Steinmetz K, Kelsen DP, Jäger E, Altmannsberger HM, Robinson E, Tafe LJ, Tang LH, Shah MA, Al-Batran SE. Prognosis of metastatic gastric and gastroesophageal junction cancer by HER2 status: a European and USA International collaborative analysis. *Ann Oncol* 2012; 23: 2656-2662 [PMID: 22689179 DOI: 10.1093/annonc/mds104.]
- 23 Jørgensen JT, Hersom M. HER2 as a prognostic marker in gastric cancer - a systematic analysis of data from the literature. *J Cancer* 2012; 3: 137-144 [PMID: 22481979 DOI: 10.7150/jca.4090]
- 24 Kataoka Y, Okabe H, Yoshizawa A, Minamiguchi S, Yoshimura K, Haga H, Sakai Y. HER2 expression and its clinicopathological features in resectable gastric cancer. *Gastric Cancer* 2013; 16: 84-93 [PMID: 22410801 DOI: 10.1007/s10120-012-0150-9]
- 25 Kim JW, Im SA, Kim M, Cha Y, Lee KH, Keam B, Kim MA, Han SW, Oh DY, Kim TY, Kim WH, Bang YJ. The prognostic significance of HER2 positivity for advanced gastric cancer patients undergoing first-line modified FOLFOX-6 regimen. *Anticancer Res* 2012; 32: 1547-1553 [PMID: 22493400]
- 26 Phillips BE, Tubbs RR, Rice TW, Rybicki LA, Plesec T, Rodriguez CP, Videtic GM, Saxton JP, Ives DI, Adelstein DJ. Clinicopathologic features and treatment outcomes of patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive adenocarcinoma of the esophagus and gastroesophageal junction. *Dis Esophagus* 2013; 26: 299-304 [PMID: 22676551 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2012.01369.x.]
- 27 Shitara K, Yatabe Y, Matsuo K, Sugano M, Kondo C, Takahari D, Ura T, Tajika M, Ito S, Muro K. Prognosis of patients with advanced gastric cancer by HER2 status and trastuzumab treatment. *Gastric Cancer* 2013; 16: 261-267 [PMID: 22797858 DOI: 10.1007/s10120-012-0179-9.]
- 28 Park DI, Yun JW, Park JH, Oh SJ, Kim HJ, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI, Yoo CH, Son BH, Cho EY, Chae SW, Kim EJ, Sohn JH, Ryu SH, Sepulveda AR. HER-2/neu amplification is an independent prognostic factor in gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1371-1379 [PMID: 16868827 DOI: 10.1007/s10620-005-9057-1]
- 29 Tanner M, Hollmén M, Junttila TT, Kapanen AI, Tammola S, Soini Y, Helin H, Salo J, Joensuu H, Sihvo E, Elenius K, Isola J. Amplification of HER-2 in gastric carcinoma: association with Topoisomerase IIalpha gene amplification, intestinal type, poor prognosis and sensitivity to trastuzumab. *Ann Oncol* 2005; 16: 273-278 [PMID: 15668283 DOI: 10.1093/annonc/mdi064]
- 30 Terashima M, Kitada K, Ochiai A, Ichikawa W, Kurahashi I, Sakuramoto S, Katai H, Sano T, Imamura H, Sasako M. Impact of expression of human epidermal growth factor receptors EGFR and ERBB2 on survival in stage II/III gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 5992-6000 [PMID: 22977193 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-1318]
- 31 Sheng WQ, Huang D, Ying JM, Lu N, Wu HM, Liu YH, Liu JP, Bu H, Zhou XY, Du X. HER2 status in gastric cancers: a retrospective analysis from four Chinese representative clinical centers and assessment of its prognostic significance. *Ann Oncol* 2013; 24: 2360-2364 [PMID: 23788757 DOI: 10.1093/annonc/mdt232.]
- 32 Yan B, Yau EX, Bte Omar SS, Ong CW, Pang B, Yeoh KG, Salto-Tellez M. A study of HER2 gene amplification and protein expression in gastric cancer. *J Clin Pathol* 2010; 63: 839-842 [PMID: 20696687 DOI: 10.1136/jcp.2010.076570]
- 33 Lee KE, Lee HJ, Kim YH, Yu HJ, Yang HK, Kim WH, Lee KU, Choe KH, Kim JP. Prognostic significance of p53, nm23, PCNA and c-erbB-2 in gastric cancer. *Jpn J Clin Oncol* 2003; 33: 173-179 [PMID: 12810831 DOI: 10.1093/jjco/hyg039]
- 34 Barros-Silva JD, Leitão D, Afonso L, Vieira J, Dinis-Ribeiro M, Fragoso M, Bento MJ, Santos L, Ferreira P, Rêgo S, Brandão C, Carneiro F, Lopes C, Schmitt F, Teixeira MR. Association of ERBB2 gene status with histopathological parameters and disease-specific survival in gastric carcinoma patients. *Br J Cancer* 2009; 100: 487-493 [PMID: 19156142 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604885]
- 35 Gordon MA, Gundacker HM, Benedetti J, Macdonald JS, Baranda JC, Levin WJ, Blanke CD, Elatre W, Weng P, Zhou JY, Lenz HJ, Press MF. Assessment of HER2 gene amplification in adenocarcinomas



- of the stomach or gastroesophageal junction in the INT-0116/SWOG9008 clinical trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1754-1761 [PMID: 23524864 DOI: 10.1093/annonc/mdt106]
- 36 Okines AF, Thompson LC, Cunningham D, Wotherspoon A, Reis-Filho JS, Langley RE, Waddell TS, Noor D, Eltahir Z, Wong R, Stenning S. Effect of HER2 on prognosis and benefit from peri-operative chemotherapy in early oesophago-gastric adenocarcinoma in the MAGIC trial. *Ann Oncol* 2013; 24: 1253-1261 [PMID: 23233651 DOI: 10.1093/annonc/mds622]
  - 37 Bang YJ, Chung HC, Xu JM, Lordick F, Sawaki A, Lipatov O, Al-Sakaff N, See CG, Rueschoff J, Van Cutsem E. Pathological features of advanced gastric cancer (GC): relationship to human epidermal growth factor receptor 2(HER2) positivity in the global screening programme of the ToGA trial. *J Clin Oncol* 2009; 27: Meeting Abstract 4556
  - 38 Albarello L, Pecciarini L, Doglioni C. HER2 testing in gastric cancer. *Adv Anat Pathol* 2011; 18: 53-59 [PMID: 21169738 DOI: 10.1097/PAP.0b013e3182026d72]
  - 39 Cuello M, Ettenberg SA, Clark AS, Keane MM, Posner RH, Nau MM, Dennis PA, Lipkowitz S. Down-regulation of the erbB-2 receptor by trastuzumab (herceptin) enhances tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand-mediated apoptosis in breast and ovarian cancer cell lines that overexpress erbB-2. *Cancer Res* 2001; 61: 4892-4900 [PMID: 11406568]
  - 40 Van Cutsem E, Kang Y, Chung H, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Hill J, Lehle M, Feyereislova A, Bang Y. Efficacy results from the ToGA trial: A phase study of trastuzumab added to standard chemotherapy (CT) in first-line human epidermal growth factor receptor 2(HER2)-positive advanced gastric cancer (GC). *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2009; 27(18 Suppl): LBA4509
  - 41 Chung HC, Bang Y, Van Cutsem E, Kang Y, Hamamoto Y, Moiseyenko V, Gotovkin E, Urspruch A, Ducournau P. (Q)-TWiST analysis of trastuzumab plus fluoropyrimidine/cisplatin (T-XP/FP) versus XP/FP alone as first-line therapy for advanced HER2-positive gastric cancer. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2010; 28 (15 Suppl): 4048
  - 42 Bennouna J, Sastre J, Arnold D, Österlund P, Greil R, Van Cutsem E, von Moos R, Viéitez JM, Bouché O, Borg C, Steffens CC, Alonso-Orduña V, Schlichting C, Reyes-Rivera I, Bendahmane B, André T, Kubicka S. Continuation of bevacizumab after first progression in metastatic colorectal cancer (ML18147): a randomised phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 29-37 [PMID: 23168366 DOI: 10.1016/s1470-2045(12)70477-1]
  - 43 Blackwell KL, Burstein HJ, Storniolo AM, Rugo H, Sledge G, Koehler M, Ellis C, Casey M, Vukelja S, Bischoff J, Baselga J, O'Shaughnessy J. Randomized study of Lapatinib alone or in combination with trastuzumab in women with ErbB2-positive, trastuzumab-refractory metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1124-1130 [PMID: 20124187 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.4437]
  - 44 Fountzilas G, Razis E, Tsavdaridis D, Karina M, Labropoulos S, Christodoulou C, Mavroudis D, Gogas H, Georgoulas V, Skarlos D. Continuation of trastuzumab beyond disease progression is feasible and safe in patients with metastatic breast cancer: a retrospective analysis of 80 cases by the hellenic cooperative oncology group. *Clin Breast Cancer* 2003; 4: 120-125 [PMID: 12864940 DOI: 10.3816/CBC.2003.n.017]
  - 45 Fujimoto-Ouchi K, Sekiguchi F, Yamamoto K, Shirane M, Yamashita Y, Mori K. Preclinical study of prolonged administration of trastuzumab as combination therapy after disease progression during trastuzumab monotherapy. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 269-276 [PMID: 19904537 DOI: 10.1007/s00280-009-1160-0]
  - 46 Huober J, Baumann M, Rochlitz C, Aebi S, Güth U, von Moos R, Müller A, von Rohr L, Widmer I, Thürlimann B. Trastuzumab treatment beyond progression in advanced breast cancer: patterns of care in six Swiss breast cancer centers. *Oncology* 2011; 81: 160-166 [PMID: 22041972 DOI: 10.1159/000333396]
  - 47 von Minckwitz G, du Bois A, Schmidt M, Maass N, Cufer T, de Jongh FE, Maartense E, Zielinski C, Kaufmann M, Bauer W, Baumann KH, Clemens MR, Duerr R, Uleer C, Andersson M, Stein RC, Nekljudova V, Loibl S. Trastuzumab beyond progression in human epidermal growth factor receptor 2-positive advanced breast cancer: a german breast group 26/breast international group 03-05 study. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1999-2006 [PMID: 19289619 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.6618]
  - 48 Komatsu Y. Phase II study of trastuzumab with irinotecan in HER2-positive metastatic or advanced gastric cancer patients previously treated with trastuzumab and failed (UMIN000007636). Available from: URL: <http://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi?function=brows&action=browse&type=summary&recptno=R000009008&language=E>
  - 49 Makiyama A. Randomized phase II study comparing trastuzumab plus weekly paclitaxel with weekly paclitaxel alone for patients with HER2-positive advanced gastric or gastro-esophageal junction cancer refractory to trastuzumab combined with fluoropyrimidine and platinum(UMIN000009297). Available from: URL: <https://upload.umin.ac.jp/cgi-open-bin/ctr/ctr.cgi?function=brows&action=browse&type=summary&recptno=R000010909&language=E>
  - 50 Pawlik TM, Cosgrove D. The role of peri-operative chemotherapy for resectable colorectal liver metastasis: what does the evidence support? *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 410-415 [PMID: 21253876 DOI: 10.1007/s11605-011-1423-z]
  - 51 Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]
  - 52 Sbitti Y, Essaidi I, Debbagh A, Kadiri H, Oukabli M, Moussaid Y, Slimani K, Fetohi M, Elkaoui H, Albouzidi A, Mahi M, Ali AA, Ichou M, Errihani H. Is there any advantage to combined trastuzumab and chemotherapy in perioperative setting her 2neu positive localized gastric adenocarcinoma? *World J Surg Oncol* 2011; 9: 112 [PMID: 21955806 DOI: 10.1186/1477-7819-9-112]
  - 53 Wang J, Saukel GW, Garberoglio CA, Srikureja W, Hsueh CT. Pathological complete response after neoadjuvant chemotherapy with trastuzumab-

- containing regimen in gastric cancer: a case report. *J Hematol Oncol* 2010; 3: 31 [PMID: 20828403 DOI: 10.1186/1756-8722-3-31]
- 54 Boku N. HER2-positive gastric cancer. *Gastric Cancer* 2013 Apr 7. [Epub ahead of print] [PMID: 23563986 DOI: 10.1007/s10120-013-0252-z]
- 55 Bang YJ, Xu R, Satoh T, Yeh K, Katsura K, Yoshida P, et al. A randomized, open-label, phase III study of lapatinib in combination with weekly paclitaxel versus weekly paclitaxel alone in the second-line treatment of HER2 amplified advanced gastric cancer (AGC) in Asian population: Tytan study. *J Clin Oncol* (Meeting Abstracts) 2012; 31 suppl 11
- 56 GlaxoSmithKline. Lapatinib in combination with weekly paclitaxel in patients with ErbB2 amplified advanced gastric cancer. Available from: URL: <http://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT00486954>.
- 57 Iqbal S, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM, Lenz HJ, Zhang W, Danenberg KD, Shibata SI, Blanke CD. Southwest Oncology Group study S0413: a phase II trial of lapatinib (GW572016) as first-line therapy in patients with advanced or metastatic gastric cancer. *Ann Oncol* 2011; 22: 2610-2615 [PMID: 21415234 DOI: 10.1093/annonc/mdr021]
- 58 Chen CT, Kim H, Liska D, Gao S, Christensen JG, Weiser MR. MET activation mediates resistance to lapatinib inhibition of HER2-amplified gastric cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2012; 11: 660-669 [PMID: 22238368 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-11-0754]
- 59 Oshima Y, Tanaka H, Murakami H, Ito Y, Furuya T, Kondo E, Kodaera Y, Nakanishi H. Lapatinib sensitivities of two novel trastuzumab-resistant HER2 gene-amplified gastric cancer cell lines. *Gastric Cancer* 2013 Aug 15. [Epub ahead of print] [PMID: 23948998 DOI: 10.1007/s10120-013-0290-6]
- 60 Yamashita-Kashima Y, Iijima S, Yoroze K, Furugaki K, Kurasawa M, Ohta M, Fujimoto-Ouchi K. Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5060-5070 [PMID: 21700765 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2927]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界华人消化杂志》 影响因子 0.775

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

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

# 促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用

王冬青, 丁西平, 殷实

王冬青, 丁西平, 安徽医科大学附属医院消化内科 安徽省合肥市 230001

殷实, 安徽医科大学附属医院老年病科 安徽省合肥市 230001

王冬青, 在读硕士, 主要从事胃肠黏膜屏障的研究.

作者贡献分布: 本综述由王冬青、丁西平及殷实完成; 丁西平负责审校.

通讯作者: 丁西平, 主任医师, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽医科大学附属医院消化内科.

dingxipingyx@163.com

电话: 0551-62283336

收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-10-30

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2014-01-08

## Roles of proinflammatory cytokines in precancerous lesions of gastric cancer

Dong-Qing Wang, Xi-Ping Ding, Shi Yin

Dong-Qing Wang, Xi-Ping Ding, Department of Gastroenterology, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230031, Anhui Province, China  
Shi Yin, Department of Geriatrics, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230031, Anhui Province, China

Correspondence to: Xi-Ping Ding, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. dingxipingyx@163.com

Received: 2013-09-23 Revised: 2013-10-30

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2014-01-08

## Abstract

Precancerous lesions of gastric cancer, including intestinal metaplasia and dysplasia, are important stages in the evolution from normal gastric tissue to gastric cancer. Gastric cancer has a very high mortality rate, mainly due to post-metastasis diagnosis. Therefore, diagnosis of precancerous lesions of gastric cancer is of great clinical significance. In recent years, it has been reported that some proinflammatory cytokines such as interleukin 1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), IL-8, IL-11, tumor necrosis factor  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and interferon-gamma (IFN- $\gamma$ ) play important roles in the development of precancerous lesions of gastric cancer. A more detailed understanding of the roles of proinflammatory cytokines may provide new therapeutic targets for precancerous lesions of gastric cancer. Here, we summarize the roles of some proinflammatory cytokines in the progression of

precancerous lesions of gastric cancer.

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

**Key Words:** Proinflammatory cytokines; Precancerous lesions of gastric cancer; Dysplasia; Intestinal metaplasia

Wang DQ, Ding XP, Yin S. Roles of proinflammatory cytokines in precancerous lesions of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 39-45 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/39.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.39>

## 摘要

胃癌前病变是一个病理学概念, 包括肠上皮化生和异型增生, 是从正常胃组织向胃癌转化过程中的一个重要阶段. 胃癌有很高的死亡率主要是由于转移后才被诊断, 故对胃癌前病变的研究尤为重要. 近年来, 随着胃癌前病变的研究不断深入, 发现一些促炎细胞因子如白介素-1 $\beta$ (interleukin 1 beta, IL-1 $\beta$ )、IL-8、IL-11、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF- $\alpha$ )、干扰素 $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )在胃癌前病变中发挥重要的作用. 而这些促炎细胞因子的详细作用机制, 可能为胃癌前病变的治疗提供新的方法. 故本文针对几种促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 促炎细胞因子; 胃癌前病变; 异型增生; 肠上皮化生

**核心提示:** 促炎细胞因子白介素-1 $\beta$ (interleukin 1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-8、IL-11、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )在胃癌前病变中发挥重要的作用, IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 可能是通过核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor kappa B, NF- $\kappa$ B)途径促进胃癌前病变, 而IL-8及IL-11可能是通过信号转导及转录因子3(signal transduction and transcription factors 3, STAT3)途径促进胃癌前病变的, 而IFN- $\gamma$ 促进胃癌前病变的机制尚未明确.

## ■背景资料

胃癌前病变是从慢性胃炎发展为胃癌的重要阶段, 而一些炎症因子在慢性胃炎转为胃癌过程中发挥重要作用. 一些促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用及机制, 并针对此寻求有效的治疗胃癌前病变的方法, 成为当今研究的重点.

## ■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院



## ■ 研发前沿

胃癌有很高的死亡率, 主要由于其转移后才被诊断, 故若能早期发现将有效降低死亡率。而胃癌前病变是胃癌发展的一个重要阶段, 故关于胃癌前病变的发生机制及治疗成为研究的热点。

王冬青, 丁西平, 殷实. 促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 39-45 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/39.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.39>

## 0 引言

近年来, 胃癌的发病率虽有所下降, 但胃癌仍居世界癌症相关死亡的第2位<sup>[1]</sup>。胃癌有很高的死亡率主要是由于其转移后才被诊断<sup>[2]</sup>。目前胃癌公认的发展模式为: 慢性胃炎、萎缩、肠上皮化生、异型增生、胃癌。在慢性胃炎进展为胃癌的过程中有大量的炎性细胞因子参与。白介素-1 $\beta$ (interleukin 1 beta, IL-1 $\beta$ )、IL-8、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )是公认的炎症密切相关的细胞因子, 有研究<sup>[3,4]</sup>表明, 他们在胃癌的发生及进展中发挥重要作用。IL-11是胃内重要促炎细胞因子, 有研究<sup>[5]</sup>表明, IL-11与胃癌的发生密切相关。而胃癌前病变是一个病理性概念, 包括肠上皮化生和异型增生, 是从正常胃组织向胃癌转化过程中的一个重要阶段。故想到他们可能在胃癌前病变中也有重要作用。而近年来干扰素- $\gamma$ (interferon  $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )在胃癌前病变中的作用正日益受到人们的重视, 故现针对这几种促炎细胞因子在胃癌前病变中的作用作一综述。

## 1 IL-1 $\beta$

IL-1 $\beta$ 是IL-1基因家族成员之一。主要由巨噬细胞合成<sup>[6]</sup>, 具有广泛的生物学效应, 可参与免疫应答、炎症反应等。目前国内外关于IL-1 $\beta$ 基因多态性与胃癌前病变的关系研究较少, 且结果不一致。Leung等<sup>[7]</sup>发现在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的中国人中IL-1B-511T等位基因携带者是与肠上皮化生的风险增加相关的。但与其受体拮抗剂(IL-1 receptor antagonist, IL-1RN)无关。Murphy等<sup>[8]</sup>在爱尔兰人群中却未发现IL-1B及IL-1RN基因多态性与慢性萎缩性胃炎或肠上皮化生的风险增加有关。Peleteiro等<sup>[9]</sup>发现在葡萄牙及莫桑比克人中, IL-1B-511T与胃癌前病变无关, 而IL-1RN\*22基因型与胃癌前病变有关。这表明IL-1基因多态性对胃癌前病变的影响可能受人种及地域的影响。研究表明, IL-1 $\beta$ 对胃黏膜多种作用。IL-1 $\beta$ 可促进胃上皮增生<sup>[10]</sup>, 而Waghray等<sup>[11]</sup>发现IL-1 $\beta$ 可通过抑制胃壁细胞音猬因子(sonic hedgehog, SHH)的表达从而促进胃黏膜的萎缩, 且有研究表明<sup>[12]</sup>, 慢性

萎缩性胃炎及肠上皮化生是与SHH表达缺失有关。近年来, 关于IL-1 $\beta$ 在引起胃前病变中的作用的研究不断增多。孙仁虎等<sup>[13]</sup>采用实时定量PCR法, 发现正常情况下人胃黏膜上皮GES-1细胞不表达肠道特异性标志物尾侧型同源转录因子-1(caudal-type homeodomain transcription factor-1, CDX1)mRNA和肠道黏蛋白-2(intestinal mucin-2, MUC2)mRNA, 而IL-1 $\beta$ 可以诱导GES-1细胞中CDX1 mRNA和MUC2 mRNA的表达, 该作用在一定浓度范围内呈现剂量依赖性; 而经核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)抑制剂四氢化吡咯二硫代氨基甲酸酯(pyrrolidine dithiocarbamate, PDTC)预处理的GES-1细胞, CDX1 mRNA和MUC2 mRNA的表达水平却大幅下降。这表明IL-1 $\beta$ 可能通过NF- $\kappa$ B信号通路促进人胃黏膜上皮细胞中CDX1 mRNA和MUC2 mRNA的表达, 在胃黏膜肠上皮化生中有重要作用。此外, 李疆等<sup>[14]</sup>通过研究表明IL-1 $\beta$ 通过NF- $\kappa$ B通路促进胃黏膜细胞CDX2 mRNA及蛋白表达增加, 在胃黏膜肠上皮化生中有重要的作用, 这与Mutoh等<sup>[15]</sup>在CDX2转基因小鼠中的发现相似。此外, Tu等<sup>[16]</sup>发现当年龄>12月龄, 即使无*H. pylori*感染情况下, 胃黏膜特异性表达人类IL-1 $\beta$ (hIL-1 $\beta$ )的转基因鼠, 会出现明显的胃黏膜异型增生及胃炎伴炎性细胞的浸润。而在高表达hIL-1 $\beta$ 的转基因小鼠中, 多于70%的小鼠会出现严重的胃黏膜增生、慢性炎症、壁细胞丢失(萎缩)、化生及异型增生。相反, 低表达hIL-1 $\beta$ 的转基因小鼠几乎很少出现上述改变。此外, 他们进一步研究发现, 在猫属螺杆菌(*Helicobacter felis*, *H. felis*)感染多于12 mo的野生型鼠及IL-1 $\beta$ 的转基因小鼠中, 应用IL-1受体拮抗剂(IL-1RA)可显著阻止胃部炎症的发展及其他的组织学改变。更重要的是, *H. felis*感染的IL-1 $\beta$ 的转基因鼠使用IL-1RA治疗后, 所有鼠均不会出现胃部的异型增生。同时体内及体外实验证实, IL-1可能是通过IL-1 $\beta$ /IL-1R/NF- $\kappa$ B途径在胃黏膜的异型增生中有重要的作用。

## 2 IL-8

IL-8是CXC趋化因子家族的成员。他主要由单核细胞、内皮细胞、表皮细胞及T淋巴细胞等在IL-1、TNF- $\alpha$ 和外源性因子脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的刺激下产生, 其主要生物学作用是趋化并激活中性粒细胞, 可促进中性粒细胞的溶酶体活性和吞噬作用, 故IL-8在炎症反应中有重要作用。众所周知, IL-8在*H. pylori*感染引起

的慢性胃炎中有重要的作用<sup>[17,18]</sup>. 而*H. pylori*相关的慢性胃炎易转变为胃癌前病变. 目前关于IL-8在癌前病变中的研究不断增多. 很多研究均表明IL-8的基因多态性与胃癌前病变有关. Li等<sup>[19]</sup>发现在中国山东省胃癌高发区, 肠上皮化生的风险增加在IL-8-251AT基因型患者(OR = 2.27, 95%CI: 1.06-3.09)或IL-8-251A等位基因携带者(OR = 2.07, 95%CI: 1.16-3.69). 此外, 在*H. pylori*阳性的IL-8-251A等位基因携带者中, 严重的萎缩性胃炎及肠化生的风险明显增加(OR = 6.70, 95%CI: 1.29-9.78). Ye等<sup>[20]</sup>发现在*H. pylori*感染的韩国人中, 与IL-8-251TT基因型相比, IL-8-251A等位基因携带者胃黏膜IL-8水平显著增高, 且与年轻人的严重的炎症, 胃黏膜萎缩及肠上皮化生显著相关. 但也有一些相反的结果, Kim等<sup>[21]</sup>发现在韩国人中, *H. pylori*感染时, 萎缩性胃炎及肠上皮化生的发生率均是显著增高的. 而肠上皮化生的危险因素除与年龄( $\geq 61$ 岁)、生活习惯等有关外, 还与IL-10-592 C/A的出现有关, 但并未发现与IL-8-251基因多态性相关. 日本学者也有报道日本患者IL-8-251A等位基因多态性与*H. pylori*感染患者的胃萎缩的进展有关, 并可能增加胃癌的风险<sup>[22]</sup>. 此外, 在匈牙利人群中, 研究发现IL-8-251AA基因型的频率在胃炎组及肠上皮化生组是显著增加的<sup>[23]</sup>. Song等<sup>[24]</sup>发现来自胃窦活组织标本的黏膜IL-8的平均浓度在慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)/肠上皮化生(intestinal metaplasia, IM)组( $n = 74$ ), 显著高于正常对照组( $n = 55$ ). Zhang等<sup>[25]</sup>发现IL-8水平增加, 可通过活化的信号转导及转录因子3(signal transduction and transcription factors3, STAT3)途径, 使*H. pylori*感染相关的慢性胃炎转变为胃黏膜的肠上皮化生.

### 3 IL-11

IL-11是一种多功能的细胞因子, 属于IL-6细胞因子家族, 他启动信号转导是通过gp130<sup>[26]</sup>. IL-11及IL-6在胃内广泛存在, 可调节炎症反应, 血管生成及在肿瘤进展情况下的细胞程序性死亡<sup>[27]</sup>. 大量的研究表明, 在胃癌组织中, IL-11的水平是显著升高的<sup>[28,29]</sup>. 此外, 升高的IL-11还与胃癌的分度、浸润有关<sup>[30,31]</sup>. 这些均表明IL-11与胃癌密切相关. 近年来, 关于IL-11在胃癌癌前病变中的研究得到广泛的关注. 但关于其基因多态性与胃癌前病变的关系尚未见报道. Howlett等<sup>[32]</sup>研究发现IL-11主要位于鼠和人胃的胃底黏

膜的壁细胞, 在感染*H. pylori*的小鼠, IL-11在胃底黏膜表达增加, 类似IL-1 $\beta$ 水平. 在野生型鼠应用外源性IL-11会导致胃底黏膜壁细胞及主细胞丢失, 增生, 黏液细胞化生及炎症, 这些病理改变与人类慢性萎缩性胃炎模型非常类似. 又有研究发现, IL-11在有发生胃癌高风险的癌旁组织及胃癌组织中均是显著增高的<sup>[33]</sup>. 此外, 发现在野生鼠的正常胃黏膜中, 延长IL-11的暴露会干扰胃上皮细胞周期, 引起一系列的改变, 正如在鼠胃癌前病变模型中所看到的病理变化一致. 并证实1 wk的IL-11干预会引起胃窦及胃底的癌前病变性改变. 且发现在IL-11治疗的野生鼠胃窦部黏膜中, 磷酸化的STAT3水平显著增加. Karasawa等<sup>[34]</sup>发现在无*H. pylori*感染的突变型鼠发生胃腺癌可遵循以下顺序: 增生-异型增生-癌症. 突变型鼠10周龄时, 出现轻度异型增生的胃组织IL-11及IL-1 $\beta$ 的mRNA水平显著增高. 但也有一些相反的结果, Jackson等<sup>[35]</sup>发现, 与正常对照组相比, 在人类胃炎及肠上皮化生组织中IL-11 mRNA的水平仍维持在正常水平, 但在胃癌组织中, IL-11 mRNA大约增加两倍( $P < 0.05$ ). 为证实这一新奇的发现, 他们查询人类cDNA基因芯片数据库, 也发现了相似的结果: 在邻近的未累及的胃黏膜及肠化生组织中, IL-11的表达并未改变, 而在胃腺癌中IL-11表达水平大约增加1.4倍. 虽然IL-11在胃癌前病变中的变化是有一些争议, 但关于IL-11的对胃黏膜的增殖作用已得到广泛的认可. 在鼠模型实验表明: IL-11的表达及上调伴有胃黏膜的增生<sup>[10]</sup>. 体外实验证明人重组IL-11是促进有丝分裂的, 可使STAT3的活化并伴随胃上皮细胞MKN28的增殖增加<sup>[35]</sup>. 而胃黏膜增生在癌前病变中有重要意义. 总之, 一般认为IL-11可能是通过STAT3途径促进胃癌前病变的.

### 4 IFN- $\gamma$

IFN- $\gamma$ 主要由活化的T细胞(包括Th0、Th1细胞和几乎所有CD8<sup>+</sup> T细胞)和NK细胞产生. 他的生物学活性除具有抗病毒、抗增殖活性外, 其主要的生物学活性为免疫调节作用. 目前关于IFN- $\gamma$ 在胃癌前病变中作用的研究不断增多, 但未见关于其基因多态性在胃癌前病变中的报道. Asonuma等<sup>[36]</sup>研究表明IFN- $\gamma$ 及*H. pylori*感染可下调性别决定区Y框蛋白2(sex-determining region Y-box 2, Sox2), 从而增加Cdx2表达, 这最终可能导致胃黏膜肠上皮化生, 这与牛海静

### ■ 相关报道

孙仁虎等发现IL-1 $\beta$ 可促进肠上皮化生, 而Tu等发现IL-1 $\beta$ 可促进胃黏膜异型增生的. Zhang等发现IL-8可促进胃黏膜的肠上皮化生. Howlett等发现IL-11可导致胃黏膜发生萎缩性胃炎. Asonuma等发现IFN- $\gamma$ 可促进胃黏膜出现肠上皮化生. Senthilkumar等发现在肠上皮化生及异型增生组织中, TNF- $\alpha$ 表达增加.

## ■创新盘点

本文综述了一些促炎细胞因子与胃癌前病变的关系及其详细作用机制,这与以往研究的炎症因子在胃癌中的作用及机制不同,且能更好地预防胃癌。

等<sup>[37]</sup>发现相似。Sayi等<sup>[38]</sup>发现在*H. felis*感染后3 mo的小鼠中,IFN- $\gamma$ 水平是与胃慢性炎症、萎缩及上皮增生显著相关,而与化生的表现关联不大。此外,与野生型相比,IFN- $\gamma^{-/-}$ 小鼠在*H. felis*感染后3 mo,发生胃炎、萎缩、增生或化生的风险显著降低。Oertli等<sup>[39]</sup>发现,*H. pylori*感染的基因突变型小鼠所致的慢性萎缩性胃炎、异型增生和肠上皮化生等病理变化可能与小鼠体内Th17/Th1细胞介导的免疫应答水平相关。且发现Th17/Th1细胞反应受损时,IL-17及IFN- $\gamma$ 水平降低。这提示IFN- $\gamma$ 及IL-17可能与胃癌前病变有关。Syu等<sup>[40]</sup>发现在IFN- $\gamma$ 转基因表达的小鼠会出现胃黏膜的炎症、化生及异型增生。这些均表明螺杆菌诱导的胃癌前病变是依赖IFN- $\gamma$ 的产生的。另一方面,大量研究表明,胃癌前病变的组织学改善是与IFN- $\gamma$ 的降低有关。Ohtani等<sup>[41]</sup>发现在*H. pylori*感染后16 wk的 $\delta$ 的INS-GAS鼠可发展为严重的胃体胃炎伴随萎缩、增生、肠上皮化生及上皮的异型增生。但经过17 $\beta$ 雌二醇(E2)治疗后,炎症并未减少,但腺体萎缩、增生、肠上皮化生及异型增生的程度较轻( $P<0.01$ )。而由E2治疗导致的胃部病变的改善是与IFN- $\gamma$ 及IL-1 $\beta$ 的mRNA的低表达水平相关( $P<0.05$ )。Fox等<sup>[42]</sup>发现在所有*H. pylori*感染的三叶草因子(trefoil factor 1, TFF1)缺乏的小鼠(TFF1 $^{-/-}$ ),在感染后6 mo时,胃体及胃窦上皮均有显著的改变(黏膜缺失、萎缩、增生、假幽门化生及异型增生)。在感染后19 mo时,胃窦部上皮会出现类似的改变( $P<0.01$ )。且在所有的*H. pylori*感染的TFF2 $^{-/-}$ 的鼠均会出现显著胃窦部的高度非典型增生包括上皮内瘤变,同时黏膜IFN- $\gamma$ 水平显著增高。而在*H. pylori*感染的正常野生型小鼠中,胃黏膜的IFN- $\gamma$ 水平则下调。这表明TFF2在阻止*H. pylori*相关的胃癌前病变的发展的保护效应部分是通过调节IFN- $\gamma$ 水平实现的。Toller等<sup>[43]</sup>研究发现抑制ADP核糖基化的作用的小分子抑制剂PJ34不仅可有效预防胃癌前病变(*H. pylori*引起的萎缩性胃炎、肠上皮化生、异型增生)的形成,同时也可有效逆转已经存在的胃癌前病变。并发现PJ34可直接抑制T细胞效应功能是通过体外抑制肠系膜淋巴结T细胞产生IFN- $\gamma$ 。此外,当暴露于PJ34时,纯化的T细胞不能激活编码IFN- $\gamma$ 的基因的转录。又有研究表明<sup>[44]</sup>,PGE2也可阻止胃癌前病变的发生,并可完全逆转已经存在胃癌前病变。在动物模型中发现PGE2的保护效应主要是由于他对CD4 $^{+}$  CD25 $^{+}$  T细胞的免疫抑制效应,使其不能

迁移、增殖及分泌IFN- $\gamma$ 。但关于IFN- $\gamma$ 在胃癌前病变中的具体作用途径尚不明确。

## 5 TNF- $\alpha$

TNF- $\alpha$ 主要由LPS活化的单核巨噬细胞或抗原刺激的T细胞分泌,它具有广泛的生物学活性,可参与炎症反应及免疫应答、内毒素性休克、引起恶液质等。TNF- $\alpha$ 基因多态性与胃癌前病变的关系受到越来越多的关注。但大量研究表明<sup>[45,46]</sup>,TNF-A-308与肠上皮化生或肠型胃癌无关。但关于其在胃癌前病变中的作用也不断有新的报道。Wang等<sup>[47]</sup>研究发现,白云母能逆转萎缩性胃炎小鼠的胃腺萎缩及肠化生,且体外研究表明白云母可呈剂量依赖性吸收IL-1 $\beta$ 及TNF- $\alpha$ 。这提示IL-1 $\beta$ 及TNF- $\alpha$ 可能在胃黏膜肠化生中发挥作用。Lemke等<sup>[48]</sup>报道在C57BL/6小鼠中,与*H. pylori*感染的鼠相比,胆型螺杆菌(*Helicobacter billis*, *H. billis*)和*H. pylori*共同感染组,在感染后6 mo时胃炎、萎缩黏液细胞化生及增生的程度明显减轻。而在感染后12 mo时,肠上皮化生及异型增生的程度较轻。且促炎性细胞因子IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ 的mRNA表达水平在感染后6、12 mo均是降低的( $P<0.01$ )。Senthilkumar等<sup>[49]</sup>通过发现,在20例正常对照组中的18例(90%)不表达TNF- $\alpha$  mRNA,而在慢性胃炎、肠上皮化生及异型增生中,TNF- $\alpha$ 的表达分别为51/63(81%),20/20(100%)及11/11(100%),而在胃癌中TNF- $\alpha$ 表达为65/86(75.6%)。这些结果表明从正常组织至异型增生组织中TNF- $\alpha$ 的表达水平是稳步增加的。Rau等<sup>[50]</sup>研究发现TNF- $\alpha$ 在正常胃组织的细胞质中无表达,而在肠上皮化生组织中表达水平最高,而在胃癌中又下降。CDX1蛋白在正常胃组织中由于启动子甲基化不表达,但在肠上皮化生及低度异型增生胃组织中强烈表达,在胃癌中相对降低。在5-氮杂-2-脱氧胞苷(5Aza)处理过的胃上皮细胞,用促炎细胞因子TNF- $\alpha$ 刺激,可使结合至CDX1启动子上的NF- $\kappa$ B进一步升高1.8倍,并最终使CDX1 mRNA表达水平增高。这表明TNF- $\alpha$ 可能是通过影响NF- $\kappa$ B而在肠上皮化生中起作用的。Soutto等<sup>[51]</sup>发现TFF1基因敲除的小鼠幽门窦的组织变化可由胃炎发展为增生、异型增生、胃癌等变化。并通过体内及离体实验表明,TFF1表达抑制TNF- $\alpha$ 调节的NF- $\kappa$ B的活化,从而抑制异型增生及胃癌生成。并在人类胃组织中发现了相似的结果。这提示TNF- $\alpha$ 可能通过NF- $\kappa$ B途径在胃黏膜异型增生中起作



用. 总之, TNF- $\alpha$ 可能通过NF- $\kappa$ B途径促进胃癌前病变的发生.

## 6 结论

促炎细胞因子(IL-1 $\beta$ 、IL-8、IL-11、TNF- $\alpha$ 及IFN- $\gamma$ )在胃癌前病变中发挥重要而且复杂的作用. 此外, 因这几种促炎细胞因子与胃癌前病变关系密切, 若能联合监测, 将会提高诊断胃癌前病变的准确率. 同时, 对促炎细胞因子在胃癌前病变中的具体作用机制的研究, 将会对胃癌前病变的治疗靶点的选择具有重要的意义, 并最终造福广大胃癌患者.

## 7 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Verdecchia A, Mariotto A, Gatta G, Bustamante-Teixeira MT, Ajiki W. Comparison of stomach cancer incidence and survival in four continents. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1603-1609 [PMID: 12855268 DOI: 10.1016/S0959-8049(03)00360-5]
- Tsujimoto H, Ono S, Ichikura T, Matsumoto Y, Yamamoto J, Hase K. Roles of inflammatory cytokines in the progression of gastric cancer: friends or foes? *Gastric Cancer* 2010; 13: 212-221 [PMID: 21128056 DOI: 10.1007/s10120-010-0568-x]
- Lin WW, Karin M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. *J Clin Invest* 2007; 117: 1175-1183 [PMID: 17476347 DOI: 10.1172/JCI31537]
- Putoczki TL, Thiem S, Loving A, Busuttill RA, Wilson NJ, Ziegler PK, Nguyen PM, Preaudet A, Farid R, Edwards KM, Boglev Y, Luwor RB, Jarnicki A, Horst D, Boussioutas A, Heath JK, Sieber OM, Pleines I, Kile BT, Nash A, Greten FR, McKenzie BS, Ernst M. Interleukin-11 is the dominant IL-6 family cytokine during gastrointestinal tumorigenesis and can be targeted therapeutically. *Cancer Cell* 2013; 24: 257-271 [PMID: 23948300 DOI: 10.1016/j.ccr.2013.06.017]
- Fehlings M, Drobbe L, Moos V, Renner Viveros P, Hagen J, Beigier-Bompadre M, Pang E, Belogolova E, Churin Y, Schneider T, Meyer TF, Aebischer T, Ignatius R. Comparative analysis of the interaction of *Helicobacter pylori* with human dendritic cells, macrophages, and monocytes. *Infect Immun* 2012; 80: 2724-2734 [PMID: 22615251 DOI: 10.1128/IAI.00381-12]
- Leung WK, Chan MC, To KF, Man EP, Ng EK, Chu ES, Lau JY, Lin SR, Sung JJ. H. pylori genotypes and cytokine gene polymorphisms influence the development of gastric intestinal metaplasia in a Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 714-720 [PMID: 16635219 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00560.x]
- Murphy G, Thornton J, McManus R, Swan N, Ryan B, Hughes DJ, O'Morain CA, O'Sullivan M. Association of gastric disease with polymorphisms in the inflammatory-related genes IL-1B, IL-1RN, IL-10, TNF and TLR4. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 630-635 [PMID: 19295440 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283140eea]
- Peleteiro B, Lunet N, Carrilho C, Durães C, Machado JC, La Vecchia C, Barros H. Association between cytokine gene polymorphisms and gastric precancerous lesions: systematic review and meta-analysis. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2010; 19: 762-776 [PMID: 20200422 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0917]
- Saqui-Salces M, Covés-Datson E, Veniaminova NA, Waghay M, Syu LJ, Dlugosz AA, Merchant JL. Inflammation and Gli2 suppress gastrin gene expression in a murine model of antral hyperplasia. *PLoS One* 2012; 7: e48039 [PMID: 23110168 DOI: 10.1371/journal.pone.0048039]
- Waghay M, Zavros Y, Saqui-Salces M, El-Zaatari M, Alamelumangapuram CB, Todisco A, Eaton KA, Merchant JL. Interleukin-1beta promotes gastric atrophy through suppression of Sonic Hedgehog. *Gastroenterology* 2010; 138: 562-572, 572. e1-e2 [PMID: 19883649 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.10.043]
- Shiotani A, Iishi H, Uedo N, Ishiguro S, Tatsuta M, Nakae Y, Kumamoto M, Merchant JL. Evidence that loss of sonic hedgehog is an indicator of *Helicobacter pylori*-induced atrophic gastritis progressing to gastric cancer. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 581-587 [PMID: 15743355 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41001.x]
- 孙仁虎, 李疆, 童强, 舒晓刚, 王国斌. 白介素-1B诱导胃上皮细胞GES-1表达肠道特异性标志物. *中国普外基础与临床杂志* 2009; 16: 370-374
- 李疆, 孙仁虎, 王国斌, 陶凯雄. 白介素1 $\beta$ 诱导尾型同源盒转录因子2异位表达在胃黏膜肠上皮化生中的意义. *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 524-527
- Mutoh H, Hayakawa H, Sakamoto H, Sashikawa M, Sugano K. Transgenic Cdx2 induces endogenous Cdx1 in intestinal metaplasia of Cdx2-transgenic mouse stomach. *FEBS J* 2009; 276: 5821-5831 [PMID: 19725873 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07263]
- Tu S, Bhagat G, Cui G, Takaishi S, Kurt-Jones EA, Rickman B, Betz KS, Penz-Oesterreicher M, Bjorkdahl O, Fox JG, Wang TC. Overexpression of interleukin-1beta induces gastric inflammation and cancer and mobilizes myeloid-derived suppressor cells in mice. *Cancer Cell* 2008; 14: 408-419 [PMID: 18977329 DOI: 10.1016/j.ccr]
- Bartchewsky W, Martini MR, Masiero M, Squassoni AC, Alvarez MC, Ladeira MS, Salvatore D, Trevisan M, Pedrazzoli J, Ribeiro ML. Effect of *Helicobacter pylori* infection on IL-8, IL-1beta and COX-2 expression in patients with chronic gastritis and gastric cancer. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 153-161 [PMID: 18985541 DOI: 10.1080/00365520802530853]
- Isomoto H, Matsushima K, Inoue N, Hayashi T, Nakayama T, Kunizaki M, Hidaka S, Nakayama M, Hisatsune J, Nakashima M, Nagayasu T, Nakao K, Hirayama T. Interweaving microRNAs and proinflammatory cytokines in gastric mucosa with reference to H. pylori infection. *J Clin Immunol* 2012; 32: 290-299 [PMID: 22161133 DOI: 10.1007/s10875-011-9626-3]
- Li ZW, Wu Y, Sun Y, Liu LY, Tian MM, Feng GS, You WC, Li JY. Inflammatory cytokine gene polymorphisms increase the risk of atrophic gastritis and intestinal metaplasia. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1788-1794 [PMID: 20380014 DOI: 10.3748/wjg.

## ■应用要点

本综述阐述的一些与胃癌前病变密切相关的促炎细胞因子, 可作为临床联合检测胃癌前病变的标志物, 同时为胃癌前病变的治疗提供新的方向, 具有较好临床应用前景.

## ■同行评价

本文对研究胃癌前病变的形成与防治具有重要的意义。

- v16.i14.1788]
- 20 Ye BD, Kim SG, Park JH, Kim JS, Jung HC, Song IS. The interleukin-8-251 A allele is associated with increased risk of noncardia gastric adenocarcinoma in *Helicobacter pylori*-infected Koreans. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 233-239 [PMID: 18542040 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181646701]
- 21 Kim N, Park YS, Cho SI, Lee HS, Choe G, Kim IW, Won YD, Park JH, Kim JS, Jung HC, Song IS. Prevalence and risk factors of atrophic gastritis and intestinal metaplasia in a Korean population without significant gastroduodenal disease. *Helicobacter* 2008; 13: 245-255 [PMID: 18665932 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2008.00604.x]
- 22 Taguchi A, Ohmiya N, Shirai K, Mabuchi N, Itoh A, Hirooka Y, Niwa Y, Goto H. Interleukin-8 promoter polymorphism increases the risk of atrophic gastritis and gastric cancer in Japan. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 2487-2493 [PMID: 16284368 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-05-0326]
- 23 Szoke D, Molnar B, Solymosi N, Klausz G, Gyulai Z, Toth B, Mandi Y, Tulassay Z. T-251A polymorphism of IL-8 relating to the development of histological gastritis and G-308A polymorphism of TNF-alpha relating to the development of macroscopic erosion. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 191-195 [PMID: 18301299 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f1d29f]
- 24 Song JH, Kim SG, Jung SA, Lee MK, Jung HC, Song IS. The interleukin-8-251 AA genotype is associated with angiogenesis in gastric carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected Koreans. *Cytokine* 2010; 51: 158-165 [PMID: 20621718 DOI: 10.1016/j.cyto.2010.05.001]
- 25 Zhang X, Yang Y, Zhu R, Bai J, Tian Y, Li X, Peng Z, He Y, Chen L, Fang D, Chen W, Zou Q, Mao X, Wang R. H. *pylori* induces the expression of Hath1 in gastric epithelial cells via interleukin-8/STAT3 phosphorylation while suppressing Hes1. *J Cell Biochem* 2012; 113: 3740-3751 [PMID: 22786753 DOI: 10.1002/jcb.24248]
- 26 Judd LM, Ulaganathan M, Howlett M, Giraud AS. Cytokine signalling by gp130 regulates gastric mucosal healing after ulceration and, indirectly, antral tumour progression. *J Pathol* 2009; 217: 552-562 [PMID: 19097069 DOI: 10.1002/path.2479]
- 27 Howlett M, Menheniott TR, Judd LM, Giraud AS. Cytokine signalling via gp130 in gastric cancer. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 1623-1633 [PMID: 19665497 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2009.07.009]
- 28 Ernst M, Najdovska M, Grail D, Lundgren-May T, Buchert M, Tye H, Matthews VB, Armes J, Bhathal PS, Hughes NR, Marcussen EG, Karras JG, Na S, Sedgwick JD, Hertzog PJ, Jenkins BJ. STAT3 and STAT1 mediate IL-11-dependent and inflammation-associated gastric tumorigenesis in gp130 receptor mutant mice. *J Clin Invest* 2008; 118: 1727-1738 [PMID: 18431520 DOI: 10.1172/JCI34944]
- 29 Ellmark P, Ingvarsson J, Carlsson A, Lundin BS, Wingren C, Borrebaeck CA. Identification of protein expression signatures associated with *Helicobacter pylori* infection and gastric adenocarcinoma using recombinant antibody microarrays. *Mol Cell Proteomics* 2006; 5: 1638-1646 [PMID: 16844680 DOI: 10.1074/mcp.M600170-MCP200]
- 30 Nakayama T, Yoshizaki A, Izumida S, Suehiro T, Miura S, Uemura T, Yakata Y, Shichijo K, Yamashita S, Sekin I. Expression of interleukin-11 (IL-11) and IL-11 receptor alpha in human gastric carcinoma and IL-11 upregulates the invasive activity of human gastric carcinoma cells. *Int J Oncol* 2007; 30: 825-833 [PMID: 17332920]
- 31 Yakata Y, Nakayama T, Yoshizaki A, Kusaba T, Inoue K, Sekine I. Expression of p-STAT3 in human gastric carcinoma: significant correlation in tumour invasion and prognosis. *Int J Oncol* 2007; 30: 437-442 [PMID: 17203226]
- 32 Howlett M, Chalinor HV, Buzzelli JN, Nguyen N, van Driel IR, Bell KM, Fox JG, Dimitriadis E, Menheniott TR, Giraud AS, Judd LM. IL-11 is a parietal cell cytokine that induces atrophic gastritis. *Gut* 2012; 61: 1398-1409 [PMID: 22180059 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300539]
- 33 Howlett M, Giraud AS, Lescesen H, Jackson CB, Kalantzis A, Van Driel IR, Robb L, Van der Hoek M, Ernst M, Minamoto T, Boussioutas A, Oshima H, Oshima M, Judd LM. The interleukin-6 family cytokine interleukin-11 regulates homeostatic epithelial cell turnover and promotes gastric tumor development. *Gastroenterology* 2009; 136: 967-977 [PMID: 19121317 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.003]
- 34 Karasawa F, Shiota A, Goso Y, Kobayashi M, Sato Y, Masumoto J, Fujiwara M, Yokosawa S, Muraki T, Miyagawa S, Ueda M, Fukuda MN, Fukuda M, Ishihara K, Nakayama J. Essential role of gastric gland mucin in preventing gastric cancer in mice. *J Clin Invest* 2012; 122: 923-934 [PMID: 22307328 DOI: 10.1172/JCI59087]
- 35 Jackson CB, Judd LM, Menheniott TR, Kronborg I, Dow C, Yeomans ND, Boussioutas A, Robb L, Giraud AS. Augmented gp130-mediated cytokine signalling accompanies human gastric cancer progression. *J Pathol* 2007; 213: 140-151 [PMID: 17724739 DOI: 10.1002/path.2218]
- 36 Asonuma S, Imatani A, Asano N, Oikawa T, Konishi H, Iijima K, Koike T, Ohara S, Shimosegawa T. *Helicobacter pylori* induces gastric mucosal intestinal metaplasia through the inhibition of interleukin-4-mediated HMG box protein Sox2 expression. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G312-G322 [PMID: 19520737 DOI: 10.1152/ajpgi.00518.2007]
- 37 牛海静, 陈鑫, 王邦茂. Sox2和Cdx2在胃黏膜肠化生中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1295-1299
- 38 Sayi A, Kohler E, Hitzler I, Arnold I, Schwendener R, Rehauer H, Müller A. The CD4+ T cell-mediated IFN-gamma response to *Helicobacter* infection is essential for clearance and determines gastric cancer risk. *J Immunol* 2009; 182: 7085-7101 [PMID: 19454706 DOI: 10.4049/jimmunol.0803293]
- 39 Oertli M, Engler DB, Kohler E, Koch M, Meyer TF, Müller A. MicroRNA-155 is essential for the T cell-mediated control of *Helicobacter pylori* infection and for the induction of chronic gastritis and colitis. *J Immunol* 2011; 187: 3578-3586 [PMID: 21880981 DOI: 10.4049/jimmunol.1101772]
- 40 Syu LJ, El-Zaatari M, Eaton KA, Liu Z, Tatarbe M, Keeley TM, Pero J, Ferris J, Wilbert D, Kaatz A, Zheng X, Qiao X, Grachtchouk M, Gumucio DL, Merchant JL, Samuelson LC, Dlugosz AA. Transgenic expression of interferon- $\gamma$  in mouse stomach leads to inflammation, metaplasia, and dysplasia. *Am J Pathol* 2012; 181: 2114-2125 [PMID: 23036899 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.08.017]
- 41 Ohtani M, Ge Z, García A, Rogers AB, Muthupalani

- S, Taylor NS, Xu S, Watanabe K, Feng Y, Marini RP, Whary MT, Wang TC, Fox JG. 17  $\beta$ -estradiol suppresses *Helicobacter pylori*-induced gastric pathology in male hypergastrinemic INS-GAS mice. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1244-1250 [PMID: 21565825 DOI: 10.1093/carcin/bgr072]
- 42 Fox JG, Rogers AB, Whary MT, Ge Z, Ohtani M, Jones EK, Wang TC. Accelerated progression of gastritis to dysplasia in the pyloric antrum of TFF2 -/- C57BL6 x Sv129 *Helicobacter pylori*-infected mice. *Am J Pathol* 2007; 171: 1520-1528 [PMID: 17982128]
- 43 Toller IM, Altmeyer M, Kohler E, Hottiger MO, Müller A. Inhibition of ADP ribosylation prevents and cures *helicobacter*-induced gastric preneoplasia. *Cancer Res* 2010; 70: 5912-5922 [PMID: 20634404 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 44 Toller IM, Hitzler I, Sayi A, Mueller A. Prostaglandin E2 prevents *Helicobacter*-induced gastric preneoplasia and facilitates persistent infection in a mouse model. *Gastroenterology* 2010; 138: 1455-1467, 1455-1467, [PMID: 20026064 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.006]
- 45 Partida-Rodríguez O, Torres J, Flores-Luna L, Camorlinga M, Nieves-Ramírez M, Lazcano E, Perez-Rodríguez M. Polymorphisms in TNF and HSP-70 show a significant association with gastric cancer and duodenal ulcer. *Int J Cancer* 2010; 126: 1861-1868 [PMID: 19626584 DOI: 10.1002/ijc.24773]
- 46 Shin CM, Kim N, Lee HS, Lee DH, Kim JS, Jung HC, Song IS. Intrafamilial aggregation of gastric cancer: a comprehensive approach including environmental factors, *Helicobacter pylori* virulence, and genetic susceptibility. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2011; 23: 411-417 [PMID: 21502924 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328343b7f5]
- 47 Wang LJ, Zhou QY, Chen Y, Chen SJ, Xu M, Du Q, Zhu FS, Si JM. Muscovite reverses gastric gland atrophy and intestinal metaplasia by promoting cell proliferation in rats with atrophic gastritis. *Digestion* 2009; 79: 79-91 [PMID: 19276636 DOI: 10.1159/000207489]
- 48 Lemke LB, Ge Z, Whary MT, Feng Y, Rogers AB, Muthupalani S, Fox JG. Concurrent *Helicobacter bilis* infection in C57BL/6 mice attenuates proinflammatory H. *pylori*-induced gastric pathology. *Infect Immun* 2009; 77: 2147-2158 [PMID: 19223483 DOI: 10.1128/IAI.01395-08]
- 49 Senthilkumar C, Niranjali S, Jayanthi V, Ramesh T, Devaraj H. Molecular and histological evaluation of tumor necrosis factor- $\alpha$  expression in *Helicobacter pylori*-mediated gastric carcinogenesis. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 577-583 [PMID: 20512382 DOI: 10.1007/s00432-010-0921-9]
- 50 Rau TT, Rogler A, Frischauf M, Jung A, Konturek PC, Dimmler A, Faller G, Sehnert B, El-Rifai W, Hartmann A, Voll RE, Schneider-Stock R. Methylation-dependent activation of CDX1 through NF- $\kappa$ B: a link from inflammation to intestinal metaplasia in the human stomach. *Am J Pathol* 2012; 181: 487-498 [PMID: 22749770 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.04.028]
- 51 Soutto M, Belkhiri A, Piazzuelo MB, Schneider BG, Peng D, Jiang A, Washington MK, Kokoye Y, Crowe SE, Zaika A, Correa P, Peek RM, El-Rifai W. Loss of TFF1 is associated with activation of NF- $\kappa$ B-mediated inflammation and gastric neoplasia in mice and humans. *J Clin Invest* 2011; 121: 1753-1767 [PMID: 21490402 DOI: 10.1172/JCI43922]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 树突状细胞疫苗在胃癌免疫治疗中的研究进展

吴凤丽, 李国华

## ■背景资料

我国是胃癌的高发区, 且我国每年胃癌的死亡人数居世界首位。目前的传统疗法的治疗效果不理想。树突状细胞可启动免疫应答, 是机体免疫反应的始动者, 目前树突状细胞(dendritic cell, DC)疫苗在肿瘤免疫治疗的研究领域中备受关注, 多位学者也在研究其在胃癌的免疫治疗中的作用。

吴凤丽, 李国华, 南昌大学第一附属医院消化科 江西省南昌市 330006

吴凤丽, 南昌大学医学院硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960429

作者贡献分布: 本文综述由吴凤丽完成; 李国华审校。

通讯作者: 李国华, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院消化科。

liguohua98@sohu.com

电话: 0791-88692505

收稿日期: 2013-10-11 修回日期: 2013-11-06

接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2014-01-08

## Dendritic cell vaccines in gastric cancer immunotherapy

Feng-Li Wu, Guo-Hua Li

Feng-Li Wu, Guo-Hua Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960429

Correspondence to: Guo-Hua Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwaizhen Street, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. liguohua98@sohu.com

Received: 2013-10-11 Revised: 2013-11-06

Accepted: 2013-11-20 Published online: 2014-01-08

## Abstract

Gastric cancer is one of the most common malignant tumors of the digestive tract. Current treatments for gastric cancer are mainly surgery, radiotherapy, and chemotherapy, and the effects of these treatments are not satisfactory. Dendritic cells are the most important antigen presenting cells, play an important role in the immune surveillance and immune escape of gastric cancer, and are closely related to the occurrence, development and outcome of gastric cancer. Dendritic cell vaccines in immunotherapy of tumors have become a hot research spot.

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

Key Words: Gastric cancer; Dendritic cells; Vaccine; Immunotherapy

Wu FL, Li GH. Dendritic cell vaccines in gastric cancer

immunotherapy. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 46-52 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/46.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.46>

## 摘要

胃癌是消化系最常见的恶性肿瘤之一, 其目前的治疗手段主要是手术切除、放疗、化疗等, 治疗效果不理想。树突状细胞是最重要的抗原提呈细胞, 在胃癌的免疫监视及免疫逃逸机制中起重要作用, 与胃癌的发生、发展、愈后密切相关。树突状细胞疫苗在肿瘤的免疫治疗中的研究已成为一个热点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 树突状细胞; 疫苗; 免疫治疗

**核心提示:** 树突状细胞在免疫系统中起着“黄金钥匙”的特殊作用, 其体外培养、诱导技术已基本成熟, 树突状细胞疫苗的制备及其在胃癌中的治疗作用研究的相关报道越来越多, 治疗作用已被多为学者证实。

吴凤丽, 李国华. 树突状细胞疫苗在胃癌免疫治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 46-52 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/46.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.46>

## 0 引言

胃癌在我国乃至世界范围内均是最常见的恶性肿瘤之一。根据世界卫生组织公布的全球统计报告, 世界胃癌年发病率为13.86/10万, 仅次于肺癌居第2位。我国是胃癌的高发区, 每年我国新发现40万例胃癌患者, 占世界胃癌发患者数的42%。我国胃癌的死亡率是欧美发达国家的4-8倍, 每年胃癌的死亡人数居世界首位。目前我国胃癌防治的现状是“一高三低”: 发病死亡率高, 早期诊断率低, 手术根治率低, 5年生存率低。胃癌传统的治疗手段(手术切除、放疗、化疗)并不理想, 人们正在开拓一个全新的治疗方法-免疫治疗, 已成为目前针对肿瘤治疗的一个热点。

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前已知

## ■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

的最强大的专职抗原提呈细胞,其最大的特点是能激活初始型T淋巴细胞,DCs通过抗原肽-主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)将抗原呈递给初始T淋巴细胞,从而启动免疫反应<sup>[1-3]</sup>。而其他抗原提呈细胞仅能刺激已活化的或记忆性T淋巴细胞,因此DC是机体免疫反应的始动者<sup>[4]</sup>。基于这一特性,目前DC疫苗在肿瘤免疫治疗的研究领域中备受关注,为胃癌在治疗上有所突破带来新的希望,本文就DC与胃癌免疫治疗方面的研究作一综述。

## 1 DC的生物学特性及功能

DC是由2011年诺贝尔生理学或医学奖得主拉夫尔-斯坦曼于1973年发现的,因其表面有树突状或毛刺状突起而被命名。DC分布十分广泛,存在于淋巴组织、皮肤、消化系、呼吸道的上皮和大多数实质器官内。所有DC来源于骨髓前体细胞。根据其发育分化途径将DC分为两类:髓样DC(myeloid DC)和淋巴样DC(lymphoid DC);从活化T细胞免疫反应类型(Th1型和Th2型)DC分为1型DC和2型DC<sup>[5]</sup>。

当与其他抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)如巨噬细胞相比较时,DCs是非常有效且可以引发非常低数量的T细胞反应<sup>[3,6,7]</sup>,从而它被称为“专职APC”<sup>[8]</sup>。DC抗原提呈能力随其发育成熟而增强,而其摄取抗原能力则逐渐减弱。未成熟DC表面低水平表达协同共刺激分子CD40、CD80、CD86及MHC-II分子,在混合淋巴反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)中刺激同种异体淋巴细胞的能力低下,其上清蛋白介素12(interleukin-12, IL-12)的浓度低,其具有很强的摄取和加工处理抗原的能力。且有文献报道,其呈递抗原能力低下,并可能诱导免疫耐受<sup>[9]</sup>。其摄取加工抗原的能力在其成熟过程中越来越弱<sup>[10]</sup>。成熟的DC高表达MHC-II类分子及协同共刺激分子CD40、CD80、B7-2(CD86)、淋巴细胞功能相关抗原3(也称CD58)(lymphocyte function-associated antigen-3, LFA-3或CD58)、CD54、细胞间黏附分子3(也称CD50)(intercellular adhesion molecule 3, ICAM-3或CD50)及CD1 $\alpha$ 、CD83<sup>[11]</sup>,其中CD1 $\alpha$ 、CD83是成熟DC表面特异性标志,且在MLR中刺激同种异体淋巴细胞的能力较未成熟DC强。另有研究表明CD80、CD86可活化Th细胞,并使其产生大量细胞因子,如白介素2(interleukin-2, IL-2)、IL-6、干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、粒

细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等,而这些因子又可以启动DC的成熟过程,并促进DC分泌IL-12并活化T细胞的功能<sup>[12]</sup>。

DC的主要功能是通过捕获、摄取抗原,并经过内化加工处理后,将抗原呈递给T淋巴细胞。经DCs刺激后,初始的CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞向不同功能的特异性效应T细胞分化。CD4<sup>+</sup>T细胞可以分化成为辅助性T1(Th1)细胞、Th2细胞、Th17细胞或滤泡性辅助性T细胞(Tfh)细胞,以及调节性T(Treg)细胞;初始CD8<sup>+</sup>T细胞则分化为细胞毒性效应T细胞(cytotoxic lymphocyte, CTL)<sup>[1]</sup>。DCs还可刺激先天免疫系统中的相关细胞,例如自然杀伤(natural killer cell, NK)细胞、巨噬细胞以及肥大细胞等<sup>[1-3]</sup>。DCs亦可通过与B淋巴细胞相互作用或间接诱导CD4<sup>+</sup>T辅助T细胞增殖分化而在调节体液免疫中扮演着一个重要角色<sup>[13,14]</sup>。这些起关键作用的DCs,可激活两种不同的适应性免疫系统(即细胞免疫和体液免疫),启动免疫反应,这使得DCs在抗原呈递及疫苗接种治疗癌症中起核心作用<sup>[8]</sup>。

## 2 DC的体外培养

DC在血液中含量稀少,直接从血液中提取含量极微,大大限制了其在临床中的应用。为了克服这一难题,不少研究小组在探索DC的体外培养,期许能使其在体外扩增以满足临床需求。目前其体外培养来源有3种:(1)外周血;(2)脐带血;(3)骨髓。其各有优缺点,人类外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)中仅含有0.1%-0.5%的DC<sup>[15]</sup>,故从外周血中无法得到大量的DC。人骨髓来源的DC因其来源少、难于采集且创伤性大等缺点限制了其在研究中的应用。有实验表明,与外周血相比,脐血可得到较多数量的DC<sup>[16]</sup>,且其高表达表面标记分子且稳定<sup>[17,18]</sup>,另外,脐血具有来源丰富、便于采集、免疫原性弱、组织相容性好等特点<sup>[19]</sup>。基于这些优点,脐带血提取DC有望成为体外培养获得数目可观的DC的主要途径。

目前,体外培养常用的培养基有多种,但在选用中无统一标准<sup>[20]</sup>。有文献指出,目前临床研究使用人血清、同源血浆或无血清培养基较多<sup>[21]</sup>。但统一的是无论使用什么培养基均需要加入细胞因子刺激、诱导得到DC。其中GM-CSF是刺激骨髓来源细胞向粒细胞和巨噬细胞系分化的

## ■研发前沿

目前树突状细胞疫苗在肿瘤中的治疗作用已是研究热点,重点是树突状细胞的体外培养以及针对肿瘤的高度特异性、高效性的树突状细胞疫苗,亟待研究的问题是疫苗的治疗剂量、纯度、接种方式、疗程、频率、接种最佳人群及最佳时机的选择以及临床治疗效果的评价标准的统一。

## ■相关报道

Palucka等的文章《Cancer immunotherapy via dendritic cells》就树突状细胞的特性及树突状细胞疫苗在肿瘤中的治疗等方面的研究做了总结性的、翔实的报道。

生长因子, 而IL-4则阻止前体细胞向巨噬细胞方向的分化, 这两个因子组合可刺激诱导出未成熟DC<sup>[22]</sup>。另外, Sallusto等<sup>[23]</sup>也在实验中印证了这一点。因成熟DC刺激同种异体T淋巴细胞反应能力及抗原呈递能力远强于未成熟DC, 故DC肿瘤疫苗的疗效与DC成熟程度密切相关, 因此寻找高效诱导DC成熟、制备负载DC的方法是DC疫苗在临床抗肿瘤治疗中得以广泛应用的关键问题<sup>[24]</sup>。最初描述促DC成熟的方法是向培养基内加入未知成份的混合细胞因子<sup>[25]</sup>, 后有报道提出, 只用TNF- $\alpha$ 促DC成熟<sup>[26]</sup>。随后, 有研究指出用TNF- $\alpha$ 、IL-1和IL-6的混合物来促进DC成熟, 且其成为促DC成熟的“标准”<sup>[27]</sup>。

## 3 DC疫苗的制备和种类

由于这些细胞在协调天然免疫与适应性免疫反应中特殊的属性, DCs疫苗接种策略已经开发。DC疫苗接种的目的是诱导肿瘤特异效应T细胞可以有效地遏制肿瘤, 并且可以诱导免疫记忆来控制肿瘤复发。在这个过程中, 第一步是要提供负载有肿瘤特异抗原的DC。这可以通过两种途径来实现: 一种是通过体外培养来自患者体内的DCs, 在细胞因子(使其成熟)和肿瘤特异抗原共培养, 然后将这些细胞回输给患者; 另一种是在体内诱导载有肿瘤特异抗原的DCs<sup>[8]</sup>。其中使用由细胞因子在体外刺激生成的DCs制备的肿瘤疫苗在癌症患者的疫苗治疗中的研究已有十多年的历史<sup>[28]</sup>。这些研究结论认为DC疫苗是安全的, 并且其可诱导肿瘤特异性的CD4<sup>+</sup> T细胞和CD8<sup>+</sup> T细胞的扩大循环<sup>[8]</sup>。

代国知等<sup>[29]</sup>就目前用于特异性抗肿瘤的DC疫苗种类进行描述, 大致可分为两类, DC多肽疫苗和DC基因疫苗。其中DC多肽疫苗有: (1)肿瘤特异性表位肽刺激的DC; (2)肿瘤细胞裂解物致敏的DC; (3)肿瘤细胞与DC的融合; (4)Exosomes小体负载的DC。其中Exosomes小体负载的DC在动物肿瘤模型实验中已被证实具有有效的抗肿瘤免疫作用, 已成为抗肿瘤免疫治疗研究的新热点<sup>[30,31]</sup>。DC基因疫苗包括肿瘤DNA、肿瘤RNA、细胞因子、共刺激分子和黏附分子基因转染的DC疫苗, 通过提高DC对抗原的摄取、加工处理及递呈能力, 能特异性诱导机体产生高效而特异的抗肿瘤免疫效应<sup>[32,33]</sup>。据报道, 美国食品和药物管理局(Food and Drug Administration, FDA)已批准其在肿瘤生物治疗的研究进入临床试验阶段<sup>[34]</sup>。

## 4 DC与肿瘤免疫逃逸

据目前研究结果已知, 肿瘤微环境可诱导其免疫耐受<sup>[35]</sup>。肿瘤细胞免疫逃逸的机制有: (1)肿瘤抗原的变异, 是其逃避免疫监视的主要机制; (2)肿瘤细胞的“抗原调整”; (3)MHC分子表达水平下调; (4)肿瘤细胞分泌免疫抑制因子<sup>[36]</sup>。虽然DC有强大的免疫监视功能, 但由于肿瘤细胞相关的一些因素致使DC不能有效提呈肿瘤细胞, 故肿瘤细胞逃避免疫系统的监控<sup>[36]</sup>。对肿瘤如肠癌<sup>[37]</sup>、肝癌<sup>[38]</sup>、胰腺癌、喉癌、卵巢癌的研究中发DC存在缺憾, 表现在数量上减少以及功能上障碍等。DCs内吞的肿瘤相关抗原(tumor-associated antigens, TAA)如癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA), 早期可以局限于包内小体, 故而抑制了其对肿瘤抗原的有效处理和呈递给T淋巴细胞<sup>[39]</sup>。有研究提示致癌基因信号可抑制DC分化、成熟从而促肿瘤逃避免疫监视<sup>[40]</sup>。

## 5 DC疫苗与肿瘤免疫治疗

然而, 一个肿瘤细胞并非一定会发展成癌症, 这要归功于机体强大的免疫系统。免疫系统有清除肿瘤细胞的潜能。然而肿瘤细胞本身是较弱的抗原递呈细胞(antigen-presenting cell, APC), 因此提出了一个问题, 如此强大的免疫力是怎样生成的<sup>[8]</sup>? 小鼠模型表明, 保护性抗肿瘤免疫取决于肿瘤抗原提呈细胞DC<sup>[41,42]</sup>。DCs可在大量的分子传感器的协助下捕获入侵的微生物并将产生的信息传输给淋巴细胞。因此DCs在天然免疫与适应性免疫反应中起着重要的桥梁作用<sup>[8]</sup>。

肿瘤免疫治疗试图利用免疫系统的特异性力量治疗肿瘤, 人类癌症特异抗原的分子识别使肿瘤特异性免疫治疗成为可能<sup>[8]</sup>。其是继传统疗法如手术、化疗、放疗等之后的新兴的抗肿瘤方法<sup>[43]</sup>, 是最近几十年来备受关注的研究领域。其基本思路是克服免疫系统对肿瘤的免疫忽视或免疫耐受状态, 通过体内或体外方法来调动宿主免疫系统之抗肿瘤应答能力, 消灭肿瘤细胞或抑制其进一步发展。目前已有多种肿瘤免疫治疗的方案, 例如细胞因子治疗、抗体免疫治疗、细胞免疫治疗以及肿瘤疫苗等。目前, 研究热门的主要有两种方法, 一种是自体特异性T细胞在体外扩增, 然后回输到患者。另一种方法是, 接种疫苗, 即将一个负载有抗原的物质注射入体内引起效应性T细胞。由于他们的属性, DC通常被称为“自然的佐剂”从而成为了



天然的抗原传递剂<sup>[8]</sup>. 从而产生了DC疫苗的理论基础, 即使用某种方法使DC负载肿瘤抗原, 再将此负载肿瘤抗原的DC回输给荷瘤宿主, 诱导宿主抗肿瘤免疫应答, 产生特异性杀伤肿瘤作用.

根据肿瘤免疫逃逸机制及DC疫苗的理论基础, 且目前体外培养DC条件及相关基因工程技术日渐成熟, DC疫苗抗肿瘤治疗是可行的. 据报道DC疫苗已在多种恶性肿瘤的治疗上进入临床试验阶段, 如B细胞淋巴瘤、黑色素瘤、肾癌、胰腺和胆囊肿瘤、前列腺癌、白血病等, 并取得了一定的临床疗效, 且安全性较好, 仅有轻度不适, 如接种疫苗后出现短暂的乏力、发热等全身表现和恶心、呕吐消化系统不适及注射部位的局部炎症反应等<sup>[24,44]</sup>. Avigan等<sup>[45]</sup>研究显示, 从自体外周血提取的单个核细胞在GM-CSF、IL-4及自体血浆进行培养后在体外与肿瘤细胞融合, 此融合细胞双重表达肿瘤细胞及DC的特异性标志, 将此融合疫苗回输给23例癌症患者, 其中10例乳腺癌患者, 13例肾癌患者, 每3 wk皮下注射1次, 共9 wk. 每周进行疫苗毒性评估, 在完成疫苗接种后1、3及6 mo评估其抗肿瘤反应. 结果提示, 整个治疗过程中无显著的治疗相关不良反应, 且无临床证据提示有自身免疫; 在可评估的18例患者中, 有10例高表达IFN- $\gamma$ 的具有抗肿瘤活性的CD4<sup>+</sup> T和CD8<sup>+</sup> T细胞的百分比增高, 2例乳腺癌患者表现肿瘤退缩, 5例肾癌患者及1例乳腺癌患者趋于稳定. 其研究结果再次证明, DC疫苗在特异性抗肿瘤作用的有效性 & 安全性.

## 6 DC与胃癌

基于对胃癌的进一步研究, 发现其发生、发展、愈后与DC密切相关. 因不成熟的DC刺激活化初始T细胞能力远远弱于成熟的DC, 因此DC的迁移、成熟在胃癌免疫逃逸中扮演重要角色. 研究表明, 与正常胃黏膜组织相比, 胃癌组织中DC的成熟及功能受到抑制, 这影响到机体对幽门螺杆菌的天然免疫和获得性免疫应答的能力<sup>[46]</sup>. 胃癌组织中成熟的DC的数量显著低于癌旁正常组织, 且与淋巴结转移、TNM分期、预后等因素有关<sup>[47,48]</sup>. 众所周知, 环氧酶2(cyclooxygenase-2, COX-2)可以通过多种机制参与肿瘤的发生、发展, 具有致癌作用, 而对于胃癌的研究中显示, COX-2的表达水平与DC浸润程度呈负相关, 从而促进肿瘤的发展<sup>[49]</sup>. 另有文章指出, 淋巴结转

移程度与DC浸润程度呈负相关; 胃癌的分期越晚DC浸润数量越低; DC显著浸润者的预后优于轻度浸润者. 提示胃癌组织中成熟DC数量减少、抗原呈递能力降低, 机体识别胃癌细胞能力下降, 致使胃癌发生、发展和转移<sup>[24]</sup>.

## 7 DC疫苗在胃癌中的应用

DC疫苗具有良好的临床应用前景, 其可与传统治疗方法联合应用成为抗肿瘤的综合治疗方法之一<sup>[50]</sup>. 有文章指出, 化疗联合肿瘤疫苗治疗可作为癌症的辅助治疗, 可增强机体抗肿瘤免疫能力, 从而抑制肿瘤复发和发展<sup>[51]</sup>. 目前胃癌的传统疗法效果差强人意, 新的治疗方法亟待解决. 已知胃癌的发生、发展与成熟DC数量减少及功能抑制有关, 且DC疫苗可在体内诱导出特异性杀伤肿瘤免疫反应, 可将负载有特定胃癌抗原的DC回输给相应类型的胃癌患者, 产生特异性抗胃癌反应, 抑制胃癌的发展.

有研究报道, 黑色素瘤抗原基因3(melanoma antigen-encoding gene-3, *MAGE-3*)、人类表皮生长因子受体2(human epidermal growth factor receptor 2, *HER2/neu*)基因与胃癌密切相关, 在胃癌中高表达, 基于这一事实, 有研究用它们负载DC治疗胃癌, 结果提示可获得特异性抗肿瘤反应, 相应DC疫苗可用于相应分型胃癌的治疗<sup>[24]</sup>. 赵永亮等<sup>[52]</sup>研究提示gp96多肽复合物DC疫苗诱导的效应T淋巴细胞分泌具有促进免疫应答作用的IFN- $\gamma$ 的量有所提高, 而分泌具有负向调控免疫应答功能的IL-10的量下降, 能高度特异性地诱导出针对自体胃癌细胞的杀伤作用. 经转染制备出的肝素酶阳性的DC疫苗可高独特异性杀伤与之匹配的胃癌细胞, 而对自体细胞无杀伤作用<sup>[53]</sup>. Ohshita等<sup>[54]</sup>提取MKN45胃癌细胞株及腹水胃癌细胞中的mRNA, 导入DC, 得到的DC疫苗可诱导产生特异性杀伤胃癌细胞作用.

现有的临床治疗方法及效果表明, 单纯一种治疗方法的治疗效果不及联合治疗. 胃癌患者血清中IL-12的浓度降低及IL-10的浓度升高, 且病期越晚这种改变越明显, 说明机体免疫功能受抑制越严重. 有研究指出采用DC疫苗同步化学治疗法治疗进展期胃癌的近期疗效较好, 能增强胃癌术后患者的特异性免疫抗肿瘤能力, 提高胃癌患者术后化疗疗效及生存率, 且术后肿瘤的复发得到遏制. 且能减少化学治疗的不良反应, 减弱机体的免疫抑制功能, 改善患者的生活质量<sup>[55,56]</sup>. 另有报道指出, 化疗联合DC疫苗

### ■创新盘点

此文章从树突状细胞的生物特性到其疫苗在胃癌免疫治疗中的作用应用等, 着重介绍树突状细胞疫苗与肿瘤免疫治疗, 重点描述其在胃癌免疫治疗中的应用及目前尚需解决的问题.

## ■应用要点

该文章针对树突状细胞在胃癌免疫治疗中的作用,在胃癌的传统疗法的基础上进行创新,将给胃癌患者带来新的曙光,大大提高胃癌患者的生存率甚至治愈率。但是其治疗剂量、纯度、接种方式、疗程、频率、接种最佳人群及最佳时机的选择等还需进一步统一。

的进展期胃癌术后患者非特异免疫功能和特异性细胞免疫应答明显优于单纯化疗<sup>[57]</sup>。

## 8 问题与展望

DC在人体免疫系统扮演着重要角色,是天然免疫系统和获得性免疫系统间的桥梁,成熟的DC才可以激发免疫反应,其在胃癌的发生、发展及预后中起重要作用,参与胃癌的免疫逃逸。DC疫苗用于胃癌的治疗已进入临床试验阶段,然而如何使DC疫苗在胃癌中高效性、高特异性应用仍需解决以下问题: (1)在体外大规模生产具有高效激发免疫反应的DC; (2)选择高效、特异的抗原负载DC方式制备优质疫苗,最大限度地减少自身免疫性疾病等副作用发生的几率; (3)疫苗的治疗剂量、纯度、接种方式、疗程、频率、接种最佳人群及最佳时机的选择以及临床治疗效果的评价标准的统一; (4)联合治疗方式的选择及相关标准; (5)疫苗+克制免疫逃逸机制相结合。随着免疫学、分子生物学及基因工程的研究进展,相信DC疫苗会给胃癌患者带来新的曙光。

## 9 结论

鉴于DC在免疫系统中起着举足轻重的作用,且其体外培养及诱导技术已基本成熟,DC疫苗的制备已不再是难题,其在胃癌中的治疗作用已被多为学者证实。

## 10 参考文献

- Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity. *Nature* 1998; 392: 245-252 [PMID: 9521319 DOI: 10.1038/32588]
- Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007; 449: 419-426 [PMID: 17898760 DOI: 10.1038/nature06175]
- Steinman RM. Decisions about dendritic cells: past, present, and future. *Annu Rev Immunol* 2012; 30: 1-22 [PMID: 22136168 DOI: 10.1146/annurev-immunol-100311-102839]
- Schuler G, Steinman RM. Dendritic cells as adjuvants for immune-mediated resistance to tumors. *J Exp Med* 1997; 186: 1183-1187 [PMID: 9379142 DOI: 10.1084/jem.186.8.1183]
- Kaliński P, Hilkens CM, Wierenga EA, Kapsenberg ML. T-cell priming by type-1 and type-2 polarized dendritic cells: the concept of a third signal. *Immunol Today* 1999; 20: 561-567 [PMID: 10562707 DOI: 10.1016/S0167-5699(99)01547-9]
- Steinman RM, Cohn ZA. Identification of a novel cell type in peripheral lymphoid organs of mice. I. Morphology, quantitation, tissue distribution. *J Exp Med* 1973; 137: 1142-1162 [PMID: 4573839 DOI: 10.1084/jem.137.5.1142]
- Steinman RM, Cohn ZA. Mononuclear Phagocytes in Immunity, Infection, and Pathology. Blackwell Scientific Publications Ltd, Oxford: 1975: 95-109
- Palucka K, Banchereau J. Cancer immunotherapy via dendritic cells. *Nat Rev Cancer* 2012; 12: 265-277 [PMID: 22437871 DOI: 10.1038/nrc3258]
- 刘婷, 华川. 树突状细胞抗肿瘤免疫的研究进展. *重庆医学* 2009; 38: 2090-2092
- Cella M, Sallusto F, Lanzavecchia A. Origin, maturation and antigen presenting function of dendritic cells. *Curr Opin Immunol* 1997; 9: 10-16 [PMID: 9039784 DOI: 10.1016/S0952-7915(97)80153-7]
- Son YI, Dallal RM, Mailliard RB, Egawa S, Jonak ZL, Lotze MT. Interleukin-18 (IL-18) synergizes with IL-2 to enhance cytotoxicity, interferon-gamma production, and expansion of natural killer cells. *Cancer Res* 2001; 61: 884-888 [PMID: 11221875]
- Peiser M, Wanner R, Kolde G. Human epidermal Langerhans cells differ from monocyte-derived Langerhans cells in CD80 expression and in secretion of IL-12 after CD40 cross-linking. *J Leukoc Biol* 2004; 76: 616-622 [PMID: 15178702 DOI: 10.1189/jlb.0703327]
- Jego G, Pascual V, Palucka AK, Banchereau J. Dendritic cells control B cell growth and differentiation. *Curr Dir Autoimmun* 2005; 8: 124-139 [PMID: 15564719 DOI: 10.1159/000082101]
- Qi H, Egen JG, Huang AY, Germain RN. Extrafollicular activation of lymph node B cells by antigen-bearing dendritic cells. *Science* 2006; 312: 1672-1676 [PMID: 16778060 DOI: 10.1126/science.1125703]
- Jefford M, Schnurr M, Toy T, Masterman KA, Shin A, Beecroft T, Tai TY, Shortman K, Shackleton M, Davis ID, Parente P, Luft T, Chen W, Cebon J, Maraskovsky E. Functional comparison of DCs generated in vivo with Flt3 ligand or in vitro from blood monocytes: differential regulation of function by specific classes of physiologic stimuli. *Blood* 2003; 102: 1753-1763 [PMID: 12738673 DOI: 10.1182/blood-2002-12-3854]
- 李奇灵, 卜宁, 李亚玲, 于月成, 方静, 辛晓燕. 两种来源的树突状细胞体外培养及免疫学特征比较. *现代肿瘤医学* 2006; 14: 787-789
- 何海新, 叶韵斌, 陈强, 张其忠. 脐血来源树突状细胞的培养与鉴定. *福建医药杂志* 2005; 27: 112-115
- 王媛, 杨爱珍, 陈惠英, 乐美兆, 秦叔逵. 人外周血树突状细胞的体外诱导和鉴定. *临床肿瘤学杂志* 2004; 9: 597-600
- 徐虹, 黄自明, 阮丽荣, 杜英, 张虹, 董子明. 人外周血及脐血树突状细胞的体外诱导及抗肿瘤作用比较. *郑州大学学报(医学版)* 2006; 41: 26
- 薛洋, 师建国. 树突状细胞的提取与肿瘤免疫治疗之间的关系. *黑龙江医学* 2012; 36: 23-26
- Babatz J, Röhlig C, Oelschlägel U, Zhao S, Ehninger G, Schmitz M, Bornhäuser M. Large-scale immunomagnetic selection of CD14+ monocytes to generate dendritic cells for cancer immunotherapy: a phase I study. *J Hematother Stem Cell Res* 2003; 12: 515-523 [PMID: 14594508 DOI: 10.1089/15258160332244822]
- Tuyaerts S, Aerts JL, Corthals J, Neyns B, Heirman C, Breckpot K, Thielemans K, Bonehill A. Current approaches in dendritic cell generation and future implications for cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 2007; 56: 1513-1537 [PMID: 17503040 DOI: 10.1007/s00262-007-0334-z]
- Sallusto F, Lanzavecchia A. Efficient presentation of soluble antigen by cultured human dendritic cells is maintained by granulocyte/macrophage colony-

- stimulating factor plus interleukin 4 and down-regulated by tumor necrosis factor alpha. *J Exp Med* 1994; 179: 1109-1118 [PMID: 8145033 DOI: 10.1084/jem.179.4.1109]
- 24 耿一婷, 蒋敬庭, 吴昌平. 树突状细胞与胃癌免疫治疗的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 1136-1140
  - 25 Romani N, Reider D, Heuer M, Ebner S, Kämpgen E, Eibl B, Niederwieser D, Schuler G. Generation of mature dendritic cells from human blood. An improved method with special regard to clinical applicability. *J Immunol Methods* 1996; 196: 137-151 [PMID: 8841452 DOI: 10.1016/0022-1759(96)00078-6]
  - 26 Morse MA, Zhou LJ, Tedder TF, Lysterly HK, Smith C. Generation of dendritic cells in vitro from peripheral blood mononuclear cells with granulocyte-macrophage-colony-stimulating factor, interleukin-4, and tumor necrosis factor-alpha for use in cancer immunotherapy. *Ann Surg* 1997; 226: 6-16 [PMID: 9242332 DOI: 10.1097/0000658-199707000-00002]
  - 27 Jonuleit H, Kühn U, Müller G, Steinbrink K, Paragnik L, Schmitt E, Knop J, Enk AH. Pro-inflammatory cytokines and prostaglandins induce maturation of potent immunostimulatory dendritic cells under fetal calf serum-free conditions. *Eur J Immunol* 1997; 27: 3135-3142 [PMID: 9464798 DOI: 10.1002/eji.1830271209]
  - 28 Ueno H, Schmitt N, Klechevsky E, Pedroza-Gonzalez A, Matsui T, Zurawski G, Oh S, Fay J, Pascual V, Banchereau J, Palucka K. Harnessing human dendritic cell subsets for medicine. *Immunol Rev* 2010; 234: 199-212 [PMID: 20193020 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2009.00884.x]
  - 29 代国知, 袁红霞, 陈虹亮. 基于树突状细胞的肿瘤免疫治疗研究进展. *现代肿瘤医学* 2012; 20: 409-411
  - 30 Ren WN, Chang CK, Fan HH, Guo F, Ren YN, Yang J, Guo J, Li X. A combination of exosomes carrying TSA derived from HLA-A2-positive human white buffy coat and polyI: C for use as a subcellular antitumor vaccination. *J Immunoassay Immunochem* 2011; 32: 207-218 [PMID: 21574092 DOI: 10.1080/15321819.2011.559295]
  - 31 杜英. 脐血树突状细胞及BGC823衍生exosomes诱导抗肿瘤活性的研究. *郑州大学学报* 2006; 34: 2-2
  - 32 Ohno S, Takano F, Ohta Y, Kyo S, Myojo S, Dohi S, Sugiyama H, Ohta T, Inoue M. Frequency of myeloid dendritic cells can predict the efficacy of Wilms' tumor 1 peptide vaccination. *Anticancer Res* 2011; 31: 2447-2452 [PMID: 21873158]
  - 33 林嘉盈, 李晓艳. Hep-2细胞总RNA转染树突状细胞诱发抗喉癌特异性免疫效应的研究. *现代肿瘤医学* 2010; 18: 2308-2312
  - 34 Study ID. National Center for research resources. *Clin Triat* 2002; 64: 30
  - 35 汤美雯. 树突状细胞与肿瘤免疫治疗. *亚太传统医药* 2012; 8: 211-212
  - 36 彭丹, 王洪武. 树突状细胞疫苗在抗肿瘤免疫治疗中的研究进展. *临床肺科杂志* 2012; 17: 2060-2062
  - 37 Ojima T, Iwashashi M, Nakamura M, Matsuda K, Nakamori M, Ueda K, Naka T, Ishida K, Primus FJ, Yamaue H. Successful cancer vaccine therapy for carcinoembryonic antigen (CEA)-expressing colon cancer using genetically modified dendritic cells that express CEA and T helper-type 1 cytokines in CEA transgenic mice. *Int J Cancer* 2007; 120: 585-593 [PMID: 17096339]
  - 38 Tatsumi T, Takehara T, Yamaguchi S, Sasakawa A, Sakamori R, Ohkawa K, Kohga K, Uemura A, Hayashi N. Intrahepatic delivery of alpha-galactosylceramide-pulsed dendritic cells suppresses liver tumor. *Hepatology* 2007; 45: 22-30 [PMID: 17187419 DOI: 10.1002/hep.21447]
  - 39 Hiltbold EM, Vlad AM, Ciborowski P, Watkins SC, Finn OJ. The mechanism of unresponsiveness to circulating tumor antigen MUC1 is a block in intracellular sorting and processing by dendritic cells. *J Immunol* 2000; 165: 3730-3741 [PMID: 11034378]
  - 40 Barahona-Garrido J, Yamamoto-Furusho JK. New treatment options in the management of IBD - focus on colony stimulating factors. *Biologics* 2008; 2: 501-504 [PMID: 19707380]
  - 41 Diamond MS, Kinder M, Matsushita H, Mashayekhi M, Dunn GP, Archambault JM, Lee H, Arthur CD, White JM, Kalinke U, Murphy KM, Schreiber RD. Type I interferon is selectively required by dendritic cells for immune rejection of tumors. *J Exp Med* 2011; 208: 1989-2003 [PMID: 21930769 DOI: 10.1084/jem.20101158]
  - 42 Fuertes MB, Kacha AK, Kline J, Woo SR, Kranz DM, Murphy KM, Gajewski TF. Host type I IFN signals are required for antitumor CD8<sup>+</sup> T cell responses through CD8 $\alpha$ <sup>+</sup> dendritic cells. *J Exp Med* 2011; 208: 2005-2016 [PMID: 21930765 DOI: 10.1084/jem.20101159]
  - 43 周永康, 张雪妍. 树突状细胞疫苗在胰腺癌免疫治疗中的应用研究. *临床和实验医学杂志* 2012; 11: 1241-1242
  - 44 A phase I/II study of a MUC1 peptide pulsed autologous dendritic cell vaccine as adjuvant therapy in patients with resected pancreatic and biliary tumors. *Cancer Ther* 2008; 6: 955-964 [PMID: 19129927]
  - 45 Avigan D, Vasir B, Gong J, Borges V, Wu Z, Uhl L, Atkins M, Mier J, McDermott D, Smith T, Giallambardo N, Stone C, Schadt K, Dolgoff J, Tetreault JC, Villarreal M, Kufe D. Fusion cell vaccination of patients with metastatic breast and renal cancer induces immunological and clinical responses. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 4699-4708 [PMID: 15269142 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-04-0347]
  - 46 Chang LL, Wang SW, Wu IC, Yu FJ, Su YC, Chen YP, Wu DC, Kuo CH, Hung CH. Impaired dendritic cell maturation and IL-10 production following H. pylori stimulation in gastric cancer patients. *Appl Microbiol Biotechnol* 2012; 96: 211-220 [PMID: 22526791 DOI: 10.1007/s00253-012-4034-z]
  - 47 Ananiev J, Gulubova MV, Manolova IM. Prognostic significance of CD83 positive tumor-infiltrating dendritic cells and expression of TGF-beta 1 in human gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2011 58: 1834-1840 [PMID: 22086706 DOI: 10.5754/hge10320]
  - 48 Kashimura S, Saze Z, Terashima M, Soeta N, Ohtani S, Osuka F, Kogure M, Gotoh M. CD83(+) dendritic cells and Foxp3(+) regulatory T cells in primary lesions and regional lymph nodes are inversely correlated with prognosis of gastric cancer. *Gastric Cancer* 2012; 15: 144-153 [PMID: 22083420 DOI: 10.1007/s10120-011-0090-9]
  - 49 万美珍, 徐建忠, 史永娟, 陈玉芳, 汪美华, 潘耀东. 进展期胃癌组织中COX-2表达与树突状细胞浸润的相关性研究. *中华肿瘤防治杂志* 2006; 13: 1005-1007
  - 50 Zitvogel L, Apetoh L, Ghiringhelli F, André F, Tesnière A, Kroemer G. The anticancer immune response: indispensable for therapeutic success? *J Clin Invest* 2008; 118: 1991-2001 [PMID: 18523649 DOI: 10.1172/JCI35180]
  - 51 Casati A, Zimmermann VS, Benigni F, Bertilaccio

## 同行评价

本文内容较好. 主要讲述“树突状细胞”与免疫治疗. 文章内容较新颖, 层次清晰, 文笔流畅, 容易阅读. 参考文献较新. 临床医生对这个领域的了解有一定的帮助.



- MT, Bellone M, Mondino A. The immunogenicity of dendritic cell-based vaccines is not hampered by doxorubicin and melphalan administration. *J Immunol* 2005; 174: 3317-3325 [PMID: 15749863]
- 52 赵永亮, 余佩武, 蔡志民, 朱金明. p96多肽复合物树突状细胞疫苗诱导的体外抗胃癌实验研究. *中华普通外科杂志* 2006; 21: 26-28
- 53 Cai YG, Fang DC, Chen L, Tang XD, Chen T, Yu ST, Luo YH, Xiong Z, Wang DX, Yang SM. Dendritic cells reconstituted with a human heparanase gene induce potent cytotoxic T-cell responses against gastric tumor cells in vitro. *Tumour Biol* 2007; 28: 238-246 [PMID: 17717429 DOI: 10.1159/000107584]
- 54 Ohshita A, Yamaguchi Y, Minami K, Okita R, Toge T. Generation of tumor-reactive effector lymphocytes using tumor RNA-introduced dendritic cells in gastric cancer patients. *Int J Oncol* 2006; 28: 1163-1171 [PMID: 16596232]
- 55 吕国强, 许炳华, 沈晓明, 李丽, 项方. 进展期胃癌术后树突状细胞疫苗同步化学治疗的免疫功能监测. *中华消化杂志* 2009; 29: 825-828
- 56 张玲, 孙雷, 刘改丽. 树突状细胞联合化疗治疗晚期胃癌的临床观察. *青岛医药卫生* 2012; 44: 137-141
- 57 陈环球, 文旭, 顾荣民, 李刚, 赖娅娜, 张磊, 央央, 时宏珍. 自体DC细胞疫苗对进展期胃癌术后同步化疗患者免疫功能的影响. *江苏医药* 2011; 37: 668-670

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

# 胃癌遗传易感性基因的研究进展

于国伟, 梁 会

于国伟, 西北民族大学医学院 西部环境健康研究所 甘肃省兰州市 730030

梁会, 天津医科大学护理学院 天津市 300070

于国伟, 主要从事肿瘤病因学的研究。

作者贡献分布: 本论文资料查找由梁会完成; 写作由于国伟与梁会完成; 于国伟审核。

中央高校基本科研基金资助项目, No. 31920130037

通讯作者: 梁会, 300070, 天津市和平区气象台路22号, 天津医科大学护理学院, l\_hui@163.com

收稿日期: 2013-06-10 修回日期: 2013-07-04

接受日期: 2013-12-01 在线出版日期: 2014-01-08

## Gastric cancer susceptibility genes

Guo-Wei Yu, Hui Liang

Guo-Wei Yu, Medical College, Northwest University for Nationalities, Lanzhou 730030, Gansu Province, China

Hui Liang, Nursing College, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Supported by: the Central University Basic Scientific Research Funds, No. 31920130037

Correspondence to: Hui Liang, Nursing College, Tianjin Medical University, 22 Qixiangtai Road, Heping District, Tianjin 300070, China. l\_hui@163.com

Received: 2013-06-10 Revised: 2013-07-04

Accepted: 2013-12-01 Published online: 2014-01-08

## Abstract

Genetic susceptibility results from genetic factors or some genetic defects, and endows the offspring with some physiological and metabolic features prone to certain diseases. At present, gastric cancer susceptibility genes have become a hot research topic in China, and the identification and characterization of gastric cancer susceptibility genes can help develop methods for exploring gastric cancer etiology and provide a scientific basis for the prevention and control of this malignancy. In this paper, we will review the current progress in research of gastric cancer susceptibility genes.

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

Key Words: Gastric cancer; Gene; Genetic; Susceptibility

Yu GW, Liang H. Gastric cancer susceptibility genes. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 53-58 URL:

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/53.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.53>

## 摘要

遗传易感性是指由于遗传因素的影响、或由于某种遗传缺陷、使其后代的生理代谢具有容易发生某些疾病的特性。目前国内对胃癌遗传易感性基因的研究已成为热点,其目的是为筛选胃癌病因、寻找基因治疗方法,最终为预防和控制胃癌提供科学依据。本文就目前胃癌遗传易感基因的研究进展进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 基因; 遗传; 易感性

**核心提示:** 胃癌的遗传易感基因在胃癌的发生、发展中起着非常重要的作用。不同人群,其地区不同,民族不同,遗传易感性会存在一定的差异。因此,该研究还需要进一步深入研究为寻找基因治疗方法,最终为预防和控制胃癌提供科学依据。

于国伟, 梁会. 胃癌遗传易感性基因的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(1): 53-58 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/53.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.53>

## 0 引言

胃癌是我国常见的消化系统肿瘤,占恶性肿瘤死亡的第1位<sup>[1]</sup>。目前已知胃癌的发生与胃部基础疾病(如胃炎、胃切除手术等)、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、生活习惯如高盐饮食和易感遗传因素等有关。研究表明35%-60%的胃癌发生与*H. pylori*感染有关<sup>[2]</sup>,但*H. pylori*感染人群中只有部分人患胃癌,遗传因素可能是胃癌发生的另一重要因素<sup>[1]</sup>。胃癌的家庭聚集性现象以及在相同的暴露环境下只有少数人患病的事实表明,个体对环境暴露因素的遗传易感性在胃癌发病过程中起着同样重要作用<sup>[3,4]</sup>。同样近几年的流行病学研究结果发现,同样生活在胃癌高发区的环境中,也只有少数人

## ■背景资料

胃癌在我国发病率和死亡率均较高,居消化系统恶性肿瘤的首位。其病因及发病机制尚不明确,与很多因素有关,遗传易感基因成为国内的研究热点,解析胃癌的遗传机制,才有可能真正实现个体化预防,并有助于发展更有效的医疗方法以降低临床不良后果,具有重大的临床意义。

## ■同行评议者

李淑德, 教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院消化内科

## ■ 研究前沿

单核苷酸多态性与肿瘤易感性的关系是近年研究的热点, 今后的研究需要在有足够大样本的研究基础上, 检测出尽可能多的候选基因, 同时分析及其他环境因素与基因多态性的共同作用。

发病, 提示个体是否罹患胃癌在很大程度上还取决于个体的遗传易感性。

## 1 胃黏膜保护基因

对胃黏膜起保护作用的基因主要有黏液素基因(mucin gene)。目前发现的亚型有MUC1、MUC2、MUC5AC、MUC6和三叶肽(Trefoil peptide)家族基因。(1)MUC1是一个跨膜型的大分子量(2000 kDa)的糖蛋白, 与HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>共同构成“黏液-碳酸氢盐屏障”, 实现对胃黏膜的保护作用。Xu等<sup>[5]</sup>采用序列特异性引物-聚合酶链反应(sequence specific primers PCR, PCR-SSPs)方法对辽宁地区人群MUC1568位点A/G多肽的分布特征进行了检测, 发现携带MUC1 AA基因型个体胃癌的发病风险提高。同时有研究报道<sup>[6]</sup>基因MUC1和MUC5 AC中, 常见的遗传变异将有助于提高胃癌的风险; (2)三叶肽家族目前被归为三叶肽因子家族(trefoil factor family, TFF)肽, 主要由乳腺相关肽及TFF1(trefoil factor family1, TFF1)、解痉多肽(spasmolytic polypeptide, SP)和肠三因子(intestinal trefoil factor, ITF)组成。目前认为三叶肽可与黏液中的黏蛋白相互作用或交联形成黏液凝胶, 增强胃肠道黏膜的防御屏障能力, 诱导上皮细胞迁移, 对正常或癌前期病变起分化作用, 而对肿瘤细胞则促进其生长<sup>[7]</sup>。在葡萄牙, 有研究表明TFF2基因多态性与胃癌无关<sup>[8]</sup>。

## 2 免疫反应相关基因

与免疫反应相关的基因主要有白介素(interleukin, IL)基因、人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)基因和肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)基因。(1)近年对白介素的研究比较多, 如研究发现IL-1、IL-6、IL-8、IL-10的多个位点基因多态性可增加胃癌发生的危险性, IL-1是感染产生或起放大免疫反应的重要细胞因子, 并且是胃酸分泌强有力的抑制剂, 其基因位于染色体2q13上, 含有IL-1A、IL-1B和IL-1RN(编码IL-1受体拮抗剂)。采用病例对照研究方法发现, 目前尚未直接证据证明IL-1β和IL-1RN基因多态性与胃癌易感性有关, 但携带IL-1RN 2R等位基因可能提高胃癌患病风险<sup>[9]</sup>。IL-6主要由单核巨噬细胞、内皮细胞及淋巴样细胞产生, 是一种多效应细胞因子, 在胃癌的发生发展中发挥着重要作用。赵勇等<sup>[10]</sup>采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性(PCR-RFLP)研究发

现IL-6-174位点G/C基因型与甘肃武威地区人群的胃癌发病风险有相关性。但有Meta分析表明IL-6-174 C/G和IL-6-572 C/G多态性与胃癌危险不相关<sup>[11]</sup>。国外研究发现中国人携带IL-6-6331与胃癌的发生发展有关<sup>[12]</sup>。IL-10是抗炎细胞因子的一种, 在抑制炎症和预防肿瘤方面起着重要作用。Xue等<sup>[13,14]</sup>发现在亚洲人群中IL-10-592 AA和IL-10-819 TT基因型能减少胃癌的发生, 是一个保护性因素。在河西地区H. pylori感染的患者中, IL-10-819 C等位基因和IL-10-592 C等位基因能增加胃癌的发病风险。而且IL-10与H. pylori感染存在协同效应<sup>[15]</sup>; (2)肿瘤坏死因子是体内具有多种生物活性的细胞因子, 在机体的抗肿瘤免疫中发挥重要作用, 而TNF-α基因多态性可影响TNF的分泌。Hong等<sup>[16]</sup>采用TaqMan方法发现在中国人群中TNF-α-308 G>A多态性与进展期胃癌相关; (3)HLA抗原是黏附于特异T细胞受体的细胞表面蛋白, HLA基因有2类, HLA1(HLA-A)和HLA2(HLA-DR, HLA-DQ, HLA-DP)。陈威等<sup>[17]</sup>采用PCR-RFLP技术研究发现HLA-DPB1\*0901、\*1701等位基因的多态性与胃癌患病的高低有关, 但未发现其与H. pylori感染有关。有研究采用Logistic回归分析发现HLA-DQA1基因与胃癌的易感性相关(OR = 1.87, 95%CI: 1.15-3.06, P = 0.012), 同时在H. pylori感染与环境中存在加乘交互作用<sup>[18]</sup>。此外还发现有NOD1基因rs2906766位点C>T的改变; 中国北方携带GSTP1 Val等位基因; 在H. pylori感染阳性人群中, 携带PARP-1 762Ala/Ala基因型者患胃癌的风险均会增加。

## 3 代谢酶基因

影响胃癌遗传易感性的代谢酶基因主要有: 与I相代谢有关的细胞色素P450(cytochrome P450, CYP450)酶系统能将进入机体的前致癌物经其催化转变成亲电子化合物攻击细胞内生物大分子, 最终形成DNA加成物, 启动致癌或致突变过程, 至今已经发现了7种CYP基因的遗传多态现象, 他们是CYP1A1、CYP2A6、CYP2C9、CYP2C18、CYP2C19、CYP2D6和CYP2E1, 而与胃癌遗传易感性有关的基因主要是CYP1A1、CYP2E1、CYP2C19基因<sup>[19]</sup>; 与II相代谢酶有关的主要是谷胱甘肽硫转移酶(glutathione S-transferases, GSTs), 他可催化外来化合物的中间代谢产物与还原型谷胱甘肽结合, 而还原型谷胱甘肽的结合物常常是毒性



降低而且易于排出体外,所以在保护细胞免受化学致癌物的攻击方面有重要作用,主要有 *GSTM1*、*GSTT1* 基因等。(1)有研究采用PCR-RFLP技术检测发现在广西地区汉族、壮族人群单独 *CYP1A1* 基因MSP1多态性与胃癌易感性无明显相关性<sup>[20]</sup>。*CYP2E1* 能增加胃癌发病的风险, *CYP1A2* CC或CT基因型能减少胃癌的发生<sup>[21]</sup>;(2)采用病例对照分子流行病学方法,发现 *GSTM1* 基因缺失可能会增加胃癌发生的危险<sup>[22]</sup>。但在南欧人群中,却发现GST多态性与个体易感性不相关<sup>[23]</sup>。除上述基因外,近年来还发现一些基因在胃癌的发生发展中发挥着重要的作用。如环氧化酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)、脂氧酶12(12-lipoxygenase, LOX12)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)等基因的多态性可能与胃癌的发病有关。

#### 4 DNA修复基因

DNA损伤修复对胃癌的发生具有重要意义。DNA修复酶在维持DNA的稳定性中发挥着重要作用,如果他们能够正确地判断并修复受损的DNA,机体就能正常代谢,而若修复酶基因出现了异常,修复功能就会受到影响,对受损的DNA就不能修复或出现错误的修复,导致蛋白表达错误,进而导致肿瘤的发生。对DNA损伤修复主要的基因有亚甲基四氢叶酸还原酶(methylenetetrahydrofolate reductase, MTHFR)、X射线交错互补修复基因(X-ray repair cross-complementing 1, XRCC1)和8-羟基鸟嘌呤糖苷酶1基因(human homolog of the 8-oxoguanine glycosylase 1, HOGG1)等。(1)MTHFR是调节叶酸和蛋氨酸代谢的限速酶,其多态性会影响叶酸的代谢,造成甲基不足,从而促进胃癌的发生,国外有研究采用Meta分析发现 *MTHFR* 基因C677T携带TT有易感性,而A1298C携带CC基因无明显易感性<sup>[24]</sup>;(2)对XRCC1多态性与胃癌的研究还处于起步阶段,各项研究还存在很大的分歧,目前发现 *XRCC1* 基因存在3个多态性位点,第6外显子上C26304 T(Arg194Trp),第9外显子上G27466A(Arg280His)以及第10外显子上G28152 A(Arg399Gln),Liu等<sup>[25]</sup>通过Meta分析表明, *XRCC1* Arg399Gln的多态性对发展中胃癌不是危险因素。Pan等<sup>[26]</sup>采用病例-对照研究方法发现携带XRCC1 Arg194Trp对非贲门胃癌在西方的中国汉族人群是一个遗传易感因素;(3)Kim等<sup>[27]</sup>研究发现 *HOGG1* 基因的等位基因(Ser326,

Cys326, Gln46)能有效地抑制化学物质对DNA所致的氧化损伤突变,从而减少癌症的发生。但国外采用Meta分析研究却表明 *HOGG1* 基因多态性与胃癌易感性无关<sup>[28]</sup>。张传臻等<sup>[29]</sup>用扩增阻滞突变系统-聚合酶链反应和PCR-RFLP发现人类着色性干皮病D(xeroderma pigmentosum complementary group D, XPD)也称核苷酸切除修复交叉互补基因(ERCC)codon312位点与胃癌易感显著相关。王名法等<sup>[30]</sup>采用TaqMan-PCR方法发现着色性干皮病基因(xeroderma pigmentosum group F, XPF)基因RS744154多态性与广西胃腺癌的发病相关,但与癌旁胃黏膜 *H. pylori* 感染无关。

#### 5 肿瘤抑制基因

*p53* 基因是一个重要的抑癌基因已经被证实,张伟华等<sup>[31,32]</sup>在两次研究中对 *p53* 基因Arg/Arg均发现其与胃癌在西北地区的高发性,尤其是弥漫型胃癌。通过Meta分析表明<sup>[33]</sup>, *p53*CD72可能与胃癌遗传易感性相关,对亚洲人来说,而且可能还是一个重要的生物标志物。在甘肃地区发现 *p53*CD72与 *H. pylori* 感染存在协同效应<sup>[34]</sup>。*NM23* 是第一个被确认的抑制肿瘤转移基因,编码蛋白为二磷酸核苷磷酸激酶家族成员,其表达与肿瘤侵袭转移及不良预后密切相关<sup>[35]</sup>。近年来发现 *NM23* 基因表达与胃癌进程的发展机制有关<sup>[36]</sup>。郑雄伟等<sup>[37]</sup>采用基质辅助激光解吸电离飞行时间质谱法进行 *NM23*-1465T>C和 *NM23*-873C>T多态性检测研究发现, *NM23*-1465T>C基因多态性与胃癌的不良预后密切相关。

#### 6 其他胃癌易感基因

在最近几年还发现了一些新的基因与胃癌的遗传易感性相关,如转化生长因子B(transforming growth factor B, TGFB)作为一种生长因子与多种肿瘤的发生、发展密切相关。通过病例-对照研究发现TGFB,其基因型TGFB1-509和TGFB2-875多态性有助于减少胃癌的发病风险<sup>[38]</sup>。有Meta分析进一步表明, TGFB1-509T是胃癌的一个易感因素<sup>[39]</sup>。前列腺干细胞抗原基因(prostate stem cell antigen gene, PSCA)来源于前列腺,在细胞信号传导,细胞与细胞间黏附,干细胞、祖细胞自我更新(抗凋亡)或增殖等功能方面起重要作用。有两篇<sup>[40,41]</sup>文献报道PSCA rs2294008 C>T会增加胃癌的遗传易感性。沈国双等<sup>[42]</sup>研究发现 *PSCA* 基因rs2976392位点可能与青海地区藏族胃癌的易

#### ■ 相关报道

刘爱民等的研究中分析了部分基因多态性的胃癌病例对照研究结果,表明单核苷酸多态性是造成差异的遗传物质基础之一。在胃癌的发生、发展过程中,某些基因可能存在逆向或正向的作用,并与幽门螺杆菌感染等环境因素之间存在交互作用。

### ■同行评价

本文分别从胃黏膜保护基因、免疫反应相关基因、代谢酶基因、DNA修复基因等方面对胃癌的遗传易感性进行综述,对阐明胃癌的病因和发病机制有重要理论指导意义。

感性相关。*p73*基因位于1p36.33,长约138 kb,有研究显示*p73* G4C14-to-A4T14基因多态性可能是胃癌的一个危险因素<sup>[43]</sup>。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth-factor, VEGF)是一种分子量为32-34 kDa的多功能糖分泌性蛋白,基因定位于第6对染色体的长臂上(6p21.3),有研究通过Meta发现VEGFA -634G/C有助于胃癌的发生,而VEGFA+936C/T与胃癌不相关<sup>[44,45]</sup>。脂联素(adiponectin)是一种具有调节能量平衡、增强胰岛素敏感性、抗炎、抗动脉粥样硬化等生物学作用的激素蛋白。与正常人群相比,胃癌患者具有较低的血清脂联素<sup>[46]</sup>,周燕<sup>[47]</sup>发现*ADIPOQ*基因rs2241766T>G位点多态性可能与中国西北人群胃癌发病相关。邹伟文等<sup>[48]</sup>运用RT-PCR、ELISA和免疫组织化学发现了N-Myc下游受调节基因2(N-myc down stream regulated gene 2, *NDRG2*)在胃癌组织中低表达或不表达,因此推断该基因很有可能是一种新的抑癌基因。张伟华等<sup>[32,49]</sup>在最近几年发现了携带*p73*基因G4AGC/GC纯合子基因型可能会增加胃癌的危险性,特别是弥漫性胃癌,但对*p73*基因的功能还需进一步的研究。孙静哲等<sup>[50]</sup>采用MassARRAY SNP分型技术检测在研究中首次发现表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, *EGFR*)基因第一内含子rs763317位点多态性与江西地区汉族人群胃癌的遗传易感性相关。还有其他基因如*Klotho*基因、*Reg*基因蛋白(regenerating gene protein)等都与胃癌的遗传易感性有一定的相关性。

## 7 结论

胃癌的遗传易感基因在胃癌的发生、发展中起着非常重要的作用。虽然目前某些基因其发病机制及遗传机制已经明确,但很多基因经过Meta分析后,仍需要进一步大样本研究,而且不同人群,其地区不同,民族不同,遗传易感性会存在一定的差异。因此,该研究还需要进一步深入研究为寻找基因治疗方法,最终为预防和控制胃癌提供科学依据。

## 8 参考文献

- Shanks AM, El-Omar EM. Helicobacter pylori infection, host genetics and gastric cancer. *J Dig Dis* 2009; 10: 157-164 [PMID: 19659782 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2009.00380.x]
- Pryczynicz A, Guzińska-Ustymowicz K, Kemona A, Czyżewska J. Helicobacter pylori infection and expressions of EGF, EGFR and c-erbB-2 proteins in gastric carcinoma. *Folia Histochem Cytobiol* 2009; 47: 447-451 [PMID: 20164030 DOI: 10.2478/

- v10042-009-0102-3]
- Milne AN, Carneiro F, O'Morain C, Offerhaus GJ. Nature meets nurture: molecular genetics of gastric cancer. *Hum Genet* 2009; 126: 615-628 [PMID: 19657673 DOI: 10.1007/s00439-009-0722-x]
- Lee DH, Hahm KB. Inflammatory cytokine gene polymorphisms and gastric cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1470-1472 [PMID: 19120846 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05563.x]
- Xu Q, Yuan Y, Sun LP, Gong YH, Xu Y, Yu XW, Dong NN, Lin GD, Smith PN, Li RW. Risk of gastric cancer is associated with the MUC1 568 A/G polymorphism. *Int J Oncol* 2009; 35: 1313-1320 [PMID: 19885554]
- Jia Y, Persson C, Hou L, Zheng Z, Yeager M, Lisowska J, Chanock SJ, Chow WH, Ye W. A comprehensive analysis of common genetic variation in MUC1, MUC5AC, MUC6 genes and risk of stomach cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 313-321 [PMID: 19924550 DOI: 10.1007/s10552-009-9463-3]
- 徐林, 潘勤聪, 钱湘绮. 三叶肽与胃癌. *国际消化杂志* 2006; 26: 203-206
- dos Santos Silva E, Kayademir T, Regateiro F, Machado JC, Savas S, Dobosz T, Blin N, Gött P. Variable distribution of TFF2 (Spasmolysin) alleles in Europeans does not indicate predisposition to gastric cancer. *Hum Hered* 1999; 49: 45-47 [PMID: 9858857]
- Li K, Yang J, Chen ZR. [Relationships among interleukin-1beta, interleukin-1 receptor antagonist gene polymorphism and susceptibility to gastric cancer]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2010; 41: 1039-1043 [PMID: 21265111]
- 赵勇, 肖滢, 高峰, 张鑫, 宋枫. 甘肃武威地区胃癌发病风险与IL-6基因多态性的相关性研究. *临床军医杂志* 2010; 38: 25-27
- Yin YW, Sun QQ, Hu AM, Wang Q, Liu HL, Hou ZZ, Zeng YH, Xu RJ, Shi LB, Ma JB. Associations between interleukin-6 gene -174 C/G and -572 C/G polymorphisms and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *J Surg Oncol* 2012; 106: 987-993 [PMID: 22711691 DOI: 10.1002/jso.23199]
- Yu J, Jia Y, Cheung KF, Zeng Z, Tian L, Wang S, Hu P, Sung JJ. Polymorphisms in interleukin-6-6331 influences the susceptibility of a Chinese population to gastric cancer. *Cancer Invest* 2011; 29: 564-572 [PMID: 21843047 DOI: 10.3109/07357907.2011.605411]
- Xue H, Wang YC, Lin B, An J, Chen L, Chen J, Fang JY. A meta-analysis of interleukin-10 -592 promoter polymorphism associated with gastric cancer risk. *PLoS One* 2012; 7: e39868 [PMID: 22859944 DOI: 10.1371/journal.pone.0039868]
- Xue H, Lin B, An J, Zhu Y, Huang G. Interleukin-10-819 promoter polymorphism in association with gastric cancer risk. *BMC Cancer* 2012; 12: 102 [PMID: 22436502 DOI: 10.1186/1471-2407-12-102]
- Zeng X, Li Y, Liu T, Zhang J. Diverse H. pylori strains, IL-10 promoter polymorphisms with high morbidity of gastric cancer in Hexi area of Gansu Province, China. *Mol Cell Biochem* 2012; 362: 241-248 [PMID: 22081333 DOI: 10.1007/s11010-011-1149-y]
- Hong Y, Ge Z, Jing C, Shi J, Dong X, Zhou F, Wang M, Zhang Z, Gong W. Functional promoter -308G>Gt; A variant in tumor necrosis factor alpha gene is associated with risk and progression of gastric cancer in a Chinese population. *PLoS One* 2013;

- 8: e50856 [PMID: 23326309 DOI: 10.1371/journal.pone.0050856]
- 17 陈威, 孙丽萍, 张晔, 白雪蕾, 刘瑾, 袁媛. 胃癌高发与低发区人群HLA-DPB1等位基因多态性的研究. 中华肿瘤防治杂志 2008; 15: 807-810
- 18 Huang LM, Cheng Y, Yu DK, Zhai K, Tan W, Lin DX. [Association between HLA-DQA1 gene copy number polymorphisms and susceptibility to gastric cancer]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2012; 34: 269-271 [PMID: 22781038 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-3766.2012.04.007]
- 19 Dong LM, Potter JD, White E, Ulrich CM, Cardon LR, Peters U. Genetic susceptibility to cancer: the role of polymorphisms in candidate genes. *JAMA* 2008; 299: 2423-2436 [PMID: 18505952 DOI: 10.1001/jama]
- 20 黄雪, 唐国都, 姜海行, 黄杰安, 谭至柔, 梁志海, 周洁, 陆云飞. 代谢酶基因CYP1A1与广西胃癌遗传易感性的关系. 国际消化病杂志 2010; 30: 304-306
- 21 Ghoshal U, Tripathi S, Kumar S, Mittal B, Chourasia D, Kumari N, Krishnani N, Ghoshal UC. Genetic polymorphism of cytochrome P450 (CYP) 1A1, CYP1A2, and CYP2E1 genes modulate susceptibility to gastric cancer in patients with *Helicobacter pylori* infection. *Gastric Cancer* 2013 May 19. [Epub ahead of print] [PMID: 23686565]
- 22 李志婷, 徐力冬, 刘晓东. 谷胱甘肽转硫酶M1基因多态性与胃癌遗传易感性的关系探讨. 中国误诊学杂志 2008; 8: 1312-1313
- 23 García-González MA, Quintero E, Bujanda L, Nicolás D, Benito R, Strunk M, Santolaria S, Sopena F, Badia M, Hijona E, Pérez-Aísa MA, Méndez-Sánchez IM, Thomson C, Carrera P, Piazzuelo E, Jiménez P, Espinel J, Campo R, Manzano M, Geijo F, Pellisé M, González-Huix F, Espinós J, Titó L, Zaballa M, Pazo R, Lanás A. Relevance of GSTM1, GSTT1, and GSTP1 gene polymorphisms to gastric cancer susceptibility and phenotype. *Mutagenesis* 2012; 27: 771-777 [PMID: 22952149 DOI: 10.1093/mutage/ges049]
- 24 Dong X, Wu J, Liang P, Li J, Yuan L, Liu X. Methylenetetrahydrofolate reductase C677T and A1298C polymorphisms and gastric cancer: a meta-analysis. *Arch Med Res* 2010; 41: 125-133 [PMID: 20470942 DOI: 10.1016/j.arcmed.2010.01.001]
- 25 Liu BM, Liu TM, You BS, You HY, Yang J, Li L, He YC. Lack of an association between the XRCC1 Arg399Gln polymorphism and gastric cancer based on a meta-analysis. *Genet Mol Res* 2012; 11: 3852-3860 [PMID: 23212324 DOI: 10.4238/2012.November.12.2]
- 26 Pan XF, Xie Y, Loh M, Yang SJ, Wen YY, Tian Z, Huang H, Lan H, Chen F, Soong R, Yang CX. Polymorphisms of XRCC1 and ADPRT genes and risk of noncardia gastric cancer in a Chinese population: a case-control study. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 5637-5642 [PMID: 23317230]
- 27 Kim SR, Matsui K, Yamada M, Kohno T, Kasai H, Yokota J, Nohmi T. Suppression of chemically induced and spontaneously occurring oxidative mutagenesis by three alleles of human OGG1 gene encoding 8-hydroxyguanine DNA glycosylase. *Mutat Res* 2004; 554: 365-374 [PMID: 15450432]
- 28 Ding R, Chen DJ, Lin SL. Lack of association between Human Oxoguanine Glycosylase 1 (hOGG1) S326C polymorphism and the risk of gastric cancer: a meta-analysis. *Neoplasia* 2012; 59: 289-296 [PMID: 22296498 DOI: 10.4149/neo.2012.037]
- 29 张传臻, 陈自平, 许昌倩, 宁涛, 李丹萍, 厚瑞萍. XPD基因与胃癌易感性的相关性. 癌症 2009; 28: 1163-1167
- 30 王名法, 王超, 马韵, 邓卓霖, 黄永秩, 王华, 梁秀就, 廖文莉, 龙喜带. 广西地区人群XPF基因RS744154多态性与胃癌发病风险及其临床病理特征的关系. 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 1169-1176
- 31 张伟华, 刘玉华, 郭凤霞, 谢小冬. p53基因Arg72Pro单核苷酸多态性与西北人群胃癌风险相关性研究. 卫生职业教育 2010; 28: 100-101
- 32 张伟华, 郭凤霞, 刘玉琴, 谢小冬. p73及p53基因多态性与甘肃武威人群胃癌风险相关性研究. 中国肿瘤 2011; 20: 810-815
- 33 Zhang Q, Ma YY, Wang HJ, Shao CM, Zhang J, Ye ZY. Meta-analysis of the association between P53 codon 72 polymorphisms and gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 360-366 [PMID: 22886602 DOI: 10.1002/jso.23233]
- 34 Ke-Xiang Z, Yu-Min L, Xun L, Wen-Ce Z, Yong S, Tao L. Study on the association of p53 codon 72 polymorphisms with risk of gastric cancer in high incidence Hexi area of Gansu Province in China. *Mol Biol Rep* 2012; 39: 723-728 [PMID: 21562767 DOI: 10.1007/s11033-011-0791-5]
- 35 Steeg PS. Tumor metastasis: mechanistic insights and clinical challenges. *Nat Med* 2006; 12: 895-904 [PMID: 16892035]
- 36 Kushlinskii NE, Delektorskaya VV, Mochal'nikova VV, Sini L, Yurchenko AA, Ryabov AB, Stilidi IS. Analysis of NM23 protein and components of plasminogen activation system in tumors of patients with stomach cancer with consideration for disease clinical picture and morphology. *Bull Exp Biol Med* 2008; 146: 786-790 [PMID: 19513384]
- 37 郑雄伟, 林贤东, 力超, 师怡, 陈刚, 陈德东. NM23基因多态性与胃癌遗传易感性关系的研究. 福建医科大学学报 2011; 45: 159-163
- 38 Xu L, Zeng Z, Chen B, Wu X, Yu J, Xue L, Tian L, Wang Y, Chen M, Sung JJ, Hu P. Association between the TGFB1 -509C/T and TGFBR2 -875A/G polymorphisms and gastric cancer: a case-control study. *Oncol Lett* 2011; 2: 371-377 [PMID: 22866090]
- 39 Li K, Xia F, Zhang K, Mo A, Liu L. Association of a tgf-b1-509c/t polymorphism with gastric cancer risk: a meta-analysis. *Ann Hum Genet* 2013; 77: 1-8 [PMID: 23088218 DOI: 10.1111/j.1469-1809.2012.00732.x]
- 40 Zhang QH, Yao YL, Gu T, Gu JH, Chen L, Liu Y. Association of the PSCA rs2294008 C & gt; T polymorphism with gastric cancer risk: evidence from a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2867-2871 [PMID: 22938475]
- 41 Li F, Zhong MZ, Li JH, Liu W, Li B. Case-control study of single nucleotide polymorphisms of PSCA and MUC1 genes with gastric cancer in a Chinese. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2593-2596 [PMID: 22938426]
- 42 沈国双, 张成武, 赵久达, 耿排力, 窦拉加, 张双元, 马德寿, 李国元. PSCA基因多态性与青海地区藏族胃癌遗传易感性的初步研究. 青海医学院学报 2011; 32: 169-171
- 43 De Feo E, Persiani R, La Greca A, Amore R, Arzani D, Rauseri S, D'Ugo D, Magistrelli P, van Duijn CM, Ricciardi G, Boccia S. A case-control study on the effect of p53 and p73 gene polymorphisms on gastric cancer risk and progression. *Mutat Res* 2009; 675: 60-65 [PMID: 19386249 DOI: 10.1016/j.mrgentox.2009.02.009]



- 44 Zhou LP, Luan H, Dong XH, Jin GJ, Man DL, Shang H. Vascular endothelial growth factor +936C/T polymorphism and gastric cancer risk: A meta-analysis. *Exp Ther Med* 2011; 2: 931-936 [PMID: 22977600]
- 45 Liu H, Wang S, Huang C. VEGFA+936C/T and -634G/C polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1979-1983 [PMID: 22292637]
- 46 冯玉良, 戴一扬, 郑培奋, 陈新宁, 杨俊. 血清脂联素水平与胃癌转移的相关性研究. *实用医学杂志* 2011; 27: 976-978
- 47 周燕. ADIPOQ基因遗传多态性和环境因素与中国西北人群易患风险相关性研究. 兰州大学, 2011
- 48 邹伟文, 张晓波, 刑继强, 姚海涛. 抑癌候选基因 NDRG2在胃癌组织中的表达及其意义. *黑龙江医药科学* 2011; 34: 47-48
- 49 张伟华, 刘玉华, 郭凤霞, 谢小冬, 杨荣, 王旭东. p73基因G4C14-to-A4T14多态性与中国西北人群胃癌高发风险的相关性. *兰州大学学报(医学版)* 2009; 35: 39-42
- 50 孙静哲, 胡妮娅, 易金萍, 杨学习, 李欣, 李明. EGFR基因rs763317多态性与胃癌遗传易感性的相关性研究. *中华肿瘤防治杂志* 2010; 17: 724-727

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

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

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

# 肝细胞性肝癌相关分子信号通路的研究进展

刘强, 刘静

刘强, 刘静, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)普外科 福建省漳州市 363000

刘强, 厦门大学医学院2011级硕士研究生, 主要从事肝胆外科的基础与临床研究.

作者贡献分布: 本文综述由刘强撰写完成; 刘静审核.

通讯作者: 刘静, 副教授, 副主任医师, 363000, 福建省漳州市漳华中路269号, 中国人民解放军第一七五医院(厦门大学附属东南医院)普外科. liujdoctor@hotmail.com  
电话: 0592-2975769

收稿日期: 2013-09-24 修回日期: 2013-10-29

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

## Signaling pathways in hepatocellular carcinoma

Qiang Liu, Jing Liu

Qiang Liu, Jing Liu, Department of General Surgery, the 175<sup>th</sup> Hospital PLA (Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University), Zhangzhou 363000, Fujian Province, China

Correspondence to: Jing Liu, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the 175<sup>th</sup> Hospital PLA (Affiliated Dongnan Hospital of Xiamen University), 269 Zhanghua Middle Road, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China. liujdoctor@hotmail.com

Received: 2013-09-24 Revised: 2013-10-29

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

## Abstract

Hepatocellular carcinoma is a complex multistep process involving progressive abnormalities of hepatocellular survival, proliferation, apoptosis and differentiation. Currently, accumulating evidence has demonstrated that the development of hepatocellular carcinoma is closely associated with dysregulation of several signaling pathways. Aberrant activation of these signaling cascades often leads to the over-expression of oncogenes and down-regulation of tumor suppressor genes, thus promoting cell cycle progression and apoptosis evasion. Here, we discuss some signaling pathways in hepatocellular carcinoma.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Signaling pathways; Receptor; Kinase

Liu Q, Liu J. Signaling pathways in hepatocellular

carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 59-66 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/59.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.59>

## 摘要

肝细胞性肝癌的发生是一个多阶段多因素的复杂过程, 涉及到肝细胞生存、增殖、凋亡和分化等方面的相关机制. 近来研究发现许多关键信号通路的异常活化与肝细胞性肝癌的关系密切, 导致癌基因过表达, 抑癌基因低表达, 细胞周期紊乱, 促进细胞凋亡. 因此, 本文就肝细胞性肝癌相关的重要信号转导通路作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 肝细胞性肝癌; 分子信号通路; 受体; 激酶

**核心内容:** 肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma)发生是一个多途径的复杂病理发展过程, 近年来, 在肝癌中发现许多重要信号转导通路影响原癌基因过表达, 抑癌基因低表达, 细胞周期紊乱, 促进细胞凋亡. 希望通过对其实述, 寻找新的多靶点、多激酶肝癌靶向治疗药物.

刘强, 刘静. 肝细胞性肝癌相关分子信号通路的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 59-66 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/59.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.59>

## 0 引言

肝细胞性肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是居全球第5位的常见肿瘤, 并且在肿瘤相关性死亡中排第3位, 尤其是在受肝炎病毒影响严重的亚洲和非洲地区<sup>[1]</sup>. HCC的治疗方法虽然有多种: 如手术治疗、经肝动脉化疗栓塞、局部消融和放疗等, 但总体疗效差<sup>[2]</sup>. 我国的HCC患者多数发生在肝硬化的基础上, 多数患者就诊时已为中晚期HCC, 能手术切除的不到20%, 适合局部消融患者有限<sup>[3]</sup>. 近年来, 随着分子生物学的深入研究和发现, 发现许多信号转导通路与HCC发生发展、增殖转移及预后密切相关. 目前基

## ■背景资料

肝细胞性肝癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 近年来, 许多关键细胞信号通路的异常活化与肝细胞性肝癌的发生发展密切相关.

## ■同行评议者

王阔, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

## ■ 研发前沿

目前,临床上对肝细胞性肝癌治疗以手术为主,但近年来对肝细胞性肝癌信号通路中关键分子的靶向治疗成为研究热点。

于这些信号转导通路关键分子靶向治疗策略正在发展. 本文就肝细胞癌相关的信号转导通路研究进展作一综述.

## 1 肝细胞性肝癌血管生成相关的酪氨酸蛋白激酶信号转导通路

受体酪氨酸激酶(receptor tyrosine kinases, RTKs)通路是细胞信号转导中最重要的通路之一,活化后可启动胞内一系列信号级联反应,促发有丝分裂和细胞转化等过程. 许多与RTKs相关的生长因子都与HCC发生发展相关,尤其是与HCC新生血管形成关系密切. 这为临床进行HCC分子靶向治疗提供了新的途径. RTKs相关的生长因子包括表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)、纤维母细胞生长因子受体(fibroblast growth factor receptor, FGFR)、肝细胞生长因子受体(hepatocyte growth factor receptor, c-Met)、血小板衍生生长因子受体(platelet growth factor receptor, PDGFR)、胰岛素样生长因子受体(insulin-like growth factor receptor, IGF1R)、血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)等<sup>[4]</sup>. 这些因子影响酪氨酸蛋白激酶信号转导通路,从而影响HCC增殖、转移与预后. 我们可以使用与这些因子相关的抗体或分子阻断剂,阻断相关血管的RTKs信号转导通路,有望控制HCC发展.

**1.1 VEGF/VEGFR/FGFR/PDGFR信号通路** 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、血小板衍生生长因子(platelet growth factor, PDGF)和纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)对HCC新生血管形成、肿瘤细胞侵袭和转移起着重要作用<sup>[5]</sup>. 文献报道,这3种因子在HCC均呈高表达,位于内皮细胞的VEGFR-1和VEGFR-2是另外两个因子的触发点,能激活RTKs中其他相关因子,而且VEGF含量与HCC术后复发和预后息息相关<sup>[6]</sup>. 内皮细胞源性的PDGF对HCC微血管形成起着重要作用,他与PDGF受体结合,使新生血管周皮细胞和平滑肌细胞聚集,促进肿瘤微血管形成<sup>[7]</sup>. PDGF受体阻断剂能使周皮细胞从内皮细胞中分离,提高VEGF阻断剂对血管内皮细胞的疗效<sup>[8]</sup>. FGF能刺激机体释放胶原酶、蛋白酶、整合素等,这有利于HCC微血管初期形成,而且FGF已被证明能与VEGF协同促进HCC血管的形成和肿瘤恶化. 有实验研究证明FGF阻断剂对VEGF受体调

节因子有抑制作用<sup>[9]</sup>,同时,VEGF阻断剂和FGF阻断剂联合用药可以互相弥补各自单用时的耐药性,所以,VEGF/FGFR/PDGFR信号通路阻断剂对HCC治疗具有广阔前景.

**1.2 表皮生长因子受体通路** 人类ErbB/HER受体家族成员包括EGFR(ErbB1/HER1)、ErbB2(HER2/neu)、ErbB3(HER3)和ErbB4(HER4),由原癌基因*erbB1*编码的EGFR,其EGFR配体家族成员有10种以上,包括EGF、转化生长因子- $\alpha$ (transforming growth factor- $\alpha$ , TGF- $\alpha$ )、双调蛋白、 $\beta$ 细胞素、肝素结合EGF和表皮调节素等<sup>[10]</sup>. EGFR活化后可激活细胞外信号调节蛋白激酶(extracellular-signal regulated protein kinase, ERKs)-丝裂素活化蛋白激酶磷酸酶(mitogen-activated protein kinase phosphatase, MAK)和PI3K等下游信号转导通路,参与调节细胞的分裂、分化和增殖,促进组织损伤修复,同时与肿瘤细胞周期进展、凋亡抑制、肿瘤血管生成和细胞运动、侵袭能力亦密切相关<sup>[11]</sup>. EGFR在受TGF- $\alpha$ 或EGF刺激的HCC肝癌细胞中高表达,体内外实验证明EGFR阻断剂可以通过EGFR通路抑制HCC增殖和转移<sup>[4]</sup>,并且联合其他增长因子信号通路对HCC治疗具有协同作用.

**1.3 胰岛素样生长因子受体通路** IGFs系统由一组配体、受体和结合蛋白组成. 配体包括胰岛素、IGF-1/2;其相应受体为胰岛素受体(IGF-1/2R);结合蛋白共有6种,即胰岛素样生长因子结合蛋白(IGFBP1-6). 组织中的IGFBP通过阻止IGF-1与受体结合,抑制IGF-1发挥生物学效应. IGFBPs翻译后修饰如蛋白裂解或磷酸化,可能参与了IGF的释放. IGFBP3与IGF-1的亲合力最强,决定其生物活性. 研究显示肥胖和糖尿病能明显增加肝癌患病风险性,这可能与包括IGF/IGFR在内的内分泌系统紊乱有关<sup>[12]</sup>. 另外,12%-44%HCC患者中的IGF-1是异常增高的,他会使IGFBP3水解分裂,降低其含量,异常激活IGFR信号通路<sup>[13]</sup>. 主要信号因子涉及IRS、Shc、PI3-K、PKB或Akt、MAPK以及Grb-2等. IGFR通路通过IRS-1介导PI3-K/Akt和MAPK途径,促使IGF-1与IGF-1受体(IGF-1R)的胞外域结合,引起跨膜IGF-1R发生自磷酸化和下游底物的磷酸化,最终将MAPK和Akt磷酸化,从而把信号传递到细胞核内,启动基因表达,发挥其促进细胞增殖和抗细胞凋亡的作用<sup>[14]</sup>.

**1.4 c-MET信号通路** c-Met是一种由*c-Met*原癌基因编码的蛋白产物,并且作为为肝细胞生长



因子(hepatocyte growth factor, HGF)受体, 具有酪氨酸激酶活性, 与多种癌基因产物和调节蛋白相关, 参与细胞信息传导、细胞骨架重排的调控, 是细胞增殖、分化和运动的重要因素。临床病理学研究证实, 20%-48% HCC患者的肝组织中可见c-Met基因的扩增和过度表达, 且肿瘤侵袭和临床预后常与MET高表达相关, 这可能由于内源性细胞因子HGF、EGF、IL-1和外源性乙型肝炎病毒诱导影响<sup>[15]</sup>。c-Met信号激活方式主要有两种: 一是通过经典的HGF-c-Met途径, 二是通过脱- $\gamma$ -羧基凝血酶原(Des- $\gamma$ -carboxyprothrombin, DCP)-c-Met途径。肝细胞生长因子(HGF)是由间质源性细胞如成纤维细胞、平滑肌细胞等产生的一种多肽生长因子, 具有强促分裂、组织成形、诱导上皮细胞迁移、侵袭以及诱导血管生成等作用。c-Met通过与其配体HGF结合, 可以激活血管内皮细胞, 引起血管内皮细胞的增殖和迁移, 参与肿瘤新生血管的生成; c-Met活化后可激活下游RAS-MAPK/ERK、PI3K-PKB/AKT等信号通路, 参与诱导多种上皮细胞有丝分裂、存活增加、运动能力增强、向胞外基质侵袭、腺管状形态发生等, 在胚胎发育、上皮生长、组织分化、损伤修复等过程中发挥重要的调控作用<sup>[16]</sup>。DCP是由肝癌细胞分泌并作为临床诊断肝癌的特异性肿瘤生物标志物, 他是缺乏凝血作用的异常凝血素, 由于其与HGF结构相似性, 当HGF缺乏时, DCP也可以触发c-Met信号转导通路。研究证实HGF的拮抗剂NK4可以与c-Met结合, 竞争性地抑制HGF和c-Met的相互作用, 影响HGF/c-Met信号传导途径, 从而抑制HGF诱导的肿瘤细胞侵袭转移过程<sup>[17]</sup>。所以, 抑制HGF及其受体的靶向分子表达及活性, 延缓肿瘤发展, 这将有可能是抗HCC治疗的新突破口。

## 2 PI3K/Akt 信号转导通路

PI3K/Akt信号转导通路是HCC发生发展中一条主要调节通路。PI3K通过两种方式激活, 一种是与具有磷酸化酪氨酸残基的生长因子受体或连接蛋白相互作用, 引起二聚体构象改变而被激活; 另一种是通过Ras和p110直接结合导致PI3K的活化<sup>[18]</sup>。PI3K的激活促使质膜上产生第二信使PIP3, 导致Akt磷酸化, 活化的Akt通过磷酸化作用激活或抑制其下游靶蛋白mTOR、Bad、Caspase9、NF- $\kappa$ B、GSK-3、FKHR等, 进而调节细胞的增殖、分化、凋亡。PI3K-Akt信号通

路的活性被类脂磷酸酶PTEN(phosphatase and tensin homologue deleted from chromosome 10)和SHIP(SH2 inositol 5-phosphatase)负调节, 他们分别从PIP3的3和5, 去除磷酸而将其转变成PI(4,5)P2和PI(3,4)P2而降解<sup>[19]</sup>。与人体其他组织相比, 肝脏具有高水平内源性PI3K活性, 几乎50%HCC患者有PTEN减少或缺失, 36%HCC患者PI3K突变成pik3ca(p110 catalytic subunit of PI3-K)。这些因素通过PI3K/Akt信号转导通路深深影响着HCC发生发展<sup>[20]</sup>。

## 3 MAPK信号转导通路

Ras/Raf/MEK/MAPK是HCC发展中关键信号转导通路之一。许多生长因子包括EGF、IGF、VEGF、PDGF、FGFs和HGF能激活Ras/Raf/MEK/MAPK中残余的酪氨酸, 使其自身磷酸化。MAPK信号转导是以三级激酶级联的方式进行的, 首先MAP-KKK受有丝分裂原刺激磷酸化而激活, 在此基础上MAPKKK转而磷酸化激活MAPKK, 最后由MAPKK磷酸化MAPK, 使其活化进而转入核内<sup>[21]</sup>。MAPK信号通路主要途径有Ras-Raf-ERK途径、c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)途径、p38-MAPK途径。

3.1 Ras-Raf-ERK途径 致癌基因Ras突变激发Raf的活化, 活化的Raf再通过磷酸化促分裂原激活的蛋白激酶的激酶(mitogen activated kinase kinase, MEK)环上的丝氨酸残基而将其激活, MEK再将促分裂原激活的蛋白激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)激活, 当HCC患者Ras突变率较低时, 还可以通过降低双特异性磷酸酶(dual specificity phosphatase, DUSP)激活ERK<sup>[22]</sup>。激活的ERK进而磷酸化许多与胞质和胞膜相连的底物, 同时还可被快速地转运入细胞核去磷酸化和激活ELK-1、AP-1、TCF等涉及增殖反应的转录分子, 可以调节ETS、c-Jun、c-Fos、c-Myc、cyclin D等蛋白在HCC中表达, 影响HCC预后<sup>[23]</sup>。另外, 激活的ERK还可以通过核糖体S6蛋白激酶-2磷酸化调节组蛋白H3磷酸化、凋亡前体蛋白Bad、转录因子CREB。ERK连续激活使磷酸化ERK不断升高, 这是肝癌细胞增殖与入侵的基础。

3.2 JNK途径 JNK途径一方面主要是通过激活的JNK使激活的转录因子c-Jun协同ERK通路一起维持细胞周期连续性; 另一方面活化的JNK不但可以和转录因子ATF2及c-Jun的氨基末端区域结合, 使转录因子的活性区域发生磷酸化, 激活转

### ■相关报道

以肝细胞性肝癌发生发展中的某一信号通路进行详细的理论和实验研究报道。

## ■创新盘点

与肝细胞性肝癌发生发展的信号转导通路较多,但目前报道多以单一信号转导通路报道为主,本文综合报道了与肝细胞性肝癌发生发展的相关的多条信号转导通路的研究进展。

录因子AP-1,使凋亡前体因子CD95L和TNF- $\alpha$ 表达上调;而且活化的JNK还能通过线粒体途径间接调节Bcl-2和Bcl-XL磷酸化,使其抗凋亡能力减弱<sup>[24]</sup>。研究表示JNK通路能影响肝癌细胞系MHCC97H的侵袭和转移,JNK分子活性抑制剂D-JNK11能影响人肝癌细胞移植瘤和化学诱导鼠肝癌增长<sup>[25]</sup>。

**3.3 p38-MAPK途径** P38主要参与细胞炎症和增殖反应,主要有p38 $\alpha$ 、p38 $\beta$ 、p38 $\gamma$ 和p38 $\delta$  4种表型。p38 $\alpha$ 是p38-MAPK通路中最重要的因子,他能调节IL-1、IL-6、TNF- $\alpha$ 等炎症因子的释放,同时还能增加Ros活性诱导肝细胞凋亡<sup>[26]</sup>。IL-1、IL-6增加和Ros的累积使p38 $\alpha$ 表达降低,有助于抑制HCC发生;同时p38 $\alpha$ 还可以竞争性拮抗JNK-c-Jun通路,抑制HCC增殖<sup>[27]</sup>。P38通路途径可下调细胞周期蛋白D1的表达,使细胞周期阻滞于G<sub>1</sub>-S期和G<sub>2</sub>-M期,同时还可以影响抑癌基因p53下游基因Gadd45a,调节早期HCC发展<sup>[28]</sup>。

MAPK信号转导通路的突变深深影响着HCC发展,60%HCC和肝硬化患者中发现TGF- $\alpha$ 、BTC、HB-EGF、IGF-II、AR的过表达,且3条信号通路间存在协同作用<sup>[29]</sup>。因此,降低Ras/Raf/MEK/MAPK通路磷酸化水平有望对HCC治疗带来巨大福音。

## 4 Wnt/ $\beta$ -Catenin信号转导通路

Wnt/ $\beta$ -Catenin是HCC中常见且研究得较为透彻的Wnt经典信号通路<sup>[30]</sup>。Wnt/ $\beta$ -Catenin转导途径在肝癌细胞中是激活的,在正常细胞中却是无活性的。当细胞分泌的Wnt蛋白同时与细胞跨膜受体Frz及辅助受体LRP5/6结合后,即触发细胞内的信号转导,活化细胞质内Dsh,Dsh的活化抑制了细胞质内 $\beta$ -catenin与Axin-APC-GSK-3 $\beta$ 等形成降解复合物,导致 $\beta$ -catenin在细胞质内积累并转移至细胞核内,继而与转录因子TCF/LEF相结合,刺激Wnt信号靶基因*c-myc*、*cyclin D1*、*MMP-7*、*CD44*和*Claudin-1*等的转录,调控细胞生长<sup>[31]</sup>。在没有Wnt信号刺激的情况下, $\beta$ -Catenin与糖原合成激酶GSK3 $\beta$ 、结直肠息肉腺瘤蛋白APC及轴蛋白Axin形成多聚蛋白酶复合体,酪蛋白激酶CKI $\alpha$ 和糖原合成激酶GSK3 $\beta$ 对丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化在泛素多聚蛋白酶复合体作用下,将 $\beta$ -Catenin降解<sup>[32]</sup>。

30%HCC患者发生可能与 $\beta$ -Catenin磷酸化降解有关,如何预防 $\beta$ -Catenin因磷酸化而降

解是HCC治疗关键。在乙型肝炎病毒感染后的HCC患者中,HBx蛋白通过甲基化E-钙黏蛋白启动子减少E-钙黏蛋白的表达, $\beta$ -Catenin从细胞膜向细胞质转移<sup>[33]</sup>。Suzuki等<sup>[34]</sup>研究发现 $\beta$ -Catenin在细胞质中蓄积可能是HCC发生的早期改变。除此之外,Wnt/ $\beta$ -Catenin信号转导通路的许多上游调节基因在HCC中深深影响其发生发展。APC是从细胞核输出用于降解 $\beta$ -Catenin的抑癌蛋白,但67%HCC患者APC被破坏,还有Wnt/ $\beta$ -Catenin信号负向调节的Wnt拮抗剂sFRP1、Dvl拮抗剂HDPR1与Prickle-1在HCC患者中都是降低的,但是Wnt/ $\beta$ -Catenin信号正向调节的Wnt配体Fz-7、Dvl-1、Dvl-3和PIN1却是升高的。这些因素都将使 $\beta$ -Catenin进一步在细胞核中聚集,调节Wnt/ $\beta$ -Catenin信号下游基因。许多细胞增殖都是通过CDK4释放的P21WAF1/CIP1来实现,而 $\beta$ -Catenin能调节细胞周期蛋白D1,干扰CDK4/6向Rb磷酸化转化,使细胞周期停止在G<sub>1</sub>、S期<sup>[35]</sup>。

## 5 TGF- $\beta$ 信号转导通路

TGF- $\beta$ 对肝细胞生长及凋亡起着重要作用,他通过抑制肝细胞DNA合成和诱导凋亡,直接或间接损害肝细胞。哺乳动物的TGF- $\beta$ 有3种亚型TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 2和TGF- $\beta$ 3。在胞内传递TGF- $\beta$ 超家族的信号由Smads家族负责。Smads从结构和功能上可分为3个亚类,即受体调节性Smad(R-Smad),包括Smad1、2、3、5、8。其中Smad2、3与TGF- $\beta$ R I相结合,共同介导的Smad(Co-Smad)是Smad4,抑制性Smad(I-Smad),包括Smad6、7<sup>[36]</sup>。激活的TGF- $\beta$ 细胞因子通过与I型和II型两种类型的TGF- $\beta$ 跨膜丝氨酸/苏氨酸激酶受体结合,形成异源复合物。异源复合物使丝氨酸残基R-Smads、Smad-2和Smad-3磷酸化,介导Co-Smads4增加和磷酸化并转入细胞核,上调整合素和 $\beta$ -Catenin等基因。抑制性Smad6、7与受体调节性Smad2、3竞争TGF受体,影响Smad2、3磷酸化<sup>[37]</sup>。

TGF- $\beta$ 信号转导通路影响HCC发生发展的不同阶段。在早期HCC发生阶段,TGF- $\beta$ 与肝细胞损伤、细胞周期异常、肝细胞凋亡等息息相关。TGF- $\beta$  II在肝细胞中异常表达可诱导细胞异常凋亡和细胞周期紊乱<sup>[38]</sup>。在HCC进展阶段,TGF- $\beta$ 信号通路能直接诱导一些关键的血管生成介质(VEGF,HIF-1)和金属蛋白酶EMT(MMP1,VIM)表达升高,同时利用TGF- $\beta$ 的免疫

抑制功能来逃避免疫系统监控. 在肿瘤原发灶中肿瘤中央的细胞呈现上皮表型, 而周围的细胞常分散呈现间质细胞表型, 具有较强的运动能力, 可浸润和转移, 即所谓的上皮-间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT). 已有研究证实TGF- $\beta$ 是诱导发生EMT的关键因子, 他和其他细胞因子共同协作诱导HCC的EMT发生<sup>[39]</sup>.

## 6 Hedgehog(Hh)信号转导通路

Hh信号通路是一条调节胚胎形成和HCC发生的重要通路, 在肝损伤患者中的组织重建和祖细胞分化中起着重要调节作用<sup>[40]</sup>. *hedgehog*基因最早在果蝇中发现, 后发现在人类高等动物中也普遍存在, 其中研究较透彻的是sonic hedgehog(SHH). Hh信号通路成员包括hedgehog、PTCH、SMO、FU、SUFU和Gli等, 而这些组件的突变往往会导致Hh通路异常活化. 首先Hh信号分子作用于受体蛋白PTCH家族, *PTCH*为抑癌基因, 当不存在Hh蛋白时, *PTCH*受体家族(*PTCH1*和*PTCH2*)通过抑制7次跨膜蛋白Smo的活性, 从而阻断了信号传递<sup>[41]</sup>. 随着Hh分子的出现, 这种阻断被解除, 进而激活Smo蛋白, 引起一系列下游信号传递, 最终引起锌指样转录因子Gli活化<sup>[42]</sup>.

最近研究发现Hh信号通路影响肝脏炎症性细胞累积、肝纤维化、血管重构, 这与肝硬化和肝癌等肝脏相关疾病密切相关<sup>[43]</sup>. 肝星形细胞和肝上皮样血管内皮细胞损伤可以激活Hedgehog配体, 促发Hedgehog信号转导通路下游级联反应<sup>[44]</sup>. 将近60% HCC患者能持续激活Smo, 引起Gli活化, 随着Hedgehog信号转导通路激活, snail、cyclin D1、c-Myc表达相应增加, 导致上皮型E-钙黏蛋白、组织黏合蛋白(tissue adhesion protein, TAP-1)表达降低, 细胞周期紊乱, 影响HCC发展及转移<sup>[45]</sup>.

## 7 Notch信号转导通路

完整的Notch信号通路由Notch受体、Notch配体、细胞内效应分子、DNA结合蛋白及Notch的调节分子等组成. Notch受体为单链跨膜蛋白, 目前哺乳动物中发现4种*Notch*基因, 包括*Notch1*、*Notch2*、*Notch3*、*Notch4*. Notch配体也为细胞表面表达的单链跨膜蛋白, 已发现人的Notch配体有Jagged1、Jagged2、Delta1、Delta3、Delta4. Notch信号通路在胚胎发育中对

细胞分化起着重要决定作用. 特异性受体和配体结合后, 触发Notch信号通路下游级联反应, 使Notch受体从胞质区自由转移到胞核区, 通过释放转录共抑制因子或募集转录共激活因子来影响转录因子CSL活性, 进而调节下游靶基因<sup>[46]</sup>.

研究证实Notch信号通路主要影响干细胞的自我更新和分化, 单纯Notch信号通路激活不足以导致癌症发生, 还需要影响其他致癌蛋白, 如Ras和Myc. 在许多上皮性肿瘤中, Notch相关转录因子与激活的ERK和PI3K信号通路相关, 他们不仅增加了Notch mRNA稳定性, 还参加了Notch靶基因的转录. Notch1过表达能下调*Bcl-2*、*cyclins*、*CDK2*、*Rb*的表达水平, 上调抑癌基因*p53*、*p21*的表达产物, 影响细胞周期和凋亡, 从而抑制肝癌细胞的生长<sup>[47]</sup>. Fan等<sup>[48]</sup>研究表明在HCC中Notch-1的表达明显上调. Herranz等<sup>[49]</sup>发现在晚期肝癌阶段, 与DNA复制、修复和细胞周期相关的基因表达上调, 而Notch信号通路在调节细胞周期进展中有重要作用.

## 8 IKK/NF- $\kappa$ B信号转导通路

慢性感染和炎症反应与肿瘤发生密切相关, HCC就是肝炎病毒不断诱导的慢性炎症反应结果. 在肝炎、肝纤维化、HCC中, IKK/NF- $\kappa$ B信号转导通路都起着重要作用. NF- $\kappa$ B是一类具有多向转录调节作用的核蛋白因子, NF- $\kappa$ B的内源性抑制因子主要是I $\kappa$ B抑制蛋白, 使NF- $\kappa$ B停留在胞质而抑制其核易位<sup>[50]</sup>. 在TNF- $\alpha$ 、IL-6、病毒蛋白触发炎症反应下, NF- $\kappa$ B经I $\kappa$ B蛋白激酶复合体磷酸化, 进而被泛素化和降解. 释放的NF- $\kappa$ B从胞质转移到胞核, 然后在细胞凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis proteins, IAPs)、*Bcl-2*家族、TNFR-associated factor(*TRAF1*, *TRAF-2*)、JNK、c-FLIP、IEX-1L等作用下发挥抗细胞凋亡作用<sup>[51]</sup>.

肝细胞中NF- $\kappa$ B持续异常激活, 将导致胆汁淤积性肝炎和HCC发生. NF- $\kappa$ B抑制剂会影响肝细胞正常凋亡. 阻断IKK/NF- $\kappa$ B信号转导通路会降低肝脏从慢性炎症发展为HCC可能性. 我们通过阻止异常JNK通路激活和清除ROS产物等途径, 使肝脏中NF- $\kappa$ B维持在正常生理水平, 防止向HCC发展, 然而NF- $\kappa$ B常过度激活而使肝细胞易于向HCC转化<sup>[52]</sup>. 因此, 如何移除过度激活的NF- $\kappa$ B, 使其维持在正常生理水平是HCC防治的关键.

## 9 干细胞相关的信号转导通路

近些年来, 人们对肿瘤干细胞的研究不断取得

### ■应用要点

除索拉菲尼外, 肝癌治疗的多靶点、多激酶抑制药临床报道和应用较少, 本文综述的肝细胞性肝癌发生发展的相关的多条信号转导通路的关键分子有望单独或联合成为肝癌的靶向治疗药物.



## 同行评价

本文对与肝细胞性肝癌相关的信号转导通路进行了重点客观的介绍。本文逻辑性较强,具有较强的可读性。

突破,目前已知的肿瘤干细胞中相关的多种信号通路,如Wnt/ $\beta$ -catenin、Hedgehog、Notch、Bmi-1和BMP等,这些信号通路中某些分子表达异常或突变会促使通路异常激活。对HCC患者来说,肝脏干细胞严重影响着HCC发生、发展及耐药性。位于门静脉区的胆小管和Hering管内的肝脏祖细胞分别在Notch信号和生长因子作用下分化为肝细胞和胆管上皮细胞。同时,TGF- $\beta$ /Smad信号参与了肝细胞和胆管上皮细胞形态分化的调节<sup>[53]</sup>。

激活的Wnt/ $\beta$ -catenin能加速肝脏干细胞自我更新,促使肝细胞向HCC发展,而且HCC卵圆细胞在Wnt/ $\beta$ -catenin影响下扩大,使HCC进一步恶化。易于向肝癌细胞分化的肝细胞常见标志物有STAT3、NANOG和OCT4,与正常肝细胞比,其丢失了T $\beta$ RII和ELF,更可能发展为HCC。研究发现正常肝脏干细胞向肝癌干细胞转化需要IL6/STAT3, Wnt和CDK4信号激活及TGF- $\beta$ 信号抑制。STAT3抑制剂NSC 74859降低STAT3活性可抑制HCC细胞的增殖<sup>[53]</sup>,这预示着STAT3将是HCC干细胞治疗的潜在靶标。

## 10 结论

HCC发生是一个多因素参与,多途径形成的复杂病理发展过程。过去几十年研究已发现许多信号通路参与了HCC形成。正常情况下,大部分信号通路都是正常控制着肝细胞的自我更新和生理预防肝组织急性损伤,然而,当异常持续激活这些信号通路,正常肝细胞可能被转化发展为HCC细胞。由于HCC细胞往往存在多基因缺陷和耐药性,故仅仅抑制某一条信号通路或关键因子可能效果较差,需要多因子和信号通路协同抑制处理。所以,对HCC相关信号通路的研究有助于发掘更多潜在的HCC靶向治疗途径。

## 11 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Lin S, Hoffmann K, Schemmer P. Treatment of Hepatocellular Carcinoma: A Systematic Review. *Liver Cancer* 2012; 1: 144-158 [PMID: 24159579 DOI: 10.1159/000343828]
- Llovet JM, Bruix J. Molecular targeted therapies in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 1312-1327 [PMID: 18821591 DOI: 10.1002/hep.22506]
- Höpfner M, Schuppan D, Scherübl H. Growth factor receptors and related signalling pathways as tar-

gets for novel treatment strategies of hepatocellular cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1-14 [PMID: 18176955 DOI: 10.3748/wjg.14.1]

- Imura S, Miyake H, Izumi K, Tashiro S, Uehara H. Correlation of vascular endothelial cell proliferation with microvessel density and expression of vascular endothelial growth factor and basic fibroblast growth factor in hepatocellular carcinoma. *J Med Invest* 2004; 51: 202-209 [PMID: 15460907 DOI: 10.2152/jmi.51.202]
- Sia D, Alsinet C, Newell P, Villanueva A. VEGF Signaling in Cancer Treatment. *Curr Pharm Des* 2013 Aug 12. [Epub ahead of print] [PMID: 23944367]
- Kim S, Kang H. miR-15b induced by platelet-derived growth factor signaling is required for vascular smooth muscle cell proliferation. *BMB Rep* 2013; 46: 550-554 [PMID: 24152911]
- Zhang T, Sun HC, Xu Y, Zhang KZ, Wang L, Qin LX, Wu WZ, Liu YK, Ye SL, Tang ZY. Overexpression of platelet-derived growth factor receptor alpha in endothelial cells of hepatocellular carcinoma associated with high metastatic potential. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8557-8563 [PMID: 16361537 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0944]
- Finn RS. Development of molecularly targeted therapies in hepatocellular carcinoma: where do we go now? *Clin Cancer Res* 2010; 16: 390-397 [PMID: 20068087 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2084]
- Wu J, Zhang W, Xu A, Zhang L, Yan T, Li Z, Wu X, Zhu X, Ma J, Li K, Li H, Liu Y. Association of epidermal growth factor and epidermal growth factor receptor polymorphisms with the risk of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma in the population of North China. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013; 17: 595-600 [PMID: 23790025 DOI: 10.1089/gtmb.2013.0031]
- Seshacharyulu P, Ponnusamy MP, Haridas D, Jain M, Ganti AK, Batra SK. Targeting the EGFR signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 15-31 [PMID: 22239438 DOI: 10.1517/14728222.2011.648617]
- Shimizu M, Tanaka T, Moriwaki H. Obesity and hepatocellular carcinoma: targeting obesity-related inflammation for chemoprevention of liver carcinogenesis. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 191-202 [PMID: 22945457 DOI: 10.1007/s00281-012-0336-6]
- Aishima S, Basaki Y, Oda Y, Kuroda Y, Nishihara Y, Taguchi K, Taketomi A, Maehara Y, Hosoi F, Maruyama Y, Fotovati A, Oie S, Ono M, Ueno T, Sata M, Yano H, Kojiro M, Kuwano M, Tsuneyoshi M. High expression of insulin-like growth factor binding protein-3 is correlated with lower portal invasion and better prognosis in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2006; 97: 1182-1190 [PMID: 16965600 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2006.00322.x]
- Breuhahn K, Schirmacher P. Reactivation of the insulin-like growth factor-II signaling pathway in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1690-1698 [PMID: 18350600 DOI: 10.3748/wjg.14.1690]
- Gao J, Inagaki Y, Song P, Qu X, Kokudo N, Tang W. Targeting c-Met as a promising strategy for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Pharmacol Res* 2012; 65: 23-30 [PMID: 22138044 DOI: 10.1016/j.phrs.2011.11.011]
- Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET pathway in hepatocellular carcinoma.

- Clin Cancer Res* 2013; 19: 2310-2318 [PMID: 23388504 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2791]
- 17 Heideman DA, Overmeer RM, van Beusechem VW, Lamers WH, Hakvoort TB, Snijders PJ, Craanen ME, Offerhaus GJ, Meijer CJ, Gerritsen WR. Inhibition of angiogenesis and HGF-cMET-elicited malignant processes in human hepatocellular carcinoma cells using adenoviral vector-mediated NK4 gene therapy. *Cancer Gene Ther* 2005; 12: 954-962 [PMID: 15905856 DOI: 10.1038/sj.cgt.7700856]
- 18 Zhou Q, Lui VW, Yeo W. Targeting the PI3K/Akt/mTOR pathway in hepatocellular carcinoma. *Future Oncol* 2011; 7: 1149-1167 [PMID: 21992728 DOI: 10.2217/fon.11.95]
- 19 Carnero A, Blanco-Aparicio C, Renner O, Link W, Leal JF. The PTEN/PI3K/AKT signalling pathway in cancer, therapeutic implications. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 187-198 [PMID: 18473732 DOI: 10.2174/156800908784293659]
- 20 He X, Zhu Z, Johnson C, Stoops J, Eaker AE, Bowen W, DeFrances MC. PIK3IP1, a negative regulator of PI3K, suppresses the development of hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 5591-5598 [PMID: 18632611 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0025]
- 21 Min L, He B, Hui L. Mitogen-activated protein kinases in hepatocellular carcinoma development. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 10-20 [PMID: 20969960 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.10.011]
- 22 Calvisi DF, Pinna F, Meloni F, Ladu S, Pellegrino R, Sini M, Daino L, Simile MM, De Miglio MR, Virdis P, Frau M, Tomasi ML, Seddaiu MA, Muroli MR, Feo F, Pascale RM. Dual-specificity phosphatase 1 ubiquitination in extracellular signal-regulated kinase-mediated control of growth in human hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2008; 68: 4192-4200 [PMID: 18519678 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6157]
- 23 Vantaggiato C, Formentini I, Bondanza A, Bonini C, Naldini L, Brambilla R. ERK1 and ERK2 mitogen-activated protein kinases affect Ras-dependent cell signaling differentially. *J Biol* 2006; 5: 14 [PMID: 16805921 DOI: 10.1186/jbiol38]
- 24 Seki E, Brenner DA, Karin M. A liver full of JNK: signaling in regulation of cell function and disease pathogenesis, and clinical approaches. *Gastroenterology* 2012; 143: 307-320 [PMID: 22705006 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.06.004]
- 25 Liu S, Yu M, He Y, Xiao L, Wang F, Song C, Sun S, Ling C, Xu Z. Melittin prevents liver cancer cell metastasis through inhibition of the Rac1-dependent pathway. *Hepatology* 2008; 47: 1964-1973 [PMID: 18506888 DOI: 10.1002/hep.22240]
- 26 Cuenda A, Rousseau S. p38 MAP-kinases pathway regulation, function and role in human diseases. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1358-1375 [PMID: 17481747]
- 27 Hui L, Bakiri L, Mairhorfer A, Schweifer N, Haslinger C, Kenner L, Komnenovic V, Scheuch H, Beug H, Wagner EF. p38alpha suppresses normal and cancer cell proliferation by antagonizing the JNK-c-Jun pathway. *Nat Genet* 2007; 39: 741-749 [PMID: 17468757 DOI: 10.1038/ng2033]
- 28 Kondo M, Yanase S, Ishii T, Hartman PS, Matsumoto K, Ishii N. The p38 signal transduction pathway participates in the oxidative stress-mediated translocation of DAF-16 to *Caenorhabditis elegans* nuclei. *Mech Ageing Dev* 2005; 126: 642-647 [PMID: 15888317 DOI: 10.1016/j.mad.2004.11.012]
- 29 Wagner EF, Nebreda AR. Signal integration by JNK and p38 MAPK pathways in cancer development. *Nat Rev Cancer* 2009; 9: 537-549 [PMID: 19629069 DOI: 10.1038/nrc2694]
- 30 Takigawa Y, Brown AM. Wnt signaling in liver cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 1013-1024 [PMID: 18991612 DOI: 10.2174/138945008786786127]
- 31 Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 2006; 119: 395-402 [PMID: 16443747 DOI: 10.1242/jcs.02826]
- 32 Fogarty MP, Kessler JD, Wechsler-Reya RJ. Morphing into cancer: the role of developmental signaling pathways in brain tumor formation. *J Neurobiol* 2005; 64: 458-475 [PMID: 16041741 DOI: 10.1002/neu.20166]
- 33 Giles RH, van Es JH, Clevers H. Caught up in a Wnt storm: Wnt signaling in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1653: 1-24 [PMID: 12781368]
- 34 Suzuki T, Yano H, Nakashima Y, Nakashima O, Kojiro M. Beta-catenin expression in hepatocellular carcinoma: a possible participation of beta-catenin in the dedifferentiation process. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17: 994-1000 [PMID: 12167121 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2002.02774.x]
- 35 Shachaf CM, Kopelman AM, Arvanitis C, Karlsson A, Beer S, Mandl S, Bachmann MH, Borowsky AD, Ruebner B, Cardiff RD, Yang Q, Bishop JM, Contag CH, Felsner DW. MYC inactivation uncovers pluripotent differentiation and tumour dormancy in hepatocellular cancer. *Nature* 2004; 431: 1112-1117 [PMID: 15475948 DOI: 10.1038/nature03043]
- 36 Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. The TGF- $\beta$  signaling pathway as a pharmacological target in a hepatocellular carcinoma. *Curr Pharm Des* 2012; 18: 4148-4154 [PMID: 22630081 DOI: 10.2174/138161212802430431]
- 37 李凡妮, 郭青龙. TGF- $\beta$ 信号通路在肿瘤侵袭转移中的作用. *现代生物医学进展* 2011; 11: 4194-4197
- 38 Baek HJ, Lim SC, Kitisin K, Jogunoori W, Tang Y, Marshall MB, Mishra B, Kim TH, Cho KH, Kim SS, Mishra L. Hepatocellular cancer arises from loss of transforming growth factor beta signaling adaptor protein embryonic liver fodrin through abnormal angiogenesis. *Hepatology* 2008; 48: 1128-1137 [PMID: 18704924 DOI: 10.1002/hep.22460]
- 39 Derynck R, Akhurst RJ. Differentiation plasticity regulated by TGF-beta family proteins in development and disease. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 1000-1004 [PMID: 17762890 DOI: 10.1038/ncb434]
- 40 Cheng WT, Xu K, Tian DY, Zhang ZG, Liu LJ, Chen Y. Role of Hedgehog signaling pathway in proliferation and invasiveness of hepatocellular carcinoma cells. *Int J Oncol* 2009; 34: 829-836 [PMID: 19212688]
- 41 Katoh Y, Katoh M. Hedgehog target genes: mechanisms of carcinogenesis induced by aberrant hedgehog signaling activation. *Curr Mol Med* 2009; 9: 873-886 [PMID: 19860666 DOI: 10.2174/156652409789105570]
- 42 Kim HY, Cho HK, Hong SP, Cheong J. Hepatitis B virus X protein stimulates the Hedgehog-Gli activation through protein stabilization and nuclear localization of Gli1 in liver cancer cells. *Cancer Lett* 2011; 309: 176-184 [PMID: 21726936 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.05.033]
- 43 Pereira Tde A, Witek RP, Syn WK, Choi SS, Bradrick S, Karaca GF, Agboola KM, Jung Y, Omenetti A, Moylan CA, Yang L, Fernandez-Zapico ME, Jhaveri

- R, Shah VH, Pereira FE, Diehl AM. Viral factors induce Hedgehog pathway activation in humans with viral hepatitis, cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. *Lab Invest* 2010; 90: 1690-1703 [PMID: 20697376 DOI: 10.1038/labinvest.2010.147]
- 44 Che L, Yuan YH, Jia J, Ren J. Activation of sonic hedgehog signaling pathway is an independent potential prognosis predictor in human hepatocellular carcinoma patients. *Chin J Cancer Res* 2012; 24: 323-331 [PMID: 23359030 DOI: 10.1007/s11670-012-0271-z]
- 45 李晓伟, 刘炳亚. Hedgehog信号通路在肿瘤中作用的研究进展. *生命科学* 2009; 21: 116-121
- 46 刘兆国, 朱智杰, 周梁, 田超, 王爱云, 陈文星, 郑仕中, 陆茵. Notch信号通路与肿瘤研究. *中国药理学通报* 2012; 28: 1045-1048
- 47 Gao J, Dong Y, Zhang B, Xiong Y, Xu W, Cheng Y, Dai M, Yu Z, Xu H, Zheng G. Notch1 activation contributes to tumor cell growth and proliferation in human hepatocellular carcinoma HepG2 and SMMC7721 cells. *Int J Oncol* 2012; 41: 1773-1781 [PMID: 22922832 DOI: 10.3892/ijo.2012.1606]
- 48 Fan RH, Li J, Wu N, Chen PS. Late SV40 factor: a key mediator of Notch signaling in human hepatocarcinogenesis. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 3420-3430 [PMID: 21876634 DOI: 10.3748/wjg.v17.i29.3420]
- 49 Herranz H, Milán M. Signalling molecules, growth regulators and cell cycle control in *Drosophila*. *Cell Cycle* 2008; 7: 3335-3337 [PMID: 18948741 DOI: 10.4161/cc.7.21.6996]
- 50 Malek S, Huang DB, Huxford T, Ghosh S, Ghosh G. X-ray crystal structure of an IkappaBbeta x NF-kappaB p65 homodimer complex. *J Biol Chem* 2003; 278: 23094-23100 [PMID: 12686541 DOI: 10.1074/jbc.M301022200]
- 51 Naugler WE, Sakurai T, Kim S, Maeda S, Kim K, Elsharkawy AM, Karin M. Gender disparity in liver cancer due to sex differences in MyD88-dependent IL-6 production. *Science* 2007; 317: 121-124 [PMID: 17615358 DOI: 10.1126/science.1140485]
- 52 Elsharkawy AM, Mann DA. Nuclear factor-kappaB and the hepatic inflammation-fibrosis-cancer axis. *Hepatology* 2007; 46: 590-597 [PMID: 17661407 DOI: 10.1002/hep.21802]
- 53 Mishra L, Banker T, Murray J, Byers S, Thenappan A, He AR, Shetty K, Johnson L, Reddy EP. Liver stem cells and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 318-329 [PMID: 19111019 DOI: 10.1002/hep.22704]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 特异性核基质结合区结合蛋白1在消化系统肿瘤中的研究进展

毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 琚坚

毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 琚坚, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科 云南省昆明市 650101

毕洪钟, 在读硕士, 主要从事消化内科的相关研究。

作者贡献分布: 本文献资料由王伟与胡敏敏收集; 综述由毕洪钟完成; 琚坚负责审校。

通讯作者: 琚坚, 教授, 主任医师, 650101, 云南省昆明市西山区麻园1号, 昆明医科大学第二附属医院特需病房科。

jujianyn@163.com

电话: 0871-65351281

收稿日期: 2013-10-19 修回日期: 2013-11-01

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2014-01-08

## Role of special AT rich sequence binding protein 1 in digestive system neoplasms

Hong-Zhong Bi, Wei Wang, Min-Min Hu, Jian Ju

Hong-Zhong Bi, Wei Wang, Min-Min Hu, Jian Ju, VIP Department, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650101, Yunnan Province, China

Correspondence to: Jian Ju, Professor, Chief Physician, VIP Department, the Second Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 1 Mayuan Road, Xishan District, Kunming 650101, Yunnan Province, China. jujianyn@163.com

Received: 2013-10-19 Revised: 2013-11-01

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2014-01-08

## Abstract

Special AT rich sequence binding protein 1 (SATB1) is a unique global regulatory factor. Epigenetic modifications and dynamic changes in chromatin organization mediated by SATB1 have recently been shown to play an important role in regulating cancer-promoting genes. The role of SATB1 in promoting metastasis was discovered in breast carcinoma cells in 2008. In recent years, high expression of SATB1 has been found in digestive system neoplasms including oral cancer, stomach cancer, liver cancer, gallbladder cancer and colorectal cancer. SATB1 is related closely to proliferation, invasion and metastasis of tumor cells. Digestive system neoplasms are the most common malignant tumor in China, and control of cancer metastasis has been the research focus. A better understanding of the role of SATB1 will contribute to the diagnosis, treatment and prognosis evaluation in

malignant tumors. In this review, we will summarize recent progress in understanding the role of SATB1 in digestive system neoplasms.

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

Key Words: Special AT rich sequence binding protein 1; Digestive system neoplasms; Metastasis; Mechanism

Bi HZ, Wang W, Hu MM, Ju J. Role of special AT rich sequence binding protein 1 in digestive system neoplasms. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 67-73 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/67.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.67>

## 摘要

特异性核基质结合区结合蛋白1(special AT rich sequence binding protein 1, SATB1)又称AT富集序列特异性结合蛋白1, 是一种独特的全局调节因子, 通过基因表达调控结合染色质高级结构, 对染色质进行表观遗传修饰和动态改变, 直接调节促癌基因的表达。自2008年在乳腺癌细胞中发现他对肿瘤细胞的发生和转移有促进作用后, 近年来又发现其高表达对消化系统肿瘤(包括口腔癌、胃癌、肝癌、胆囊癌、结直肠癌)的肿瘤细胞增殖、侵袭、转移关系密切。我国以消化系统肿瘤多见, 如何控制恶性肿瘤的转移, 一直是国内外研究的重点。随着对SATB1作用机制的深入研究必将为恶性肿瘤的诊断、治疗以及预后评估提供新的思路和方法。本文就近年来SATB1在消化系统肿瘤中的相关研究进展作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 特异性核基质结合区结合蛋白1; 消化系统肿瘤; 转移; 机制

**核心提示:** 特异性核基质结合区结合蛋白1是一种独特的全局调节因子, 可直接调节促癌基因的表达, 其在肿瘤中作用机制是目前研究的热点。这种“超级基因”有望在未来肿瘤的诊断、治疗以及预后评估上开辟新的道路。

## ■背景资料

特异性核基质结合区结合蛋白1是一种独特的全局调节因子, 通过基因表达调控结合染色质高级结构, 对染色质进行表观遗传修饰和动态改变, 直接调节促癌基因的表达。

## ■同行评议者

代智, 副研究员, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所

## ■ 研发前沿

此篇文章主要综述了SATB1自2008年发现其在乳腺癌中的重要作用以来的致病机制,以及在消化系统肿瘤中的研究进展。

毕洪钟, 王伟, 胡敏敏, 琚坚. 特异性核基质结合区结合蛋白1在消化系统肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 67-73 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/67.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.67>

## 0 引言

近年来,我国恶性肿瘤死亡率逐年上升,其死亡率位于世界较高水平,已经成为我国居民首要死因之一.在我国死亡率前5位的恶性肿瘤分别为肺癌、肝癌、胃癌、食管癌、结直肠癌,消化系统肿瘤占了4种<sup>[1]</sup>.恶性肿瘤发生、发展、转移过程是多步骤、不连续的可称之为浸润-转移级联反应,其中涉及很多基因学方面的改变<sup>[2]</sup>.肿瘤发生转移是导致恶性肿瘤患者死亡的直接原因.特异性核基质结合区结合蛋白1(special AT rich sequence binding protein 1, SATB1)自2008年发现其对乳腺癌细胞的转移有重要促进作用后<sup>[3]</sup>,近五年研究显示在包括消化系统肿瘤等多种恶性肿瘤转移过程中SATB1都呈现出高表达. SATB1促进肿瘤增殖和转移具体途径尚不明确,因此,对SATB1进一步深入研究将对恶性肿瘤诊断、治疗以及预后具有重大意义. 本文将对SATB1在消化系统肿瘤中的相关研究进展作一综述.

## 1 SATB1的概述

SATB1位于3号染色体3p23区,全长763个氨基酸,包含有两个CUT基序<sup>[4]</sup>,核心启动子可能存在于其5c上游序列的-760至-9 bp区域中<sup>[4]</sup>.在其N-末端PSD95/Dlg-A/ZO-1<sup>[5]</sup>形成类似盘状同源区域(discoid homologous region)的二聚体又称PDZ(PSD95/DLG/ZO1)样结构域,以非常高的亲和力与核基质结合区(matrix attachment regions, MARs)相结合,介导了一些染色质蛋白的相互作用. MARs是一段富含AT的序列位于转录活跃的DNA环状结构域的边界,其功能将染色质分割成多个染色质环,使每个转录单元保持相对的独立性<sup>[6]</sup>,是具有高度碱基配对(base unpairing regions, BURs)倾向的区域<sup>[7]</sup>. SATB1与MARs特异性结合,改变染色体环(loop)-微带-染色单体折叠模式,促进染色质重塑,在基因组水平调节多个基因群的转录活性<sup>[8]</sup>. 聚类分析显示SATB1的PDZ样结构域的过度表达时600至19000个基因表达明显上调. SATB1在全局基因调节中可能通过PDZ结构域和其他细胞蛋白相互作用<sup>[5]</sup>. Wang等<sup>[9]</sup>的研究显示SATB1的N-末端结构域也有类似于泛素结构域, SATB1可以通过N-末端结

构域寡聚化形成的四聚体绑定到高度专业化的DNA序列上,从而发挥重要作用.

## 2 SATB1在肿瘤发生发展中的作用

2008年Han等<sup>[3]</sup>研究人员在*Nature*杂志上首次揭示了SATB1与肿瘤侵袭转移的关系, SATB1在乳腺癌进展过程中调控超过1000个基因的表达,是乳腺癌细胞获得和维持侵袭转移能力所必需的因子. 近几年的研究显示SATB1调节肿瘤细胞的机制主要集中在调节细胞周期、细胞凋亡、Wnt/ $\beta$ -Catenin的信号转导途径以及参与上皮细胞-间充质转化等.

2.1 SATB1调节细胞周期和细胞凋亡 细胞周期调节异常和细胞异常增殖是肿瘤细胞的主要特征. Agrelo等<sup>[10]</sup>的研究发现小鼠胚胎成纤维细胞中SATB1诱导了细胞周期阻滞和衰老与p16蛋白水平升高密切相关,删除p16基因克服了SATB1诱导衰老. 进一步研究证实p16和视网膜母细胞瘤相关基因(*RB/E2F*)通路对于SATB1诱导细胞周期阻滞非常重要, p16基因突变与SATB1的致癌活性有关. Tu等<sup>[11]</sup>发现SATB1上调CDK4和下调P16,促进细胞周期进程和细胞增殖,抑制FADD-Caspase8-Caspase3的死亡受体介导的细胞凋亡途径防止细胞凋亡. 蒋金<sup>[12]</sup>用SATB1-shRNA转染A549细胞48 h后可促进了A549细胞凋亡,通过研究他们发现其中机制可能是SATB1和*Bcl2*(B-cell lymphoma/leukemia-2)基因的核基质附着区(matrix attachment region, MAR)、主要断裂点区(major breakpoint region, MBR)或SB1、SB2序列(25 bp)特异性结合拮抗MAR、MBR或/和SB1、SB2序列对*Bcl2*基因的负转录调控功能,下调*Bcl2*基因的表达,上调BAX及天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶3(*Caspase3*)基因表达有关. Gong等<sup>[13]</sup>在Jurkat细胞中研究发现 SATB1可通过与*Bcl2*转录起始部位的SB1、SB2序列(25 bp)结合拮抗SB1、SB2序列对*Bcl2*的负转录调控功能,使*Bcl2*基因的表达上调,抑制Jurkat细胞凋亡. 通过Caspase6抑制剂抑制SATB1的裂解,可以抑制SATB1介导的染色质环的解体,并提高*Bcl2* mRNA表达水平. Chu等<sup>[14]</sup>也得出了SATB1表达和细胞凋亡及*Bcl2*表达和细胞凋亡之间呈负相关的结论. Han等<sup>[15]</sup>在膀胱癌的研究中发现SATB1上调Caspase3抑制肿瘤细胞凋亡. 涂炜等<sup>[16]</sup>发现HBV编码的蛋白质HBx激活细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)及p38 MAPK(mitogen-activated protein kinases)信

号通路诱导SATB1的表达, 并通过SATB1抑制Fas相关死亡结构域蛋白(Fas-associated protein with death domain, FADD)的表达及Caspase8和Caspase3的活化, 进而诱导癌细胞的失巢凋亡抵抗. Kuo等<sup>[17]</sup>也证实SATB1基因调控HBX表达, 通过上调SATB1表达, HBX可以阻止癌细胞凋亡. 凋亡抑制基因p63绑定在最接近SATB1的调节区, 敲除p63转录因子导致了SATB1在表皮中的表达显著下降, 说明了SATB1的过表达可通过抑制了细胞凋亡<sup>[18]</sup>. 此外SATB1基因在Sezary细胞内是不表达的, 把载有SATB1的逆转录病毒感染Hut78细胞(一种Sezary细胞)可以诱导细胞凋亡, 表明Sezary细胞内SATB1基因的不表达可能在细胞凋亡中起着重要的作用<sup>[19]</sup>.

**2.2 SATB1参与Wnt/ $\beta$ -Catenin的信号转导途径** Wnt/ $\beta$ -Catenin的信号转导途径在肿瘤的增殖和转移过程中发挥重要作用. Notani等<sup>[20]</sup>学者发现SATB1是Wnt/ $\beta$ -Catenin信号转导途径的下游效应蛋白之一, 在T细胞的成熟和分化中有重要作用. SATB1能与 $\beta$ -Catenin相互作用并能招募 $\beta$ -Catenin与SATB1基因组结合位点结合, 进而改变了SATB1调节的靶基因的转录水平. 刘科等<sup>[21]</sup>的实验发现, 通过Wnt3a激活Wnt信号通路可以使SATB1与靶基因上游启动子区域的结合浓度增加1.5-4倍, 应用DKK1蛋白(dickkopf1)阻断Wnt信号通路时SATB1与靶基因上游启动子区域的结合浓度会下调1.5-6倍. SATB1可能通过Wnt信号通路招募p-catenin-P300复合体调控基因的表达. Burute等<sup>[22]</sup>的研究中也揭示了SATB1通过招募 $\beta$ -Catenin介导Wnt信号途径并通过GATA-3调节Th2细胞的分化<sup>[23]</sup>. Meng等<sup>[24]</sup>发现在大肠癌细胞中SATB1依赖于Wnt/ $\beta$ -Catenin信号发挥作用, 导致了肿瘤的发生和转移.

**2.3 SATB1参与上皮细胞-间充质转化** 上皮细胞-间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)是上皮细胞来源的恶性肿瘤细胞获得迁移和侵袭能力的重要过程, 通过EMT上皮细胞失去了细胞极性, 失去与基底膜的连接等上皮表型, 获得了较高的迁移与侵袭、抗凋亡和降解细胞外基质的能力等间质表型. 在癌症的进展过程中SATB1的表达逐渐增多, 并且动态重新编码涉及EMT基因的表达, SATB1可直接调节雌激素相关受体 $\beta$ (estrogen related receptor beta, ERRB2)、二型基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase-2, MMP2)、钙黏连蛋白(E-cadherin)等的表达, 因此

作为在癌症发展的关键调节器<sup>[25]</sup>. Li等<sup>[26]</sup>在乳腺癌细胞研究中发现miR-448可直接作用于SATB1 mRNA从而抑制其诱导EMT, 导致双调蛋白的水平升高并增加了表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)介导的TWIST1基因的表达以及NF- $\kappa$ B通路的激活. Wang等<sup>[27]</sup>学者在肌蛋白介导的EMT过程中发现, 减少肌蛋白的转录可通过Fyn-SP1-SATB1通路下调SATB1的表达, 使大肠癌细胞转移能力降低并减少其在体内远处转移. SATB1诱导EMT增加了Snail、Slug、Twist基因和波形蛋白表达, 并伴随减少钙黏连蛋白、紧密接头蛋白ZO-1和桥粒斑蛋白的表达, 促进体内肿瘤的生长<sup>[11]</sup>. Shukla等<sup>[28]</sup>敲除了人类高度侵袭性前列腺癌细胞PC-3M中SATB1基因抑制了细胞侵袭和体内肿瘤的生长并增加了钙黏连蛋白的表达.

**2.4 SATB1与其他 PI3K/Akt信号转导通路**可以促进细胞增殖、分化、存活、黏附和迁移, 在肿瘤的发生和发展过程中发挥着重要作用. 研究发现, SATB1也参与该通路的调节, 可以与PI3KC亚型基因的MARs序列结合, 从而抑制PI3KC的转录<sup>[29]</sup>. Akt蛋白激酶使SATB1在丝氨酸47上磷酸化并保护SATB1防止其凋亡裂解<sup>[30]</sup>. 2013年Chu等<sup>[31]</sup>对SATB1的表达和O-6-甲基鸟嘌呤-DNA甲基转移酶(O-6-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)启动子甲基化状态之间的关系进行了研究, 结果显示SATB1在有MGMT启动子甲基化星状细胞瘤标本中的表达比在没有MGMT启动子甲基化中的表达显著降低, 肯定了SATB1在星形细胞瘤中的作用.

### 3 SATB1与消化系肿瘤

通过近5年的研究显示, SATB1不仅与乳腺癌<sup>[3,32]</sup>、肺癌<sup>[33-35]</sup>、卵巢癌<sup>[36-38]</sup>、甲状腺癌<sup>[39]</sup>、前列腺癌<sup>[40]</sup>、膀胱癌<sup>[41]</sup>、皮肤淋巴瘤<sup>[42]</sup>、黑色素瘤<sup>[43]</sup>等肿瘤的细胞增殖和转移关系密切, 还发现其对消化系肿瘤(包括口腔癌、胃癌、肝癌、胆囊癌、结直肠癌)中的肿瘤细胞增殖、侵袭、转移也起到重要的促进作用.

**3.1 SATB1与口腔癌** 目前SATB1在口腔鳞癌和腺样囊性癌中的作用研究较少. 罗婷婷<sup>[44]</sup>对口腔鳞癌52例, 腺样囊性癌14例, 4例口腔多形性腺瘤组织标本, 4例口腔白斑组织标本, 2例正常牙龈组织作对照进行研究. 发现SATB1蛋白及SATB1 mRNA在口腔恶性肿瘤组织中的表达高于良性肿瘤及口腔正常牙龈上皮, 提示SATB1在

#### ■相关报道

SATB1在肿瘤中作用被发现最早的文章是2008年Han等在Nature上发表的一篇《SATB1 reprogrammes gene expression to promote breast tumour growth and metastasis》. 从08年以后众多学者对其在肿瘤中机制进行深入研究, 本篇文章进行相关综述. 前人的相关综述也有SATB1的相关调节机制, 但不包括肿瘤方面.



### ■创新盘点

关于SATB1在2008年之前就有研究, 对其在肿瘤的发生发展中的作用机制尤其是消化系统肿瘤, 没有综述类文章. 因此机制总结是主要内容, 可以方便读者系统全面了解其研究的最新进展.

口腔恶性肿瘤的发生、发展过程中起到了促进作用. SATB1的表达上调与口腔鳞状细胞癌的恶性程度、侵袭、转移有正相关关系, 因其在口腔鳞癌转移组原发灶中的表达高于口腔鳞癌未转移组原发灶中的表达以及转移癌中的表达高于原发灶, 提示SATB1在口腔鳞癌中可能为肿瘤转移的促进基因. SATB1蛋白及SATB1 mRNA在腺样囊性癌中均显示强阳性表达, 提示SATB1与腺样囊性癌的发生、发展密切相关.

3.2 SATB1与胃癌 胃癌仍是第4个最常见的癌症, 癌症死亡在世界上第2个最常见的原因. 在东亚、东欧、美洲和南美洲的部分地区, 发病率特别高. 预后较差, 5年相对生存率低于30%<sup>[45]</sup>. 在我国胃癌死亡率居各种恶性肿瘤的首位, 其恶性侵袭和转移是造成胃癌预后不良的主要原因. 刘科<sup>[21]</sup>研究了48例胃癌标本及相应的癌旁组织, 在胃癌组织中SATB1的转录和翻译水平均出现表达上调, 而在相应的癌旁组织其表达水平很低或呈现阴性表达. 提示其在胃癌的形成和发展中可能有一定作用; 同时发现高侵袭性胃癌细胞系AGS中SATB1的表达水平明显高于低侵袭性的细胞系SGC-7901, 进一步证实SATB1可能参与胃癌的侵袭转移进程. 在Tracz等<sup>[46]</sup>的实验发现SATB1基因在有胃癌家族史并伴有幽门螺杆菌感染和胃黏膜可逆病理改变的患者中的表达比没有胃癌家族史的患者高, 成功根除幽门螺杆菌后, 有胃癌家族史患者的SATB1 mRNA表达水平与对照组患者相比没有增加. Zuk等<sup>[47]</sup>的研究也得出了相似的结论. 而在胃癌的化疗过程中孙福强<sup>[48]</sup>发现SATB1表达和胃癌细胞的化疗耐药能力间存在着正相关的关系, SATB1在胃癌的化疗耐药中扮演着重要的角色. Sun等<sup>[49]</sup>实验表明SATB1在人类胃癌细胞株SGC7901的多药耐药变种细胞SGC7901/VCR的表达上调. 在体外药物敏感试验表明SATB1的表达水平及耐药性呈正相关关系. Lu等和Cheng等<sup>[50,51]</sup>研究显示, 胃癌组织中SATB1蛋白阳性表达与肿瘤浸润深度、TNM分期、淋巴结转移及远处转移明显相关并具有显著的统计学意义, 可作为胃癌独立的预后指标.

3.3 SATB1与肝癌 原发性肝癌为最常见恶性肿瘤之一, 肝癌患者临床确诊时大部分已出现肝内或肝外转移, 是导致死亡的主要原因. Li等<sup>[2,52]</sup>对6种肝癌细胞株(HL-7702、SMMC-7721、MHCC97L、MHCC97H、HCCLM3、HepG2)研究时发现与永生化肝癌细

胞株HL-7702相比SATB1 mRNA在高度侵袭性细胞株MHCC97H、HCCLM3表达最高, 然后是低侵袭性MHCC97L细胞株, 其次是非侵袭性SMMC-7721和HepG2肝癌细胞株, HCCLM3细胞株SATB1蛋白表达水平是HepG2细胞株的4.6倍. 曹晓飞等<sup>[53]</sup>成功干扰HCCLM3细胞株中SATB1, 干扰后细胞株的增殖及迁移能力均明显降低, 裸鼠体内移植实验后肿瘤增殖能力明显减弱. 而罗敏等<sup>[54,55]</sup>发现SATB1调控肝癌HepG2细胞周期并不是单一改变细胞某个周期, 而是参与细胞周期的每个阶段, 促进HepG2细胞的增殖, 还发现转移能力越强的肝癌细胞株中SATB1表达越高, 上调或下调SATB1表达, 可调控许多肝癌侵袭转移相关基因表达, SATB1可与这些基因MAR区相应位点结合并调控其表达. 曲杰等<sup>[56]</sup>也对高转移人肝癌细胞株进行研究, 把此类LM3细胞株的SATB1基因沉默后, 细胞的增殖、侵袭及迁移能力均明显降低, 提示SATB1可以促进肝癌细胞的增殖及侵袭迁移. Huang等<sup>[57]</sup>学者对22例HBV相关肝癌患者的肝癌组织及癌旁组织进行研究, SATB1在16例癌组织中高表达, 而在癌旁组织中没有表达. Peng等<sup>[58]</sup>对102例肝癌组织和癌旁组织进行研究, 发现SATB1基因在肝癌组织中的表达高于癌旁组织3.27倍, 其表达水平与肝癌伴有肝硬化、AFP水平、肿瘤大小、癌栓、肿瘤分化程度、TNM分期、术后复发和转移有关. SATB1可以用来作为预测肝癌复发和转移的一个重要指标.

3.4 SATB1与胆囊癌 胆囊癌具有恶性程度高、易早期转移、难于早期发现、对化疗药物不敏感等特点, 因而术前确诊为胆囊癌的患者其远期疗效差于肝癌及胰腺癌. 李民华<sup>[59]</sup>应用免疫组织化学SP法检测了39例胆囊癌组织和23例对照患者的胆囊组织中SATB1的表达. 结果显示SATB1的过表达与胆囊癌的发生发展及侵袭转移有一定的相关性, SATB1基因可能是胆囊癌发生的“开关基因”.

3.5 SATB1与结直肠癌 结直肠癌也是常见的消化系恶性肿瘤, 发生率仅次于肝癌、胃癌和食道癌. Fang等<sup>[60]</sup>免疫组织化学检测了130结直肠癌组织样本, 发现SATB1的表达增强; 结直肠癌SW480细胞株体外实验中SATB1的表达促进了细胞增殖和细胞周期的进程, 提高了细胞迁移和侵袭的能力. Meng等<sup>[61]</sup>对93例直肠癌和远端正常直肠组织的样本进行实验, 结果显示在直肠癌组织中SATB1 mRNA和SATB1蛋白表达阳

性率均明显高于其在正常直肠黏膜组织中的表达,尤其在直肠癌的发病初期其mRNA呈过度表达, SATB1蛋白和mRNA的表达与肿瘤侵犯深度和淋巴结转移都有关系。Zhang等<sup>[62]</sup>在对80例结直肠癌和3种结直肠细胞系的研究中发现SATB1过表达与肿瘤细胞的分化阶段密切相关,其蛋白在低分化细胞株中的表达明显高于高分化细胞株,并且数量和分布与肿瘤分化和pTNM分期有关。高超等<sup>[63]</sup>发SATB1基因在结肠癌组织中的表达较癌旁组织显著增高, SATB1高表达预示结直肠癌恶性程度高,临床分期较晚,可能存在淋巴结转移,预后不良。因此检测SATB1表达可作为临床上筛选结直肠癌高危转移患者、制定治疗方案和判断预后的一个新指标,并有望成为新的治疗靶点。

#### 4 结论

恶性肿瘤转移机制极其复杂,随着对SATB1研究的不断深入, SATB1与其下游基因间的相互调节作用将有助于阐明更多关于肿瘤发生发展的机制。我相信这一可导致多种恶性肿瘤发生侵袭转移的“超级基因”有望在未来肿瘤的诊断、治疗以及预后评估上开辟新的道路。在抗肿瘤药物研发应用方面,依据SATB1的生物学特性,开发研制相应的SATB1抑制剂,将为抗肿瘤转移新药的研制和筛选提供新的思路和方法。

#### 5 参考文献

- 1 张伟东, 苗树军. 我国恶性肿瘤死亡率流行病学特征分析. 中国健康教育 2009; 25: 246-248
- 2 李光辉. SATB1在不同侵袭潜能肝癌细胞株的表达研究. 南方医科大学, 2012
- 3 Han HJ, Russo J, Kohwi Y, Kohwi-Shigematsu T. SATB1 reprogrammes gene expression to promote breast tumour growth and metastasis. *Nature* 2008; 452: 187-193 [PMID: 18337816 DOI: 10.1038/nature06781]
- 4 李颖, 戴冰冰, 蔡蓉, 仇全, 于丽莉, 卢健. 人SATB1基因5'上游序列的转录激活功能分析. 中国生物化学与分子生物学报 2005; 21: 220-225
- 5 Notani D, Ramanujam PL, Kumar PP, Gottimukkala KP, Kumar-Sinha C, Galande S. N-terminal PDZ-like domain of chromatin organizer SATB1 contributes towards its function as transcription regulator. *J Biosci* 2011; 36: 461-469 [PMID: 21799257 DOI: 10.1007/s12038-011-9091-4]
- 6 Broll S, Oumard A, Hahn K, Schambach A, Bode J. Minicircle performance depending on S/MAR-nuclear matrix interactions. *J Mol Biol* 2010; 395: 950-965 [PMID: 20004666 DOI: 10.1016/j.jmb.2009.11.066]
- 7 Li J, Brunner AM, Meilan R, Strauss SH. Matrix attachment region elements have small and variable effects on transgene expression and stability in field-grown Populus. *Plant Biotechnol J* 2008; 6: 887-896 [PMID: 19548343 DOI: 10.1111/j.1467-7652.2008.00369.x]

- 8 Galande S, Purbey PK, Notani D, Kumar PP. The third dimension of gene regulation: organization of dynamic chromatin loopscape by SATB1. *Curr Opin Genet Dev* 2007; 17: 408-414 [PMID: 17913490 DOI: 10.1016/j.gde.2007.08.003]
- 9 Wang Z, Yang X, Chu X, Zhang J, Zhou H, Shen Y, Long J. The structural basis for the oligomerization of the N-terminal domain of SATB1. *Nucleic Acids Res* 2012; 40: 4193-4202 [PMID: 22241778 DOI: 10.1093/nar/gkr1284]
- 10 Agrelo R, Kishimoto H, Novatchkova M, Peraza V, Paolino M, Souabni A, Wutz A. SATB1 collaborates with loss of p16 in cellular transformation. *Oncogene* 2013; 32: 5492-5500 [PMID: 23686316 DOI: 10.1038/onc.2013.158]
- 11 Tu W, Luo M, Wang Z, Yan W, Xia Y, Deng H, He J, Han P, Tian D. Upregulation of SATB1 promotes tumor growth and metastasis in liver cancer. *Liver Int* 2012; 32: 1064-1078 [PMID: 22583549 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02815.x]
- 12 蒋金. SATB1-shRNA下调Bcl2表达诱导A549细胞凋亡. 重庆医科大学, 2012
- 13 Gong F, Sun L, Wang Z, Shi J, Li W, Wang S, Han X, Sun Y. The BCL2 gene is regulated by a special AT-rich sequence binding protein 1-mediated long range chromosomal interaction between the promoter and the distal element located within the 3'-UTR. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 4640-4652 [PMID: 21310710 DOI: 10.1093/nar/gkr023]
- 14 Chu SH, Ma YB, Feng DF, Li ZQ, Jiang PC. Correlation between SATB1 and Bcl-2 expression in human glioblastoma multiforme. *Mol Med Rep* 2013; 7: 139-143 [PMID: 23076250]
- 15 Han B, Luan L, Xu Z, Wu B. Expression and biological roles of SATB1 in human bladder cancer. *Tumour Biol* 2013; 34: 2943-2949 [PMID: 23696028 DOI: 10.1007/s13277-013-0857-1]
- 16 涂伟. HBV编码蛋白HBx通过核基质结合蛋白SATB1诱导肝癌细胞失巢凋亡抵抗的作用机制研究. 华中科技大学, 2012
- 17 Kuo TC, Chao CC. Hepatitis B virus X protein prevents apoptosis of hepatocellular carcinoma cells by upregulating SATB1 and HURP expression. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 1093-1102 [PMID: 20541537 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.06.003]
- 18 Fessing MY, Mardaryev AN, Gdula MR, Sharov AA, Sharova TY, Rapisarda V, Gordon KB, Smorodchenko AD, Poterlowicz K, Ferone G, Kohwi Y, Missero C, Kohwi-Shigematsu T, Botchkarev VA. p63 regulates Satb1 to control tissue-specific chromatin remodeling during development of the epidermis. *J Cell Biol* 2011; 194: 825-839 [PMID: 21930775 DOI: 10.1083/jcb.201101148]
- 19 Wang Y, Su M, Zhou LL, Tu P, Zhang X, Jiang X, Zhou Y. Deficiency of SATB1 expression in Sezary cells causes apoptosis resistance by regulating FasL/CD95L transcription. *Blood* 2011; 117: 3826-3835 [PMID: 21270445 DOI: 10.1182/blood-2010-07-294819]
- 20 Notani D, Gottimukkala KP, Jayani RS, Limaye AS, Damle MV, Mehta S, Purbey PK, Joseph J, Galande S. Global regulator SATB1 recruits beta-catenin and regulates T(H)2 differentiation in Wnt-dependent manner. *PLoS Biol* 2010; 8: e1000296 [PMID: 20541537 DOI: 10.1007/s13277-013-0857-1]

#### ■应用要点

通过对SATB1机制深入研究必将为以后恶性肿瘤的诊断、治疗以及预后评估提供新的思路和方法。

## ■同行评价

本文介绍了特异性核基质结合区结合蛋白1的定位、结构及其在肿瘤发生发展中的作用,特别重点阐述了其在消化系统肿瘤中的作用,为恶性肿瘤的诊断、治疗以及预后评估提供新的靶点。作者选题很好,文章新颖性突出,组织结构也比较合理,对读者有一定参考价值。

- 20126258 DOI: 10.1371/journal.pbio.1000296]
- 21 刘科. 核基质结合蛋白SATB1对胃癌生物学行为的影响及其机制研究. 华中科技大学, 2010
- 22 Burute M, Gottimukkala K, Galande S. Chromatin organizer SATB1 is an important determinant of T-cell differentiation. *Immunol Cell Biol* 2012; 90: 852-859 [PMID: 22710879 DOI: 10.1038/icb.2012.28]
- 23 Ahlfors H, Limaye A, Elo LL, Tuomela S, Burute M, Gottimukkala KV, Notani D, Rasool O, Galande S, Lahesmaa R. SATB1 dictates expression of multiple genes including IL-5 involved in human T helper cell differentiation. *Blood* 2010; 116: 1443-1453 [PMID: 20522714 DOI: 10.1182/blood-2009-11-252205]
- 24 Meng WJ, Yan H, Li Y, Zhou ZG. SATB1 and colorectal cancer in Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: Is there a functional link? *Med Hypotheses* 2011; 76: 277-279 [PMID: 21122998 DOI: 10.1016/j.mehy.2010.10.022]
- 25 Mir R, Pradhan SJ, Galande S. Chromatin organizer SATB1 as a novel molecular target for cancer therapy. *Curr Drug Targets* 2012; 13: 1603-1615 [PMID: 22998183 DOI: 10.2174/138945012803530008]
- 26 Li QQ, Chen ZQ, Cao XX, Xu JD, Xu JW, Chen YY, Wang WJ, Chen Q, Tang F, Liu XP, Xu ZD. Involvement of NF- $\kappa$ B/miR-448 regulatory feedback loop in chemotherapy-induced epithelial-mesenchymal transition of breast cancer cells. *Cell Death Differ* 2011; 18: 16-25 [PMID: 20798686 DOI: 10.1038/cdd.2010.103]
- 27 Wang Q, Qian J, Wang F, Ma Z. Cellular prion protein accelerates colorectal cancer metastasis via the Fyn-SP1-SATB1 axis. *Oncol Rep* 2012; 28: 2029-2034 [PMID: 22972305]
- 28 Shukla S, Sharma H, Abbas A, MacLennan GT, Fu P, Danielpour D, Gupta S. Upregulation of SATB1 is associated with prostate cancer aggressiveness and disease progression. *PLoS One* 2013; 8: e53527 [PMID: 23308245 DOI: 10.1371/journal.pone.0053527]
- 29 Cai R, Xu W, Dai B, Cai X, Xu R, Lu J. SATB1 binds an intronic MAR sequence in human PI3kgamma in vitro. *Mol Biol Rep* 2010; 37: 1461-1465 [PMID: 19430959 DOI: 10.1007/s11033-009-9538-y]
- 30 Chen B, Xue Z, Yang G, Shi B, Yang B, Yan Y, Wang X, Han D, Huang Y, Dong W. Akt-signal integration is involved in the differentiation of embryonal carcinoma cells. *PLoS One* 2013; 8: e64877 [PMID: 23762260 DOI: 10.1371/journal.pone.0064877]
- 31 Chu SH, Ma YB, Feng DF, Zhang H, Qiu JH, Zhu ZA, Li ZQ, Jiang PC. Relationship between SATB1 expression and prognosis in astrocytoma. *J Clin Neurosci* 2013; 20: 543-547 [PMID: 23317753 DOI: 10.1016/j.jocn.2012.05.033]
- 32 Nagpal N, Ahmad HM, Molparia B, Kulshreshtha R. MicroRNA-191, an estrogen-responsive microRNA, functions as an oncogenic regulator in human breast cancer. *Carcinogenesis* 2013; 34: 1889-1899 [PMID: 23542418 DOI: 10.1093/carcin/bgt107]
- 33 Zhou LY, Liu F, Tong J, Chen QQ, Zhang FW. [Expression of special AT-rich sequence-binding protein mRNA and its clinicopathological significance in non-small cell lung cancer]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2009; 29: 534-537 [PMID: 19304547]
- 34 Huang B, Zhou H, Wang X, Liu Z. Silencing SATB1 with siRNA inhibits the proliferation and invasion of small cell lung cancer cells. *Cancer Cell Int* 2013; 13: 8 [PMID: 23379909 DOI: 10.1186/1475-2867-13-8]
- 35 Selinger CI, Cooper WA, Al-Sohaily S, Mladenova DN, Panton L, Kennedy CW, McCaughan BC, Stirzaker C, Kohonen-Corish MR. Loss of special AT-rich binding protein 1 expression is a marker of poor survival in lung cancer. *J Thorac Oncol* 2011; 6: 1179-1189 [PMID: 21597389 DOI: 10.1097/JTO.0b013e31821b4ce0]
- 36 Nodin B, Hedner C, Uhlén M, Jirstrom K. Expression of the global regulator SATB1 is an independent factor of poor prognosis in high grade epithelial ovarian cancer. *J Ovarian Res* 2012; 5: 24 [PMID: 22992394 DOI: 10.1186/1757-2215-5-24]
- 37 Xiang J, Zhou L, Li S, Xi X, Zhang J, Wang Y, Yang Y, Liu X, Wan X. AT-rich sequence binding protein 1: Contribution to tumor progression and metastasis of human ovarian carcinoma. *Oncol Lett* 2012; 3: 865-870 [PMID: 22741008]
- 38 Zhao XL, Wang P. [Expression of SATB1 and BRMS1 in ovarian serous adenocarcinoma and its relationship with clinicopathological features]. *Sichuan Daxue Xuebao Yixueban* 2011; 42: 82-85, 105 [PMID: 21355308]
- 39 Murono S, Tsuji A, Endo K, Kondo S, Wakisaka N, Yoshizaki T. Immunohistochemical detection of SATB1 is independent of thyroid cancer differentiation. *Laryngoscope* 2013; 123: 2909-2912 [PMID: 23670286 DOI: 10.1002/lary.23992]
- 40 Mao L, Yang C, Wang J, Li W, Wen R, Chen J, Zheng J. SATB1 is overexpressed in metastatic prostate cancer and promotes prostate cancer cell growth and invasion. *J Transl Med* 2013; 11: 111 [PMID: 23642278 DOI: 10.1186/1479-5876-11-111]
- 41 Liu CX, Wen Y, Xu K, Zheng SB, Xu YW, Chen BS. [Expression of special AT-rich sequence-binding protein in bladder urothelial carcinoma and its clinical significance]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2010; 30: 1389-1391, 1394 [PMID: 20584685]
- 42 Grzanka A, Grzanka D, Gagat M, Tadrowski T, Sokołowska-Wojdyło M, Marszałek A, Placek W. Correlation of SATB1 expression with clinical course of cutaneous T-cell lymphomas. *Pol J Pathol* 2012; 63: 101-105 [PMID: 22864778]
- 43 Chen H, Takahara M, Oba J, Xie L, Chiba T, Takeuchi S, Tu Y, Nakahara T, Uchi H, Moroi Y, Furue M. Clinicopathologic and prognostic significance of SATB1 in cutaneous malignant melanoma. *J Dermatol Sci* 2011; 64: 39-44 [PMID: 21767935 DOI: 10.1016/j.jdermsci.2011.06.007]
- 44 罗婷婷. 特异性核基质结合区结合蛋白1(SATB1)在口腔恶性肿瘤中表达的研究. 广西医科大学, 2012
- 45 Brenner H, Rothenbacher D, Arndt V. Epidemiology of stomach cancer. *Methods Mol Biol* 2009; 472: 467-477 [PMID: 19107449 DOI: 10.1007/978-1-60327-492-0\_23]
- 46 Tracz AF, Peczek Ł, Zuk K, Stec-Michalska K, Nawrot B. [Effect of Helicobacter pylori eradication on the expression level of SATB1 and c-Myc genes in gastric mucosa of patients with family history of gastric cancer]. *Pol Merkur Lekarski* 2013; 34: 269-276 [PMID: 23894778]
- 47 Zuk K, Peczek L, Stec-Michalska K, Medrek M, Nawrot B. SATB1 expression in gastric mucosa in relation to Helicobacter pylori infection and family history of gastric cancer. *Adv Med Sci* 2012; 57: 237-243 [PMID: 23188721 DOI: 10.2478/v10039-012-0049-z]



- 48 孙福强. SATB1增强胃癌细胞多重化疗耐药和侵袭能力的研究. 华中科技大学, 2012
- 49 Sun F, Lu X, Li H, Peng Z, Wu K, Wang G, Tong Q. Special AT-rich sequence binding protein 1 regulates the multidrug resistance and invasion of human gastric cancer cells. *Oncol Lett* 2012; 4: 156-162 [PMID: 22807980]
- 50 Lu X, Cheng C, Zhu S, Yang Y, Zheng L, Wang G, Shu X, Wu K, Liu K, Tong Q. SATB1 is an independent prognostic marker for gastric cancer in a Chinese population. *Oncol Rep* 2010; 24: 981-987 [PMID: 20811679]
- 51 Cheng C, Lu X, Wang G, Zheng L, Shu X, Zhu S, Liu K, Wu K, Tong Q. Expression of SATB1 and heparanase in gastric cancer and its relationship to clinicopathologic features. *APMIS* 2010; 118: 855-863 [PMID: 20955458 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2010.02673.x]
- 52 Li G, Yang D, Li X, Zhong K, Liu X, Bi M, Liu Y, Liao X, Lin L. [Expression of SATB1 in hepatocellular carcinoma cell lines with different invasive capacities]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2012; 32: 986-990, 994 [PMID: 22820583]
- 53 曹晓飞, 刘庆宏. SATB1促进肝癌增殖与转移能力的初步研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 3646-3649
- 54 罗敏, 涂炜, 刘永健, 邓欢, 周珍珍, 朱倩, 林海华, 夏丽敏, 晏维, 田德安. 过表达SATB1对人原发性肝癌细胞 HepG2增殖的促进作用. 医药导报 2011; 30: 196-199
- 55 罗敏. 核基质结合蛋白SATB1调控肝癌细胞侵袭转移的实验研究. 华中科技大学, 2010
- 56 曲杰, 叶丽虹, 杨宗伟. SATB1在原发性肝癌中表达并促进生长和转移的研究. 重庆医科大学学报 2012; 37: 606-609
- 57 Huang YK, Fan XG, Qiu F, Wang ZM. Genomics of hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma and adjacent noncancerous tissues with cDNA microarray. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 2057-2064 [PMID: 22088470]
- 58 Peng ZK, Yang DH, Li XH, Huang Y, Zhang GQ, Zhong KB, Bi MP, Li GH. [Expression of special AT-rich sequence-binding protein 1 mRNA in hepatocellular carcinoma and its clinical significance]. *Nanfang Yike Daxue Xuebao* 2011; 31: 1207-1211 [PMID: 21764697]
- 59 李民华. SATB1及E-Cad在胆囊癌中的表达及意义. 安徽医科大学, 2012
- 60 Fang XF, Hou ZB, Dai XZ, Chen C, Ge J, Shen H, Li XF, Yu LK, Yuan Y. Special AT-rich sequence-binding protein 1 promotes cell growth and metastasis in colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2331-2339 [PMID: 23613626 DOI: 10.3748/wjg.v19.i15.2331]
- 61 Meng WJ, Yan H, Zhou B, Zhang W, Kong XH, Wang R, Zhan L, Li Y, Zhou ZG, Sun XF. Correlation of SATB1 overexpression with the progression of human rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 143-150 [PMID: 21870058 DOI: 10.1007/s00384-011-1302-9]
- 62 Zhang J, Zhang B, Zhang X, Sun Y, Wei X, McNutt MA, Lu S, Liu Y, Zhang D, Wang M, Lin Z, Niu N. SATB1 expression is associated with biologic behavior in colorectal carcinoma in vitro and in vivo. *PLoS One* 2013; 8: e47902 [PMID: 23326301 DOI: 10.1371/journal.pone.0047902]
- 63 高超, 朱艳卿, 刘颖, 裴东升, 赵晶, 孔姝婧. SATB1基因在结直肠癌中的表达及其临床意义. 肿瘤防治研究 2013; 40: 159-163

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



## 四氯化碳法制备肝硬化大鼠模型中重要脏器的病理改变

张云巍, 胡亚卓, 徐丽娟, 潘美妍, 阎 丽

### ■背景资料

肝硬化是终末期肝病, 严重威胁患者的生命, 现已成为消化学界的研究热点, 而肝硬化动物模型是肝硬化的研究基础, 研究肝硬化的发生机制及其防治就必须建立良好的肝纤维化动物模型。目前还没有与人类肝硬化完全相似的动物模型。

张云巍, 徐丽娟, 阎丽, 中国人民解放军总医院南楼临床部消化内科 北京市 100853

胡亚卓, 中国人民解放军总医院老年医学研究所病理科 北京市 100853

潘美妍, 中国人民解放军济南军区第二疗养院 山东省济南市 250000

张云巍, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30900669

北京市科技新星计划基金资助项目

作者贡献分布: 此课题由阎丽设计; 研究过程由阎丽与张云巍操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由胡亚卓与潘美妍提供; 数据分析由张云巍与徐丽娟完成; 本论文写作由张云巍完成。

通讯作者: 阎丽, 副教授, 副主任医师, 北京市海淀区复兴路28号, 解放军总医院南楼临床部消化内科。yanlifmu@126.com

收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-11-11

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

### Pathological changes in major organs of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis

Yun-Wei Zhang, Ya-Zhuo Hu, Li-Juan Xu, Mei-Yan Pan, Li Yan

Yun-Wei Zhang, Li-Juan Xu, Li Yan, Department of Gastroenterology, Institute of Geriatrics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China

Ya-Zhuo Hu, Department of Pathology, Institute of Geriatrics, Chinese PLA General Hospital, Beijing 100853, China  
Mei-Yan Pan, Department of Gastroenterology, the Second Sanatorium of Jinan Military Region, Jinan 250000, Shandong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30900669; and Beijing New-star Plan of Science and Technology

Correspondence to: Li Yan, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Institute of Geriatrics, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. yanlifmu@126.com

Received: 2013-10-14 Revised: 2013-11-11

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

### Abstract

**AIM:** To observe the pathologic changes in major organs of rats with liver cirrhosis induced by injecting carbon tetrachloride ( $\text{CCl}_4$ ) intraperitoneally.

**METHODS:** Thirty SD rats were randomly divided into two groups, a model group ( $n = 22$ )

and a control group ( $n = 8$ ). Rats in the model group were intraperitoneally injected with  $\text{CCl}_4$  ( $3 \mu\text{L/g}$ ) three times a week for 12 wk to induce hepatic cirrhosis (The formation of pseudolobuli as the criterion for successful induction of cirrhosis). The control group was injected intraperitoneally with the vehicle. All rats were fed ordinary forage and water, and weight changes, activities and the reaction to the surroundings were monitored during the experiment. Animal deaths and death dates were also recorded. At the end of the 12<sup>th</sup> week, 6 rats in the model group were dead and all rats in the control group survived. The rest rats in the model group were executed, and the samples of the liver, esophagus, colon, spleen, and lung were collected and subjected to HE staining. PAS staining for the renal samples was performed. The pathological changes in the above organs were observed by light microscopy.

**RESULTS:** Compared with the controls, typical pseudolobes were formed in the animal model of liver cirrhosis. Gastrointestinal tissues were infiltrated by few inflammatory cells. The renal tubular cells showed mild edema. The structure of pulmonary alveolus was damaged or fused with acute inflammatory cells and blood cells, accompanied with alveolar septum tightening in some regions. Other major organs were not affected.

**CONCLUSION:** It is the first time to observe the pathological changes in major organs of rats with liver cirrhosis induced by intraperitoneally administration of  $\text{CCl}_4$ . Mild pathological changes occurred in the animal models, which are consistent with pathological changes observed in human liver cirrhosis.

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

**Key Words:** Carbon tetrachloride; Liver cirrhosis; Organ injury

Zhang YW, Hu YZ, Xu LJ, Pan MY, Yan L. Pathological

### ■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

changes in major organs of rats with carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 74-79 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/74.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.74>

## 摘要

**目的:** 观察四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )经腹腔注射法制备肝硬化动物模型(cirrhosis model, CM)实验中机体其他主要脏器的病理变化情况。

**方法:** 30只SD大鼠, 随机分为对照组和模型组。模型组: 22只, 使用橄榄油配备浓度为600 mL/L的 $\text{CCl}_4$ 按3  $\mu\text{L/g}$ 体质量经腹腔注射, 3次/wk, 共计12 wk, 制备肝硬化大鼠模型(假小叶形成为判定CM成功的标准); 对照组: 8只, 按3 L/g体质量给予橄榄油溶液腹腔注射, 3次/wk, 共计12 wk。两组大鼠均给予普通饲料加清水喂养, 并监测实验期间大鼠体质量变化、活动及对外界的反应情况, 同时记录大鼠的死亡情况及死亡时间。至12周末, 模型组死亡6只, 对照组全部存活。处死存活下来的模型组大鼠做肝脏病理, 均符合肝硬化标准。造模成功的同时收集食管、结肠、脾、肺等组织行HE染色, 肾脏组织行PAS染色、并在光镜下观察各器官的组织形态学改变。

**结果:** 与对照组相比, 模型组的大鼠肝组织呈典型的假小叶改变; 食管、结肠可见少量的炎症细胞浸润, 肾脏可见肾小管细胞轻度水肿。肺泡结构破坏, 部分区域内有肺泡间隔绷紧, 有多个肺泡的融合, 肺泡腔内见急性炎症细胞及红细胞。脾的组织形态基本正常。

**结论:** 本文首次对 $\text{CCl}_4$ 腹腔注射法制备肝硬化动物模型的重要脏器进行病理学观察, 证明该方法制备的肝硬化大鼠模型对主要脏器的影响小, 与人类发生肝硬化时重要脏器的病理改变基本一致, 因此, 再次说明该方法是一种理想的实验性肝硬化动物模型的制备方法。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 四氯化碳; 肝硬化; 脏器损伤

**核心提示:** 四氯化碳腹腔注射法制备肝硬化动物模型中除肝脏以外的多个重要脏器的病理改变轻微, 与人类发生肝硬化时这些脏器的病理改变基本保持一致, 是一种良好的肝硬化动物模型制备方法, 值得在临床及实验研究中推广应用。

张云巍, 胡亚卓, 徐丽娟, 潘美妍, 阎丽. 四氯化碳法制备肝硬化大鼠模型中重要脏器的病理改变. 世界华人消化杂志 2014; 22(1):

74-79 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/74.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.74>

## 0 引言

肝硬化(liver cirrhosis)是临床常见的一种慢性进行性肝病, 由一种或多种病因长期或反复作用形成的弥漫性肝损害<sup>[1]</sup>, 严重威胁患者的生命<sup>[2]</sup>。病理组织学上可见广泛的肝细胞坏死、残存肝细胞结节性再生、结缔组织增生与纤维隔形成, 导致肝小叶结构破坏和假小叶形成, 肝脏逐渐变形、变硬而发展为肝硬化。然而, 肝硬化发病机制至今尚不明确。近年来, 在实验性肝硬化动物模型(cirrhosis model, CM)建立的基础<sup>[3]</sup>上, 该病的发病机制及治疗方面的研究均取得了可喜的成就<sup>[4-6]</sup>。然而, 目前报道的CM还仅局限于肝脏的病理学改变情况, 缺乏其他重要脏器的病理组织学研究<sup>[7]</sup>。本文在以往研究的基础上, 首次就四氯化碳( $\text{CCl}_4$ )制备肝硬化模型实验中除肝脏外其他主要脏器的病理变化进行了研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料**  $\delta$  SD大鼠, 30只, 体质量180-220 g, 由北京维通利华实验动物技术有限公司提供。按清洁级标准饲养, 普通颗粒饲料喂养。 $\text{CCl}_4$ (分析纯)购自宁波市江东化学试剂厂(批号: 9406661)。橄榄油购自上海卫辉化学试剂厂(批号: 930112)。TD型电子天平(余姚市金诺天平有限公司)由解放军总医院动物实验中心提供。显微镜(Olympus)由解放军总医院老年医学研究所病理科提供。

**1.2 方法** 大鼠自购进后, 于实验室中适应性饲养7 d, 不限食水。按体质量随机分为正常对照组8只和肝硬化模型组22只。对照组: 按3  $\mu\text{L/g}$ 体质量给予橄榄油溶液腹腔注射, 3次/wk, 普通饲料加清水喂养; 模型组大鼠按3  $\mu\text{L/g}$ 体质量给予600 mL/L  $\text{CCl}_4$ 橄榄油溶液经腹腔注射, 3次/wk。监测实验期间大鼠体质量变化、活动及对外界的反应情况, 同时记录大鼠的死亡情况及死亡时间。12 wk处死大鼠取材, 取肝、食管、结肠、脾、肺组织, 行HE染色, 肾脏组织行PAS染色, 光镜观察各组织形态改变。

## 2 结果

**2.1 大体观察** 对照组的大鼠毛发光泽, 精神状态好, 活动多, 食欲佳, 对外界刺激反应敏感。模型组大鼠毛发凌乱, 无光泽, 食欲差, 精神萎靡, 活

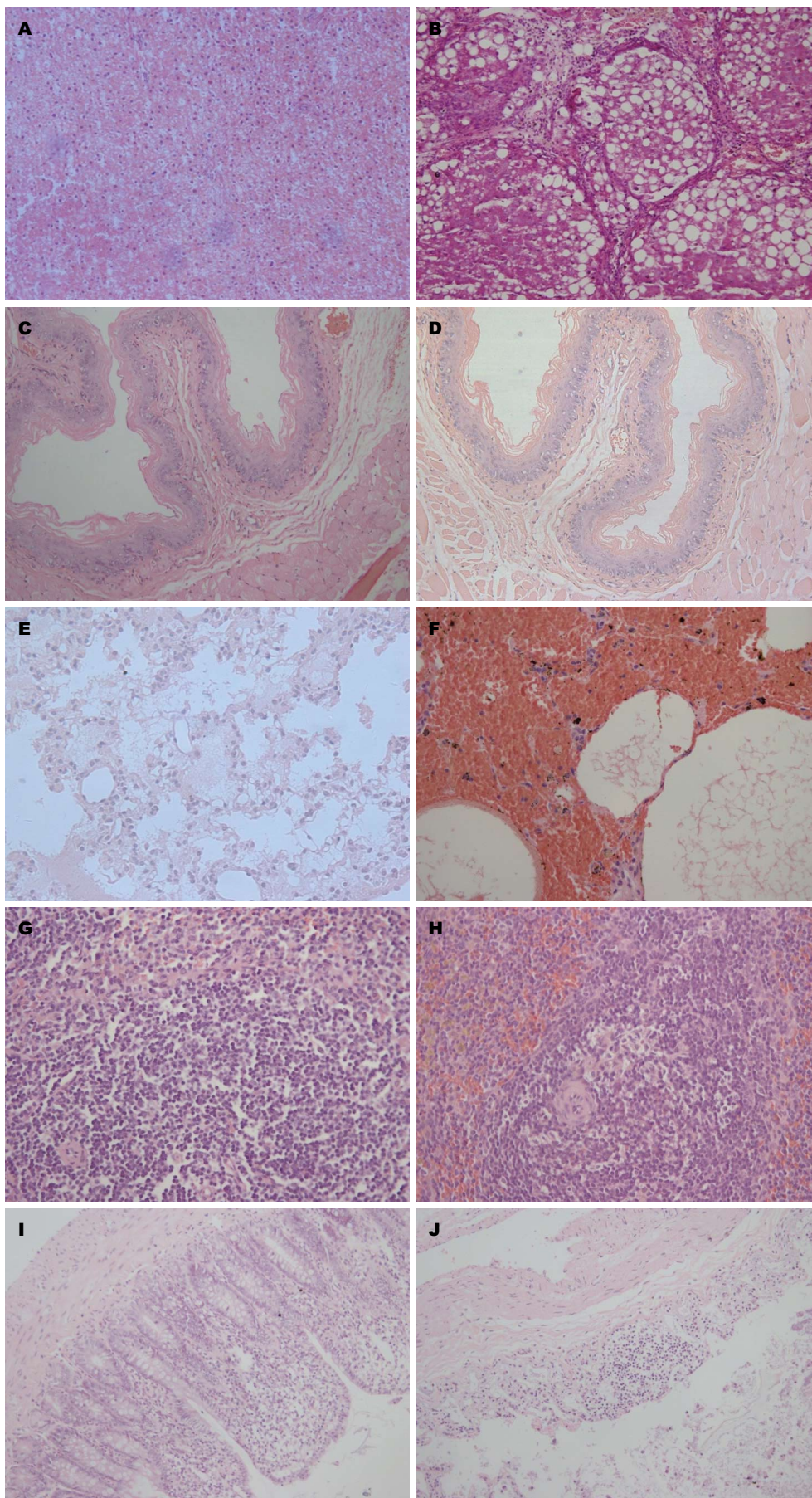
## ■ 研发前沿

目前制备肝硬化动物模型的方法较多, 从单因素发展到多因素, 甚至复合因素, 但是与理想的动物肝硬化模型(与人类肝硬化、门脉高压的特征相同、造模成功率高、病死率低、周期短、方法简便易行、所用造模因素对人体无害或较少危害)有较大的差距。



**■相关报道**

Wang等就 $\text{CCl}_4$ 致病机制做了详尽的报道,主要是被肝细胞微粒体细胞色素P450激活;Krahenbuhl和吴孟超分别成功的用 $\text{CCl}_4$ 加苯巴比妥和 $\text{CCl}_4$ 加乙醇建造肝硬化动物模型,造模时间比单独应用 $\text{CCl}_4$ 短,但死亡率高,操作复杂.





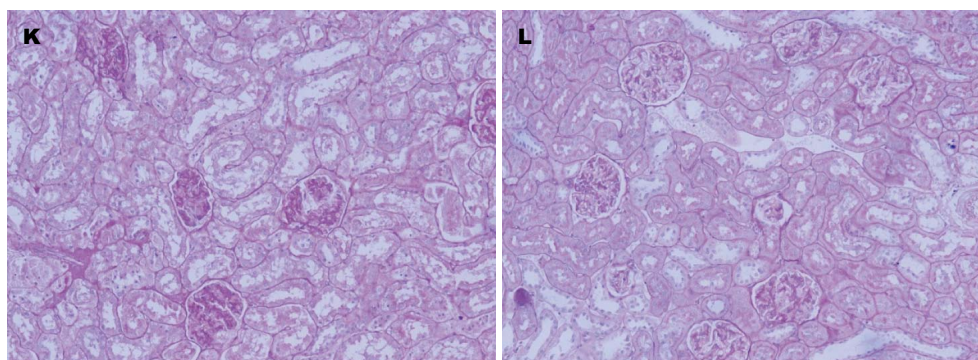


图 1  $\text{CCl}_4$ 腹腔注射法制备大鼠肝硬化动物模型的重要脏器的病理学改变( $\times 200$ )。A: 肝组织对照组; B: 肝组织模型组; C: 食管对照组; D: 食管模型组; E: 肺组织对照组; F: 肺组织模型组; G: 脾脏对照组; H: 脾脏模型组; I: 结肠对照组; J: 结肠模型组; K: 肾脏对照组; L: 肾脏模型组。

#### ■创新盘点

本文首次对 $\text{CCl}_4$ 腹腔注射法制备肝硬化动物模型的重要脏器进行病理学观察,证明该方法制备的肝硬化大鼠模型对主要脏器的影响小,与人类发生肝硬化时重要脏器的病理改变基本一致,因此,再次说明该方法是一种理想的实验性肝硬化动物模型的制备方法。

动少,对外界刺激反应迟钝。对照组大鼠体质量增长迅速,模型组大鼠体质量增长缓慢,尤以实验前期明显。模型组大鼠6只死亡,对照组全部存活。

**2.2 脏器组织学改变** 至造模第12周末取对照组及模型组的大鼠肝、食管、肺、脾、结肠组织行HE染色及肾脏行PAS染色(图1)。

**肝脏组织学改变:** 对照组: 肝小叶结构正常(图1A), 中央静脉有放射状排列的肝细胞索, 肝窦明显, 肝细胞体积较大, 核圆居中, 可见核仁, 胞浆丰富, 汇管区清晰可辨, 无明显的炎细胞浸润。模型组: 肝组织内可见纤维增粗紊乱, 肝组织(图1B)的正常结构被破坏, 变得杂乱, 纤维束分割肝小叶, 破坏的肝小叶和部分增生的肝细胞团被较粗的纤维分割包绕, 有假小叶形成, 且汇管区出现典型的病变, 证明肝硬化造模成功。

**食管组织学改变:** 对照组食管壁(图1C)四层结构清晰, 上皮为复层扁平上皮, 结构正常。模型组食管腔(图1D)可见角化不全的鳞状上皮, 黏膜下层见少许炎细胞浸润, 黏膜下层见扩张的脉管。

**肺脏组织学改变:** 对照组肺泡腔(图1E)内见轻度水肿, 间隔不宽, 上皮可见; 模型组肺泡(图1F)结构破坏, 部分区域内有肺泡间隔绷紧, 有多个肺泡的融合, 肺泡腔内见急性炎细胞及红细胞。

**脾脏组织学改变:** 模型组(图1H)相对于对照组(图1G), 血管内皮增厚明显, 血管内皮增生, 脾髓境界清楚, 可见含铁血黄素沉积。

**结肠组织学改变:** 模型组(图1J)与对照组(图1I)相比, 结肠黏膜层崩解, 肌层断裂, 有炎细胞浸润。

**肾脏组织学改变:** 对照组肾小球(图1K)结构

正常, 无系膜增生及毛细血管纤维化, 肾小管为单层上皮性小管。模型组肾小球(图1L)结构较为清晰, 无出现明显纤维化, 肾小管内皮细胞轮廓分明, 上皮细胞核浆比大体正常, 未见明显管型。

### 3 讨论

绝大部分肝硬化形成机制的研究及治疗药物的开发是建立在肝硬化动物模型的基础上, 制造CM的主要方法包括 $\text{CCl}_4$ 诱导性肝硬化模型、 $\text{CCl}_4$ 联合苯巴比妥肝硬化动物模型<sup>[8-10]</sup>、 $\text{CCl}_4$ 联合乙醇肝硬化动物模型<sup>[11,12]</sup>、化学致癌物诱导性肝硬化模型<sup>[13]</sup>、二甲基亚硝胺建立肝硬化模型<sup>[14-16]</sup>、酒精性肝硬化模型<sup>[17]</sup>、免疫性肝硬化动物模型<sup>[18]</sup>、胆总管结扎诱导性肝硬化模型<sup>[19]</sup>、病毒性肝硬化动物模型<sup>[20]</sup>、复合多因素诱导性肝硬化模型<sup>[21,22]</sup>等。

$\text{CCl}_4$ 是CM常用的动物肝硬化造模药物, 具有成模率高、重复性好、方法简便易行等特点<sup>[23]</sup>。其致病机制主要是被肝细胞微粒体细胞色素P450激活, 损害线粒体, 从而抑制脂肪酸氧化和三羧酸循环; 此外, 由于内质网受损可导致脂蛋白合成障碍, 使三酰甘油和脂肪酸在肝细胞内蓄积, 形成脂肪变性。因此, 低浓度的 $\text{CCl}_4$ 反复应用, 可使大鼠的肝组织受到损害-修复-损害的循环破坏作用, 最终导致肝纤维化及肝硬化的发生<sup>[24-27]</sup>。目前,  $\text{CCl}_4$ 制备CM的方法包括单因素 $\text{CCl}_4$ 法和多因素 $\text{CCl}_4$ 法。单因素 $\text{CCl}_4$ 法诱导制备CM的主要途径包括皮下注射、腹腔注射、口服灌胃和蒸汽吸入等。研究表明 $\text{CCl}_4$ 经皮下注射后, 迅速被机体吸收, 对脑、肾毒性较大, 注射位置易发生浸润性脓肿和溃疡, 死亡率可高达30%-40%。 $\text{CCl}_4$ 通过腹腔内注射, 经门静脉系统吸收, 使肝硬化形成时间短, 而较少的不良反

### ■应用要点

通过对CCl<sub>4</sub>腹腔注射法制备肝硬化动物模型的重要脏器进行病理学观察,该法与理想肝硬化动物模型中的肝脏外脏器损伤小较接近,成功率高,操作简单易行,重复性好,较适合肝硬化研究的动物造模。

应使死亡率降至20%-35%<sup>[28]</sup>; CCl<sub>4</sub>灌胃的吸收和代谢途径类似于腹腔注射,且二者在生存曲线上并无特异差别,但操作复杂,肠道反应大;蒸汽吸入呼吸道刺激大,动物不耐受,中枢毒性大,易造成环境污染和实验人员伤害<sup>[29,30]</sup>。多因素CCl<sub>4</sub>法: (1)CCl<sub>4</sub>加苯巴比妥。Krahenbuhl等<sup>[31]</sup>分别给鼠口服CCl<sub>4</sub>辅以苯巴比妥为唯一饮用水的方法建立肝纤维化动物模型,结果显示肝脏表面可见结节形成,实质变致密,镜检可见在结节周围有少量纤维组织沉积,但同时伴有脾大、慢性门脉高压表现;死亡率高达40%-52.9%<sup>[32]</sup>; (2)CCl<sub>4</sub>加乙醇。吴孟超等<sup>[33]</sup>报道在小鼠使用该方法60 d即可制成肝硬化模型,肝硬化稳定,分期明显,动物死亡率低,但停止刺激恢复较快。

本文首次对CCl<sub>4</sub>腹腔注射法制备肝硬化动物模型中除肝脏以外的多个重要脏器的病理改变进行探讨。我们通过HE染色及PAS染色法,观察了食管、胃、结肠以及肾脏等多个重要脏器在肝硬化发生过程中的病理改变。结果提示上述重要器官在肝硬化建模过程中病理改变轻微,与人类发生肝硬化时这些脏器的病理改变基本保持一致。我们的研究结果再次表明采用CCl<sub>4</sub>经腹腔注射法制备大鼠肝硬化动物模型是一种良好的肝硬化动物模型制备方法,值得在临床及实验研究中推广应用。

### 4 参考文献

- Goldacre MJ, Wotton CJ, Yeates D, Seagroatt V, Collier J. Liver cirrhosis, other liver diseases, pancreatitis and subsequent cancer: record linkage study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 384-392 [PMID: 18403939 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f4489f]
- Durand F, Valla D. Assessment of prognosis of cirrhosis. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 110-122 [PMID: 18293281 DOI: 10.1055/s-2008-1040325]
- Steib CJ, Hennenberg M, Beiting F, Hartmann AC, Bystron M, De Toni EN, Gerbes AL. Amiloride reduces portal hypertension in rat liver cirrhosis. *Gut* 2010; 59: 827-836 [PMID: 20551467 DOI: 10.1136/gut.2009.197756]
- Singh M, Kumar V. Transgenic mouse models of hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma. *Rev Med Virol* 2003; 13: 243-253 [PMID: 12820186]
- Rall GF, Lawrence DM, Patterson CE. The application of transgenic and knockout mouse technology for the study of viral pathogenesis. *Virology* 2000; 271: 220-226 [PMID: 10860874]
- 陈拥军, 邱伟华, 万亮, 王天翔, 项明, 李勤裕, 林言箴. 脾动脉注射IL-2在大鼠肝癌模型中的定位及其对免疫功能的影响. *外科理论与实践* 2002; 7: 298-301
- Chang ML, Yeh CT, Chang PY, Chen JC. Comparison of murine cirrhosis models induced by hepatotoxin administration and common bile duct liga-

tion. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4167-4172 [PMID: 16015684]

- 周婷, 杨军, 王勇. 四氯化碳加乙醇制备实验性肝硬化大鼠模型. *农垦医学* 2003; 2: 152
- 曾燕, 赵建农, 冷志. 不同浓度四氯化碳复合诱导家兔肝纤维化模型的建立. *第三军医大学学报* 2009; 8: 694-696
- Zhang JJ, Meng XK, Dong C, Qiao JL, Zhang RF, Yue GQ, Zhong HY. Development of a new animal model of liver cirrhosis in swine. *Eur Surg Res* 2009; 42: 35-39 [PMID: 18987472 DOI: 10.1159/000167855]
- 叶春华, 刘浔阳. 四氯化碳综合法制备大鼠肝硬化模型. *医学临床研究* 2005; 5: 619-621
- 李栋, 张乐玲, 侯怀水, 时庆, 沈柏均. 四氯化碳诱导兔肝硬化模型的动态研究. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1403-1405
- Kitamura K, Nakamoto Y, Akiyama M, Fujii C, Kondo T, Kobayashi K, Kaneko S, Mukaida N. Pathogenic roles of tumor necrosis factor receptor p55-mediated signals in dimethylnitrosamine-induced murine liver fibrosis. *Lab Invest* 2002; 82: 571-583 [PMID: 12003998]
- Vendemiale G, Grattagliano I, Caruso ML, Serviddio G, Valentini AM, Pirrelli M, Altomare E. Increased oxidative stress in dimethylnitrosamine-induced liver fibrosis in the rat: effect of N-acetylcysteine and interferon-alpha. *Toxicol Appl Pharmacol* 2001; 175: 130-139 [PMID: 11543645]
- Spahr L, Burkhard PR, Grötzsch H, Hadengue A. Clinical significance of basal ganglia alterations at brain MRI and 1H MRS in cirrhosis and role in the pathogenesis of hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2002; 17: 399-413 [PMID: 12602516]
- George J, Rao KR, Stern R, Chandrakasan G. Dimethylnitrosamine-induced liver injury in rats: the early deposition of collagen. *Toxicology* 2001; 156: 129-138 [PMID: 11164615]
- Lieber CS. Relationships between nutrition, alcohol use, and liver disease. *Alcohol Res Health* 2003; 27: 220-231 [PMID: 15535450]
- Herkel J, Schuchmann M, Tiegs G, Lohse AW. Immune-mediated liver injury. *J Hepatol* 2005; 42: 920-923 [PMID: 15885364]
- García-Ayllón MS, Silveyra MX, Candela A, Compañ A, Clària J, Jover R, Pérez-Mateo M, Felipe V, Martínez S, Galcerán J, Sáez-Valero J. Changes in liver and plasma acetylcholinesterase in rats with cirrhosis induced by bile duct ligation. *Hepatology* 2006; 43: 444-453 [PMID: 16496349]
- Cote PJ, Korba BE, Miller RH, Jacob JR, Baldwin BH, Hornbuckle WE, Purcell RH, Tennant BC, Gerin JL. Effects of age and viral determinants on chronicity as an outcome of experimental woodchuck hepatitis virus infection. *Hepatology* 2000; 31: 190-200 [PMID: 10613745]
- 王英凯, 迟宝荣, 孙波, 王智昊. 肝硬化大鼠模型的建立及其稳定性. *吉林大学学报* 2006; 31: 893-895
- 韩得五, 马学惠, 赵元昌. 肝硬化动物模型的研究. *山西医药杂志* 1989; 4: 41-44
- Laviña B, Gracia-Sancho J, Rodríguez-Villarrupla A, Chu Y, Heistad DD, Bosch J, García-Pagán JC. Superoxide dismutase gene transfer reduces portal pressure in CCl<sub>4</sub> cirrhotic rats with portal hypertension. *Gut* 2009; 58: 118-125 [PMID: 18829979 DOI: 10.1136/gut.2008.149880]
- Wang L, Potter JJ, Rennie-Tankersley L, Novitskiy G, Sipes J, Mezey E. Effects of retinoic acid on the



- development of liver fibrosis produced by carbon tetrachloride in mice. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1772: 66-71 [PMID: 17011172]
- 25 Chae HB, Jang LC, Park SM, Son BR, Sung R, Choi JW. [An experimental model of hepatic fibrosis induced by alcohol and CCl<sub>4</sub>: can the lipopolysaccharide prevent liver injury induced by alcohol and CCl<sub>4</sub>?]. *Taehan Kan Hakhoe Chi* 2002; 8: 173-178 [PMID: 12499803]
- 26 Boll M, Weber LW, Becker E, Stampfl A. Pathogenesis of carbon tetrachloride-induced hepatocyte injury bioactivation of CCl<sub>4</sub> by cytochrome P450 and effects on lipid homeostasis. *Z Naturforsch C* 2001; 56: 111-121 [PMID: 11302200]
- 27 Jeong WI, Lee CS, Park SJ, Chung JY, Jeong KS. Kinetics of macrophages, myofibroblasts and mast cells in carbon tetrachloride-induced rat liver cirrhosis. *Anticancer Res* 2002; 22: 869-877 [PMID: 12014664]
- 28 Henkel C, Roderfeld M, Weiskirchen R, Berres ML, Hillebrandt S, Lammert F, Meyer HE, Stühler K, Graf J, Roeb E. Changes of the hepatic proteome in murine models for toxically induced fibrogenesis and sclerosing cholangitis. *Proteomics* 2006; 6: 6538-6548 [PMID: 17109383]
- 29 马学惠. 肝纤维化动物模型的造作方法. 中华肝脏病杂志 1996; 4: 58-61
- 30 Ugazio G, Bosia S, Cornaglia E. Experimental model of cirrhosis in rabbits exposed to carbon tetrachloride by inhalation. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1995; 88: 63-77 [PMID: 7620839]
- 31 Krahenbuhl S, Weber FL, Brass EP. Decreased hepatic glycogen content and accelerated response to starvation in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Hepatology* 1991; 14: 1189-1195 [PMID: 1959869]
- 32 Proctor E, Chatamra K. High yield micronodular cirrhosis in the rat. *Gastroenterology* 1982; 83: 1183-1190 [PMID: 7129027]
- 33 吴孟超, 杨广顺. 大鼠肝硬化模型复制的研究. 中华实验外科杂志 1994; 1: 146-148

## ■同行评价

本文立意新颖, 另辟蹊径证明了传统方法的优越性.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏

## ■背景资料

在我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝细胞癌的最主要致病原因, 近年来发现HBV的x基因编码蛋白即乙型肝炎病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生和发展过程中发挥重要的作用。钙离子是重要的细胞内第二信使, 参与细胞的多种生理病理过程。本研究从内质网途径入手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制。

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科 湖北省武汉市 430022

王君, 在读博士, 主要从事病毒性肝炎与肝癌病因机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81001063

作者贡献分布: 何生松与王君对此文所作贡献均等; 此课题设计由何生松与姚景宏完成; 研究过程由王君、刘亚男及张盼操作完成; 研究所用试剂及分析工具由姚景宏与何生松提供; 数据分析及本论文写作由王君完成; 何生松审核。

通讯作者: 何生松, 教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院感染科。

shengshexiehe@sina.cn

收稿日期: 2013-09-28 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

## Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein

Jun Wang, Sheng-Song He, Ya-Nan Liu, Pan Zhang, Jing-Hong Yao

Jun Wang, Sheng-Song He, Ya-Nan Liu, Pan Zhang, Jing-Hong Yao, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81001063

Correspondence to: Sheng-Song He, Professor, Department of Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Road, Wuhan 430022, Hubei Province, China. shengshexiehe@sina.cn

Received: 2013-09-28 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To determine whether HBx protein elevates the intracellular calcium through interacting with SOC components (STIM1 and Orai1).

**METHODS:** The pcDNA-Flag-HBx plasmid was transfected into HEK293 cells, and viability of transfected cells was determined by cell counting Kit-8 (CCK8). The interaction between SOC components and HBx protein was confirmed in co-immunoprecipitation (Co-IP) and immunofluorescence assays. Subsequent confocal microscopic analysis revealed that HBx protein also co-localizes with full-length STIM1 and Orai1

complexes in HEK293 cells following  $Ca^{2+}$  store depletion.

**RESULTS:** The results indicated that HBx protein interacts with the Orai1 in binding assays and this interaction may be modulated by the intracellular  $Ca^{2+}$  concentration.

**CONCLUSION:** HBx protein binds to STIM1-Orai1 complexes to positively regulate the activity of SOC components.

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

**Key Words:** HBx protein; Hepatitis B virus; Orai1; Intracellular  $Ca^{2+}$ ; Hepatocellular carcinoma

Wang J, He SS, Liu YN, Zhang P, Yao JH. Hepatitis B virus X protein disturbs intracellular calcium signaling by binding to Orai1 protein. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 80-85 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/80.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.80>

## 摘要

**目的:** 研究乙型肝炎病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制, 揭示乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导肝癌的可能途径。

**方法:** 培养HEK293细胞, 取第2代HEK293细胞转染pcDNA-HBx质粒, 培养12、24和48 h后, 细胞活力细胞毒性检测(cell counting kit-8, CCK-8)观察转染后细胞生长情况, Western blot检测HBx蛋白的表达情况, 当共同转染HBx基因、Orai1基因或STIM1基因后co-IP实验、免疫荧光检测观察细胞内蛋白结合情况。

**结果:** 转染pcDNA-HBx质粒后HBx蛋白可以在HEK293细胞高表达, 转染后的24 h后细胞增殖加快( $P < 0.05$ ), co-IP实验及免疫荧光检测结果均显示, HBx蛋白在细胞内可以与Orai1蛋白结合。

**结论:** HBx蛋白通过与细胞膜钙离子通道

## ■同行评议者

傅晓辉, 副教授, 副主任医师, 东方肝胆外科医院

Orai1结合, 来升高细胞内钙离子浓度, 从而影响细胞增殖等活性。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 乙型肝炎病毒x蛋白; Orai1蛋白; 乙型肝炎病毒; 钙离子; 肝癌

**核心提示:** 本研究首次发现在细胞内乙肝病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)蛋白可以与SOCs在细胞膜上的孔蛋白Orai1蛋白相互作用, 这可能是HBx蛋白通过内质网途径调节细胞内钙离子平衡的重要途径, 从而影响细胞生物活性, 加速肝细胞恶性转变。

王君, 何生松, 刘亚男, 张盼, 姚景宏. HBx蛋白与细胞膜钙离子通道蛋白Orai1的关系. 世界华人消化杂志. 2014; 22(1): 80–85  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/80.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.80>

## 0 引言

在我国乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的最主要致病原因, 绝大部分HCC患者合并有HBV感染<sup>[1]</sup>. HBV促进肝细胞恶变及侵袭、转移, HBV可以通过内质网应激, 增加细胞对缺氧耐受从而促进肿瘤细胞生长, 还可以通过干预细胞内钙离子平衡从而影响细胞生长, 参与肝癌的形成, 但是其具体作用机制尚不明确<sup>[2-4]</sup>. 乙肝病毒x基因(hepatitis B virus x gene, HBx)编码的HBx蛋白具有强大的恶性转化能力, 与肝细胞肝癌发生关系密切<sup>[5]</sup>. HBx蛋白是一种多功能蛋白, 可以调节细胞转录、蛋白降解、细胞胞浆钙离子信号、细胞周期及细胞的凋亡途径<sup>[4,6]</sup>. 钙离子是重要的细胞内第二信使, 参与细胞的多种生理病理过程<sup>[7]</sup>. 已有研究表明, 经通透性钙池调节离子通道SOCs进入细胞的钙离子对肝细胞系Huh-7和HepG2细胞的增殖发挥重要作用<sup>[8]</sup>. 我们发现, HBx在促进HBV复制及肝细胞增殖恶性转化过程中, 常首先激活钙离子信号, 引起细胞内钙离子浓度失稳, 但是HBx蛋白是如何调节细胞内钙离子机制目前还不清楚, 本研究从内质网途径入手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子可能分子机制。

## 1 材料和方法

1.1 材料 HEK293(ATCC, Manassas, USA); BL21(DE3)菌株、携带HBx全长基因的pcDNA-

Flag-HBx质粒及pcDNA-GFP-HBx质粒、携带Orai1全长基因的pcDNA-HA-Orai1质粒、携带基质交互作用蛋白1(stromal interaction molecule-1, STIM1)全长基因的pcDNA-HA-STIM1质粒(从NIH神经实验室Prof. Lutz Birnbaumer处获得); 细胞培养基DMEM、6孔培养板、胎牛血清(Gibco公司); PBS(武汉博士德公司); 蛋白质marker(晶美生物有限公司); 胰蛋白酶、鼠单克隆HA抗体、羊抗鼠多克隆抗体、flag-beeds、HA-beeds、CY3标记的HA IgG(Sigma公司); ECL显色试剂盒(默克公司); 细胞活力细胞毒性检测(cell counting kit-8, CCK-8)试剂盒(碧云天生物技术有限公司); Lipofectamine 2000(Invitrogen); 倒置相差显微镜(日本OLYMPUS); 激光共聚焦显微镜(日本OLYMPUS)。

### 1.2 方法

1.2.1 细胞培养: HEK293细胞使用10%胎牛血清的DMEM培养基培养, 待细胞贴壁生长达80%-90%融合度时, 细胞生长状态良好, 预热的PBS洗细胞, 弃去PBS; 用预热的胰蛋白酶消化细胞, 细胞脱落后, 加入含10%FBS培养液终止消化反应, 并将细胞悬液转入离心管中; 1000 r/min, 离心5 min, 去除上清; 加入10 mL DMEM培养液(含10%FBS), 重新悬浮细胞, 进行细胞计数, 将适当数量的细胞悬液转至6孔培养板中(细胞密度 $6 \times 10^4$ 个/mL); 置于37 °C 5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养。

1.2.2 细胞转染: 在Lipofectamine 2000介导下, 将pcDNA-Flag-HBx、pcDNA-HA-Orai1、pcDNA-HA-STIM1及空载质粒转染或共转染HEK293细胞. 分别将需要共转染质粒各2.5 μg装入250 μL不含血清的DMEM培养基的1.5 mL Ep管中混匀. 将10 μL Lipofectamine 2000装入500 μL不含血清的DMEM培养基的1.5 mL Ep管中混匀, 将含2.5 μg质粒的无血清培养基分别和含有5 μL Lipofectamine 2000的无血清培养基250 μL混合, 轻轻混匀, 室温静置30 min. 将含有DNA和脂质体的液体小心加入换液后的每个培养孔中, 分散均匀, 置于37 °C 5%CO<sub>2</sub>的培养箱孵育5 h后去除含脂质体复合物的培养基, 加入2 mL含10%血清的DMEM培养基, 置于37 °C 5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养48 h。

1.2.3 细胞活性检测: CCK8检测转染后细胞增殖情况: 将转染后的第2代细胞接种到96孔板, 密度为 $2.5 \times 10^3$ 个/孔, 每孔设置4个复孔. 每孔加入

### ■研究前沿

已有实验研究发现HBx在促进HBV复制及肝细胞增殖恶性转化过程中, 常首先激活钙离子信号, 引起细胞内钙离子浓度失稳, 但是HBx蛋白是如何调节细胞内钙离子机制目前还不清楚, 需进一步研究。



## ■ 相关报道

目前研究表明HBx蛋白可以增加细胞内钙离子内流及促进细胞增殖,而且HBx蛋白通过线粒体途径干扰细胞内钙离子平衡已经有报道。

100  $\mu$ L细胞悬液,后加入含胎牛血清10%培养液150  $\mu$ L。置于37.0  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>浓度和饱和湿度的培养箱中培养,每24 h换液1次,实验组为转染细胞组,对照组(control)未转染细胞组。分别在0、12、24、48 h,每个时间点取出96孔板,实验组对照组每次取6个孔,加入细胞毒性/增殖检测试剂CCK-8 10  $\mu$ L,避光放入37.0  $^{\circ}$ C培养箱中培养2 h,取出用酶标仪测吸光度值,激发光波长为450 nm。每个时间点取出96孔板,加入20  $\mu$ L的CCK8试剂,避光,37  $^{\circ}$ C孵育2 h,后使用分光光度计450 nm检测吸光光度值,根据吸光光度值确定存活的细胞个数,并与对照组细胞增殖情况进行对比。

1.2.4 Western blot检测HBx蛋白的表达:转染48 h后,吸走培养孔中培养基,用PBS洗涤2次,加入预冷的细胞裂解液(含cocktail蛋白酶抑制剂)1 mL,细胞刮收集细胞;超声裂解细胞;4  $^{\circ}$ C, 8000 r/min,离心15 min,取上清,水浴65  $^{\circ}$ C 5 min,蛋白变性。取适量表达蛋白样品上样后,用12% SDS-PAGE电泳分离,然后转印于PVDF膜上,用含5%的脱脂奶粉TBST室温封闭蛋白印迹膜1 h,加入一抗即鼠单克隆myc抗体,4  $^{\circ}$ C孵育过夜,用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,加入二抗即羊抗鼠IgG,室温孵育2 h,接着用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,用ECL显色,暗室胶片曝光显影。

1.2.5 免疫共沉淀:转染48 h后收集细胞,提取目的蛋白(具体操作同上)。取30  $\mu$ L含有flag蛋白的琼脂糖珠(flag-beads)或HA蛋白的琼脂糖珠(HA-beads),用预冷的RIPA buffer洗3遍,12000 r/min,离心1 min,并用RIPA buffer配制1:1琼脂糖珠悬浮液。将琼脂糖珠悬浮液加入到已收集的细胞裂解液中,4  $^{\circ}$ C层析柜旋转孵育4 h。在4  $^{\circ}$ C,以12000 r/min,离心3 min;将上清小心吸去,琼脂糖珠悬浮液用预冷的RIPA buffer洗3遍,800  $\mu$ L/遍;最后加入35  $\mu$ L 2 $\times$ SDS上样缓冲液,将上样样品水浴95  $^{\circ}$ C 5 min,蛋白变性。取适量表达蛋白样品上样后,用10%的SDS-PAGE电泳分离,然后转印于PVDF膜上,用含5%的脱脂奶粉TBST室温封闭蛋白印迹膜1 h,加入一抗即鼠单克隆HA抗体或flag抗体,4  $^{\circ}$ C孵育过夜。用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,加入二抗即羊抗鼠IgG,室温孵育2 h,接着用TBST振摇洗涤3次,10 min/次,用ECL显色,暗室胶片曝光显影。

1.2.6 免疫荧光检测HBx蛋白在细胞内与Orail蛋白结合:取6孔板,将其分为3组,每组2孔。每孔先放入细胞爬片,用0.1 mg/mL多聚赖氨酸包被

各孔。3组每孔均接种HEK293细胞悬液2 mL(细胞密度 $6 \times 10^4$ 个/mL),置于37  $^{\circ}$ C、5%CO<sub>2</sub>细胞培养箱培养,待细胞贴壁生长达80%时,分别用pcDNA-GFP-HBx、pcDNA-HA-Orail、pcDNA-GFP-EV质粒共转染HepG2细胞。转染48 h后,吸走培养基,用PBS轻柔的洗涤1次,将细胞爬片用4%多聚甲醛固定15 min;室温下,用PBS洗涤3次,10 min/次;加入0.1%Triton X-100破膜3 min;再次用PBS洗涤3次,10 min/次;用10%牛血清(BSA)封闭30 min,300  $\mu$ L/孔;吸出多余封闭血清,用PBS轻柔的洗涤1遍,加入由PBS稀释的CY3标记的HA IgG(1:100),100  $\mu$ L/孔,室温避光孵育12 h;用PBS洗涤3次,10 min/次;取出细胞爬片甘油封片后于激光共聚焦显微镜下观察,并拍照保存,红色荧光为Orail蛋白表达,绿色荧光为HBx蛋白表达,黄色荧光为细胞内HBx蛋白与Orail蛋白的结合。

**统计学处理** 采用SPSS12统计软件处理数据,测定结果均以mean $\pm$ SD表示,两组数据间使用配对t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 细胞培养与转染 培养HEK293细胞,采用脂质体Lipofectamine 2000方法转染细胞,24 h用显微镜观察细胞生长情况,观察结果显示转染后的细胞生长良好(图1)。

2.2 细胞活性检测 使用pcDNA-HBx质粒转染HEK293细胞后,使用CCK8试剂观察细胞的活性,结果显示24、48 h,实验组与对照组相比吸光度值均明显增高( $P < 0.05$ ),显示转染pcDNA-HBx质粒后HEK293细胞增殖明显加快(图2)。

2.3 HBx蛋白表达 pcDNA-HBx或者pcDNA质粒转染HEK293细胞24 h后,并且HBx蛋白使用myc标记,收集HEK293细胞通过Western blot检测结果显示细胞内可以表达HBx蛋白,对照组无表达(图3)。

2.4 体内检测免疫共沉淀检测 为检测HBx蛋白如何通过内质网调节细胞内钙离子,收集HEK293细胞蛋白,进行co-IP实验,验证Orail或者STIM1蛋白是否可以HBx蛋白结合,co-IP实验结果示,共转染HA标记的Orail基因,HA标记的STIM1基因及Flag标记的HBx基因到HEK293细胞,使用co-IP技术HA标记的Orail蛋白可以与Flag标记的HBx蛋白免疫共沉淀(图4),表明Orail-HBx在HEK293细胞内可以发生聚合,Orail蛋白可以直接与HBx蛋白结合。而对照组

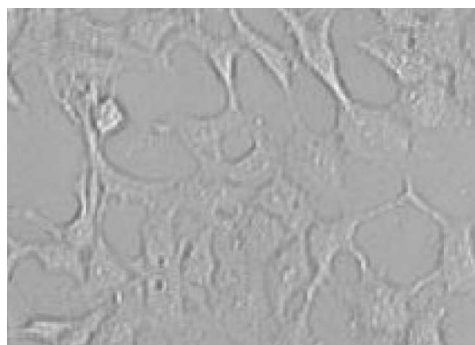


图 1 转染24 h后HEK293细胞生长情况.

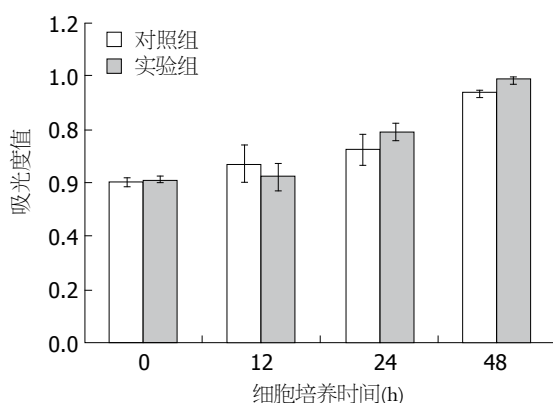


图 2 转染后HEK293细胞活性检测.

HA标记的STIM蛋白不与HBx蛋白发生免疫共沉淀, 因此结果显示在细胞内HBx蛋白可以与Orail蛋白形成异二聚体, 从而影响细胞内钙离子的平衡.

**2.5 免疫荧光检测HBx蛋白在细胞内与Orail蛋白结合** pcDNA-GFP-HBx或者pcDNA-HA-Orail质粒转染HEK293细胞后, 48 h后收集细胞进行免疫荧光染色, 后通过激光共聚焦显微镜观察细胞(图5), 结果显示: GFP标记的HBx蛋白主要在细胞浆表达, 细胞核也有少量表达, 为绿色, HA-Orail蛋白使用cy3标记的二抗, 主要在细胞膜表达, 为红色, 阳性细胞即细胞内HBx基因表达蛋白与细胞内的Orail蛋白结合的细胞细胞内为黄色, 阴性细胞为红色或绿色(即二者蛋白无结合). 用过激光共聚焦软件分析显示阳性细胞数为46个, 对照组细胞内无相关蛋白表达.

### 3 讨论

HBV复制与肝癌的发生密切相关, Hbx蛋白是HBV的核心蛋白, 他是一种多功能蛋白, 可以调节细胞转录、蛋白降解、细胞浆钙离子信号、细胞周期及细胞的凋亡途径, 其中调节细胞浆

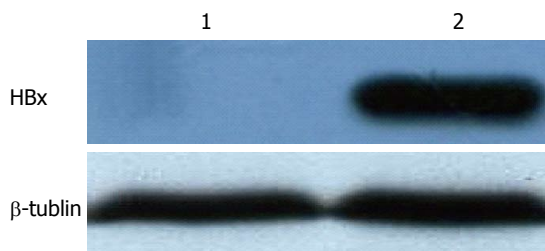


图 3 HBx蛋白在HEK293中表达. 1: 转染myc-EV; 2: 转染myc-HBx.

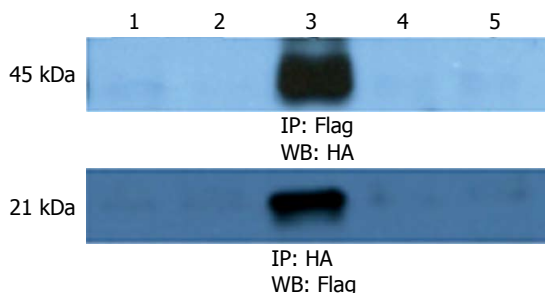


图 4 co-IP实验验证Orail 1蛋白与HBx蛋白相互作用情况. 1: Flag-HBx+HA-EV; 2: Flag-EV+HA-orail; 3: Flag-HBx+HA-orail; 4: Flag-HBx+HA-STIM1; 5: Flag-EV+HA-STIM1.

钙离子信号、蛋白酶体的活性等与HBV复制及肝细胞增殖密切相关, 但是HBx蛋白是如何干预细胞内钙离子平衡来调节细胞增殖从而影响HBV复制, 具体机制不清.

目前研究显示HBx蛋白可以增加细胞内钙离子及促进细胞增殖<sup>[9,10]</sup>, 而且HBx蛋白通过线粒体途径干扰细胞内钙离子平衡已有报道<sup>[11]</sup>, 但是内质网做为细胞钙离子储存库, 可以调节及维持细胞内钙离子平衡<sup>[12]</sup>. 为明确HBx蛋白经如何通过内质网相关途径调节细胞内钙离子平衡的, 本课题组从内质网钙离子调节关键蛋白Orail及STIM1入手, 探讨HBx蛋白调节细胞内钙离子平衡机制. Orail蛋白是钙离子释放激活的钙离子通道(CRAC通道)重要的亚单位, 对存储调控性钙离子内流(store-operated calcium entry, SOCE)起着关键性作用<sup>[13]</sup>. STIM1为内质网Ca<sup>2+</sup>浓度感受器, Orail是SOCs在细胞膜上的孔蛋白, 同时发现Orail与STIM1的联合作用可以大大提高SOCE和CRAC通道的活性<sup>[14,15]</sup>. Oh等<sup>[16]</sup>研究表明, HBx能升高细胞内钙离子浓度, 激活细胞信号通道, 促进细胞增殖. 我们研究发现, Western blot检测转染后细胞内HBx蛋白的表达情况, 结果显示转染后的HEK293细胞可以表达HBx蛋白. co-IP实验证实细胞内HBx蛋

### ■创新盘点

做为细胞钙离子储存库的内质网, 在调节及维持细胞内钙离子平衡方面起着重要作用. 但HBx蛋白如何通过内质网相关途径调节细胞内钙离子平衡却鲜有报道, 本课题组从内质网钙离子调节关键蛋白Orail及STIM1入手, 探讨HBx蛋白调节细胞内钙离子平衡机制.

### 应用要点

本研究从内质网着手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子的具体分子途径,揭示HBV诱导HCC的可能途径,为肝癌研究提供新的研究方向。

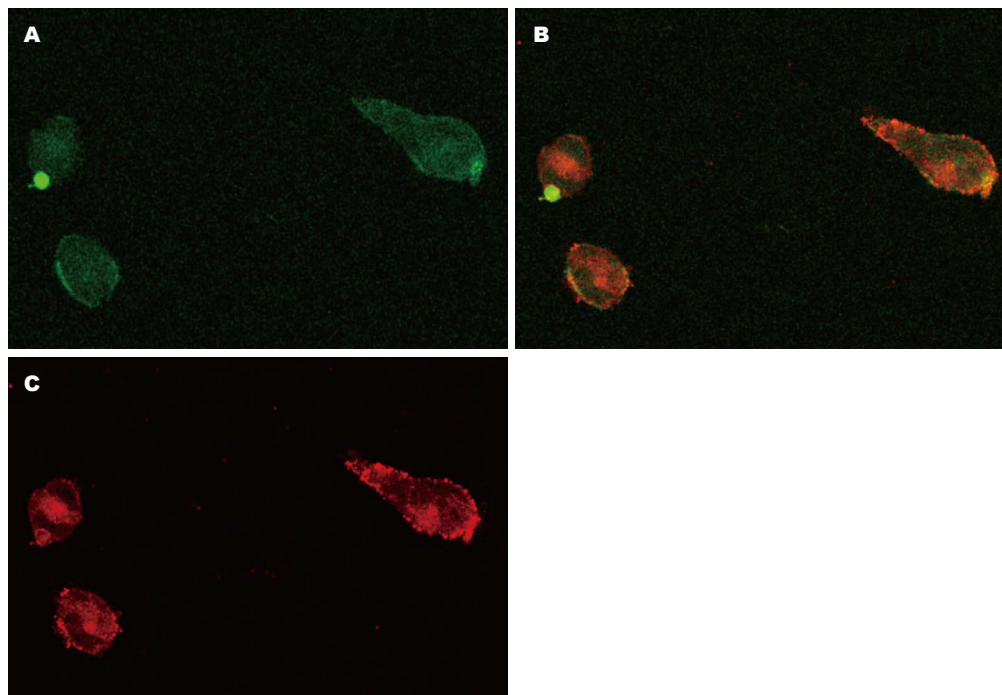


图5 激光共聚焦显微镜检测HBx蛋白与Orai1蛋白在HEK293细胞内表达情况( $\times 400$ )。A: HBx蛋白在细胞内表达; B: HBx蛋白与Orai1蛋白在细胞内相互结合; C: Orai1蛋白在细胞内表达。

白可以与Orai1蛋白形成异二聚体,该结果显示在细胞内HBx蛋白可以与SOCs在细胞膜上的孔蛋白Orai1蛋白相互作用。因此HBx蛋白与Orai1蛋白结合可能是HBx蛋白通过内质网途径调节细胞内钙离子平衡的重要途径,从而影响细胞生物活性。免疫荧光检测再次证明在细胞内HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合,从而影响细胞内钙离子平衡。此实验结果与之前研究HBx蛋白通过线粒体途径调节细胞内钙离子平衡有所不同,Gearhart等<sup>[11]</sup>研究发现HBx蛋白可以通过线粒体途径调节细胞内钙离子平衡,影响细胞的生理活性。CCK8检测显示HEK293细胞转染HBx质粒后,细胞增殖加速,此结果可能与HBx蛋白与Orai1蛋白相互作用,升高细胞内钙离子,加快细胞增殖有关。其中转染后12 h,细胞数较对照组减少,可能与转染时加入Lipofectamine 2000有关。此结果与Yang等<sup>[17]</sup>研究相似,与HBV感染后可能导致癌症形成有关。

本研究从内质网着手研究HBx蛋白调节细胞内钙离子的具体分子途径,首次提出HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合干预细胞内钙离子平衡,从而调节细胞增殖等生物活性,可能与癌症形成有关,但是HBx蛋白与Orai1蛋白结合的具体部位,及二者结合后对细胞内钙离子平衡的影响等目前还不清楚,还需继续研究。

### 参考文献

- 1 Kew MC. Hepatitis B virus x protein in the pathogenesis of hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 144-152 [PMID: 21199526 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06546.x]
- 2 Samal J, Kandpal M, Vivekanandan P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection. *Clin Microbiol Rev* 2012; 25: 142-163 [PMID: 22232374 DOI: 10.1128/CMR.00018-11]
- 3 Azam F, Koulaouzidis A. Hepatitis B virus and hepatocarcinogenesis. *Ann Hepatol* 2008; 7: 125-129 [PMID: 18626429]
- 4 Matsuda Y, Ichida T. Impact of hepatitis B virus X protein on the DNA damage response during hepatocarcinogenesis. *Med Mol Morphol* 2009; 42: 138-142 [PMID: 19784739 DOI: 10.1007/s00795-009-0457-8]
- 5 Ng SA, Lee C. Hepatitis B virus X gene and hepatocarcinogenesis. *J Gastroenterol* 2011; 46: 974-990 [PMID: 21647825 DOI: 10.1007/s00535-011-0415-9]
- 6 Rawat S, Clippinger AJ, Bouchard MJ. Modulation of apoptotic signaling by the hepatitis B virus X protein. *Viruses* 2012; 4: 2945-2972 [PMID: 23202511 DOI: 10.3390/v4112945]
- 7 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca<sup>2+</sup>通道的激活机制研究进展. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1873-1880
- 8 El Boustany C, Bidaux G, Enfissi A, Delcourt P, Prevorskaya N, Capiod T. Capacitative calcium entry and transient receptor potential canonical 6 expression control human hepatoma cell proliferation. *Hepatology* 2008; 47: 2068-2077 [PMID: 18506892 DOI: 10.1002/hep.22263]
- 9 Feitelson MA, Lee J. Hepatitis B virus integration, fragile sites, and hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2007; 252: 157-170 [PMID: 17188425]
- 10 Gearhart TL, Bouchard MJ. The hepatitis B virus



- X protein modulates hepatocyte proliferation pathways to stimulate viral replication. *J Virol* 2010; 84: 2675-2686 [PMID: 20053744 DOI: 10.1128/JVI.02196-09]
- 11 Gearhart TL, Bouchard MJ. Replication of the hepatitis B virus requires a calcium-dependent HBx-induced G1 phase arrest of hepatocytes. *Virology* 2010; 407: 14-25 [PMID: 20719353 DOI: 10.1016/j.virol.2010.07.042]
  - 12 张驰, 张宗明. 钙池操纵的Ca通道研究中工具药的应用及进展. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 231-234
  - 13 Hoover PJ, Lewis RS. Stoichiometric requirements for trapping and gating of Ca<sup>2+</sup> release-activated Ca<sup>2+</sup> (CRAC) channels by stromal interaction molecule 1 (STIM1). *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 13299-13304 [PMID: 21788510 DOI: 10.1073/pnas.1101664108]
  - 14 Numaga-Tomita T, Putney JW. Role of STIM1- and Orai1-mediated Ca<sup>2+</sup> entry in Ca<sup>2+</sup>-induced epidermal keratinocyte differentiation. *J Cell Sci* 2013; 126: 605-612 [PMID: 23203806 DOI: 10.1242/jcs.115980]
  - 15 Wu MM, Buchanan J, Luik RM, Lewis RS. Ca<sup>2+</sup> store depletion causes STIM1 to accumulate in ER regions closely associated with the plasma membrane. *J Cell Biol* 2006; 174: 803-813 [PMID: 16966422]
  - 16 Oh JC, Jeong DL, Kim IK, Oh SH. Activation of calcium signaling by hepatitis B virus-X protein in liver cells. *Exp Mol Med* 2003; 35: 301-309 [PMID: 14508071]
  - 17 Yang N, Tang Y, Wang F, Zhang H, Xu D, Shen Y, Sun S, Yang G. Blockade of store-operated Ca<sup>2+</sup> entry inhibits hepatocarcinoma cell migration and invasion by regulating focal adhesion turnover. *Cancer Lett* 2013; 330: 163-169 [PMID: 23211538 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.040]

#### ■同行评价

本文首次提出HBx蛋白可以与Orai1蛋白结合干预细胞内钙离子平衡, 从而影响细胞增殖等生物活性, 提示了乙型肝炎病毒与肝癌发生之间新的关系。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

# Sirtinol对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU敏感性的影响

张军港, 石 英, 王知非, 洪德飞

## ■背景资料

沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种依赖于NAD<sup>+</sup>的III型组蛋白去乙酰化酶,在细胞对抗衰老及凋亡中发挥重要作用。SIRT1在多种肿瘤细胞表达上调,调控癌细胞的生物学行为,同时与胰腺癌病理特征密切相关。可见SIRT1是胰腺癌靶向治疗的有效靶点。

张军港, 王知非, 洪德飞, 浙江省人民医院肝胆胰外科 浙江省杭州市 310014

石 英, 浙江省人民医院妇产科 浙江省杭州市 310014

张军港, 医师, 主要从事肝胆胰外科的相关研究。

作者贡献分布: 本课题由洪德飞与张军港共同设计; 研究过程由石英与王知非完成; 统计数据由王知非提供; 本论文写作由洪德飞与张军港完成。

通讯作者: 洪德飞, 教授, 310014, 浙江省杭州市下城区上塘路158号, 浙江省人民医院肝胆胰外科。hongdefei@163.com

电话: 0571-85893396

收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-11-04

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

## Effects of Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells

Jun-Gang Zhang, Ying Shi, Zhi-Fei Wang, De-Fei Hong

Jun-Gang Zhang, Zhi-Fei Wang, De-Fei Hong, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China

Ying Shi, Department of Obstetrics and Gynecology, Zhejiang Provincial People's Hospital, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China

Correspondence to: De-Fei Hong, Professor, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, Zhejiang Provincial People's Hospital, 158 Shangtang Road, Xiacheng District, Hangzhou 310014, Zhejiang Province, China. hongdefei@163.com

Received: 2013-10-21 Revised: 2013-11-04

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of SIRT1 specific inhibitor Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells.

**METHODS:** PANC-1 cells were treated with 25, 50 and 100  $\mu\text{mol/L}$  Sirtinol for 48 h. The expression levels of SIRT1 were measured by Western blot. Cell proliferation was detected by MTT assay. Cell apoptosis was detected by flow cytometry (FCM). 5-FU chemosensitivity was measured by MTT assay.

**RESULTS:** Sirtinol obviously decreased the expression of SIRT1, inhibited cell proliferation and induced cell apoptosis in a dose-dependent

manner. Moreover, compared with Sirtinol alone ( $A = 0.546 \pm 0.020$ ) or 5-FU alone ( $A = 0.526 \pm 0.023$ ), Sirtinol combined with 5-FU more significantly inhibited the proliferation of PANC-1 cells ( $A = 0.251 \pm 0.017$ , both  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Sirtinol could induce cell proliferation inhibition and apoptosis, and enhance anti-cancer effects of chemotherapy on PANC-1 cells possibly *via* mechanisms associated with down-regulating SIRT1 expression.

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

**Key Words:** Pancreatic cancer; Sirtinol; 5-fluorouracil; Proliferation; Apoptosis

Zhang JG, Shi Y, Wang ZF, Hong DF. Effects of Sirtinol on proliferation and 5-FU chemosensitivity of pancreatic cancer PANC-1 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 86-90 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/86.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.86>

## 摘要

**目的:** 探讨沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)去乙酰化酶抑制剂 Sirtinol 体外应用对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU化疗敏感性的影响。

**方法:** 应用不同浓度的Sirtinol(25, 50和100  $\mu\text{mol/L}$ )处理PANC-1细胞48 h, Western blot测定SIRT1表达的变化情况, MTT法检测PANC-1细胞增殖变化, 流式细胞术观察细胞凋亡变化, MTT法检测Sirtinol对5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)化疗敏感性的变化。

**结果:** Sirtinol显著降低SIRT1的表达量, 明显抑制了PANC-1细胞的增殖, 促进了凋亡, 且呈浓度依赖性。与Sirtinol( $A = 0.546 \pm 0.020$ )或5-FU( $A = 0.526 \pm 0.023$ )单药作用相比, 两药联合应用可显著降低PANC-1细胞的增殖( $A = 0.251 \pm 0.017$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** Sirtinol通过下调SIRT1表达可抑制胰腺

## ■同行评议者

潘阳林, 副教授, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化内科

癌细胞增殖和促进其凋亡, 同时增强化疗药5-FU敏感性, 这为胰腺癌的化疗提供了一种新的方案。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰腺癌; Sirtinol; 5-氟尿嘧啶; 增殖; 凋亡

**核心提示:** 沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)信号通路与胰腺癌密切相关, 设计合成SIRT1特异性的抑制剂可以沉默SIRT1基因, 有效抑制胰腺癌细胞生长, 促进胰腺癌细胞的凋亡, 增强化疗药物的敏感性, 为分子靶向阻断SIRT1信号通路治疗胰腺癌奠定了基础。

张军港, 石英, 王知非, 洪德飞. Sirtinol对胰腺癌PANC-1细胞增殖和5-FU敏感性的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 86-90 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/86.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.86>

## 0 引言

化疗是治疗胰腺癌最主要的辅助手段之一, 但不论是单药化疗还是联合化疗, 肿瘤对化疗药物的反应率都不高<sup>[1]</sup>, 因此寻找新的靶点进行干预以增强化疗的效果是胰腺癌治疗研究的关键点之一. 沉默信息调节因子-1(silent information regulator 1, SIRT1)是一种依赖于NAD<sup>+</sup>的III型组蛋白去乙酰化酶, 作为代谢应激感受因子, 在细胞对抗衰老及凋亡中发挥重要作用<sup>[2-4]</sup>. 最近研究发现, SIRT1在多种肿瘤细胞表达上调, 下调SIRT1的活性可抑制肿瘤的增殖<sup>[5,6]</sup>, 我们前期的研究表明SIRT1在胰腺癌中高表达, 这种表达趋势与胰腺癌患者的年龄、肿瘤大小、TNM分期、淋巴结侵袭和远处转移密切相关<sup>[7]</sup>. 但SIRT1抑制剂在胰腺癌细胞的作用尚未明确. 本研究设想通过应用SIRT1抑制剂Sirtinol, 观察胰腺癌细胞增殖及凋亡改变; 进一步联合应用5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU), 初步探讨以SIRT1为干预靶点对于5-FU化疗的增敏效应。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** Sirtinol、5-FU、MTT、PMSF及二甲基亚砜(dimethylsulfoxide, DMSO)购自Sigma-Aldrich Chemical Company, Sirtinol用DMSO溶解, 配制成浓度为100 mmol/L储存液, -20 °C避光保存, 胎牛血清、RPMI 1640购自美国Gibco BRL公司; 兔抗人SIRT1和GAPDH第一抗体购自美国Santa Cruz公司; 辣根过氧化物酶结合的

第二抗体、免疫细胞化学试剂购自武汉博士德公司; 凋亡检测试剂盒(ANT0002)购自Antgene公司; RIPA裂解液、ECL发光试剂盒购自Beyotime公司; 胰腺细胞系PANC-1购自中国科学院上海细胞库。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 胰腺癌PANC-1细胞用含有10%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 置于37 °C、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的CO<sub>2</sub>培育箱下常规培养。

**1.2.2 Western blot检测SIRT1蛋白变化:** 各组细胞培养48 h后, 提取细胞总蛋白. 总蛋白提取参照Beyotime公司提取方法进行. 分别将相同含量的蛋白样品和2×蛋白上样缓冲液等体积混合, 100 °C水中煮沸5 min使蛋白变性, 10%SDS-PAGE电泳后电转移至硝酸纤维素膜上, 5 g/L脱脂奶粉封闭后, 加入1:500稀释的第一抗体, 4 °C孵育过夜, TBS漂洗膜后, 加入1:2000稀释的第二抗体, 室温90 min, TBS漂洗膜后, ECL增强发光, X线曝光5 min. 以GAPDH蛋白作内参照, BandsScan图像分析软件进行光密度积分值分析。

**1.2.3 MTT法细胞增殖抑制的测定:** 取对数生长期细胞, 消化后计数, 按每孔 $5 \times 10^3$ 个接种于96孔培养板中贴壁生长后, 无血清培养细胞24 h, 使细胞同步化, 不同浓度Sirtinol(100 μmol/L)或Sirtinol(100 μmol/L)联合5-FU(50 μg/mL)处理细胞48 h, 阴性对照组无药物作用, 各组DMSO体积分数不超过0.1%. 然后每孔加入浓度为5 mg/mL的MTT 20 μL, 37 °C孵育4 h后, 小心吸除培养液, 再加入DMSO 200 μL, 混匀后用酶标仪测定570 nm处吸收度(A)值. 每检测点取6个平行孔的平均值, 绘制图, 实验重复3次, 观察药物对细胞生长的抑制作用。

**1.2.4 流式细胞术检测细胞凋亡变化:** 细胞以每孔 $4 \times 10^5$ 个接种于6孔板中, 各组处理细胞48 h后, 收集细胞, 制成单细胞悬液, 消化收集经药物处理过的细胞制成细胞悬液, 按检测试剂盒的说明书(ANT0002)操作, 经药物处理后的细胞, 用带有荧光素FITC的Annexin V和PI同时染色后, 2 h内用流式细胞仪检测. 细胞发生凋亡时, 位于细胞膜内侧的磷脂酰丝氨酸外翻, 由于Annexin-V能特异地与磷脂酰丝氨酸结合, 根据结合量的变化可反映凋亡细胞的百分率。

**统计学处理** 应用统计学软件SPSS13.0进行统计学分析, 数据经方差齐性检验, 符合正态分

**■研发前沿** 胰腺癌高度耐药, 寻找新的靶点进行干预以增强化疗的效果是胰腺癌治疗研究的热点. SIRT1与胰腺癌耐药密切相关, 寻求沉默SIRT1的有效抑制剂或分子生物学技术是当前亟待解决的问题。



## ■ 相关报道

研究报道SIRT1在人乳腺癌、肺癌和胰腺癌细胞中高表达。Keitaro等发现siRNA干扰SIRT1的表达增强了前列腺癌细胞对化疗的敏感性。Chu等发现ShRNA干扰SIRT1能逆转多种肿瘤的耐药性。

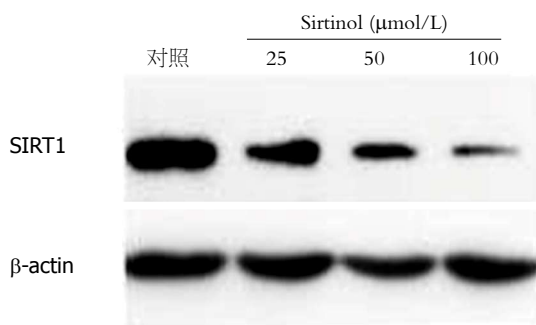


图1 Sirtinol对PANC-1细胞SIRT1蛋白的影响。SIRT1: 沉默信息调节因子-1。

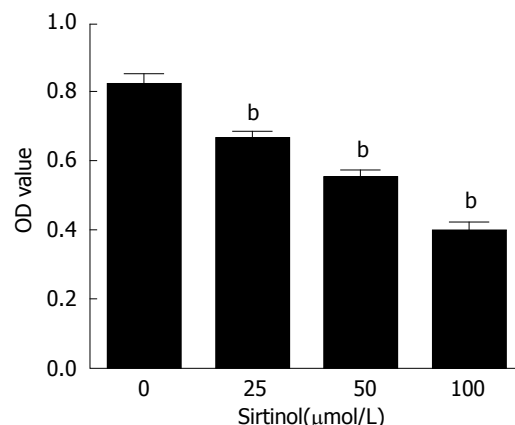


图2 Sirtinol对人胰腺癌PANC-1细胞增殖的影响。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 0 μmol/L。

布, 以数据以mean±SD表示, 组间比较采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Sirtinol对PANC-1细胞SIRT1蛋白的影响** 我们采用Western blot的方法, 结果发现不同浓度Sirtinol(25、50、100 μmol/L)作用PANC-1细胞48 h后, SIRT1蛋白的表达明显下降, 且成浓度依赖性, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(图1)。

**2.2 Sirtinol对PANC-1细胞增殖影响** 不同浓度Sirtinol作用PANC-1细胞48 h后, 采用MTT法检测其增殖情况。结果显示, 不同药物组(25、50、100 μmol/L)与对照组( $A = 0.816 \pm 0.034$ )相比, 细胞增殖率分别明显降低( $A = 0.663 \pm 0.025$ ,  $0.546 \pm 0.029$ ,  $0.396 \pm 0.027$ ), 有显著差异( $P < 0.01$ )(图2)。

**2.3 Sirtinol对PANC-1细胞凋亡的影响** 不同浓度Sirtinol作用PANC-1细胞48 h后, 采用流式细胞术检测细胞凋亡变化。结果显示, 与对照组( $2.70\% \pm 0.42\%$ )相比, 25、50和100 μmol/L的Sirtinol引起的细胞凋亡率明显增加( $4.85\% \pm 0.50\%$ ,  $7.95\% \pm 0.35\%$ 和 $11.05\% \pm 0.64\%$ ), 差异非常具有显著性( $P < 0.05$ )(图3)。

**2.4 Sirtinol对PANC-1细胞5-FU化疗敏感性的影响** 5-FU(25 μg/mL)、Sirtinol(50 μmol/L)以及Sirtinol联合5-FU作用PANC-1细胞48 h后, 细胞增殖A值分别为 $0.526 \pm 0.023$ 、 $0.546 \pm 0.020$ 、 $0.251 \pm 0.017$ , 明显低于对照组( $0.816 \pm 0.034$ ,  $P < 0.01$ ), 并且Sirtinol联合5-FU后细胞增殖率也明显低于Sirtinol或5-FU( $P < 0.01$ )(图4)。

## 3 讨论

SIRT1是与酵母菌长寿基因SIR2(silent information regulator 2)同源的基因, 主要分布在细胞核中, 其功能是催化在蛋白赖氨酸ε位上的去乙酰

化, 调控细胞增殖、凋亡、衰老等过程<sup>[8,9]</sup>。多项研究提示SIRT1与肿瘤发生发展密切相关, 但其确切作用则尚未明确。Wang等<sup>[10]</sup>研究发现SIRT1在胶质母细胞瘤、膀胱癌及卵巢癌中的表达明显低于正常组织, 提出SIRT1可能是抑癌因子。Firestein等<sup>[11]</sup>证实了在老鼠的结肠癌模型中, 通过热量限制在增加SIRT1表达的同时抑制了肿瘤的增殖。而与此相反, Huffman等<sup>[12]</sup>研究发现人类前列腺癌组织中的SIRT1表达量比邻近的正常组织表达量高很多, 指示SIRT1可能是一种促癌基因。同时Ota等<sup>[6]</sup>观察到发现下调SIRT1表达可以抑制人乳腺癌和肺癌细胞增殖。我们前期的研究结果表明SIRT1在胰腺癌中高表达, 使用ShRNA干扰SIRT1表达可以抑制胰腺癌细胞增殖<sup>[7]</sup>。本研究观察到应用SIRT1抑制剂Sirtinol作用胰腺癌PANC-1细胞株后, SIRT1的表达明显下降, 细胞增殖明显受到抑制而凋亡率增加, 进一步提示SIRT1可能在胰腺癌中发挥促癌作用。上述多个研究结果的不一致性, 提示SIRT1的具体作用可能有肿瘤异质性。

SIRT1通过P53的去乙酰化来阻止DNA损伤后P53依赖的CDKN1A(编码P21)和BAX的反式激活, 对调控细胞增殖和凋亡起关键的作用<sup>[13]</sup>。人类SIRT1的过度表达会通过阻断p53的乙酰化阻断细胞的衰老凋亡<sup>[14]</sup>。本研究中应用流式细胞术观察到PANC-1细胞应用Sirtinol后凋亡率显著增加, 同时Western blot检测到应用Sirtinol后细胞SIRT1表达显著降低, 表明Sirtinol抑制PANC-1细胞增殖机制与下调SIRT1表达从而促进细胞凋亡密切相关。

本研究前期结果证实Sirtinol可抑制SIRT1表达从而促进胰腺癌细胞凋亡, 而胰腺癌细胞

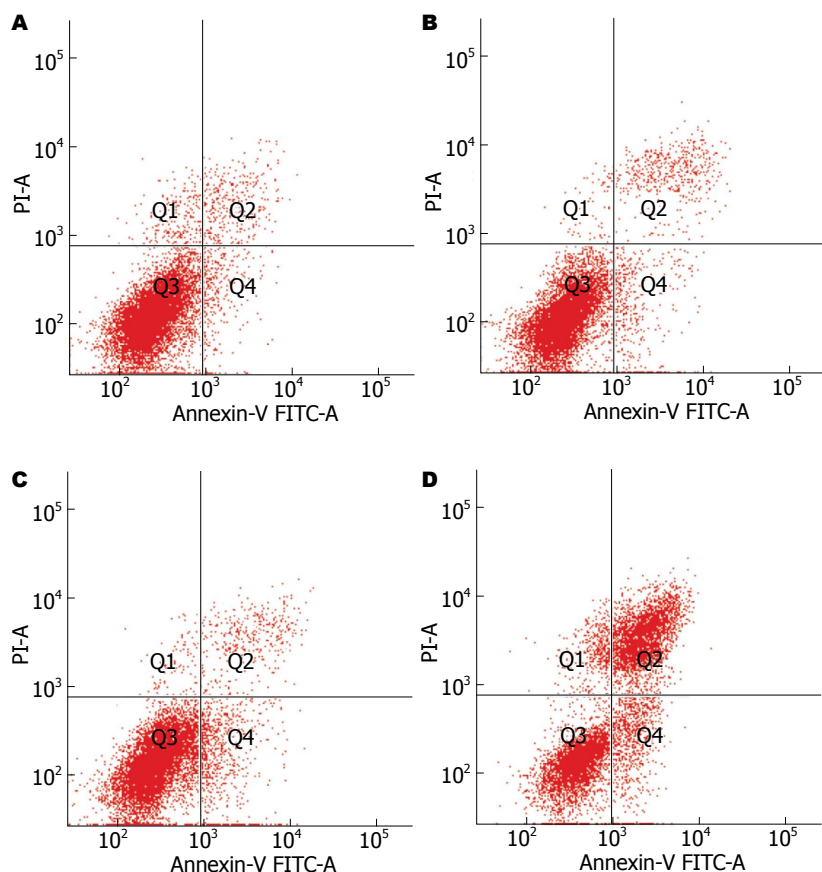


图 3 Sirtinol对PANC-1细胞凋亡的影响. A: 对照组; B: 25  $\mu\text{mol/L}$ ; C: 50  $\mu\text{mol/L}$ ; D: 100  $\mu\text{mol/L}$ .

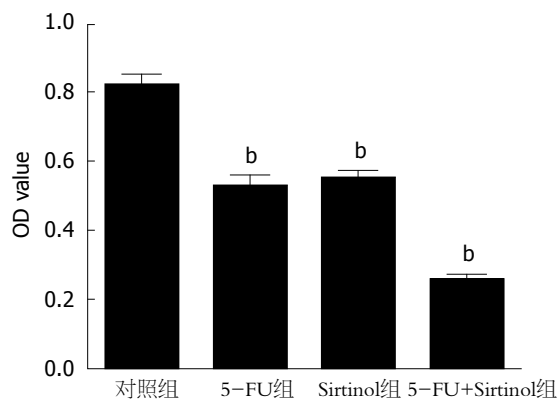


图 4 Sirtinol对PANC-1细胞5-FU化疗敏感性的影响.  
<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

耐药与凋亡信号密切相关, 因而本研究进一步观察了Sirtinol与5-FU的联合作用. 结果显示, Sirtinol联合5-FU对胰腺癌细胞增殖抑制效应较单独应用Sirtinol和5-FU更为显著, 进一步抑制癌细胞增殖, 表明Sirtinol增加了5-FU化疗敏感性. 与此相似, Kojima等<sup>[15]</sup>研究发现siRNA干扰技术下调SIRT1的表达, 可能通过诱导凋亡增强了PC3和DU145细胞对喜树碱和顺铂的敏感性. Chu等<sup>[16]</sup>等发现ShRNA干扰SIRT1能逆转多种肿

瘤的耐药性, 其机制是通过降低耐药基因P-glycoprotein的表达. 上述研究结果提示, SIRT1可以作为具有化疗增敏作用的潜在靶点, 其机制可能是通过诱导凋亡通路或降低耐药相关基因, 有待于进一步研究.

本研究结果表明SIRT1可能是胰腺癌的促癌因子, 使用SIRT1抑制剂Sirtinol抑制SIRT1表达可抑制胰腺癌细胞增殖促进凋亡, 同时可通过抑制SIRT1发挥化疗增敏作用, 提高胰腺癌化疗效果.

#### 4 参考文献

- Berlin JD, Rothenberg ML. Chemotherapeutic advances in pancreatic cancer. *Curr Oncol Rep* 2003; 5: 219-226 [PMID: 12667419 DOI: 10.1007/s11912-003-0113-8]
- Portmann S, Fahrner R, Lechleiter A, Keogh A, Overney S, Laemmle A, Mikami K, Montani M, Tschann MP, Candinas D, Stroka D. Antitumor effect of SIRT1 inhibition in human HCC tumor models in vitro and in vivo. *Mol Cancer Ther* 2013; 12: 499-508 [PMID: 23339189 DOI: 10.1158/1535-7163]
- Kozako T, Aikawa A, Shoji T, Fujimoto T, Yoshimitsu M, Shirasawa S, Tanaka H, Honda S, Shimeno H, Arima N, Soeda S. High expression of the longevity gene product SIRT1 and apoptosis induc-

#### ■ 创新盘点

本研究利用SIRT1抑制剂Sirtinol抑制SIRT1表达, 体外研究SIRT1与胰腺癌细胞增殖、凋亡及5-FU化疗敏感性的关系, 该结果为胰腺癌的化疗提供了一种新的方案.

## ■同行评价

本文选题有一定的价值, 设计合理, 研究结果较为丰富, 结论可靠.

- 4 Saunders LR, Verdin E. Sirtuins: critical regulators at the crossroads between cancer and aging. *Oncogene* 2007; 26: 5489-5504 [PMID: 17694089 DOI: 10.1038/sj.onc.1210616]
- 5 Wang J, Kim TH, Ahn MY, Lee J, Jung JH, Choi WS, Lee BM, Yoon KS, Yoon S, Kim HS. Sirtinol, a class III HDAC inhibitor, induces apoptotic and autophagic cell death in MCF-7 human breast cancer cells. *Int J Oncol* 2012; 41: 1101-1109 [PMID: 22751989 DOI: 10.3892/ijo.2012.1534]
- 6 Ota H, Tokunaga E, Chang K, Hikasa M, Iijima K, Eto M, Kozaki K, Akishita M, Ouchi Y, Kaneki M. Sirt1 inhibitor, Sirtinol, induces senescence-like growth arrest with attenuated Ras-MAPK signaling in human cancer cells. *Oncogene* 2006; 25: 176-185 [PMID: 16170353 DOI: 10.1038/sj.onc.1209049]
- 7 Zhao G, Cui J, Zhang JG, Qin Q, Chen Q, Yin T, Deng SC, Liu Y, Liu L, Wang B, Tian K, Wang GB, Wang CY. SIRT1 RNAi knockdown induces apoptosis and senescence, inhibits invasion and enhances chemosensitivity in pancreatic cancer cells. *Gene Ther* 2011; 18: 920-928 [PMID: 21677689 DOI: 10.1038/gt.2011.81]
- 8 Liu T, Liu PY, Marshall GM. The critical role of the class III histone deacetylase SIRT1 in cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 1702-1705 [PMID: 19244112 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3365]
- 9 Chung S, Yao H, Caito S, Hwang JW, Arunachalam G, Rahman I. Regulation of SIRT1 in cellular functions: role of polyphenols. *Arch Biochem Biophys* 2010; 501: 79-90 [PMID: 20450879 DOI: 10.1016/j.abb.2010.05.003]
- 10 Wang RH, Sengupta K, Li C, Kim HS, Cao L, Xiao C, Kim S, Xu X, Zheng Y, Chilton B, Jia R, Zheng ZM, Appella E, Wang XW, Ried T, Deng CX. Impaired DNA damage response, genome instability, and tumorigenesis in SIRT1 mutant mice. *Cancer Cell* 2008; 14: 312-323 [PMID: 18835033 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.09.001]
- 11 Firestein R, Blander G, Michan S, Oberdoerffer P, Ogino S, Campbell J, Bhimavarapu A, Luikenhuis S, de Cabo R, Fuchs C, Hahn WC, Guarente LP, Sinclair DA. The SIRT1 deacetylase suppresses intestinal tumorigenesis and colon cancer growth. *PLoS One* 2008; 3: e2020 [PMID: 18414679 DOI: 10.1371/journal.pone.0002020]
- 12 Huffman DM, Grizzle WE, Bamman MM, Kim JS, Eltoum IA, Elgavish A, Nagy TR. SIRT1 is significantly elevated in mouse and human prostate cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 6612-6618 [PMID: 17638871]
- 13 Tang Y, Zhao W, Chen Y, Zhao Y, Gu W. Acetylation is indispensable for p53 activation. *Cell* 2008; 133: 612-626 [PMID: 18485870 DOI: 10.1016/j.cell.2008.03.025]
- 14 Langley E, Pearson M, Faretta M, Bauer UM, Frye RA, Minucci S, Pelicci PG, Kouzarides T. Human SIR2 deacetylates p53 and antagonizes PML/p53-induced cellular senescence. *EMBO J* 2002; 21: 2383-2396 [PMID: 12006491 DOI: 10.1093/emboj/21.10.2383]
- 15 Kojima K, Ohhashi R, Fujita Y, Hamada N, Akao Y, Nozawa Y, Deguchi T, Ito M. A role for SIRT1 in cell growth and chemoresistance in prostate cancer PC3 and DU145 cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 373: 423-428 [PMID: 18573234 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.06.045]
- 16 Chu F, Chou PM, Zheng X, Mirkin BL, Rebbaa A. Control of multidrug resistance gene *mdr1* and cancer resistance to chemotherapy by the longevity gene *sirt1*. *Cancer Res* 2005; 65: 10183-10187 [PMID: 16288004]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 进展期胃癌应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂3周方案新辅助化疗的临床效果

李涛, 梁美霞, 冯道夫, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凇

李涛, 梁美霞, 冯道夫, 李婷, 陈凇, 中国人民解放军总医院普通外科 北京市 100853

袁静, 中国人民解放军总医院病理科 北京市 100853

郭旭, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853

冯道夫, 李婷, 南开大学医学院 天津市 300071

李涛, 主治医师, 主要从事胃癌的临床与基础研究.

作者贡献分布: 课题设计由李涛完成; 课题执行由梁美霞完成; 数据分析由冯道夫与李婷完成; 病理学分析由袁静完成; 郭旭参与内镜评估; 本课题由陈凇指导.

通讯作者: 陈凇, 主任医师, 教授, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院普通外科. chenlinbj@vip.sina.com  
电话: 010-66938328

收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-11-13

接受日期: 2013-11-26 在线出版日期: 2014-01-08

## Efficacy of S-1 and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer

Tao Li, Mei-Xia Liang, Dao-Fu Feng, Jing Yuan, Xu Guo, Ting Li, Lin Chen

Tao Li, Mei-Xia Liang, Dao-Fu Feng, Ting Li, Chen Lin, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Jing Yuan, Department of Pathology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Xu Guo, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Dao-Fu Feng, Ting Li, Medical College of Nankai University, Tianjin 300071, China

Correspondence to: Lin Chen, Chief Physician, Professor, Department of General Surgery, Chinese PLA General Hospital, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. chenlinbj@vip.sina.com

Received: 2013-10-21 Revised: 2013-11-13

Accepted: 2013-11-26 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of S-1 combined with oxaliplatin (SOX) in the treatment of advanced gastric cancer.

**METHODS:** Preoperative stage II/III gastric cancer patients received S-1 [80 mg/(m<sup>2</sup>·d); days 1-14] and SOX (130 mg/m<sup>2</sup>; day 1) followed by a 7 d rest during the 3 wk schedule and subsequently received gastrectomy with D1/D2 lymphadenectomy.

**RESULTS:** Between June 2012 and September

2013, 117 patients were enrolled in this study. All patients were assessed for efficacy and adverse events, and 57 (69.5%) patients had clinical tumor response. The response and disease control rates were 69.5 % and 97.6%, respectively. Main grade 3/4 adverse events were hematological toxicities, including thrombocytopenia (5.4%) and leucopenia (5.4%). Grade 3/4 non-hematological events included liver dysfunction (8.1%), loss of appetite (5.4%) and vomiting (10.8%).

**CONCLUSION:** S-1 plus SOX provided a favorable efficacy and safety profile in Chinese patients with advanced gastric cancer.

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

**Key Words:** Gastric cancer; Neoadjuvant chemotherapy; Efficacy

Li T, Liang MX, Feng DF, Yuan J, Guo X, Li T, Chen L. Efficacy of S-1 and oxaliplatin as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 91-95 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/91.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.91>

## 摘要

**目的:** 评估进展期胃癌患者术前应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂(SOX)新辅助化疗的有效性和安全性.

**方法:** 通过对治疗前分期评估为第7版AJCC II-III期胃癌患者行口服替吉奥胶囊[80 mg/(m<sup>2</sup>·d), 第1-14天]联合奥沙利铂(130 mg/m<sup>2</sup>, 第1天)新辅助化疗结合D1/D2淋巴结清扫, 统计所有术后患者肿瘤降期情况及化疗过程中出现的不良反应.

**结果:** 2012-06/2013-09共入组117例II-III期胃癌患者, 所有入组患者均完成了至少2个周期化疗, 其中82例患者顺利完成手术, 57例患者肿瘤达临床缓解(69.5%), 12例患者疗效达到

## ■背景资料

胃癌新辅助化疗是较新的综合治疗模式, 其临床应用尚在探索之中, 但可以预测其前景较好. 本研究选用较新的化疗方案(SOX)应用于我国进展期胃癌患者, 有效率高, 肿瘤降期明显, 值得临床推广.

## ■同行评议者

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

## ■研究前沿

本文研究的重点是针对II-III期胃癌患者应用SOX方案新辅助化疗,观察其有效性,重点是病理学疗效。待研究的问题是生存时间。

完全缓解(complete response, CR), 45例患者疗效达到部分缓解(partial response, PR), 化疗有效率为69.5%, 疾病控制率达97.6%。绝大部分患者完成D2淋巴结清扫(80/82, 97.6%), 30例患者术后标本切缘阴性(R0)(97.6%)。此外, 所有患者基本可耐受化疗, 并没有出现4级不良反应。3/4级不良反应主要为呕吐(10.8%); 肝功能异常(8.1%); 血小板减少(5.4%); 白细胞减少(5.4%); 食欲减退(5.4%)。

**结论:** 进展期胃癌应用SOX方案新辅助化疗有效率高, 肿瘤降期明显, 值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌; 新辅助化疗; 有效性

**核心提示:** 本文采用了新型胃癌综合治疗模式(新辅助化疗), 肿瘤降期明显, 临床和病理学有效率比较具有统计学差异, 反映出大多数患者从新辅助化疗中受益, 提高了治疗效果。应值得临床推广新辅助化疗模式。

李涛, 梁美霞, 冯道夫, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凛. 进展期胃癌应用替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂3周方案新辅助化疗的临床效果. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 91-95 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/91.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.91>

## 0 引言

胃癌目前是全球发病率第4位的恶性肿瘤, 在肿瘤中致死率居第2位<sup>[1]</sup>。胃癌与其他恶性肿瘤相比较具有生物学类型多、恶性程度高、早期诊断率低、根治程度差等特点。临床实践证明, 单纯强调外科手术的根治性和规范化已经无法进一步提高胃癌患者生存率。积极探索其他治疗方法成为当务之急。基于术前化疗理论学基础, 设想如果能够术前应用化疗药物使得肿瘤缩小, 减轻瘤体对于周围脏器的侵犯, 就能够提高R0切除率和D2根治率, 理论上将进一步能够提高生存率。自上世纪90年代, 随着新型化疗药物的不断出现和新方案的组合, 胃癌新辅助化疗相关研究得到越来越多学者的关注<sup>[2]</sup>。文献报道, 胃癌术前化疗有效性最高可达50%-70%。2006年英国学者Cunningham在《新英格兰杂志》发表著例的MAGIC实验研究结果证实, 进展期胃癌术前行ECF化疗较单纯手术组能够提高5年生存率(36% vs 23%,  $P = 0.009$ ), 并被美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Net-

work, NCCN)癌指南列为I类证据<sup>[3]</sup>。法国FFCD研究结果证实, 胃癌患者应用氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)联合顺铂新辅助化疗后, 能够显著提高R0切除率(84% vs 73%,  $P = 0.04$ )和5年生存率(38% vs 24%,  $P = 0.03$ )<sup>[4]</sup>。但是由于各个国家胃癌患者在发病部位、病理分期、地域和人种等方面有所区别, 所以至今仍然未能探索出一个得到世界公认的术前化疗方案, 与此相关的研究也成为目前胃癌综合治疗的热点问题。相关研究结果显示S-1联合铂类药对于晚期胃癌患者具有较高的有效性, 值得临床进一步探索研究<sup>[5-8]</sup>。本研究将采用两种新型化疗药物(替吉奥胶囊联合注射用奥沙利铂, SOX方案)针对中国进展期胃癌患者进行围手术期化疗, 观察其疗效及不良反应, 并对其临床应用进行初步探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 解放军总医院普通外科2012-06/2013-09共117例AJCC II-III期胃癌患者行新辅助化疗。其中82例患者进行外科手术(表1)。男性67例, 女性15例; 年龄40-75岁, 平均年龄 $55.3 \pm 2.3$ 岁; 化疗前肿瘤TNM分期为II期3例, III期79例。所有患者入组标准如下: (1)经胃镜活检病理活检确诊腺癌的胃癌患者; (2)所有患者治疗前均需经过超声胃镜(ultrasonography, EUS)、CT(或PET-CT)和腹腔镜探查进行治疗前分期评估(TNM), 按照第7版AJCC分期为II-III期患者; (3)患者无手术相关禁忌症, 预计能够进行根治性外科切除; (4)卡氏评分(Karnofsky, KPS)  $> 60$ ; 东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)评分: 0-2; (5)年龄20-75岁; (6)过去未曾进行过化疗; (7)根据RECIST 1.1标准<sup>[9]</sup>要求具有可测量病灶; (8)血液检查和身体状况能够耐受化疗药物。筛选前7 d内(包括7 d)时, 基线实验室数据要求: 白细胞计数 $4 \times 10^9/L - 10 \times 10^9/L$ 、血小板计数 $\geq 100 \times 10^9/L$ 、血红蛋白 $\geq 100$  g/L、肝功能 $< 3$ 倍正常上限值、总胆红素 $\leq 1.5$  mg/dL、血清肌酐 $\leq 1.2$  mg/dL; (9)签署知情同意书。此研究已通过解放军总医院伦理委员会批准。

## 1.2 方法

**1.2.1 术前化疗:** 入组患者均严格按照SOX方案进行。具体方案: 替吉奥胶囊(S-1)80 mg/m<sup>2</sup>, d1-14, 口服; 注射用奥沙利铂130 mg/m<sup>2</sup> d1, 静滴, 每3周1个周期。如果患者血液学毒性达到3或4级或非血液毒性达2、3或4级, 那么每日S-1

表 1 82例胃癌手术患者基线特征

临床特征	SOX方案新辅助化疗	
	<i>n</i>	所占百分比(%)
性别		
男	67	81.7
女	15	18.3
年龄(岁)		
40-49	12	14.7
50-59	27	32.8
60-69	32	39.0
70-75	11	13.5
肿瘤位置		
上1/3部	23	28.8
中部	23	28.8
下1/3部	36	42.4
术前TNM分期		
II	3	3.7
III	79	96.3
手术方式		
近端胃	23	28.0
远端胃	35	42.7
全胃	24	29.3
淋巴结清扫		
D2淋巴结清扫	80	97.6
D0/D1淋巴结清扫	2	2.4
切缘情况		
R0	80	97.6
R1	2	2.4
R2	0	0.0
病理学分期		
0	12	14.6
I	29	35.3
II	12	14.7
III	27	33.0
IV	2	2.4

剂量需要减量, 120 mg减为100 mg, 100 mg减为80 mg, 80 mg减为60 mg, 或由于毒性而停止给药。随后的剂量根据结果进行调整。注射用奥沙利铂剂量调整如下: 由130 mg/m<sup>2</sup>调整为100 mg/m<sup>2</sup>或85 mg/m<sup>2</sup>。安全性分析依据NCI-CTC4.0版本进行评估。

1.2.2 手术和病理: 在患者完成最后一次化疗后至少4 wk才可行手术治疗。手术按照日本胃癌协会(Japanese Gastric Cancer Association, JGCA)标准<sup>[10]</sup>行D1/D2淋巴结清扫。术中照片证实手术的根治性。术中标本送检后均由专业的病理学专家进行检查, 并发布报告。

统计学处理 利用计算机SPSS17.0(SPSS

Inc., Chicago, IL)软件包进行, 统计描述时计数资料采用率, 计量资料采用均数; 两组比较时计量数据采用 $t$ 检验, 计数资料分析采用 $\chi^2$ 检验, 采用概率 $P$ 值进行统计推断,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 有效性和安全性 所有入组患者均完成至少2个周期SOX方案化疗, 其中82例患者顺利完成手术。其中12例(14.6%)患者术后病理提示为病理学完全缓解(pathological complete response, pCR); 45例(54.9%)患者疗效达到部分缓解(partial response, PR), 病理学化疗有效率为69.5%。另外23例(28.0%)患者为疾病稳定(stable disease, SD), 2例(2.5%)患者病情进展(progressive disease, PD)。3/4级毒性反应主要为呕吐(10.8%); 肝功能异常(8.1%); 血小板减少(5.4%); 白细胞减少(5.4%); 食欲减退(5.4%)(表2)。

2.2 手术和病理结果 82例手术患者中, 绝大部分患者完成D2淋巴结清扫(80/82, 97.6%), 少数患者(2/82, 2.4%)因肿瘤较晚而仅行D1淋巴结清扫。部分患者经化疗后组织容易渗血, 总体手术风险及难度并无明显增加。所有手术标本均由经验丰富的病理学专家认真进行病理检查, 所有患者清扫淋巴结个数均超过15个。按照日本胃癌治疗指南对化疗后病理学疗效进行分级, 临床与病理学TNM分期, 具有统计学差异( $P<0.05$ , 表3)。80例(97.6%)患者术后标本切缘阴性(R0), 2例(2.4%)患者切缘阳性(R1)。

3 讨论

胃癌是严重威胁我国人民健康的恶性肿瘤性疾病, 高发病率和死亡率是本病主要特点。根治性、规范化外科手术已经达到前所未有的高度, 仍无法显著提高胃癌患者5年生存率。胃癌的新辅助化疗结合手术为改善患者预后带来了希望。S-1是一种口服氟尿嘧啶类药物, 其组成主要由替加氟、吉美嘧啶和奥替拉西钾, 按照1: 0.4: 1比例结合而成。其中吉美嘧啶能够可逆性拮抗二氢嘧啶脱氢酶(dihydropyrimidine dehydrogenase, DPD酶), 维持5-FU在血清和肿瘤组织内部较长的高浓度状态。奥替拉西钾使5-FU在胃肠道内保持磷酸化状态, 从而减小了胃肠道毒性反应。S-1是目前单药治疗晚期胃癌有效率最高的化疗药物, 文献报道其有效率可达44%。ACT-

■相关报道  
其他相关研究包括MAGIC、FFCD等研究, 在研究设计方面具有一定相似性, 都是探讨术前化疗在胃癌综合治疗中的应用。



## ■创新盘点

本文不同在于化疗方案新, 入组患者为可手术切除的胃癌患者, 通过较为准确的病理学疗效评价。

表 2 入组患者不良反应  $n(\%)$ 

不良反应	NCI-CTC4.0版本标准评价毒性反应分级			
	1级	2级	3级	4级
白细胞减少	7(8.9)	6(16.2)	2(5.4)	0(0)
贫血	5(13.5)	0(0)	0(0)	0(0)
血小板减少	12(32.4)	18(48.6)	2(5.4)	0(0)
血小板减少	8(21.6)	5(13.5)	0(0)	0(0)
肝功能异常	5(13.3)	0(0)	3(8.1)	0(0)
食欲减退	12(32.4)	7(18.9)	2(5.4)	0(0)
腹泻	7(18.9)	5(13.5)	0(0)	0(0)
黏膜炎	4(10.8)	0(0)	0(0)	0(0)
恶心	13(35.1)	4(10.8)	0(0)	0(0)
呕吐	5(13.5)	7(18.9)	4(10.8)	0(0)
色素沉着	13(35.1)	0(0)	0(0)	0(0)
体质量下降	4(10.8)	0(0)	0(0)	0(0)

表 3 化疗前后肿瘤TNM分期对比  $(n)$ 

分期	临床TNM分期	病理TNM分期	P值
0	0	10	0.001
I	0	32	0.000
II	4	13	0.020
III	76	25	0.000
IV	0	0	-

GC研究结果证实胃癌术后应用S-1能够显著提高3年生存率, 降低复发率。SPIRITS研究证实S-1联合顺铂较S-1单药组能够显著延长中位总生存期和无进展生存期, 显示出S-1联合顺铂治疗晚期胃癌的良好疗效<sup>[11]</sup>。2010年NCCN中国版胃癌指南将其列为胃癌辅助化疗药物。奥沙利铂属于三代铂类, 与顺铂相比, 抑制DNA的能力更强, 结合速度快10倍以上, 结合牢固, 细胞毒作用更强, 无心、肾、耳毒性, 不脱发, 胃肠道反应和血液学毒性均较小。自2001开始, 采用此药方案治疗进展期胃癌的报告逐渐增多。国内金懋林报告联合使用奥沙利铂、5-Fu和CF对进展期胃癌的有效率为42.5%。综合法国、美国、台湾、韩国等的临床研究资料, 该方案的总有效率在42.5%-64%, 中位生存期8-10 mo<sup>[12-15]</sup>。近期研究结果显示S-1联合奥沙利铂(SOX方案)能够显著延长中位总生存期和无进展生存期, 总体有效率为59%, 疾病控制率为84%, 显示出此方案的良好疗效<sup>[8]</sup>。

本研究中82例进展期胃癌患者经2-4个SOX方案新辅助化疗并进行手术后, 57例患者肿瘤降期, 化疗有效率为69.5%, 疾病控制率为97.6%; 12例患者疗效更达完全缓解; 80例患者术后标本切缘阴性(R0), 2例患者切缘阳性(R1), R0根治率为97.6%。对比化疗前后肿瘤学分期可发现TNM分期降期明显, 由此显示SOX方案较好的有效率。此外, 所有患者基本可耐受化疗, 并没有出现4级毒性反应。可见, 进展期胃癌新辅助化疗不仅是可耐受的、有效的治疗方法, 同时未增加手术风险及术后并发症, 还可以降低肿

瘤分期, 提高无残存肿瘤(D2/R0)手术切除率, 甚至进一步提高患者生存率。

该研究中仍存在不少局限且需进一步改善的地方, 包括: (1)本研究每2个周期应用CT按照实体瘤RECIST1.1标准进行疗效评价。在临床实践中, 以CT观察治疗前后肿瘤大小的变化时经常出现治疗后的最大横断面与治疗前无法完全重合在同一层面等现象。呼吸对CT扫描平面的影响是其中的原因之一, 胃属腹腔内脏器, 与胰腺、肾脏等腹膜后脏器相比较为游离, 随着呼吸运动有一定幅度的上下移动, 即使在患者配合的情况下, 治疗后CT扫描时肿瘤所在的平面也不一定与治疗前完全重合。此外, 以CT评价疗效时许多细节仍未在评价标准中作出规定。在某些病例, 治疗后癌组织已经完全坏死, 但其增厚的瘢痕组织仍存在, 这种增厚的瘢痕组织轮廓在CT上却无法确认为CR, 从而会导致CT判断的结果与组织学结果不相符合。这些细节都值得在临床工作中进行深入研究, 进一步完善评价标准; (2)本研究入组患者术前需行新辅助化疗2-4个周期, 患者于化疗后1 mo行手术治疗, 从化疗到手术需要大约3-4 mo的时间, 化疗的不良反应, 治疗周期相对较长, 经济费用较高, 给患者带来了严重的心理问题, 影响着患者的身心健康, 通常在化疗前后的整个阶段患者的心理问题尤为复杂, 突出患者的心理状况直接影响到治疗的效果, 化疗期间的护理对于患者的化疗是非常重要的一步。

总之, 胃癌新辅助化疗是一个相对较新的理念, 目前在临床上应用逐渐增多, 新型化疗药物为提高胃癌新辅助化疗的疗效提供了有力的手段。我国在此领域尚处于起步阶段, 充分利用病例资源优势, 开展规范的临床研究, 借鉴基础研究的成果, 积极探索术前分期手段和分子水平预测, 是改善胃癌疗效的前提和保证。该研究显示进展期胃癌应用SOX新辅助化疗具有较高的有效性, 可以显著提高病理缓解率、D2/R0手术

切除率, 同时未增加手术风险, 具有成为胃癌化疗一线方案的潜力. 但是仍需进行大样本的前瞻性研究证实是否可以延长总体生存时间.

#### 4 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Ward E, Murray T, Xu J, Smigal C, Thun MJ. Cancer statistics, 2006. *CA Cancer J Clin* 2006; 56: 106-130 [PMID: 16514137 DOI: 10.3322/canjclin.56.2.106]
- Mezhir JJ, Tang LH, Coit DG. Neoadjuvant therapy of locally advanced gastric cancer. *J Surg Oncol* 2010; 101: 305-314 [PMID: 20187070 DOI: 10.1002/jso.21483]
- Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]
- Ychou M, Boige V, Pignon JP, Conroy T, Bouché O, Lebreton G, Ducourtieux M, Bedenne L, Fabre JM, Saint-Aubert B, Genève J, Lasser P, Rougier P. Perioperative chemotherapy compared with surgery alone for resectable gastroesophageal adenocarcinoma: an FNCLCC and FFCD multicenter phase III trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 1715-1721 [PMID: 21444866 DOI: 10.1200/JCO.2010.33.0597]
- Sugimachi K, Maehara Y, Horikoshi N, Shimada Y, Sakata Y, Mitachi Y, Taguchi T. An early phase II study of oral S-1, a newly developed 5-fluorouracil derivative for advanced and recurrent gastrointestinal cancers. The S-1 Gastrointestinal Cancer Study Group. *Oncology* 1999; 57: 202-210 [PMID: 10545788 DOI: 10.1159/000012032]
- Koizumi W, Kurihara M, Nakano S, Hasegawa K. Phase II study of S-1, a novel oral derivative of 5-fluorouracil, in advanced gastric cancer. For the S-1 Cooperative Gastric Cancer Study Group. *Oncology* 2000; 58: 191-197 [PMID: 10765119]
- Cunningham D, Okines AF, Ashley S. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 858-859 [PMID: 20200397 DOI: 10.1056/NEJMc0911925]
- Koizumi W, Takiuchi H, Yamada Y, Boku N, Fuse N, Muro K, Komatsu Y, Tsuburaya A. Phase II study of oxaliplatin plus S-1 as first-line treatment for advanced gastric cancer (G-SOX study). *Ann Oncol* 2010; 21: 1001-1005 [PMID: 19875759 DOI: 10.1093/annonc/mdp464]
- Eisenhauer EA, Therasse P, Bogaerts J, Schwartz LH, Sargent D, Ford R, Dancey J, Arbuck S, Gwyther S, Mooney M, Rubinstein L, Shankar L, Dodd L, Kaplan R, Lacombe D, Verweij J. New response evaluation criteria in solid tumours: revised RECIST guideline (version 1.1). *Eur J Cancer* 2009; 45: 228-247 [PMID: 19097774 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.10.026]
- Japanese Gastric Cancer Association. Japanese gastric cancer treatment guidelines 2010 (ver. 3). *Gastric Cancer* 2011; 14: 113-123 [PMID: 21573742 DOI: 10.1007/s10120-011-0042-4]
- Koizumi W, Narahara H, Hara T, Takagane A, Akiya T, Takagi M, Miyashita K, Nishizaki T, Kobayashi O, Takiyama W, Toh Y, Nagaie T, Takagi S, Yamamura Y, Yanaoka K, Orita H, Takeuchi M. S-1 plus cisplatin versus S-1 alone for first-line treatment of advanced gastric cancer (SPIRITS trial): a phase III trial. *Lancet Oncol* 2008; 9: 215-221 [PMID: 18282805 DOI: 10.1016/S1470-2045(08)70035-4]
- Sumpter K, Harper-Wynne C, Cunningham D, Rao S, Tebbutt N, Norman AR, Ward C, Iveson T, Nicolson M, Hickish T, Hill M, Oates J. Report of two protocol planned interim analyses in a randomised multicentre phase III study comparing capecitabine with fluorouracil and oxaliplatin with cisplatin in patients with advanced oesophagogastric cancer receiving ECF. *Br J Cancer* 2005; 92: 1976-1983 [PMID: 15928658]
- Shen L, Shan YS, Hu HM, Price TJ, Sirohi B, Yeh KH, Yang YH, Sano T, Yang HK, Zhang X, Park SR, Fujii M, Kang YK, Chen LT. Management of gastric cancer in Asia: resource-stratified guidelines. *Lancet Oncol* 2013; 14: e535-e547 [PMID: 24176572 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70436-4]
- Choi YY, Cheong JH, Noh SH. Advanced gastric cancer: is chemotherapy needed after surgery? *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 7: 673-675 [PMID: 24161131 DOI: 10.1586/17474124.2013.841542]
- Lordick F, Lorenzen S, Yamada Y, Ilson D. Optimal chemotherapy for advanced gastric cancer: is there a global consensus? *Gastric Cancer* 2013 Sep 19. [Epub ahead of print] [PMID: 24048758]

#### 同行评价

本文临床治疗效果较好, 值得临床推广.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# HIF-1 $\alpha$ 表达在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性

周晓刚, 陈宁波, 沈小钢

## ■背景资料

由于胃癌早期症状比较隐蔽, 部分患者接受手术治疗已是进展期, 患者术后复发率较高。施华等对早期胃癌患者行根治手术患者进行观察, 其结果表明早期胃癌患者术后复发率仅为12.24%, 而对于进展期患者其术后复发率则为74.58%。因此对影响胃癌患者术后复发的相关因素进行分析可延长患者生存期限, 提高患者生存率。

周晓刚, 沈小钢, 四川省医学科学院 四川省人民医院胃肠外科 四川省成都市 610072

陈宁波, 四川省医学科学院 四川省人民医院急诊外科 四川省成都市 610072

周晓刚, 主治医师, 主要从事普外胃肠道疾病方面的研究。

作者贡献分布: 本文主要由周晓刚完成; 并由陈宁波与沈小钢辅助完成。

通讯作者: 周晓刚, 主治医师, 610072, 四川省成都市一环路西二段32号, 四川省医学科学院, 四川省人民医院胃肠外科。

zhouxiaogangziyue@163.com

收稿日期: 2013-11-11 修回日期: 2013-11-27

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-08

## Correlation between gastric HIF-1 $\alpha$ expression and gastric cancer recurrence

Xiao-Gang Zhou, Ning-Bo Chen, Xiao-Gang Shen

Xiao-Gang Zhou, Xiao-Gang Shen, Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Ning-Bo Chen, Department of Emergency Surgery, Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, Sichuan Province, China

Correspondence to: Xiao-Gang Zhou, Attending Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Academy of Medical Science & Sichuan Provincial People's Hospital, 32 Xierduan Yihuan Road, Chengdu 610072, Sichuan Province, China. zhouxiaogangziyue@163.com

Received: 2013-11-11 Revised: 2013-11-27

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the relationship between hypoxia inducible factor -1 $\alpha$  (HIF-1 $\alpha$ ) expression and gastric cancer recurrence and to analyze factors affecting HIF-1 $\alpha$  expression in gastric cancer.

**METHODS:** Eighty patients with gastric cancer recurrence after radical resection were included in the study, and 50 patients without recurrence after radical resection for more than 5 year were selected as a control group. The expression of HIF-1 $\alpha$  and VEGF was compared between the two groups. Risk factors for gastric cancer were analyzed with univariate and Cox proportional hazards models. The correlation between HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression was investigated by Spearman correlation analysis.

**RESULTS:** The positive rates of HIF-1 $\alpha$  (77.50% vs 12.00%) and VEGF (73.75% vs 10.00%) expression were higher in the recurrence group than in the control group. The degree of differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis, vascular invasion, TNM clinical stage, VEGF expression were factors affecting HIF-1 $\alpha$  expression in gastric tissue. There was a positive correlation between HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression ( $r = 0.458$ ,  $P = 0.000$ ). The 1-year survival rate ( $45.16\%$  vs  $77.77\%$ ) and average survival time ( $8.62 \pm 2.32$  vs  $18.96 \pm 3.14$ ) were significantly lower in the HIF-1 $\alpha$ -positive group than in the HIF-1 $\alpha$ -negative group. HIF-1 $\alpha$  and VEGF expression were independent prognostic factors for gastric cancer.

**CONCLUSION:** HIF-1 $\alpha$  expression is closely related to recurrence of gastric cancer and tumor angiogenesis, and can be used as a parameter for assessing gastric cancer recurrence and prognosis.

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

**Key Words:** Hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ ; Cancer; Angiogenesis

Zhou XG, Chen NB, Shen XG. Correlation between gastric HIF-1 $\alpha$  expression and gastric cancer recurrence. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 96-100 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/96.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.96>

## 摘要

**目的:** 探讨缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性影响因素。

**方法:** 选取行根治切除手术后复发的80例胃癌患者为研究对象, 另选取行根治切除手术后经随访5年以上无复发的50例胃癌患者为对照组, 采用免疫组织化学法测定两组HIF-1 $\alpha$ 、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)阳性表达情况, 采用单因素及Cox风险模型对影响胃癌患者预后的危险因素进行分析, HIF-1 $\alpha$ 与VEGF相关性采用Spearman相关分析。

## ■同行评议者

沈克平, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院



**结果:** 观察组胃组织中HIF-1 $\alpha$ 、VEGF表达阳性率分别为77.50%、73.75%显著高于对照组12.00%、10.00%。经单因素分析可知, 分化程度、浸润程度、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期、VEGF表达情况与胃癌HIF-1 $\alpha$ 阳性表达相关。经Spearman相关分析可知HIF-1 $\alpha$ 与VEGF呈正相关( $r = 0.458, P = 0.000$ )。HIF-1 $\alpha$ 阳性组1年生存率为45.16%, 平均生存时间为8.62 mo $\pm$ 2.32 mo显著低于阴性组1年生存率77.77 mo及平均生存时间18.96 mo $\pm$ 3.14 mo。经Cox风险模型可知, HIF-1 $\alpha$ 与VEGF阳性表达是影响胃癌患者预后的独立危险因素。

**结论:** HIF-1 $\alpha$ 高水平表达与胃癌复发及血管生成具有密切的关系, 其可作为胃癌术后复发及预后的评价测指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; 胃癌; 血管生成

**核心提示:** 本文观察了根治术后复发胃癌及未复发胃癌组织中缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达情况, 并与临床病理、患者生存时间进行了相关性分析, 结果显示与胃癌复发组患者胃组织中HIF-1 $\alpha$ 表达相关的因素包括分化程度、浸润程度、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期、VEGF表达情况, HIF-1 $\alpha$ 阳性组1年生存率、平均生存时间显著低于阴性组, 研究结论对胃癌的预后研究具有较重要的意义。

周晓刚, 陈宁波, 沈小钢. HIF-1 $\alpha$ 表达在胃癌中的作用及其与胃癌术后复发的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 96-100  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/96.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.96>

## 0 引言

胃癌是消化系常见的恶性肿瘤之一, 尽管近年综合治疗使得胃癌5年生存率有所提高, 但患者总体预后效果仍较差<sup>[1]</sup>。研究表明<sup>[2]</sup>, 血管生成与胃癌发生及发展有密切的关系, 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)过度表达是促使肿瘤细胞生成、增殖及凋亡的重要因素之一, 尤其是HIF-1 $\alpha$ 作为新近发现的促血管生长因子, 可为抗血管生成治疗提供新的作用机制。为此本研究将采用免疫组

织化学法测定胃癌组织中HIF-1 $\alpha$ 、VEGF表达情况, 并对两者与胃癌复发及预后的相关性进行分析, 旨在为临床胃癌的治疗提供新的思路。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2008-01/2011-12收治的行胃癌根治切除手术术后复发者80例为观察组, 患者均经超声、胃镜、CT等影像学或经病理组织学检查确诊, 患者临床病理资料完整, 且排除第二原发癌。另选取同期行常规性检查的曾行胃癌根治手术术后随访5年无复发的50例患者为对照组。本研究中所有患者均签署知情同意书, 且均经本院伦理医学委员会审批通过。

**1.2 方法** 采用免疫荧光组化法检测两组根治术后复发胃癌HIF-1 $\alpha$ 、VEGF表达情况, 兔抗人VEGF多克隆抗体购自福州迈新生物技术公司, HIF-1 $\alpha$ 鼠抗人多克隆抗体购于北京金桥生物技术公司。HIF-1 $\alpha$ 采用EDTA热修复处理20 min, VEGF采用柠檬酸缓冲液于高压锅中热修复处理2 min后采用冷水洗涤, 并采用PBS缓冲液对样品进行冲洗, 经苏木精复染后采用乙醇对样本脱水并制成中性树胶封片, 并与已知的阳性切片进行对比, 阴性对照采用PBS缓冲液替代一抗的样本为参照。免疫组织结果的判断: (1)HIF-1 $\alpha$ 阳性表达为棕黄色颗粒见于细胞核内, VEGF阳性表达为棕黄色颗粒见于细胞质及细胞核内; (2)在倍数为100的显微镜下观察细胞着色情况, 根据着色程度由轻至重可分别记为0、1、2、3分。随机选取5个视野点, 采用倍数为400的显微镜进行观察, 每个视野进行细胞计数, 以500个细胞作为一组计算单位, 细胞阳性百分率: 1分为小于10%, 2分为10%-50%, 3分为大于50%。积分计算: (1)与(2)计算所得的分值相乘。0分为阴性“-”, 1-3分为弱阳性“+”, 4-6分为中度阳性“++”, 7-9分为强阳性“+++”<sup>[3]</sup>。

**统计学处理** 应用SPSS17.0软件进行统计学分析, 计数资料采用百分比表示; 组间计数资料的比较采用 $\chi^2$ 检验, HIF-1 $\alpha$ 与VEGF相关性采用Spearman相关分析, 多因素分析采用Cox风险模型分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组HIF-1 $\alpha$ 与VEGF阳性表达情况** 观察组胃组织中HIF-1 $\alpha$ 、VEGF表达阳性率显著高于对照组(表1, 图1)。

**2.2 胃癌复发组HIF-1 $\alpha$ 阳性率与临床病理特征**

### ■ 研发前沿

胃癌是我国常见的消化系统肿瘤, 根治手术是目前治疗胃癌最常用的方法, 但仍有部分患者行根治手术治疗后预后效果不理想, 术后复发仍是胃癌患者死亡的主要原因。

## ■ 相关报道

Zhang等研究证实HIF-1 $\alpha$ 阳性表达与癌细胞淋巴结转移有关。曾楷峰等研究指出HIF-1 $\alpha$ 表达强度与癌症患者总体生存期及术后复发率显著相关, HIF-1 $\alpha$ 表达水平可作为胃癌患者根治手术后复发的预测指标。

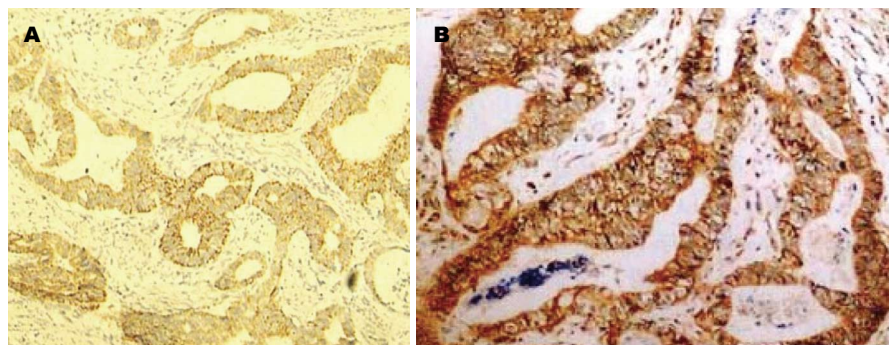


图1 HIF-1 $\alpha$ 和VEGF在胃癌组织中的阳性表达。A: HIF-1 $\alpha$ ; B: VEGF. HIF-1 $\alpha$ : 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; VEGF: 血管内皮生长因子。

表1 两组HIF-1 $\alpha$ 阳性表达情况  $n$

分组	$n$	HIF-1 $\alpha$ 表达				阳性率(%)	阴性率(%)
		-	+	++	+++		
观察组	80	18	24	24	14	77.50 <sup>a</sup>	22.50
对照组	50	44	4	2	0	12.00	88.00

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. HIF-1 $\alpha$ : 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ .

表2 两组VEGF阳性表达情况  $n$

分组	$n$	VEGF表达				阳性率(%)	阴性率(%)
		-	+	++	+++		
观察组	80	21	28	24	7	73.75 <sup>a</sup>	6.25
对照组	50	45	3	2	0	10.00	90.00

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. VEGF: 血管内皮生长因子。

的相关性分析 经单因素分析可知, 影响胃癌复发组患者胃组织中HIF-1 $\alpha$ 阳性率的因素包括分化程度、浸润程度、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期、VEGF表达情况。经Spearman相关分析可知HIF-1 $\alpha$ 与VEGF呈正相关( $r = 0.458$ ,  $P = 0.000$ )(表2)。

2.3 复发组HIF-1 $\alpha$ 阴性与阳性患者1年生存率及平均生存时间分析 HIF-1 $\alpha$ 阳性组1年生存率、平均生存时间显著低于阴性组。经Cox风险模型可知, HIF-1 $\alpha$ (OR = 3.145, 95%CI: 1.665-4.027)与VEGF(OR = 3.012, 95%CI: 1.244-3.886)阳性表达是影响胃癌患者预后的独立危险因素(表3, 4)。

### 3 讨论

胃癌是我国常见的消化系肿瘤, 根治手术是目前治疗胃癌最常用的方法, 但仍有部分患者行根治手术治疗后预后效果不理想, 术后复发仍是胃癌患者死亡的主要原因<sup>[4]</sup>。由于胃癌早期症

状比较隐蔽, 部分患者接受手术治疗是已是进展期, 患者术后复发率较高<sup>[5]</sup>。施华等<sup>[6]</sup>对早期胃癌患者行根治手术患者进行观察, 其结果表明早期胃癌患者术后复发率仅为12.24%, 而对于进展期患者其术后复发率则为74.58%。因此对影响胃癌患者术后复发的相关因素进行分析可延长患者生存期限, 提高患者生存率。

目前普遍认为胃癌术后复发是由于内外因素共同作用引起的, 血管生成是肿瘤发展的首要条件<sup>[7]</sup>。石燕等<sup>[8]</sup>认为肿瘤周围微环境中抑制因子及促进因子调控失衡是导致肿瘤血管生成的重要因素。VEGF是血管内皮细胞有丝分裂素, 属于重要的血管生成促进因子, 其在血管生成过程中处于核心地位<sup>[9]</sup>。大量研究表明<sup>[10]</sup>, 在正常成年人群中VEGF的表达水平非常低, 而在恶性肿瘤患者中VEGF表达水平异常高。此外, VEGF可诱导血管、淋巴管内皮细胞迁移及增殖, 从而促使淋巴血管及生成, 并可增加淋巴血

表 3 胃癌复发组HIF-1 $\alpha$ 阳性率与临床病理特征的相关性分析  $n(\%)$ 

病理特征	$n$	HIF-1 $\alpha$ 阳性率	$\chi^2$	$P$ 值
性别			0.916	0.339
男	52	42(80.77)		
女	28	20(71.43)		
年龄(岁)			0.058	0.809
<60	38	29(76.31)		
$\geq 60$	42	33(78.57)		
分化程度			5.792	0.016
未分化/低分化	47	32(68.08)		
中分化/高分化	33	30(90.91)		
病理组织分型			0.087	0.768
管状腺癌	38	30(78.95)		
乳头腺癌	32	25(78.12)		
其他类型	10	7(70.00)		
肿瘤直径(cm)			0.015	0.904
<5	39	30(76.92)		
$\geq 5$	41	32(78.05)		
浸润程度			20.452	0.000
未及浆膜层	34	18(52.94)		
侵入浆膜层	46	44(95.65)		
淋巴结转移			12.333	0.0004
有	38	36(94.74)		
无	42	26(61.90)		
血管侵袭			13.207	0.0003
有	29	29(100.00)		
无	51	33(64.70)		
TNM临床分期			21.701	0.000
I、II期	37	20(54.05)		
III、IV期	43	42(97.67)		
VEGF			14.580	0.000
阴性	21	10(47.62)		
阳性	59	52(88.13)		

HIF-1 $\alpha$ : 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ ; VEGF: 血管内皮生长因子。

管通透性, 加速淋巴血管转移, 因此与肿瘤恶性程度具有密切的关系。肿瘤患者体内普遍存在免疫识别障碍的情况, 机体在此情况下可将肿瘤组织误认为自身组织, 从而产生应激反应, 并诱导HIF-1 $\alpha$ 生成HIF-1 $\alpha$ 表达增强可刺激肿瘤蛋白及基因转录, 并促使VEGF大量生成。目前相关研究<sup>[11]</sup>表明HIF-1 $\alpha$ 与肿瘤的发生发展具有密切的关系, 在肿瘤发生发展过程中起到重要的调控作用。Lu等<sup>[12]</sup>采用免疫组织化学法测定53例胃癌患者组织中HIF-1 $\alpha$ 表达情况, 结果显示其阳性表达与胃癌肝转移及肿瘤大小有关。Zhan等<sup>[13]</sup>检测60例胃癌组织HIF-1 $\alpha$ 的表达, 其结果显示, HIF-1 $\alpha$ 表达与胃癌远处转移及术后

表 4 复发组HIF-1 $\alpha$ 阴阳性患者1年生存率及平均生存时间分析

分组	$n$	1年生存率(%)	平均生存时间(mo)
HIF-1 $\alpha$ 阳性组	62	28(45.16)	8.62 $\pm$ 2.32
HIF-1 $\alpha$ 阴性组	18	14(77.77)	18.96 $\pm$ 3.14
$\chi^2/t$ 值		8.225	7.265
$P$ 值		0.000	0.000

HIF-1 $\alpha$ : 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 。

复发有关。Zhang等<sup>[14]</sup>研究证实HIF-1 $\alpha$ 阳性表达与癌细胞淋巴结转移有关。曾楷峰等<sup>[15]</sup>研究指出HIF-1 $\alpha$ 表达强度与癌症患者总体生存期及术后复发率显著相关, HIF-1 $\alpha$ 表达水平可作为胃癌患者根治手术后复发的预测指标。Jia等<sup>[16]</sup>对胃癌患者预后情况进行分析, 其结果显示胃癌患者己糖激酶-II及HIF-1 $\alpha$ 表达强度与肿瘤大小、分化程度、临床分期有密切关系, 是影响患者术后预后的独立危险因素。

本研究结果显示, 复发组患者VEGF、HIF-1 $\alpha$ 表达强度较强, 浸润程度较深, 患者存在淋巴结转移, 血管浸润显著, TNM分期较晚, 经Cox风险模型分析可知, VEGF、HIF-1 $\alpha$ 是胃癌术后复发的独立危险因素。VEGF表达、肿瘤浸润、淋巴结是否转移、血管侵袭性、TNM临床分期可作为胃癌患者根治术后预后的预测指标。此外, 对复发组患者随访1年发行, HIF-1 $\alpha$ 阳性组1年生存率、平均生存时间显著低于阴性组, 从而提示HIF-1 $\alpha$ 阳性表达强度与患者生存率及生存期限具有密切的关系, 通过测定胃癌患者HIF-1 $\alpha$ 阳性表达情况, 对预测患者病情进展具有重要的意义。

总之, HIF-1 $\alpha$ 高水平表达与胃癌复发及血管生成具有密切的关系, 其可作为胃癌术后复发及预后的评价测指标。

#### 4 参考文献

- 徐桂芳, 周志华, 吴寒, 徐新运, 汪灏, 管文贤, 邹晓平. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 在胃癌组织中的表达与胃癌术后复发的关系. 中华消化杂志 2013; 33: 456-459
- 陈洁, 朱海杭, 徐永居, 顾湘, 朱萍. 血管内皮生长因子及其受体KDR在疣状胃炎及胃癌组织中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2031-2037
- 马俊华, 汪必成. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ 、细胞周期蛋白依赖性激酶抑制蛋白27在胃癌中的表达及其与肿瘤细胞增殖的关系. 中华实验外科杂志 2013; 30: 1290-1291
- Zhu CL, Huang Q, Liu CH, Lin XS, Xie F. Prognostic value of HIF-1 $\alpha$  expression in patients with gastric cancer. Mol Biol Rep 2013; 40: 6055-6062 [PMID:

#### ■应用要点

HIF-1 $\alpha$ 高水平表达与胃癌复发及血管生成具有密切的关系, 其可作为胃癌术后复发及预后的评价测指标。



## ■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 具有一定的学术参考价值.

- 24057269 DOI: 10.1007/s11033-013-2715-z]
- 5 黄庆文, 韩佳, 王琳, 叶震世, 巴亚斯古楞, 任建林. 缺氧诱导胃癌细胞SGC-7901中三叶因子3与血管内皮生长因子相互关系研究. *中华消化杂志* 2012; 32: 232-235
  - 6 施华, 王爱军, 郑宝军, 冯俊伟, 王红钰, 吴肖. siRNA沉默缺氧诱导因子-2 $\alpha$ 对胃癌细胞SGC7901凋亡的影响和机制. *中华实验外科杂志* 2013; 30: 248-251
  - 7 范小玲, 刘文其, 毛艳, 康敏. HIF-1 $\alpha$ 、Tiam1表达对食管癌侵袭、淋巴结转移以及放疗的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 590-595
  - 8 刘倩, 吴小翎, 罗红春. MMP-2在胃癌组织中的表达及其与微血管生成和淋巴结转移的关系. *重庆医学* 2012; 41: 1262-1264
  - 9 杨勤, 张亚声, 杨德全. 复方苦参注射液联合低剂量5-Fu对人胃癌裸鼠移植瘤血管生成的影响. *重庆医学* 2011; 40: 3239-3241
  - 10 Miyake S, Kitajima Y, Nakamura J, Kai K, Yanagihara K, Tanaka T, Hiraki M, Miyazaki K, Noshiro H. HIF-1 $\alpha$  is a crucial factor in the development of peritoneal dissemination via natural metastatic routes in scirrhous gastric cancer. *Int J Oncol* 2013; 43: 1431-1440 [PMID: 23970191]
  - 11 Jung JH, Im S, Jung ES, Kang CS. Clinicopathological implications of the expression of hypoxia-related proteins in gastric cancer. *Int J Med Sci* 2013; 10: 1217-1223 [PMID: 23935399 DOI: 10.7150/ijms.6054]
  - 12 Lu XX, Chen YT, Feng B, Mao XB, Yu B, Chu XY. Expression and clinical significance of CD73 and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$  in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1912-1918 [PMID: 23569336 DOI: 10.3748/wjg.v19.i12.1912]
  - 13 Zhan H, Liang H, Liu X, Deng J, Wang B, Hao X. Expression of Rac1, HIF-1 $\alpha$ , and VEGF in gastric carcinoma: correlation with angiogenesis and prognosis. *Onkologie* 2013; 36: 102-107 [PMID: 23485997 DOI: 10.1159/000348525]
  - 14 Zhang ZG, Zhang QN, Wang XH, Tian JH. Hypoxia-inducible factor 1 alpha (HIF-1 $\alpha$ ) as a prognostic indicator in patients with gastric tumors: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 4195-4198 [PMID: 23991975 DOI: 10.7314/APJCP.2013.14.7.4195]
  - 15 曾楷峰, 金海林, 张伟锋, 肖斌, 朱宏, 郝波, 施瑞华. RNA干扰缺氧诱导因子1 $\alpha$ 对食管鳞癌和胃腺癌细胞生物学行为的影响. *中华肿瘤杂志* 2011; 33: 260-264
  - 16 Jia YF, Xiao DJ, Ma XL, Song YY, Hu R, Kong Y, Zheng Y, Han SY, Hong RL, Wang YS. Differentiated embryonic chondrocyte-expressed gene 1 is associated with hypoxia-inducible factor 1 $\alpha$  and Ki67 in human gastric cancer. *Diagn Pathol* 2013; 8: 37 [PMID: 23445622 DOI: 10.1186/1746-1596-8-37]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 声辐射力脉冲成像对非酒精性脂肪性肝病诊断价值的Meta分析

李曼蓉, 王跃, 宋雯, 陆伦根, 卜平

李曼蓉, 王跃, 宋雯, 卜平, 扬州大学临床医学院苏北人民医院  
消化内科 江苏省扬州市 225001

陆伦根, 上海交通大学附属第一人民医院消化科 上海市  
200080

李曼蓉, 硕士研究生, 主要从事消化系统疾病的临床及实验研究。

作者贡献分布: 文献收集与Meta分析主要由李曼蓉完成; 王跃  
与宋雯参与文献检索; 论文的选题、指导及审校由陆伦根与卜  
平共同完成。

通讯作者: 卜平, 教授, 主任医师, 225001, 扬州大学医学院广陵  
区淮海路11号, 扬州大学临床医学院苏北人民医院消化内科。

boping@yzu.edu.cn

电话: 0514-7978801

收稿日期: 2013-09-25 修回日期: 2013-10-23

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-08

## Diagnostic value of acoustic radiation force impulse imaging for non-alcoholic fatty liver disease: A Meta-analysis

Man-Rong Li, Yue Wang, Wen Song, Lun-Gen Lu,  
Ping Bu

Man-Rong Li, Yue Wang, Wen Song, Ping Bu, Department of Gastroenterology, Subei People's Hospital, Clinical Medical College of Yangzhou University, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China

Lun-Gen Lu, Department of Gastroenterology, Shanghai First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, China

Correspondence to: Ping Bu, Professor, Chief Physician, Medical College of Yangzhou University, 11 Huaihai Road, Yangzhou, Jiangsu Province, China. boping@yzu.edu.cn

Received: 2013-09-25 Revised: 2013-10-23

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To systematically evaluate the diagnostic performance of acoustic radiation force impulse imaging (ARFI) for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) by meta-analysis.

**METHODS:** Pertinent articles related to diagnosis of NAFLD by ARFI were searched in PubMed, Medline, Web of Science, CNKI, Wan-Fang Data, CBM, and Google. The references of retrieved articles were also searched. Literature screening was performed according to inclusion

and exclusion criteria. The quality of included articles was assessed using the QUADAS tool. The heterogeneity was explored, and indexes reflecting accuracy were pooled and summary receiver operating characteristics (SROC) were analyzed using MetaDiSc1.4 and STATA 12.0. The publication bias and sensitivity were also evaluated.

**RESULTS:** Eight studies were included in the review. Meta-analysis results showed that the pooled accuracy indicators like sensitivity, specificity, positive likelihood ratio, negative likelihood ratio, and diagnostic odds ratio were 90% (95%CI: 86%-94%), 78% (95%CI: 73%-83%), 3.57 (95%CI: 2.19-5.81), 0.13 (95%CI: 0.09-0.20), and 35.87 (95%CI: 19.96-64.48), respectively. The area under the SROC curve was 0.9326, SE was 0.0169, and the Q\* index was 0.8683.

**CONCLUSION:** ARFI has a high diagnostic efficacy and could be used as a reliable and safe non-invasive tool for diagnosing NAFLD.

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

**Key Words:** Acoustic radiation force impulse imaging; Non-alcoholic fatty liver disease; Diagnostic imaging; Meta-analysis

Li MR, Wang Y, Song W, Lu LG, Bu P. Diagnostic value of acoustic radiation force impulse imaging for non-alcoholic fatty liver disease: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 101-106 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/101.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.101>

## 摘要

**目的:** 采用Meta分析的方法系统评价声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的诊断价值。

**方法:** 检索PubMed、Medline、Web of

## ■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率随着肥胖、血脂紊乱、糖尿病及其代谢综合征的增多而逐年增高, NAFLD的诊断对其有效治疗、改善预后及预防糖尿病及心血管疾病等并发症的发生有着重大意义。

## ■同行评议者

方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研部

## ■ 研发前沿

NAFLD诊断的“金标准”公认为肝穿刺活检,因其有创性等缺点,迫切需要发展简便、可靠、安全的无创性诊断手段。常用的无创诊断主要是血标本的肝酶谱水平和肝脏超声检查。但血浆肝酶谱水平常低估疾病程度、漏诊率高,传统的超声检查有特异性较差的劣势,声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)技术应运而生。

Science、CNKI、WanFang Data、CBM、Google学术搜索,及追溯参考文献收集相关文献。根据纳入与排除标准筛选文献,采用QUADAS工具评估文献质量并提取数据。采用MetaDisc1.4、STATA12.0软件进行异质性分析,计算合并敏感度、特异度、阳性似然比、阴性似然比等指标,并绘制总受试者工作特征曲线(summary receiver operating characteristics, SROC),最后进行敏感性分析及发表偏倚的评估。

**结果:**共8篇研究纳入本评价研究。Meta分析结果显示ARFI对NAFLD的合并敏感度和特异度分别为90%(95%CI: 86%-94%)、78%(95%CI: 73%-83%),合并阳性似然比及阴性似然比分别为3.57(95%CI: 2.19-5.81)、0.13(95%CI: 0.09-0.20),合并诊断比值比35.87(95%CI: 19.96-64.48)。SROC曲线下面积为0.9326, SE = 0.0169, 总诊断精确度Q\*指数为0.8683。

**结论:**ARFI具有较高的诊断效能,可作为诊断NAFLD的一种相对可靠、安全的无创诊断工具。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**声辐射力脉冲成像; 非酒精性脂肪性肝病; 诊断性影像学; Meta分析

**核心提示:**本研究采用Meta分析方法定性、定量地评价声辐射力脉冲成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)对非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的诊断价值,得出ARFI具有较高的诊断效能,可作为诊断NAFLD的一种相对可靠、安全的无创诊断工具的结论。

李曼蓉, 王跃, 宋雯, 陆伦根, 卜平. 声辐射力脉冲成像对非酒精性脂肪性肝病诊断价值的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 101-106 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/101.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.101>

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)与胰岛素抵抗、糖脂代谢异常等密切相关,他的发病率随着肥胖、血脂紊乱、糖尿病及代谢综合征的逐年增多而增高。NAFLD已成为欧美发达国家慢性肝病的首要病因,在我国仅次于慢性病毒性肝炎位居第2位。NAFLD包括单纯性非酒精性脂肪肝(simple non-

alcoholic fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝纤维化以及隐匿性肝硬化。诸多循证医学证据显示NAFLD可影响其他病因所致的慢性肝病的进展、诱导移植肝的复发,可进展为肝细胞癌,还可参与2型糖尿病和心血管疾病的发生。NAFLD可能作为代谢性疾病的一个早期可逆性干预治疗的潜在靶点,受到国内外学者的广泛关注。故NAFLD的诊断对其有效治疗、改善预后及预防糖尿病及心血管疾病等并发症的发生、发展有着重大意义。

目前肝穿刺病理诊断仍作为公认的诊断NAFLD的“金标准”。但因肝活检方法的有创性、并发症的发生风险及患者合作度差等缺点,在很大程度上限制了其在流行病学调查、前瞻性研究及长期随访研究中的广泛应用。因而迫切需要发展简便、可靠、安全的无创性诊断方法,NAFLD常用的无创诊断主要是血液样本肝酶谱水平和肝脏超声检查。由于血标本肝酶谱水平常低估疾病程度、漏诊率高,传统的超声检查有特异性较差的劣势,声辐射力脉冲弹性成像(acoustic radiation force impulse imaging, ARFI)技术应运而生。他又称为声触诊组织量化(virtual tough tissues quantification, VTQ)技术,通过发射声脉冲使组织局部产生横向震动和纵向压缩,从而产生剪切波速度来获得感兴趣区域组织的机械特性,可定量评估组织弹性测量的数值,是反映组织的硬度等物理性质的一种临床新技术。近年来国内外研究显示该技术能明显提高肝纤维化的诊断能力,但对NAFLD的诊断价值尚不肯定。本研究采用Meta分析方法对有关ARFI诊断NAFLD的文献进行全面、客观的系统评价,旨在为ARFI的临床应用提供最可靠的循证依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 检索PubMed、Medline、Web of Science、CNKI、WanFang Data、CBM、Google学术搜索,筛选国内外ARFI与NAFLD相关的随机对照试验,并追溯引文及引证文献进行了全面的文献检索。中文检索词为“声辐射力脉冲成像”、“声触诊组织量化技术”、“非酒精性脂肪性肝病”、“非酒精性单纯性脂肪肝”、“非酒精性脂肪性肝炎”、“肝纤维化”,英文检索词为“acoustic radiation force impulse imaging(ARFI)”、“virtual tough tissues quan-



表 1 纳入文献基本特征及QUADAS评分

作者	发表年份/ 国家	n	平均年龄(岁)	男性	真阳 性数	假阳 性数	假阴 性数	真阴 性数	cut- off(m/s)	QUADAS 评分
Osaki等 <sup>[4]</sup>	2010/Japan	21	57 ± 23.1	47.6	17	1	0	3	1.47	14
金清等 <sup>[5]</sup>	2010/China	100	NA	74.0	47	13	3	37	1.06	8
Yoneda等 <sup>[6]</sup>	2010/Japan	54	50.6 ± 13.7	NA	10	13	0	31	1.77	16
Palmeri等 <sup>[7]</sup>	2010/USA	172	NA	37.8	50	12	6	104	NA	13
曾令容 <sup>[8]</sup>	2011/China	37	45 ± 10.6	54.1	6	15	1	15	0.99	10
肖凯兰 <sup>[9]</sup>	2012/China	60	43.7 ± 13.55	46.7	24	4	6	26	1.06	10
Guzmán-Aroca等 <sup>[10]</sup>	2012/Spain	32	43.7 ± 10.4	56.3	20	1	4	7	1.30	14
张大鹏等 <sup>[11]</sup>	2012/China	67	34.7 ± 14.2	68.7	56	3	5	3	1.06	12

NA: 未获得数据。

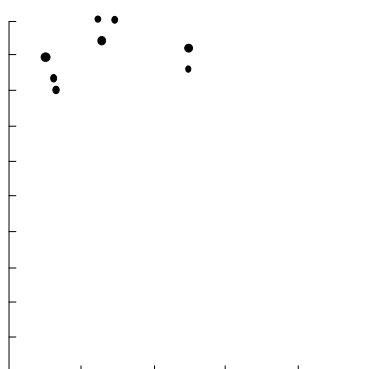


图 1 ROC平面散点图。

tification (VTQ)”、“non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD)”、“simple nonalcoholic fatty liver”、“nonalcoholic steatohepatitis (NASH)”、“liver fibrosis”。检索结果由两名研究者独立评阅, 若存在争议或不定时咨询第三方后确定。检索时限截至2013-08。

## 1.2 方法

1.2.1 文献纳入标准: (1) 研究内容: 有关ARFI诊断NAFLD的诊断性临床研究; (2) 研究语种: 限中、英文; (3) 研究对象, NAFLD组患者诊断标准符合2006年<sup>[1]</sup>或2010年<sup>[2]</sup>中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病工作组制定的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》; (4) 全文或摘要中能够直接或间接获得诊断试验的真阳性数(true positive, TP)、假阳性数(false positive, FP)、假阴性数(false negative, FN)及真阴性数(true negative, TN), 结果以表格形式表示。

1.2.2 文献排除标准: (1) 综述、个案报道、述评类文献及动物实验研究; (2) 无法获得全文或不能经摘要推算出数据的研究; (3) 数据重复发表。

1.2.3 资料提取和文献质量评价: 资料提取主要

包括作者、国家、发表时间、患者的年龄、性别比例、样本量及诊断试验的参数信息。用Cochrane协作网诊断性试验评价方法学采用的质量评价工具(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)<sup>[3]</sup>评价纳入文献的质量, 每个项目按“是”2分、“不清楚”1分、“否”0分3个标准进行综合评价, 总分22分。QUADAS得分越高, 文献质量越优。

**统计学处理** 首先, 采用MetaDisc1.4软件分析异质性, 预先检验是否存在阈值效应, 灵敏度(Se)、特异度(Sp)的异质性检验采用卡方检验, 阳性似然比(LR+)、阴性似然比(LR-)采用Cochran-Q检验。其次, 根据异质性的有无确定采用随机效应模型(有异质性)固定效应模型(无异质性)计算合并灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比及诊断比值比等统计学指标, 同时绘制汇总受试者工作特征曲线(SROC曲线), 估计试验的总诊断精确度。再次, 进行敏感性分析。最后, 采用STATA 12.0软件绘出Deeks图并计算P值, 检测及评价发表偏倚。

## 2 结果

2.1 纳入试验的特点及方法学质量 本研究最初检索到相关文献143篇, 其中英文115篇, 中文28篇。根据纳入与排除标准, 最终有8篇文献共543例病例纳入本次研究, 其中英文4篇, 中文4篇, 发表时间为2010-2012年, 发表国家为美国、日本、西班牙、中国。纳入文献基本特征及质量评估结果如表1。

2.2 异质性检验及各统计指标的Meta分析结果 使用Meta Disc1.4软件进行异质性分析, 由于诊断阈值不同可能导致相关统计指标准确

## ■ 相关报道

近年来国内外研究显示该技术能明显提高肝纤维化的诊断能力, 但各家报道不一, 并且样本量不大, 故对NAFLD的诊断价值尚不肯定。

## ■ 创新盘点

本研究采用Meta分析方法定性、定量地对有关ARFI诊断NAFLD的文献进行全面、客观的系统评价,旨在为ARFI对NAFLD诊断的临床应用提供最可靠的循证依据。

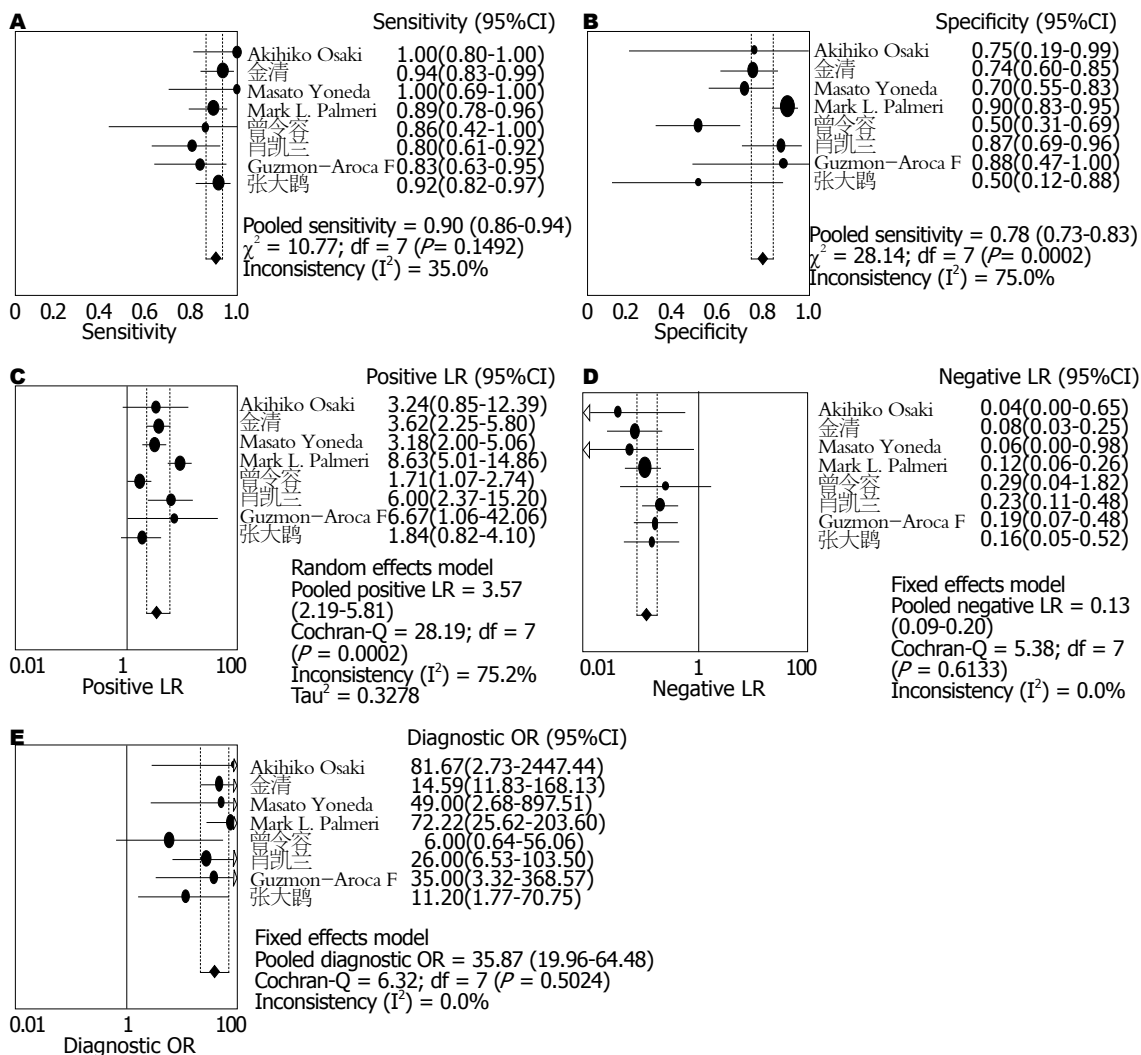


图2 各指标的Meta分析合并森林图。A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比; E: 诊断比值比。

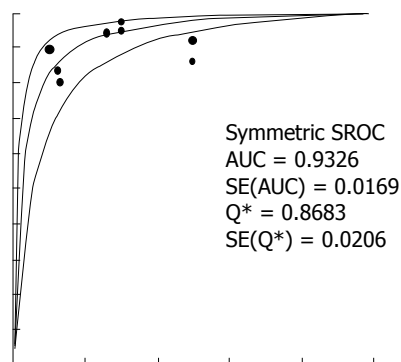


图3 SROC曲线。

度的差异而产生阈值效应,因而首先检验是否存在阈值效应。当存在阈值效应时,敏感性与(1-特异度)呈阳性关联,ROC平面散点分布呈典型的“肩臂形”,Spearman相关分析提示强阳性关联。本研究中,可见Meta Disc1.4软件输出的ROC平面散点图不是典型的“肩臂

形”外观(图1),同时Spearman相关系数,  $r_s = 0.374$ ,  $P = 0.362$ ,提示本研究中敏感性与(1-特异度)呈阴性关联,不存在阈值效应。然后,对其他来源的异质性进行检验,结果提示各研究间的灵敏度( $\chi^2 = 10.77$ ,  $P = 0.1492$ )、特异度( $\chi^2 = 28.14$ ,  $P = 0.0002$ )、LR+(Cochran-Q = 28.19,  $P = 0.0002$ )、LR-(Cochran-Q = 5.38,  $P = 0.6133$ )、dOR (Cochran-Q = 6.32,  $P = 0.5024$ ),其中特异度、LR+两者存在异质性,灵敏度、LR-、dOR均是同质的。异质性结果采用随机效应模型合并统计结果,同质性结果则采用固定效应模型合并统计结果。其合并敏感度(图2A)和特异度(图2B)分别为90%(95%CI: 86%-94%)、78%(95%CI: 73%-83%),合并LR+(图2C)及LR-(图2D)分别为3.57(95%CI: 2.19-5.81)、0.13(95%CI: 0.09-0.20),合并dOR为35.87(95%CI: 19.96-64.48)。绘制ARFI诊断的SROC曲线图(图3),AUC为0.9326, SE = 0.0169,

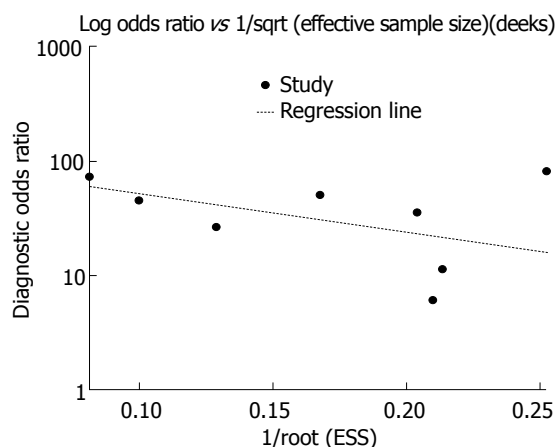


图4 发表偏倚的Deeks图。

总诊断精确度 $Q^*$ 指数分别为0.8683。

**2.3 敏感性分析结果** 为了考察本Meta分析结论的敏感性, 采用逐一排除的方法, 其结果均与原有纳入的8项研究的结果基本一致, 各评价指标均变化不大, 且可信区间大致重叠。说明本研究的结果稳定、可靠。

**2.4 发表偏倚的检验结果** 为了检验及评价本研究的发表偏倚, 采用STATA12.0绘出Deeks图(图4), 图中研究分布于相关线附近, 呈大致对称分布, 提出本研究存在发表偏倚的可能较小。计算出 $P = 0.116 > 0.05$ , 再次提示本次Meta分析不存在发表偏倚, 结果较为可靠。

### 3 讨论

2012年由美国肝脏病学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)、美国胃肠病学院(American College of Gastroenterology, ACG)和胃肠病学会(American Gastroenterological Association, AGA)共同起草并发表于Hepatology杂志的《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》<sup>[12]</sup>, 对于评估NAFLD患者是否存在NASH和进展期肝纤维化, 仍推荐行肝组织病理检查确诊。近年来, 诊断影像学技术的高速发展, 诸多学者用瞬时弹性测定、ARFI等特殊超声检查无创评估NAFLD患者是否存在NASH和进展期肝纤维化<sup>[13-16]</sup>。但其诊断的敏感性及特异性尚不肯定, 且大多为小样本研究。因此本研究采用Meta分析方法对多个同类的临床研究结果进行综合定量分析, 从统计学角度增大样本含量, 提高检验效能, 对国内外使用ARFI诊断NAFLD的临床研究做一系统评价。

8项ARFI诊断NAFLD的临床研究的综合定量

分析结果显示合并灵敏度和特异度较高, 分别为90%(95%CI: 86%-94%)、78%(95%CI: 73%-83%), 似然比属于同时反映灵敏度和特异度的复合指标, 本研究LR+为3.57, 提示NAFLD患者经ARFI检查结果为阳性的机会是非NAFLD患者的3.57倍; NLR为0.13, 提示ARFI检查错误判断阴性的机会是正确判断的13%。总诊断优势比为35.87, 远大于1, 说明NAFLD患者比非NAFLD患者更有可能获得ARFI检查的阳性结果, 前者是后者的35.87倍, 他反映了诊断效能, 全面评价了诊断检查的准确性及判别能力。SROC曲线分析通过曲线下的面积及 $Q^*$ 的大小进一步显示了诊断检查准确度的高低,  $AUC = 0.9326$ ,  $Q = 0.8683$ , 均接近1, 表明ARFI检查对NAFLD患者诊断的准确度很高。且经敏感性分析及发表偏倚的评估, 提示本研究的结论稳定和可靠。

本研究存在以下不足之处: 检索文献语言仅限于中、英文, 可能存在语种偏倚; 由于ARFI是新的诊疗技术, 其诊断NAFLD的相关文献数量不多, 故纳入文献数量及样本量均相对较少; 尽管采取多种途径从多个数据库全面检索正式发表文献, 但由于多种原因未能发表的文献均不在研究之列, 且阳性结果的研究常较阴性结果的研究更容易发表, 所以可能存在潜在的发表偏倚。

虽然本研究存在上述不足, 但本研究从循证医学的角度用科学的方法荟萃分析了ARFI对NAFLD的诊断价值, 得出ARFI对NAFLD患者具有较高诊断效能。鉴于本研究中样本量较小, 期待更多的设计严谨、大样本、多中心的高质量诊断学临床研究, 以获得更为合理可靠的循证医学证据, 更准确地为广大临床工作者和医疗卫生决策者提供参考。

### 4 参考文献

- 1 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2006; 14: 161-163
- 2 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 中华肝脏病杂志 2010; 18: 163-166
- 3 Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960]
- 4 Osaki A, Kubota T, Suda T, Igarashi M, Nagasaki K, Tsuchiya A, Yano M, Tamura Y, Takamura M, Kawai H, Yamagiwa S, Kikuchi T, Nomoto M, Aoyagi Y. Shear wave velocity is a useful marker

### 应用要点

本文显示ARFI对NAFLD患者具有较高诊断效能, 是一无创、安全、简便、可靠的诊断手段。



## ■同行评价

本文方法合理, 数据真实可信, 具有较好的科学性。

- 5 金清, 赵明珠. 应用声辐射力脉冲成像技术评估非酒精性单纯性脂肪肝的初步经验. 中华医学超声杂志 2010; 7: 1004-1008
- 6 Yoneda M, Suzuki K, Kato S, Fujita K, Nozaki Y, Hosono K, Saito S, Nakajima A. Nonalcoholic fatty liver disease: US-based acoustic radiation force impulse elastography. *Radiology* 2010; 256: 640-647 [PMID: 20529989]
- 7 Palmeri ML, Wang MH, Rouze NC, Abdelmalek MF, Guy CD, Moser B, Diehl AM, Nightingale KR. Noninvasive evaluation of hepatic fibrosis using acoustic radiation force-based shear stiffness in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 666-672 [PMID: 21256907]
- 8 曾令容. 超声声触诊组织定量在肝脏实质弥漫性病变鉴别诊断中的初步应用. 长沙: 中南大学, 2011
- 9 肖凯兰. 声脉冲辐射力技术定量评估肝实质病变的价值. 长沙: 中南大学, 2012
- 10 Guzmán-Aroca F, Frutos-Bernal MD, Bas A, Luján-Mompeán JA, Reus M, Berná-Serna Jde D, Parrilla P. Detection of non-alcoholic steatohepatitis in patients with morbid obesity before bariatric surgery: preliminary evaluation with acoustic radiation force impulse imaging. *Eur Radiol* 2012; 22: 2525-2532 [PMID: 22648049]
- 11 张大鹏, 陈敏, 王瑞芳, 刘阳, 董晓宇, 李志艳, 周光德. 声辐射力脉冲成像定量评价非酒精性脂肪性肝病与病理对照研究. 中华临床医师杂志 2012; 6: 4253-4257
- 12 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023 [PMID: 22488764]
- 13 Mahadeva S, Mahfudz AS, Vijayanathan A, Goh KL, Kulenthiran A, Cheah PL. Performance of transient elastography (TE) and factors associated with discordance in non-alcoholic fatty liver disease. *J Dig Dis* 2013; 14: 604-610 [PMID: 23859493]
- 14 Fierbinteanu Braticevici C, Sporea I, Panaitescu E, Tribus L. Value of acoustic radiation force impulse imaging elastography for non-invasive evaluation of patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Ultrasound Med Biol* 2013; 39: 1942-1950 [PMID: 23932277]
- 15 Kim D, Kim WR, Talwalkar JA, Kim HJ, Ehman RL. Advanced fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease: noninvasive assessment with MR elastography. *Radiology* 2013; 268: 411-419 [PMID: 23564711]
- 16 Friedrich-Rust M, Romen D, Vermehren J, Kriener S, Sadet D, Herrmann E, Zeuzem S, Bojunga J. Acoustic radiation force impulse-imaging and transient elastography for non-invasive assessment of liver fibrosis and steatosis in NAFLD. *Eur J Radiol* 2012; 81: e325-e331 [PMID: 22119555 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.10.029]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 慢性乙型肝炎湿热中阻证的血浆代谢组学

刘友平, 李波, 张光海, 米绍平, 李洪, 魏巍

刘友平, 李洪, 泸州医学院生物化学教研室 四川省泸州市 646000

魏巍, 李波, 张光海, 米绍平, 泸州医学院附属中医医院肝胆内科 四川省泸州市 646000

刘友平, 教授, 主要从事生物化学与分子生物学教学及肝脏疾病的分子机制的研究。

四川省教育厅科技基金资助项目, Nos. 2009ZA048, 13ZA0239

作者贡献分布: 刘友平、李波及魏巍对此论文做贡献均等; 此课题设计由魏巍与刘友平完成; 样本收集及研究过程由李波、张光海及米绍平操作完成; 数据分析由刘友平、李洪及李波共同完成; 本论文写作由刘友平与魏巍共同完成。

通讯作者: 魏巍, 教授, 646000, 四川省泸州市江阳区忠山路三段319号, 泸州医学院附属中医医院肝胆内科。

weimei62@126.com

收稿日期: 2013-10-15 修回日期: 2013-10-29

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

### Metabonomic analysis of plasma samples from chronic hepatitis B patients with damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome

You-Ping Liu, Bo Li, Guang-Hai Zhang, Shao-Ping Mi, Hong Li, Mei Wei

You-Ping Liu, Hong Li, Department of Biochemistry, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Mei Wei, Bo Li, Guang-Hai Zhang, Shao-Ping Mi, Department of Liver Diseases, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of the Education Department of Sichuan Province, Nos. 2006C085 and 13ZA0239

Correspondence to: Mei Wei, Professor, Department of Liver Diseases, the Affiliated Traditional Chinese Medicine Hospital of Luzhou Medical College, 319 Zhongshan Road, Jiangyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. weimei62@126.com

Received: 2013-10-15 Revised: 2013-10-29

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the molecular mechanisms of damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome in patients with chronic hepatitis B.

**METHODS:** Plasma samples were collected prospectively from normal controls ( $n = 20$ ) and patients with chronic hepatitis B and damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome (DHSS)

(TM1 group:  $n = 20$ ) and analyzed using ultra-performance liquid chromatography (LC)/time-of-flight mass spectrometry (MS) coupled with orthogonal partial least squares-discriminant analysis (OPLS-DA).

**RESULTS:** Significant metabonomic differences were observed between the two groups. Plasma levels of 14 metabolites in the TM1 group were obviously altered compared with those in the control group ( $P < 0.05$ ), among which taurochenodeoxycholic acid, 7b-hydroxy-3-oxo-5b-cholanoic acid, glycochenodeoxycholic acid 3-glucuronide, glycochenodeoxycholate-3-sulfate and cholic acid glucuronide are related to the metabolism of bile acids, lysophosphatidylcholine (lysoPC), lysophosphatidylethanolamine (LysoPE) (C22:1), 3b,16a-dihydroxyandrostene sulfate, phosphatidylcholine (PC) (C22:6), phosphatidylethanolamine (PE) (C24:1), lysophosphatidylcholine (lysoPC) (C18:2) and 13'-hydroxy- $\alpha$ -tocopherol are related to the metabolism of lipids.

**CONCLUSION:** There are significant metabonomic differences between normal controls and patients with chronic hepatitis B and DHSS, and these metabolites may be used as potential biological markers for DHSS in patients with chronic hepatitis B.

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

**Key Words:** Chronic hepatitis B; DHSS; Plasma; Metabonomics

Liu YP, Li B, Zhang GH, Mi SP, Li H, Wei M. Metabonomic analysis of plasma samples from chronic hepatitis B patients with damp-heat stasis in the middle-jiao syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 107-113 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.107>

### 摘要

**目的:** 从代谢组学的角度探讨慢性乙型肝炎湿热中阻证的分子机制。

**方法:** 采用超高性能液相色谱与质谱(UPLC-

### ■背景资料

肝脏是人体消化系统中最大的消化腺, 是人体内以代谢功能为主参与新陈代谢的重要器官。代谢组学就是对机体代谢终端产物进行综合性多元化分析, 从整体上展示生物体复杂的内在变化状态。组学所具备的整体性、复杂性、时空性和动态性等特点与中医理论中注重整体研究, 强调功能联系的观点是相通的。因此采用代谢组学研究慢性乙型肝炎湿热中阻证血浆代谢谱改变可为该病证候及辨证的规范化提供一定的科学依据。

### ■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

## ■ 研发前沿

中医的核心思想是“辨证论治”，其中，辨证是论治的前提，但长期以来中医对“证”的判断主观性较强，缺乏规范化的客观性标准。因此，对慢性乙型肝炎中医证候客观化研究已成为当务之急。

Q-TOP/MS)联用技术并结合正交偏最小二乘方-判别分析(OPLS-DA)进行对比分析慢性乙型肝炎湿热中阻证与正常对照组血浆代谢物水平。

**结果:**慢性乙型肝炎湿热中阻证组与正常对照组有明显的代谢图谱分离;慢性乙型肝炎湿热中阻证组比较正常对照组有14种代谢产物主成分差异,其中牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、胆酸葡萄糖醛酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸等主要与胆汁酸代谢密切相关;溶血磷脂酰胆碱(C18:3)、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、二羟基雄甾烯酮硫酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、13'-羧基- $\alpha$ -生育酚等主要与脂类代谢密切相关。

**结论:**慢性乙型肝炎湿热中阻证患者与健康者存在代谢产物主成分差异,这些代谢产物主成分差异可能是慢性乙型肝炎湿热中阻证的潜在分子标志物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**慢性乙型肝炎;湿热中阻证;血浆;代谢组学

**核心提示:**本研究发现慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B)湿热中阻证患者升高的溶血磷脂成分如溶血磷脂酰胆碱(C18:3; C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)等以及升高的疏水性胆汁酸成分如牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸等均对肝脏有明显的损伤作用。

刘友平, 李波, 张光海, 米绍平, 李洪, 魏崛. 慢性乙型肝炎湿热中阻证的血浆代谢组学. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 107-113 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/107.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.107>

## 0 引言

目前世界上有超过4亿例乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染者(大约占世界人口的5%)<sup>[1]</sup>, 并且, HBV感染容易发展成为慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)、肝硬化和肝细胞癌<sup>[2]</sup>, 因此慢性乙型肝炎的防治是一个全球性公共卫生问题, 已引起世界各国的关注. 近年来, 祖国传统医学在治疗CHB上显示出独特的优势. 中医的核心思想是“辨证论治”, 其中, 辨证是论治的前提, 但长期以来中医对“证”的判断主观性较强, 缺乏规范化的客观性标准. 近年来国内外不少学者采用多种方法对中医“证”的

内涵进行了研究, 但单层次、单系统的研究所发现的证候的微观指标, 很难全面揭示“证”的科学内涵<sup>[3]</sup>. 近年来, 随着系统生物学的逐步深入, 组学已成为目前中医药研究中最活跃的领域之一. 组学所具备的整体性、复杂性、时空性和动态性等特点与中医理论中注重整体研究, 强调功能联系的观点是相通的<sup>[4]</sup>. 如代谢组学, 是对机体代谢终端产物进行综合性多元化分析, 他抛开了体内纷繁复杂的网络式代谢过程和生物分子相互作用过程, 从整体上展示生物体复杂的内在变化状态<sup>[5]</sup>. 因此, 代谢组学是最接近生物表型和最能有效反映细胞个体或群体功能的表征技术<sup>[6]</sup>. 本研究选取慢性乙型肝炎湿热中阻证患者为研究对象, 引入代谢组学方法, 以超高效液相色谱仪与四极杆飞行时间串联质谱仪联用技术(UHPLC-Q-TOF/MS)为平台, 研究慢性乙型肝炎湿热中阻证患者与正常对照组血浆代谢表型的变化, 从分子水平上进一步探讨慢性乙型肝炎湿热中阻证的分子机制. 为慢性乙型肝炎湿热中阻证型的物质基础研究提供现代科学依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究对象均来自2011-02/2012-01泸州医学院附属中医医院门诊及体检中心, 年龄18-68岁, 男女不限. 研究对象的选取由医院道德委员会批准, 且所有研究对象均填写了知情同意书. 实验分两组: 正常对照组(Ctrl)(体检为无乙型肝炎感染史健康人)、慢性乙型肝炎湿热中阻证组(TM1), 每组20例, 组间在性别、年龄、并发症及临床阶段均无显著性差异( $P>0.05$ ). CHB湿热中阻证患者的收集由两名接受过严格培训的副高以上中医师辨证收集. 慢性乙型肝炎诊断标准: 参照2000年中华医学会肝病分会、传染病与寄生虫病学会修订的《病毒性肝炎防治方案》. 临床符合慢CHB, 并有一种以上HBV-感染标志阳性. CHB中医辨证分型标准按照国家中医药管理局《中医病证诊断疗效标准》制定1991-12中华医学会内科肝病专业委员会天津会议讨论制定的《病毒性肝炎中医辨证标准(试行)》进行病例纳入标准: (1)符合慢性乙型肝炎诊断标准; (2)符合慢性乙型肝炎湿热中阻证: 主证-身目发黄, 色泽鲜明, 苔黄腻; 次证-恶心、厌油, 纳呆; 肋胀脘闷. 病例排除标准: (1)合并其他病毒感染者; (2)年龄<18岁或>68岁者; (3)孕妇及其他药瘾者; (4)急性肝炎、肝硬化、



肝癌及其并发症患者; (5)不符合中医辨证分型标准者; (6)合并其他严重心脑血管、肺、肾和造血系统疾病者. 美国Waters Acquity UPLC超高效液相色谱仪, 美国Waters Q-TOF Premier质谱仪购自美国Waters公司. LC/MS级乙腈购自J. T. Baker公司(USA); HPLC级甲醇购自Merck公司(Darmstadt, Germany); 甲酸购自Fluka公司(Buchs, Switzerland), 亮氨酸-脑啡肽(leucine-enkephalin, LE)标准品购自Sigma公司(USA). 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate transaminase, AST)、球蛋白(globulin, GLO)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)检测试剂盒购自上海荣盛生物试剂厂. 其他试剂均为市售分析纯.

## 1.2 方法

1.2.1 样品收集及处理: 实验对象不做任何治疗, 记录体检肝功、B超、HBV DNA等检查结果, 并抽取所有实验对象空腹外周血EDTA抗凝, 3000 r/min离心10 min后收集血浆100  $\mu$ L置于200  $\mu$ L Eppendorf管中, 置-80  $^{\circ}$ C冰箱保存. 所有血浆进行代谢组学分析前, 先在室温下解冻, 震荡1 min. 向100  $\mu$ L样本中加入400  $\mu$ L色谱级甲醇: 乙腈 = 1:1, 漩涡震荡2 min后于4  $^{\circ}$ C放置10 min, 4  $^{\circ}$ C离心(15000  $g$ )15 min, 取上清液400  $\mu$ L, 4  $^{\circ}$ C离心(15000  $g$ )10 min, 取200  $\mu$ L上清液进行LC-MS全谱检测.

1.2.2 UHPLC-MS分析: (1)液相色谱条件: 色谱分离的仪器分析平台为Acquity Ultra Performance LC Q-TOF premie(Waters), 分离色谱柱为Waters ASQUITY UPLC C18色谱柱(100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu$ m)及UPLC C18保护柱(2.1 mm  $\times$  5 mm). 色谱分离条件为: 柱温为40  $^{\circ}$ C; 流速0.4 mL/min; 流动相组成A: 水+0.1%甲酸, B: 乙腈+0.1%甲酸; 进样量为5  $\mu$ L, 自动进样器温度4  $^{\circ}$ C; (2)质谱条件: 质谱分析分别采用ESI正离子和负离子两种模式进行检测; 以氮气作为雾化、锥孔气; 飞行管检测模式V型. 电喷雾正电离(electrospray Ionization, 简记为ESI+)模式条件为: 毛细管电压(capillary voltage)3 kV、锥孔电压(sampling cone)35 kV、离子源温度(source temperature)100  $^{\circ}$ C; 脱溶剂气温度(desolvation temperature)300  $^{\circ}$ C、反向锥孔气流(cone gas flow)50 L/h、脱溶剂气流量(desolvation gas flow)600 L/h、萃取锥孔(extraction cone)4 V. 负离子模式(ESI-)条件为: 毛细管电压(capillary

voltage)3 kV、锥孔电压50 kV、离子源温度100  $^{\circ}$ C; 脱溶剂气温度350  $^{\circ}$ C、反向锥孔气流50 L/h、脱溶剂气流量700 L/h、萃取锥孔4 V. 为确保质量的准确性和重复性, 应用亮氨酸-脑啡肽作为锁定质量, 正离子模式下产生[M+H]<sup>+</sup>离子556.2771 Da, 负离子模式下产生[M-H]<sup>-</sup>离子554.2615 Da; (3)实验数据分析: 将UPLCQ-TOF-MS获得的原始质谱数据导入MarkerLynx软件包(waters, USA), 进行峰识别、峰对齐和基线矫正等预处理, 最后输出三维矩阵, 即由精确质核比与保留时间组成的变量、样品名称和峰强度/面积. 将处理后的数据矩阵导入Simca-P软件(版本11.5)分别进行主成分分析(PCA)及正交偏最小二乘方判别分析(OPLS-DA). 对正常对照组和慢性乙型肝炎湿热中阻证组进行模式识别, 并寻找组间较大差异性代谢物, 并对这些物质进行初步鉴定.

**统计学处理** 所有数据的统计分析在Excel及SPSS11.0软件上进行, 组间比较采用 $t$ 检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 两组实验室生化指标对比观察 与正常组比较, 慢性乙型肝炎湿热中阻证组血浆中ALT、AST、GLO、TBIL、DBIL、HBV DNA水平平均升高( $P<0.05$ ), 总蛋白(total protein, TP)轻度降低( $P<0.05$ )(表1).

2.2 血浆UPLC/Q-TOF-MS 代谢图谱分析 对所有质控样本(quality control, QC)的总离子流色谱图(TIC)进行检查, 重现性良好, 未发现含有异常总离子流色谱图(TIC)的样本(图1). 由于QC样本均匀分散在整个实验过程中, 说明系统稳定性良好, 数据可靠性良好, 可以满足代谢组学研究的要求.

2.3 两组代谢组学图谱的实验数据对比分析

2.3.1 正交偏最小二乘方-判别分析(OPLS-DA): 采用有监督的多维统计分析方法-正交偏最小二乘方-判别分析(orthogonal partial least squares-discriminant analysis, OPLS-DA)对两组样本之间的差异进行模型分析. 采用(pareto scaling)标度化, 首先对全部数据进行OPLS-DA建模, 然后采用正交信号校正技术(orthogonal signal correction, OSC)滤掉与类别判断正交不相关的变量信息, 保留与类别判断有关的变量, 再进行偏最小二乘方-判别分析(partial least squares discrimination analysis, PLS-DA)分析, 发现各组之间在

### ■相关报道

Debois等认为, 代谢组学是最接近生物表型和最能有效反映细胞个体或群体功能的表征技术.

## ■创新盘点

本研究通过超高性能液相色谱与质谱(UPLC-Q-TOF/MS)联用技术对比分析慢性乙肝湿热中阻证与正常对照组血浆代谢物水平发现:两组间有明显的代谢图谱分离;慢性乙肝湿热中阻证组比较正常对照组有14种代谢产物成分差异,如溶血磷脂酰胆碱(C18:3; C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、磷脂酰胆碱(C22:6)、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-硫酸盐等,以上这些差异表现的代谢物成分主要与脂类及胆汁酸代谢相关。

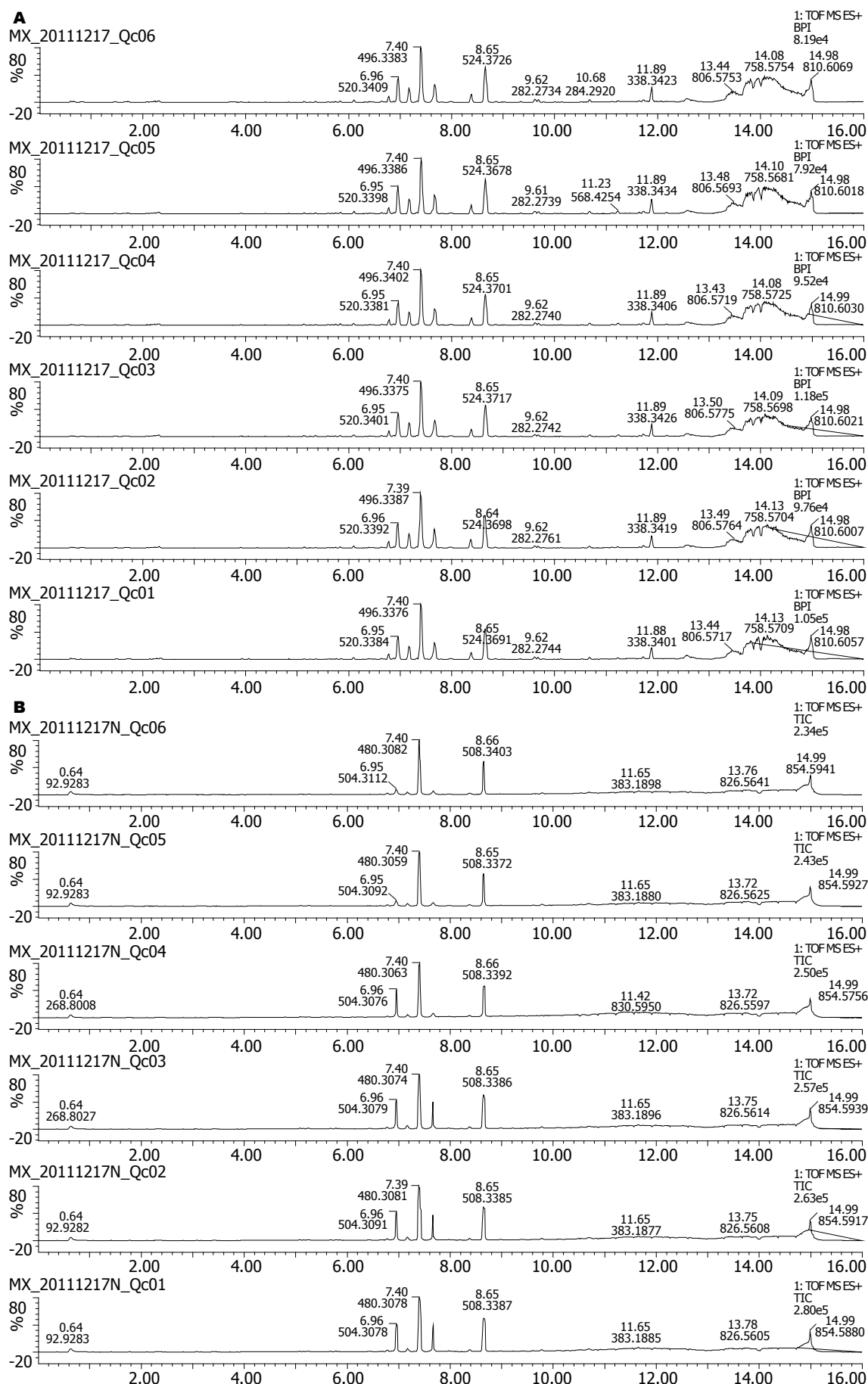


图1 血浆总离子流色谱图: A: 正离子模式下QC样品的UPLC Q-TOF MS总离子流(TIC)重现性比较; B: 负离子模式下QC样品的UPLC Q-TOF MS总离子流(TIC)重现性比较。

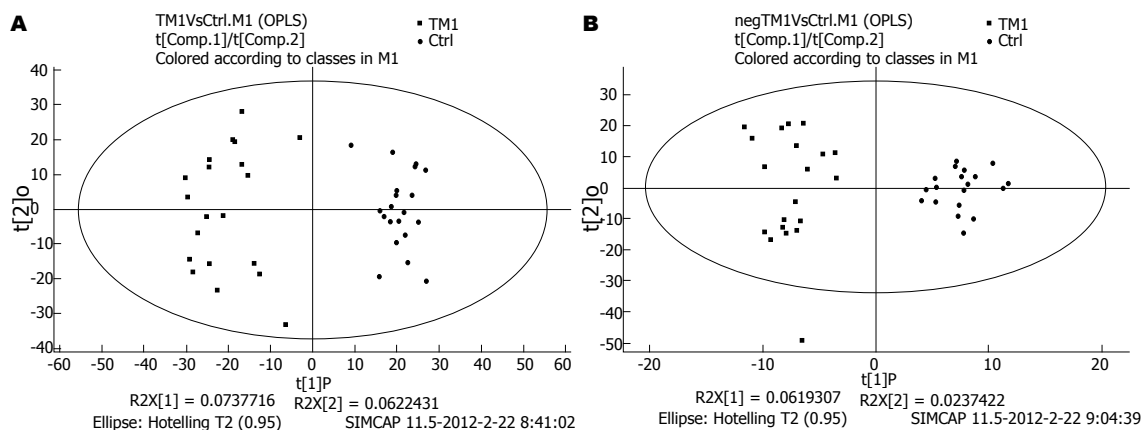


图2 两组间OPLS-DA分析结果. A: 两组间ESI+模式下OPLS-DA分析; B: 两组间ESI-模式下OPLS-DA分析.

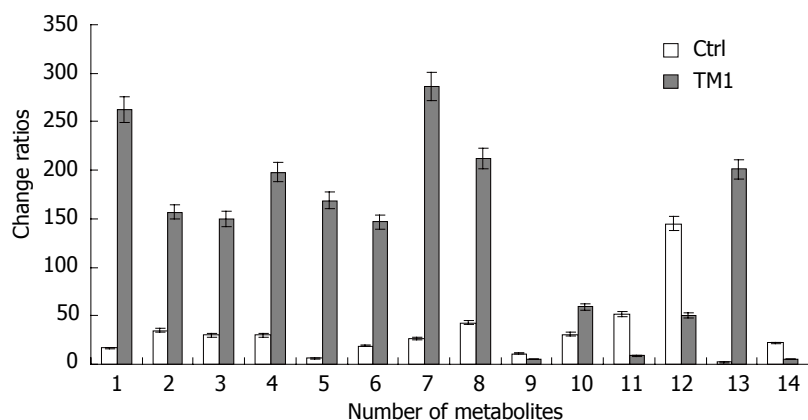


图3 两组间潜在差异代谢物的变化比率.

表1 3组样本血浆中生化指标水平比较 ( $n = 20$ , mean  $\pm$  SD)

	正常组	慢性乙型肝炎湿热中阻证组
总蛋白(g/L)	65.12 $\pm$ 3.95	54.14 $\pm$ 2.74
球蛋白(g/L)	23.58 $\pm$ 2.21	31.82 $\pm$ 2.55
谷丙转氨酶(U/L)	29.52 $\pm$ 7.02	282.62 $\pm$ 112.89
天冬氨酸转氨酶(U/L)	32.38 $\pm$ 4.87	850.25 $\pm$ 140.01
总胆红素( $\mu$ mol/L)	14.13 $\pm$ 2.33	67.14 $\pm$ 2.735
直接胆红素( $\mu$ mol/L)	8.93 $\pm$ 1.36	43.92 $\pm$ 3.86
HBV DNA (cps/mL)	<1000	3.6 $\times 10^6 \pm 6520.24$

OPLS-DA得分图上具有很好的代谢谱分离, 表明两组样本之间具有显著的代谢差异(图2).

2.3.2 差异性代谢物的鉴定: 采用OPLS-DA模型第一主成分的VIP(variable importance in the projection)值[阈值>2(负离子)或阈值>3(正离子)], 并结合学生氏*t*检验的*P*值(阈值<0.05)来寻找差异性表达代谢物, 并将*P*<0.05的化合物进行二级

质谱定性. 差异性代谢物的定性方法为: 根据精确分子量搜索Met lin和HMDB数据库, 搜索质量阈值设定为25 ppm. 最终分析发现: CHB湿热中阻证观察组与正常对照组比较共14种代谢物发生显著性量的改变(*P*<0.05)(表2, 图3); 其中有4种代谢物相对对照组是降低的(图3), 其余均升高.

### 3 讨论

本研究以UHPLC-Q-TOF/MS为平台, 对CHB湿热中阻证患者及正常对照组进行血浆代谢谱对比分析发现: 两组间具有很好的代谢谱分离, 表明两组样本之间具有显著的代谢差异, 所以采用此方法进行慢性乙型肝炎湿热中阻证机制的研究是可行的. 进一步对两组数据进行分析发现, 慢性乙型肝炎湿热中阻证组较正常对照组共有14个代谢物发生显著性量的变化(*P*<0.05), 其中仅 $\alpha$ -蒎烯氧化物、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、胆酸葡萄糖醛酸、磷脂酰胆碱(C22:6)4种代谢物与对照组比较为显著性下降

### 应用要点

慢性乙型肝炎湿热中阻证组比较正常对照组有14种代谢产物主成分差异, 这些差异代谢物大多数对肝脏有明显的损伤作用. 因此, 这些差异代谢物可能是导致慢性乙型肝炎湿热中阻证严重肝损伤的罪魁祸首, 也是慢性乙型肝炎湿热中阻证发生发展机制的标志性代谢产物.



## ■同行评价

本文从分子水平上探讨慢性乙肝湿热中阻证的分子机制,可为慢性乙肝湿热中阻证型的物质基础研究提供现代科学依据。

表 2 正常对照组(Ctrl)与观察组(TM1)差异化合物比较

编号	代谢物	离子模式	分子量	P值 (TM1vsCtrl)	变化比率 (Ctrl/TM1)	相关代谢途径/功能
1	牛磺鹅脱氧胆酸	ESI-	498.285	0.0015	17/262	胆汁酸代谢
2	溶血磷脂酰胆碱	ESI-	516.294	0.0001	35/157	脂类代谢
3	胆烷酸	ESI-	401.305	0.0001	30/150	胆汁酸代谢
4	甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸	ESI-	624.338	0.0013	30/198	胆汁酸代谢
5	甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-硫酸盐	ESI-	564.227	0.0015	6/169	胆汁酸代谢
6	2,6-二氨基-4-羟基-5-N-甲基甲酰胺嘧啶	ESI-	548.228	0.0001	19/147	核苷酸代谢
7	溶血磷脂酰乙醇胺	ESI-	556.331	0.0005	27/286	脂类代谢
8	二羟基雄甾烯酮硫酸	ESI-	383.152	0.0012	43/212	脂类代谢
9	$\alpha$ -蒎烯氧化物	ESI-	151.112	0.0009	11/5	细胞信号转导/膜的稳定性
10	13'-羟基- $\alpha$ -生育酚	ESI-	445.331	0.0014	31/59	脂类代谢
11	胆酸葡萄糖醛酸	ESI-	583.312	0.0004	52/9	胆汁酸代谢
12	磷脂酰胆碱	ESI+	852.563	0.0001	145/50	脂类代谢
13	磷脂酰乙醇胺	ESI+	822.569	0.0021	2/201	脂类代谢
14	溶血磷脂酰胆碱	ESI+	520.339	0.0026	22/5	脂类代谢

外,其余都为显著性上升。其中牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、胆酸葡萄糖醛酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸等主要与胆汁酸代谢密切相关;溶血磷脂酰胆碱(C18:3)、溶血磷脂酰胆碱(C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、二羟基雄甾烯酮硫酸、磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、13'-羟基- $\alpha$ -生育酚等主要与脂类代谢密切相关。相关研究表明:CHB患者普遍都存在脂类代谢紊乱及胆汁酸代谢紊乱<sup>[7]</sup>。可见,慢性乙型肝炎湿热中阻患者也不例外。

有研究报道,表达乙型肝炎病毒的肝细胞可产生与内质网相关的、包括溶血磷脂在内的内源性抗原脂质,这些内源性抗原脂质是由乙型肝炎病毒诱导分泌的磷脂酶产生的,可诱导自然杀伤T细胞(natural killer T cell, NKT)的激活<sup>[8]</sup>,从而导致内质网内脂质环境的失衡ER<sup>[9]</sup>。本研究发现,CHB湿热中阻证患者中溶血磷脂酰胆碱(C18:3; C18:2)、溶血磷脂酰乙醇胺(C22:1)、磷脂酰胆碱(C22:6)、磷脂酰乙醇胺(C24:1)、13'-羟基- $\alpha$ -生育酚等与脂质代谢相关的代谢成分发生了明显的代谢紊乱,其中溶血磷脂酰胆碱(C18:2)和磷脂酰胆碱(C22:6)为明显降低成分外,其余为升高成分,而溶血磷脂是各种甘油磷脂经水解脱去一个脂酰基后的产物,是一类具有较强表面活性的物质,对血管内皮细胞有直接毒害作用作用,能使红细胞及其他细胞膜破裂,引起溶血或细胞坏死<sup>[10-12]</sup>。可见,以上升高的溶

血磷脂成分可能是慢性乙型肝炎湿热中阻证肝损伤机制之一。

此外在对肝脏损伤机制的研究过程中,胆盐毒性作用学说一直是大家认可和关注的焦点,特别是疏水性胆汁酸,如胆酸、牛磺鹅脱氧胆酸、鹅脱氧胆酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸、和石胆酸。大量研究表明疏水性胆汁酸具有很强的细胞毒性损伤作用,在体内外均可诱导肝细胞明显凋亡<sup>[13-15]</sup>。本研究发现:CHB湿热中阻证患者中牛磺鹅脱氧胆酸、胆烷酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-葡萄糖醛酸、甘氨酸鹅脱氧胆酸-3-硫酸盐等胆汁酸成分相对健康正常组均显著升高( $P<0.05$ ),且其中大部分都是疏水性胆汁酸。可见,这些升高的疏水性胆汁酸成分可能是慢性乙型肝炎湿热中阻证患者肝损伤机制的另一主要原因之一。

总之,以上这些差异表现的代谢物成分主要与脂类及胆汁酸代谢相关,而肝脏在脂类和胆汁酸的代谢中均起着重要作用。可见,以上这些差异代谢物可能是导致慢性乙型肝炎湿热中阻证严重肝损伤的罪魁祸首,也是CHB湿热中阻证发生发展机制的标志性代谢产物。

## 4 参考文献

- 1 Wu B, Shen J, Cheng H. Cost-effectiveness analysis of different rescue therapies in patients with lamivudine-resistant chronic hepatitis B in China. *BMC Health Serv Res* 2012; 12: 385 [PMID: 23137013 DOI: 10.1186/1472-6963-12-385]
- 2 Tiollais P, Pourcel C, Dejean A. The hepatitis B virus. *Nature* 1985; 317: 489-495 [PMID: 2995835 DOI: 10.1038/317489a0]

- 10.1038/317489a0]
- 3 杜武勋, 朱明丹, 袁宏伟, 冯利民, 朱林平, 刘岩, 周营, 魏聪聪, 张少强. 病证结合, 方证相应的系统-系统的方证相应动态研究. *中国中西医结合杂志* 2012; 32: 839-842
- 4 丁海拔, 盛梅笑. 从组学探讨中医证候本质的研究概况. *现代中西医结合杂志* 2010; 19: 502-504.
- 5 Nicholson JK, Holmes E, Lindon JC, Wilson ID. The challenges of modeling mammalian biocomplexity. *Nat Biotechnol* 2004; 22: 1268-1274 [PMID: 15470467 DOI: 10.1038/nbt1015]
- 6 Debois D, Bralet MP, Le Naour F, Brunelle A, Laprévote O. In situ lipidomic analysis of nonalcoholic fatty liver by cluster TOF-SIMS imaging. *Anal Chem* 2009; 81: 2823-2831 [PMID: 19296690 DOI: 10.1021/ac900045m]
- 7 Du Z, Zhang L, Liu S. [Application of liquid chromatography-mass spectrometry in the study of metabolic profiling of cirrhosis in different grades]. *Se Pu* 2011; 29: 314-319 [PMID: 21770240 DOI: 10.3724/SP.J.1123.2011.00314]
- 8 Zeissig S, Murata K, Sweet L, Publicover J, Hu Z, Kaser A, Bosse E, Iqbal J, Hussain MM, Balschun K, Röcken C, Arlt A, Günther R, Hampe J, Schreiber S, Baron JL, Moody DB, Liang TJ, Blumberg RS. Hepatitis B virus-induced lipid alterations contribute to natural killer T cell-dependent protective immunity. *Nat Med* 2012; 18: 1060-1068 [PMID: 22706385 DOI: 10.1038/nm.2811]
- 9 Satoh O, Umeda M, Imai H, Tunoo H, Inoue K. Lipid composition of hepatitis B virus surface antigen particles and the particle-producing human hepatoma cell lines. *J Lipid Res* 1990; 31: 1293-1300 [PMID: 2169517]
- 10 Chang MK, Hartvigsen K, Ryu J, Kim Y, Han KH. The pro-atherogenic effects of macrophages are reduced upon formation of a complex between C-reactive protein and lysophosphatidylcholine. *J Inflamm (Lond)* 2012; 9: 42 [PMID: 23114023 DOI: 10.1186/1476-9255-9-42]
- 11 Esterbauer H, Ramos P. Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL. *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 1996; 127: 31-64 [PMID: 8533011 DOI: 10.1007/BFb0048264]
- 12 田庆印, 刘同涛, 李伯勤, 潘其兴, 朱清. 普罗布考对溶血磷脂酰胆碱致培养人脐静脉内皮细胞损伤的保护作用. *中国动脉硬化杂志* 2003; 11: 211-213
- 13 陈江, 逯心敏, 朱文静, 郭渝. GCDCA对肝癌SMC7721细胞诱导分化的影响. *现代检验医学杂志* 2011; 26: 89-91
- 14 Rust C, Bauchmuller K, Bernt C, Vennegheerts T, Fickert P, Fuchsbichler A, Beuers U. Sulfasalazine reduces bile acid induced apoptosis in human hepatoma cells and perfused rat livers. *Gut* 2006; 55: 719-727 [PMID: 16322111 DOI: 10.1136/gut.2005.077461]
- 15 Jürgens S, Meyer F, Spechler SJ, Souza R. The role of bile acids in the neoplastic progression of Barrett's esophagus - a short representative overview. *Z Gastroenterol* 2012; 50: 1028-1034 [PMID: 22965634]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系

刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋

### ■背景资料

随着科技进步, 彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)和彩色能量血流显像(color power Doppler imaging, CPA)等多普勒超声新技术逐渐被运用于解肿瘤的血供情况, 其无创、不良反应小、操作简便等优势使得在其临床大范围应用。然而, 愈来愈多的研究证明, 若要提高肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的早期诊断准确性, 需要将影像医学和分子生物学技术结合起来, 只有发现其与生物学指标的相关性, 才有望在临床诊断中发挥早期诊断的作用, 更准确地帮助治疗HCC。

### ■同行评议者

李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科 黑龙江省大庆市 163453  
刘彦丽, 主治医师, 主要从事腹部器官超声诊断的研究。

作者贡献分布: 课题的设计及论文写作由刘彦丽完成; 研究过程及数据分析由靳元完成; 研究过程由付雪丹完成; 实验试剂由韩秋提供。

通讯作者: 刘彦丽, 主治医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科。cheyuchanl@163.com

电话: 0459-5910872

收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2013-11-25

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-08

### Relationship between liver ultrasonography and immunohistochemistry indicators in patients with hepatocellular carcinoma

Yan-Li Liu, Yuan Jin, Xue-Dan Fu, Qiu Han

Yan-Li Liu, Yuan Jin, Xue-Dan Fu, Qiu Han, Department of Physical Diagnosis, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yan-Li Liu, Attending Physician, Department of Physical Diagnosis, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, 35 Aiguo Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. cheyuchanl@163.com

Received: 2013-11-06 Revised: 2013-11-25

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-08

### Abstract

**AIM:** To explore the correlation between immunohistochemistry indexes and two-dimensional ultrasound, color Doppler flow imaging (CDFI), and color power angio (CPA) parameters in patients with hepatocellular carcinoma.

**METHODS:** Sixty-two patients with hepatocellular carcinoma were included in this study. Two-dimensional ultrasonography was used to observe the morphology, size, border, the echo intensity and internal echo of the liver mass. The CDFI and CPA were used to observed tumor region and the surrounding blood supply. The expression of the p53 and PCNA was detected by the immunohistochemical SABC method. The change in microvessel density was measured.

Correlation between radiographic parameters and immunohistochemical indexes was analyzed.

**RESULTS:** MVD values differed significantly among the groups divided based on the shape, number, echo, borders, uniform values and necrosis degree revealed by two-dimensional ultrasound (all  $P < 0.05$ ). The p53 protein and PCNA expression in patients with multiple tumors, unclear tumor boundary, uneven echo, internal necrosis, or portal vein tumor thrombus was significantly higher than those with single tumors, clear tumor boundary, even echo, the absence of necrosis or portal vein tumor thrombus (all  $P < 0.05$ ). The 53 and PCNA protein expression was significantly higher in patients with metastasis than in those without metastasis (both  $P < 0.05$ ). MVD value, p53 protein and PCNA expression in CDFI grade III tumors were significantly higher than those in CDFI grade I tumors (MVD:  $55.26 \pm 18.47$  vs  $34.59 \pm 11.18$ , p53 protein:  $9/9$  vs  $6/18$ , PCNA:  $9/9$  vs  $12/18$ , all  $P < 0.05$ ). MVD value in CPA grade I and II tumors were lower compared with CPA grade III tumors ( $26.58 \pm 8.42$ ,  $35.43 \pm 13.04$  vs  $51.52 \pm 16.36$ ). The p53 protein and PCNA expression was significantly higher in CPA grade II and III tumors than in CPA grade I tumors (p53:  $21/32$ ,  $12/12$  vs  $3/18$ ; PCNA:  $29/32$ ,  $12/12$  vs  $6/18$ ) (all  $P < 0.05$ ). CDFI and CPA grades were positively correlated with MVD, p53 protein and PCNA expression (all  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Two-dimensional ultrasound, CDFI and CPA parameters are closely related to the p53 PCNA protein expression and MVD value, which could be used as useful tools for HCC screening and diagnosis.

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

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Liver ultrasonography; Immunohistochemistry indicators

Liu YL, Jin Y, Fu XD, Han Q. Relationship between liver ultrasonography and immunohistochemistry indicators



in patients with hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(1): 114-118 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/114.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.114>

## 摘要

**目的:** 探讨肝癌患者二维超声、彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)、彩色能量血流显像(color power Doppler imaging angio, CPA)与免疫组织化学指标的相关性。

**方法:** 选择62例肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者为研究对象, 应用二维超声观察肝脏内肿块的形态、大小、边界、回声强度及内部回声情况, 应用CDFI、CPA观察肿瘤区域及周边血供情况, 并采用免疫组织化学SABC法观察p53及增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)的表达情况, 并且测定微血管密度(microvessel density, MVD), 分析影像学参数与免疫组织化学指标的相关性。

**结果:** 二维超声结果显示, MVD均值在形态、个数、回声、边界、均匀值、坏死程度分组中差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。瘤体多发、瘤体边界不清、回声不均、内部伴坏死、伴门静脉癌栓者的p53蛋白及PCNA阳性表达均高于瘤体单发、边界清、内部回声均匀者( $P < 0.05$ )。有转移组的MVD值、p53蛋白及PCNA阳性表达率均显著高于无转移组( $P < 0.05$ )。不同CDFI分型中, III型与I型相比, MVD值、p53蛋白及PCNA表达均较高(MVD:  $55.26 \pm 18.47$  vs  $34.59 \pm 11.18$ , p53蛋白:  $9/9$  vs  $6/18$ , PCNA:  $9/9$  vs  $12/18$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同CPA分型中, 与III型的MVD值相比, I型的MVD值与II型的MVD值均低于III型(I型, MVD:  $26.58 \pm 8.42$  vs  $51.52 \pm 16.36$ , II型:  $35.43 \pm 13.04$  vs  $51.52 \pm 16.36$ )( $P < 0.05$ )。与I型的p53、PCNA表达相比, II型和III型的p53蛋白、PCNA表达均高于I型(II型, p53蛋白:  $21/32$  vs  $3/18$ , III型:  $12/12$  vs  $3/18$ )(II型, PCNA:  $29/32$  vs  $6/18$ , III型:  $12/12$  vs  $6/18$ )(均 $P < 0.05$ )。CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间呈正相关, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**结论:** 二维超声、CDFI、CPA及与MVD、p53蛋白及PCNA有密切关系, 在一定程度上可作为肝癌初筛方法, 对临床肝癌的诊断具有重要价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝癌; 肝脏超声检查; 免疫组织化学指标

**核心提示:** 本研究通过分析医学影像学参数以及微血管密度(microvessel density)、p53蛋白和增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen)表达的检测结果, 探讨肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系, 并为肝细胞癌的诊断治疗及预后提供理论依据。

刘彦丽, 靳元, 付雪丹, 韩秋. 肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 114-118 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/114.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.114>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝癌, 在我国属于高发病, 其病程短且死亡率高, 已严重威胁着人民的健康<sup>[1]</sup>。目前, 关于HCC的发病机制以及早期诊断、治疗和预后的研究正日新月异地发展, 影像医学正成为研究HCC的主要方法之一。随着科技进步, 彩色多普勒血流显像(color Doppler flow imaging, CDFI)与彩色能量血流显像(color power angio, CPA)等多普勒超声新技术逐渐被运用于解肿瘤的血供情况, 其无创、不良反应小、操作简便等优势使得在其临床大范围应用<sup>[2]</sup>。然而, 愈来愈多的研究证明, 若要提高HCC的早期诊断准确性, 需要将影像医学和分子生物学技术结合起来, 只有发现其与生物学指标的相关性, 才有望在临床诊断中发挥早期诊断的作用, 更准确地帮助治疗HCC<sup>[3]</sup>。本研究通过分析医学影像学参数以及微血管密度(microvessel density, MVD)、p53蛋白和细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)表达的检测结果, 探讨肝癌超声声像图与免疫组织化学指标的关系, 并为HCC的诊断治疗及预后提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择已经手术或穿刺活检病理确诊为肝细胞癌患者为研究对象, 共62例, 其中男48例, 女14例, 平均年龄 $47.80 \pm 16.10$ 岁。实验进行前, 患者均已签署知情同意书。其中, 根据肿瘤直径分小肝癌12例、结节型38例, 巨块型12例; 根据肿瘤有无转移分为转移组22例, 无转移组40例。所有研究对象均未经介入治疗或化疗, 两组患者的一般资料近似, 差异无统计学意义。

## ■ 相关报道

有研究显示, 肝癌的发生和转移的相关因素可能是新生肿瘤血管, 肝癌的血管分布、血供特点与肝癌的诊断、防治及预后息息相关。

## ■应用要点

肝癌超声技术与细胞因子有着密切的联系, CDFI、CPA不仅能通过简便、无创的操作方法获得肝脏血流信息, 并且与分子生物学指标表现出高度的一致性, 可能对于肝癌的诊断和治疗有重要的价值。

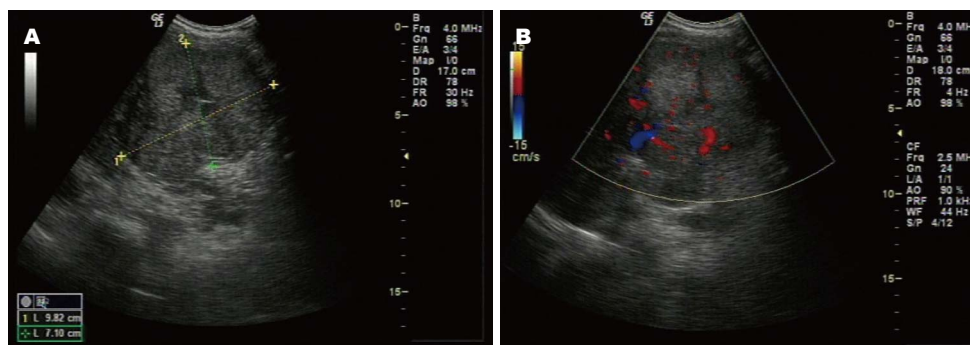


图1 HCC的典型声像图. A: 二维声像图, 病灶内径: 98.2 mm × 71.0 mm; B: 多普勒声像图, 血流较丰富。

表1 二维超声与MVD、p53蛋白及PCNA表达间的关系

	分类 (n)	微血管密度	t值	P值	P53蛋白表达				Z值	P值	细胞核抗原表达					Z值	P值
					-	+	++	+++			-	I	II	III	IV		
肿瘤直径	小肝癌(12)	20.24 ± 7.78	6.845	0.000	8	1	2	1	29.939	0.000	7	3	2	0	0	5.932	0.018
	结节型(38)	38.56 ± 13.15			19	5	6	8			6	4	4	12	12		
	巨块型(12)	53.43 ± 22.71			5	3	5	3			2	0	3	5	2		
个数	单个(22)	30.28 ± 10.32	3.018	0.003	15	4	3	0	3.745	0.012	10	3	4	3	2	6.872	0.015
	多发(40)	49.34 ± 19.91			11	5	9	15			5	3	5	13	14		
回声	高回声(18)	33.31 ± 15.24	3.224	0.012	8	4	2	4	11.823	0.002	4	4	5	4	1	11.748	0.087
	等回声(12)	37.32 ± 17.89			7	1	2	2			3	2	4	1	2		
	低回声(32)	45.63 ± 20.08			12	6	7	7			9	9	6	5	3		
边界	边界清(36)	25.85 ± 9.21	6.146	0.021	18	8	6	4	7.936	0.033	10	8	10	6	2	6.002	0.026
	边界不清(26)	49.28 ± 18.24			6	4	9	7			5	3	2	7	9		
均匀性	回声均匀(27)	30.72 ± 12.01	4.972	0.018	14	7	4	2	3.753	0.021	9	10	6	2	0	5.637	0.034
	回声不均(35)	46.26 ± 20.32			12	8	6	9			5	4	7	9	10		
是否伴坏死	伴坏死(18)	55.66 ± 25.34	5.384	0.024	3	1	10	4	6.926	0.016	1	1	1	7	8	7.773	0.013
	不伴坏死(44)	32.12 ± 11.06			23	9	6	6			12	9	9	8	6		
是否转移	有转移(22)	50.65 ± 18.92	5.231	0.011	1	4	8	9	10.377	0.027	0	0	1	10	11	4.173	0.045
	无转移(40)	31.34 ± 12.41			23	7	6	4			12	5	9	8	6		

( $P > 0.05$ ), 可以进行比较. 免疫组织化学SABC试剂盒购自北京索莱宝科技有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 检测: 应用GE Logiq P3彩超仪, C5-1超宽频探头, 二维超声观察肝脏内肿块形态、大小、边界、回声强度及内部回声情况, 常规显示门静脉, 观察内有无癌栓及腹腔、大血管旁有无淋巴结转移. 应用CDFI观察肿块内及周边血供情况, 并分为0、I、II、III 4型. 应用CPA观察肿瘤区域血供情况, 并结果分为I、II、III 3型. 采用免疫组织化学SABC法观察p53及PCNA的表达, 其结果判定按照SABC试剂盒说明书判定, 结果判定标准为: (1)p53蛋白和PCNA均以细胞核呈清晰棕黄色为阳性; (2)p53阳性细胞所占比例分别为4级: <5%为-, 5%-10%为

+, <10%-50%为++, >50%为+++; (3)PCNA染色随机计数5个高倍视野约500个癌细胞, 取平均阳性细胞率并分为I-IV级: 10%-25%为I级, <25%-50%为II级, <50%-75%为III级, >75%为IV级; (4)阳性对照: p53蛋白以表达强阳性的乳腺癌, PCNA以强阳性的结肠癌存档的石蜡切片作阳性对照. 并进行微血管密度(MVD)计数<sup>[4]</sup>, 即肝窦内孤立的棕黄色血管内皮细胞或细胞簇代表1条单独的微血管。

1.2.2 HCC的病理分级: 根据Edmondson HCC肿瘤细胞学分级标准, 将62例肝细胞肝癌患者分为I-IV级<sup>[5]</sup>。

统计学处理 数据处理及分析应用统计学软件SPSS17.0, 计量资料均以mean ± SD表示, 应用Pearson相关分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 2 CDFI与CD34、p53蛋白及PCNA表达间的关系

CDFI分级	<i>n</i>	MVD值	p53蛋白表达	PCNA表达
0 (11)	11	26.32 ± 8.85	0/11	2/11
I (18)	18	34.59 ± 11.18 <sup>a</sup>	6/18 <sup>a</sup>	12/18 <sup>a</sup>
II (24)	24	46.64 ± 13.96	21/24	24/24
III (9)	9	55.26 ± 18.47	9/9	9/9
<i>F/χ<sup>2</sup></i> 值		2.535	1.953	3.684
<i>P</i> 值		0.006	0.028	0.014

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs CDFI分级 III. CDFI: 彩色多普勒血流显像; MVD: 微血管密度; PCNA: 增殖细胞核抗原.

表 3 CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系

CPA分级	<i>n</i>	MVD值	p53蛋白	PCNA表达
I (18)	18	26.58 ± 8.42 <sup>a</sup>	3/18	6/18
II (32)	32	35.43 ± 13.04 <sup>a</sup>	21/32 <sup>c</sup>	29/32 <sup>a</sup>
III (12)	12	51.52 ± 16.36	12/12 <sup>c</sup>	12/12 <sup>a</sup>
<i>F/χ<sup>2</sup></i> 值		5.531	3.588	2.424
<i>P</i> 值		0.021	0.003	0.023

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs CPA分级 III; <sup>b</sup>*P* < 0.05 vs CPA分级 I; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs CPA分级 I. CPA: 彩色能量血流显像; MVD: 微血管密度; PCNA: 增殖细胞核抗原.

## 2 结果

**2.1 二维超声与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系** HCC的典型二维声像图和多普勒声像图如图1所示. 在62例HCC组织中, MVD均值在形态、个数、回声、边界、均匀值、坏死程度分组中比较, 差异均有统计学意义(*P* < 0.05). 瘤体多发、瘤体边界不清、回声不均、内部伴坏死、伴门静脉癌栓者的p53蛋白及PCNA阳性表达均高于瘤体单发、边界清、内部回声均匀者(*P* < 0.05). 有转移组的MVD值、p53蛋白及PCNA阳性表达率均显著高于无转移组(*P* < 0.05)(表1).

**2.2 CDFI与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系** 不同CDFI分型中, MVD值、p53蛋白及PCNA表达不完全相同, 差异有统计学意义(*P* < 0.05). III型与 I 型相比, MVD值、p53蛋白及PCNA表达均较高, 差异有统计学意义(*P* < 0.05)(表2).

**2.3 CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系** 不同CPA分型中, MVD值、p53蛋白及PCNA表达不完全相同, 差异有统计学意义(*P* < 0.05). 与III型的MVD值相比, I 型的MVD值

表 4 CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系

		MVD值	p53	PCNA
CDFI	<i>r</i> 值	0.554	0.638	0.543
	<i>P</i> 值	0.001	0.000	0.001
CPA	<i>r</i> 值	0.623	0.416	0.471
	<i>P</i> 值	0.001	0.003	0.000

CDFI: 彩色多普勒血流成像; CPA: 彩色能量血流显像; MVD: 微血管密度; PCNA: 增殖细胞核抗原.

与 II 型的MVD值均低于III型(*P* < 0.05). 与 I 型的p53蛋白、PCNA表达相比, II 型和III型的p53蛋白、PCNA表达均高于 I 型(*P* < 0.05)(表3).

**2.4 CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间的关系** CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间呈正相关, 差异均有统计学意义(*P* < 0.01)(表4).

## 3 讨论

随着科学技术的不断进步, 关于HCC发病机制逐渐被发现, 与各种细胞因子如CD34、p53蛋白及PCNA的关系也被深入研究. 医学影像学、病理学与MVD、p53蛋白和PCNA表达的检测均是探讨HCC的发生、分级、分期、转移和预后评价的重要方法<sup>[6-8]</sup>. P53蛋白表达的强弱与HCC分化程度相关, 且其表达的阳性物质均位于细胞核内, 也作为HCC诊断及预后的独立指标<sup>[9,10]</sup>. 而PCNA主要存在于G<sub>1</sub>晚期和S期的细胞核中, 也有人将其作为评价肿瘤恶性程度和预后的一项重要指标. 有研究<sup>[11,12]</sup>显示, 肝癌的发生和转移的相关因素可能是新生肿瘤血管, 肝癌的血管分布、血供特点与肝癌的诊断、防治及预后息息相关.

实验中二维超声结果显示, MVD均值在形态、个数、回声、边界、均匀值、坏死程度分组中比较, 差异均有统计学意义, 瘤体多发、瘤体边界不清、回声不均、内部伴坏死、伴门静脉癌栓者的p53蛋白及PCNA阳性表达均高于瘤体单发、边界清、内部回声均匀者, 有转移组的MVD值、p53蛋白及PCNA阳性表达率均显著高于无转移组(*P* < 0.05), 说明MVD均值越大, p53蛋白和PCNA阳性表达水平越高, HCC组织细胞分化越差, HCC恶性程度越高, 转移的可能越大. 实验中, 不同CDFI分型中, MVD值、p53蛋白及PCNA表达不完全相同, III型与 I 型相

## ■同行评价

本文选题实用, 设计合理, 结果可靠, 讨论丰富, 对临床诊断有很好的参考意义.



比, MVD值、p53蛋白及PCNA表达均较高, 说明CDFI血流分型与细胞因子的表达及MVD值存在一定关系. CDFI能显示HCC的肿瘤双重血供的特点, 并且其血流分型与HCC的分化程度及转移密切相关, 即血流越丰富, 分化程度越低, 转移机会越大<sup>[13-15]</sup>. CDFI血流分型越高, p53蛋白及PCNA表达程度越高, 可以进一步推断HCC的疾病越严重. CPA 3个型之间的p53蛋白表达差异均有统计学意义, 并且与III型的MVD值高于I型和II型的MVD值; 与I型的PCNA表达相比, II型的PCNA表达与III型的PCNA表达均高于I型. 说明CPA血流分型与MVD值及p53蛋白及PCNA有相关性, 类似于CDFI, 分型越高, 各指标的值也越高. 有研究<sup>[16-18]</sup>认为, CPA是一种新发展起来的彩色多普勒成像技术, 在一定程度上反映肿瘤血管的增生情况, 其不仅能通过增加动态范围以提高对血流的敏感性, 还能避免因血流速度快而发生的混叠. 这与MVD、p53蛋白和PCNA表达提示的病理结果相一致: MVD越大, p53蛋白和PCNA表达程度越高, CPA的血流信号越多, 分化程度越低, 转移几率越高, 从而可以建立CPA的血流信号, MVD值和p53蛋白和PCNA表达的逻辑关系. CDFI、CPA与MVD值、p53蛋白及PCNA表达间呈正相关, 表明CDFI、CPA血流分型与MVD值、p53蛋白及PCNA表达程度的相关趋势, 其机制可能为随着癌细胞的不断增长, 肿瘤血管随之迅速增宽, 血流量不断增大, MVD增大, CDFI、CPA分型也发生变化; 与此同时, 对p53基因突变、PCNA激活的可能性也增大, 进而出现了p53蛋白及PCNA的高表达, 与超声学分级结果表现出一致性.

总之, 肝癌超声技术与细胞因子有着密切的联系, CDFI、CPA不仅能通过简便、无创的操作方法获得肝脏血流信息, 并且与分子生物学指标表现出高度的一致性, 可能对于肝癌的诊断和治疗有重要的价值.

#### 4 参考文献

- 1 廖冬梅. CRP、AFP联合CEA及CA199检测用于肝病诊断的临床价值分析. 现代预防医学 2012; 39: 741-744
- 2 王娇, 刘洋. 医学影像技术探析. 亚太传统医药 2010; 6: 156-157
- 3 党双锁, 边静, 周美玲, 高宁, 程延安, 李亚萍. 实验性肝硬化大鼠CD34阳性细胞Fas抗原表达及其意义. 肝脏 2010; 15: 40-42
- 4 李彦杰, 马毅, 郭志勇, 朱晓峰, 何晓顺. 肝癌肝移植术后复发和转移特点及预后因素分析. 中国实用外科杂志 2012; 32: 655-658
- 5 董洁. 原发性肝癌的影像学诊断进展. 河南医学研究 2011; 1: 41-43
- 6 杨浩, 杨连粤. 肝癌术后复发转移相关因素研究进展. 中国实用外科杂志 2012; 32: 868-870
- 7 Zhu Z, Hao X, Yan M, Yao M, Ge C, Gu J, Li J. Cancer stem/progenitor cells are highly enriched in CD133+CD44+ population in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2010; 126: 2067-2078 [PMID: 19711346 DOI: 10.1002/ijc.24868]
- 8 金丰, 王东, 杨志祥, 仲召阳, 李雪梅, 王阁, 李梦侠. 358例肝细胞癌综合治疗的预后分析. 临床肿瘤学杂志 2010; 15: 418-424
- 9 高峰, 杨季红, 刘渤, 马芳, 耿艳, 李建坤. Hpa与PCNA在肝癌中的表达及肝癌患者预后的关系. 河北医药 2013; 35: 122-124
- 10 周梅, 赵刚, 赵峰, 李景英. P53、Caspase-3和PCNA蛋白在肝细胞癌中的表达及意义. 新疆医科大学学报 2010; 33: 891-894
- 11 马丽丽, 岳麓, 邱文生. PCNA与AgNOR在肝细胞肝癌中的表达及其关系的研究. 中国医药科学 2011; 1: 213-216
- 12 林学英, 林礼务, 薛恩生, 何以枚, 高上达, 俞丽云. 超声对2级以上分支门静脉瘤栓的诊断价值. 中国超声医学杂志 2011; 27: 929-931
- 13 赵维群, 姜东林, 刘小铭, 徐锦. 胆管细胞型肝癌的超声特征探讨. 临床和实验医学杂志 2011; 10: 1603-1604, 1607
- 14 袁树芳, 吴涛, 苏中振, 郑荣琴, 李凯, 吴莉莉. 原发性肝癌常规超声漏诊原因分析. 中华医学超声杂志(电子版) 2012; 9: 785-787
- 15 钱林学, 刘玉江, 丁惠国. 小肝癌的影像学诊断进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 479-486
- 16 毛枫, 王文平, 李超伦, 黄备建, 袁海霞, 丁红. 彩色多普勒超声诊断周围型肝内胆管细胞癌的价值. 中华肝胆外科杂志 2012; 18: 312-314
- 17 何年安, 章生龙, 叶显俊, 康冰飞, 陈育华, 刘力. 肝脏血管平滑肌脂肪瘤超声声像图特征分析. 实用肝脏病杂志 2013; 16: 144-146
- 18 郭东蔚. 原发性小肝癌的超声诊断研究. 内蒙古中医药 2012; 31: 1-2

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# PIWIL1在肝细胞癌中的表达及临床意义

范正军, 杨飞龙, 孙涛, 程波

范正军, 杨飞龙, 孙涛, 郑州大学第一附属医院肝胆外科 河南省郑州市 450052

程波, 郑州大学第一附属医院急诊外科 河南省郑州市 450052

范正军, 教授, 主任医师, 主要从事肝脏肿瘤、胆道肿瘤、胰腺疾病等方面的研究。

作者贡献分布: 本文文献检索、实验设计由程波指导、孙涛完成; 实验操作、资料分析及论文撰写由程波指导、杨飞龙完成; 选题、指导及审校由范正军完成。

通讯作者: 程波, 住院医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院急诊外科。droider@163.com  
电话: 0371-67967117

收稿日期: 2013-09-28 修回日期: 2013-11-04

接受日期: 2013-11-11 在线出版日期: 2014-01-08

## Clinical significance of expression of PIWIL1 protein in hepatocellular carcinoma

Zheng-Jun Fan, Fei-Long Yang, Tao Sun, Bo Cheng

Zheng-Jun Fan, Fei-Long Yang, Tao Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Bo Cheng, Department of Emergency Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Bo Cheng, Resident Doctor, Department of Emergency Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. droider@163.com

Received: 2013-09-28 Revised: 2013-11-04

Accepted: 2013-11-11 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To discuss the clinical significance of positive expression of PIWI-like protein-1 (PIWIL1) in hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of PIWIL1 in 47 cases of HCC and matched tumor-adjacent hepatic tissues. Western blot was used to detect the expression of PIWIL1 in 31 fresh HCC tissues and matched tumor-adjacent hepatic tissues. The relationship between PIWIL1 positive expression and clinical features or prognosis of HCC patients was analyzed.

**RESULTS:** The positive rate of PIWIL1 expres-

sion was significantly higher in HCC than in normal liver tissue ( $P < 0.05$ ). PIWIL1 expression was positively correlated with the invasion to the adjacent tissue and the histological differentiation (both  $P < 0.05$ ). PIWIL1 positive cases had a poor prognosis.

**CONCLUSION:** The high expression of PIWIL1 is related to pathological differentiation and the invasion to the adjacent tissue, as well as to the prognosis of HCC patients.

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

**Key Word:** Hepatocellular carcinoma; PIWI-like protein-1; Prognosis

Fan ZJ, Yang FL, Sun T, Cheng B. Clinical significance of expression of PIWIL1 protein in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 119-124 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/119.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.119>

## 摘要

**目的:** 探讨干细胞相关蛋白PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWIL1)在肝细胞癌组织中的表达及临床意义, 并探索其表达与患者预后的关系。

**方法:** 应用免疫组织化学检测47例肝细胞癌标本中PIWIL1的表达, 免疫印迹(Western blot)法检测31例肝细胞癌组织中PIWIL1的表达, 分析PIWIL1表达与临床特征及预后的关系。

**结果:** PIWIL1在肝癌组织中高表达, 在正常肝组织中低表达, PIWIL1同肿瘤分化程度、有无临近组织侵犯有关, 与肿瘤大小及甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)水平无关; 其阳性表达预示患者预后较差。

**结论:** PIWIL1的高表达同病理分化程度、临近组织侵犯相关及患者预后相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

## ■背景资料

我国每年因肝细胞癌死亡的人数在恶性肿瘤所致死亡中居第2位。目前对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)癌基因的表达调控机制及基因干扰研究目前已成为热点。PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWIL1)为一候选癌基因, 在人类的许多肿瘤中表达, 而在HCC中的研究, 国内外文献报道尚少。

## ■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

## ■ 研发前沿

人肿瘤睾丸抗原 (HIWI) 是人体中 PIWI 的同源物, 为 Argonaute 蛋白家族成员, 在人体组织中广泛表达已有证据表明 PIWI1 mRNA 的表达水平与肿瘤细胞的侵袭能力相关, PIWI1 基因可以作为肝脏肿瘤治疗的潜在靶点。本课题主要是检测 PIWI1 在肝细胞癌中的表达情况, 并初步探讨其表达同临床特征及预后的关系。

关键词: 肝细胞癌; PIWI1; 预后

**核心提示:** PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWI1)在肝癌组织中高表达, 在正常肝组织中低表达, PIWI1同肿瘤分化程度、有无临近组织侵犯有关, 与肿瘤大小及甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein)水平无关; 其阳性表达预示患者预后较差。

范正军, 杨飞龙, 孙涛, 程波. PIWI1在肝细胞癌中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 119-124 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/119.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.119>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类消化系中最常见的恶性肿瘤之一, 具有发病率高、治疗效果欠佳、病死率高等特点, 多数患者发现时已处于中晚期, 丧失了最佳的治疗时机。目前, 我国每年因肝细胞癌死亡的人数在恶性肿瘤所致死亡中仅次于肺癌居第2位<sup>[1]</sup>。肝细胞癌恶性程度高、病情进展迅速、容易早期转移等是造成预后差的主要原因, 目前对肝癌的治疗主要是以手术治疗为主, 辅以介入化疗栓塞、消融治疗、免疫治疗等的综合治疗, 但效果仍不理想。

PIWI样蛋白1(PIWI-like protein-1, PIWI1), 又称人肿瘤睾丸抗原(HIWI), 是人体中PIWI的同源物<sup>[2]</sup>, 为Argonaute蛋白家族成员, 在人体组织中广泛表达, 包括前列腺、卵巢、脑、肝脏、心脏、肾脏和骨骼肌等<sup>[3]</sup>。在人的干细胞自我更新、RNA干扰中发挥至关重要的作用, 并影响癌细胞增殖<sup>[4]</sup>。已有证据表明PIWI1的表达水平与肿瘤的分期密切相关, 并对患者的预后具有提示意义<sup>[5]</sup>。PIWI1基因可以作为肝脏肿瘤治疗的潜在靶点。本课题主要是检测PIWI1在肝细胞癌中的表达情况, 并初步探讨其表达同临床特征及预后的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 47例石蜡包埋肝细胞癌及癌旁组织标本取自郑州大学第一附属医院病理科2011-12/2013-01肝细胞癌患者行术后病理检查标本, 12例石蜡包埋正常肝组织标本取自郑州大学第一附属医院病理科2012-11/2013-04肝血管瘤患者行术后病理检查标本, 31例肝癌新鲜标本取自郑州大学第一附属医院肝胆外科2012-11/2013-04手术切除的肝癌患者, 12例正常

肝组织新鲜标本取自郑州大学第一附属医院肝胆外科2012-11/2013-04手术切除的肝血管瘤患者; 全部患者术前均未接受其他治疗方法并有完整随访资料; 其中石蜡标本男性患者37例, 女性患者10例, 平均年龄52.32岁 $\pm$ 8.57岁, 新鲜组织标本男性24例, 女性7例, 平均年龄51.64岁 $\pm$ 10.66岁, 所有标本术后病理诊断均为肝细胞肝癌, 正常肝组织12例(取自肝血管瘤患者), 其中男性9例, 女性3例, 平均年龄46.87岁 $\pm$ 11.76岁。兔抗人PIWI1抗体购自Abcam公司, 二抗试剂盒、DAB显色试剂盒、蛋白提取试剂盒、蛋白提取缓冲液、Western blot检测试剂盒均购自武汉博士德生物工程有限公司, 蛋白Marker、兔抗人多抗 $\beta$ -actin、PVDF膜、ECL化学发光试剂、考马斯亮蓝染液购自美国Sigma公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色法(SABC法):** 标本固定、包埋、切片后65℃烤30 min, 依次脱蜡水化, 加3%的双氧水10 min后蒸馏水洗片3次, 枸橼酸盐缓冲液中水浴修复抗原后PBS洗2次, 5%BSA室温下孵育20 min, 加一抗后4℃冰箱中过夜; PBS洗3次后加二抗37℃孵育25 min, PBS洗3次后加SABC 37℃孵育25 min, PBS洗4次, DAB染色、苏木素液复染、脱水、封片、光镜观察。

**1.2.2 Western blot检测法:** 取冻存组织标本100 mg于2 mL EP管中, 剪碎组织块后加400  $\mu$ L裂解液(含PMSF)匀浆, 裂解充分后将裂解液移至1.5 mL EP管内, 4℃下12000 r/min离心5 min, 提取上清分装于0.5 mL EP管内, -20℃保存; Bradford法蛋白定量; 配置5%浓缩胶和10%分离胶, 沸水中蛋白变性10 min, 加样、恒压120 V电泳后80 V恒压转膜; 转膜后用5%的脱脂奶粉室温封闭; 加入一抗后4℃过夜; TBST液清洗3次后加1:2000稀释的二抗, 室温孵育2 h后TBST清洗3次; ECL后移至暗室曝光、显影清洗、定影。

**1.2.3 结果判定:** 免疫组织化学采用Greenspan半定量法对细胞染色强度及阳性细胞百分率进行评分, 细胞基本不着色(淡黄色)为1分, 中等着色(棕黄色)为2分, 强着色(棕褐色)为3分, 着色细胞计数细胞百分比率为0者, 记0分, <10%为1分, 10%-50%为2分, >50%为3分, 将每张切片着色程度得分与着色细胞百分率得分相乘, 既得阳性系数。阳性系数为0分者为阴性(-), 1-3分为弱阳性(+), 大于等于4分者为阳性(++); Western blot



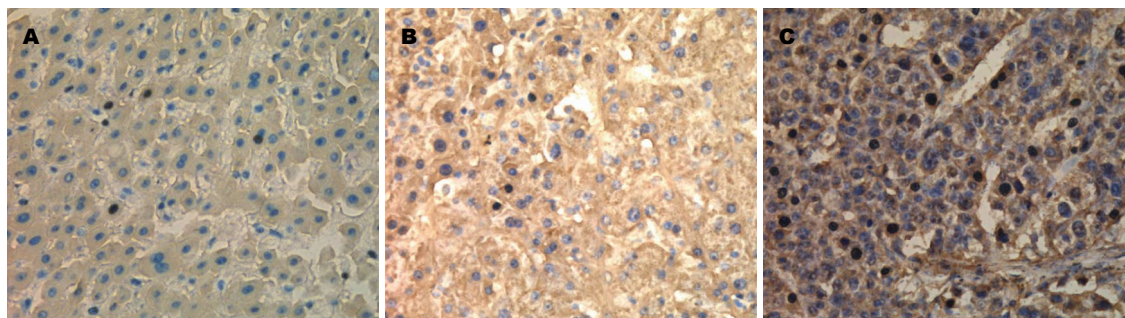


图 1 PIWIL1在各组的表达( $\times 400$ ). A: 正常肝组织; B: 癌旁肝组织; C: 肝癌组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

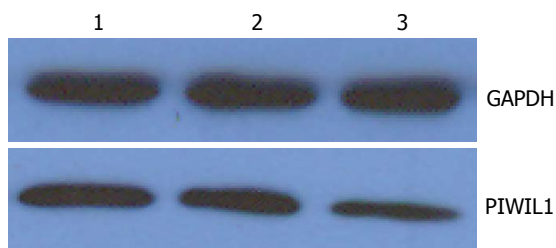


图 2 Western blot结果. 1: 肝细胞癌组织; 2: 癌周组织; 3: 正常肝组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

检测以内参检测指标得出相对集中的条带为阳性.

1.2.4 生存分析: 根据对所有患者2011-12/2013-06随访结果进行生存时间或无瘤时间的分析, 得出不同PIWIL1表达患者的生存时间或者无瘤时间的差异和生存曲线. 随访采用电话随访或者复查方式进行.

**统计学处理** SPSS17.0进行统计学分析, 有序分类计数资料之间的比较以秩和检验, 无序多分类计数资料之间的比较以 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法, 相关性分析采用Spearman相关分析, 生存分析采用Kaplan-Meier(K-M)法Log-rank检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 免疫组织化学检测PIWIL1在组织中的表达** 免疫组织化学染色显示, 在47例HCC组织及癌旁组织、12例正常肝组织中, 均检测到有PIWIL1表达, PIWIL1在胞核胞质均有表达(图1), 其中PIWIL1在3种组织中阳性率分别为93.6%、80.9%、41.7%(表1).

**2.2 Western blot检测PIWIL1在组织中的表达** Western blot检测31例癌及癌旁组织和12例正常肝组织显示PIWIL1在HCC组织同癌旁组织差别具有统计学意义( $P < 0.05$ , 表2); 在癌旁组织同正常肝组织差别无统计学意义( $P > 0.05$ , 表2);

表 1 免疫组织化学检测PIWIL1在3种组织中的表达 ( $n$ )

组织类型	$n$	PIWIL1			$P$ 值
		-	+	++	
肝癌组织	47	3	16	28	$<0.01^b$
癌旁组织	47	9	17	21	$<0.05^a$
正常肝组织	12	7	3	2	$<0.01^d$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常肝组织; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 癌旁组织; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 肝癌组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

表 2 Western blot检测PIWIL1在3种组织中的表达 ( $n$ )

组织类型	$n$	PIWIL1		$P$ 值
		-	+	
肝癌组织	31	9	22	$>0.05$
癌旁组织	31	14	17	$>0.05$
正常肝组织	12	9	3	$<0.05^a$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 肝癌组织. PIWIL1: PIWI样蛋白1.

PIWIL1在正常肝组织、癌旁组织、HCC组织中的表达水平呈逐渐增高趋势(图2).

**2.3 PIWIL1在组织中的表达与临床特征的关系** 从PIWIL1的表达与临床特征关系的研究中可以看出: PIWIL1在HCC、癌旁组织及正常肝组织中的阳性表达与患者的年龄、性别、甲胎蛋白( $\alpha$ -fetoprotein, AFP)水平、肝炎的有无、肿瘤的大小均无相关性( $P > 0.05$ ), 而与周围组织侵犯、肿瘤分化程有关( $P < 0.05$ )(表3).

**2.4 PIWIL1在组织中表达的相关性** 应用统计软件SPSS17.0做统计分析可以看出, 免疫组织化学及Western blot两种方式检测PIWIL1在三种组织中表达的阳性率差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表4), 两种检测方法的结果一致.

**2.5 PIWIL1同患者预后的关系** 不同PIWIL1表达

### ■ 相关报道

目前已经有研究证实PIWIL1同胰腺癌、胃癌、食管癌等密切相关, 而对于其在肝癌中的研究尚少.

## ■创新盘点

把PIWIL1和肝癌患者的预后结合起来,对临床肝癌患者的治疗有一定的参考价值。

表 3 免疫组织化学检测PIWIL1在肝细胞癌组织中阳性表达与临床特征的关系 (*n*)

类别	<i>n</i>	PIWIL1			<i>P</i> 值
		++	+	-	
年龄(岁)					>0.05
21-40	3	1	1	1	
41-80	44	25	14	5	
性别					>0.05
男	37	21	12	4	
女	10	5	3	2	
分化程度					<0.05
高分化	15	3	6	6	
中低分化	32	23	9	0	
AFP(ng/mL)					>0.05
<400	25	13	9	3	
≥400	22	13	6	3	
肝炎					>0.05
有	41	23	12	6	
无	6	3	3	0	
组织侵犯					<0.05
有	9	8	1	0	
无	38	18	14	6	
肿块大小D(cm)					>0.05
D≤2	9	6	2	1	
2<D≤5	28	14	10	4	
5<D≤10	8	5	3	0	
D>10	2	1	0	1	

AFP: 甲胎蛋白; PIWIL1: PIWI样蛋白1。

表 4 免疫组织化学与Western blot检测PIWIL1在3种组织中的表达的差异 *n*(%)

组织类别	PIWIL1		<i>P</i> 值
	Western blot(+)	免疫组织化学(+)	
肝细胞癌	22(71.0)	44(93.6)	>0.05
癌旁组织	17(54.8)	38(80.9)	
正常肝组织	3(25.0)	5(41.7)	

PIWIL1: PIWI样蛋白1。

表 5 免疫组织化学检测HCC患者不同PIWIL1表达程度的预后差异 (mean ± SD, mo)

时间	PIWIL1		<i>P</i> 值
	-	+	
生存时间	36.00 ± 0.00	31.39 ± 8.75	>0.05
无瘤生存时间	34.00 ± 4.90	22.56 ± 11.54	<0.05

HCC: 肝细胞癌; PIWIL1: PIWI样蛋白1。

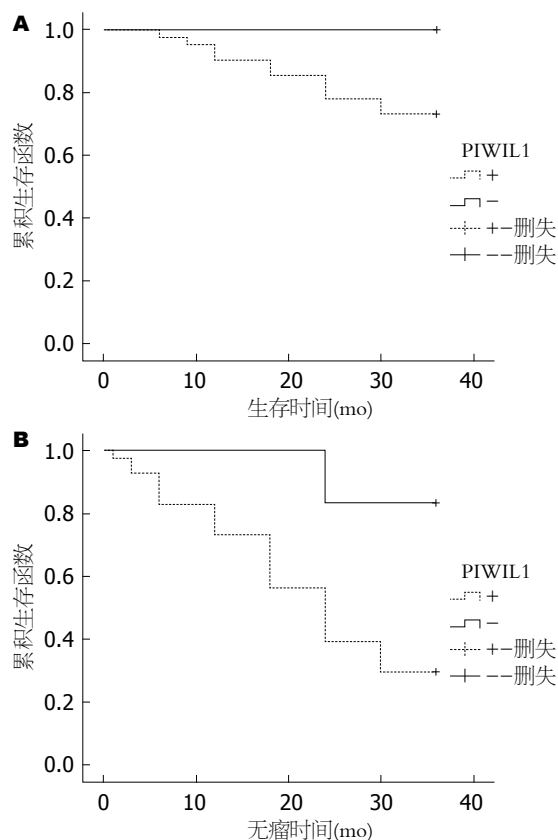


图 3 PIWIL1表达与预后. A: 生存时间; B: 无瘤生存时间. PIWIL1: PIWI样蛋白1。

患者的生存时间不存在显著性差异( $P>0.05$ ), 不同PIWIL1表达患者的无瘤时间存在显著性差异( $P<0.05$ )(表5, 图3)。

### 3 讨论

肝细胞癌具有恶性程度高、病情进展迅速、容易早期转移等特点, 尽管临床上采取多种治疗方式对其加以控制, 但疗效欠佳。越来越多的证据表明: 肿瘤的发生同体细胞基因组在致癌因素刺激下引起癌基因的激活和抑癌基因的失活继而引起细胞增殖失控、凋亡受阻, 分化异常密切相关<sup>[6]</sup>。其中对癌基因的表达调控机制及基因干扰研究目前已成为恶性肿瘤研究中的热点<sup>[7]</sup>, 对于肝癌的研究而言, 今后也有望在此领域取得突破。PIWIL1为新发现的恶性肿瘤相关蛋白, 从属于Argonaute蛋白家族PIWI亚家族, 是小RNA复合体基本成员之一, 生物序列高度保守, 基因定位为12q24.33, 此区域也是TGCT(青年和成年人睾丸生殖细胞癌)发生相关的基因区, *PIWIL1*基因编码一个3.6 kb的mRNA, 并表达为一个全长含有861个氨基酸残基的蛋白PIWIL1<sup>[8]</sup>。

PIWIL1在人体组织中广泛表达, 包括前列腺、卵巢、脑、肝脏、心脏、肾脏和骨骼肌等<sup>[9]</sup>, 在人的干细胞自我更新、RNA 干扰中发挥至关重要的作用, 并影响癌细胞增殖<sup>[10]</sup>, 本实验亦证实PIWIL1在HCC组织、癌旁肝组织、正常肝组织均有表达, 并且在不同组织中表达存在差异性, 免疫组织化学及Western blot均证实PIWIL1在HCC组织中表达程度高于癌旁肝组织, 而免疫组织化学证实PIWIL1在癌旁组织表达高于正常肝组织, Western blot检测未见二者存在明显差别, 可能与Western blot的检测敏感性及样本量有关, 因此可以认为PIWIL1同肝细胞癌的发生发展存在明显的相关性, 对PIWIL1的深入研究可能揭示肝细胞癌的发生及进展过程。目前已有证据表明PIWIL1 mRNA的表达水平与肿瘤细胞的侵袭能力相关, 从而影响患者的预后<sup>[11]</sup>。Taubert等<sup>[12]</sup>发现PIWIL1在软组织肉瘤中高表达提示患者的预后不良, 并认为此种关系可能也会出现于其他恶性肿瘤中; Grochola等<sup>[13]</sup>发现PIWIL1在胰腺导管腺癌(pancreas ductal adenocarcinoma, PDAC)中表达水平与男性患者的生存期成负相关, PIWIL1在PDAC的发生机制及治疗的研究中可以作为一个潜在的靶点, 本实验通过一定数量的随访研究证实PIWIL1阳性及阴性患者的生存时间不存在明显的差异性, 而二者的无瘤生存时间存在明显的差异, 可见PIWIL1的阳性表达对患者术后的复发转移倾向具有提示意义, 本实验得出不同表达患者生存时间无明显差异可能由于患者术后随访时间较短, 因此可以将PIWIL1在肝细胞癌组织中的表达与否作为提示患者预后的一个参考因素; 何炜等认为PIWIL1在食管癌组织中的高表达同组织分型、临床分期及预后密切相关<sup>[14]</sup>, 本实验也表明PIWIL1的阳性表达同组织的分化程度及周围组织侵犯的有无存在明显的相关性, PIWIL1阳性表达者分化程度较低且具有周围组织侵犯的倾向; Liu等<sup>[15]</sup>发现在胃癌细胞中PIWIL1与细胞增殖标志物Ki67具有相似的表达形式, 并且通过对PIWIL1的RNA干扰发现AGS胃癌细胞停滞于G<sub>2</sub>/M期, 表明PIWIL1在胃癌的发展中起重要的作用, PIWIL1可能作为癌症生物治疗的新靶点; 因此也可能通过对肝细胞癌中PIWIL1表达的控制进而控制肝细胞癌的发生和发展, 但本研究暂未对PIWIL1在肝细胞癌中的作用机制深入研究, 若要证实PIWIL1在肝细胞癌治疗中

的作用尚需进一步研究; 本实验通过免疫组织化学和Western blot及临床数据表明PIWIL1同肝细胞癌的发生发展有关, 其表达情况同肝癌患者的预后相关, 因此, 也可以将PIWIL1检测作为肝细胞癌诊断的新靶点, 并通过其表达情况预测患者生存时间。本课题初步探索PIWIL1在肝细胞癌中的表达情况及同预后的关系, 由于样本量较小, 随访时间较短, 若要明确在肝癌发生中的确切机制及对预后的预测, 仍需进一步大样本深入研究。

## 4 参考文献

- 1 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2013; 1: 2-12
- 2 谢小燕, 裴雪涛. PIWI家族: 干细胞分裂中的重要调控基因. 生理学进展 2003; 2: 139-141
- 3 田瑞卿, 刘民, 李欣, 汤华. PIWIL1在不同肿瘤细胞中的差异性表达. 中国生物化学与分子生物学报 2008; 11: 1072-1075
- 4 姜琳, 潘淑娟, 葛郁芝, 殷勤伟. Argonaute亚族蛋白对人类肿瘤细胞周期的影响. 生物化学与生物物理进展 2008; 12: 1394-1402
- 5 Zeng Y, Qu LK, Meng L, Liu CY, Dong B, Xing XF, Wu J, Shou CC. HIWI expression profile in cancer cells and its prognostic value for patients with colorectal cancer. Chin Med J (Engl) 2011; 124: 2144-2149 [PMID: 21933617]
- 6 樊嘉, 邱双健. 肿瘤微环境的研究动态与展望. 中华医学杂志 2008; 88: 505-507
- 7 郑素平. RNA干扰在肿瘤治疗方面的研究进展. 中山大学研究生学刊(自然科学·医学版) 2011; 2: 1-8
- 8 Qiao D, Zeeman AM, Deng W, Looijenga LH, Lin H. Molecular characterization of hiwi, a human member of the piwi gene family whose overexpression is correlated to seminomas. Oncogene 2002; 21: 3988-3999 [PMID: 12037681 DOI: 10.1038/sj.onc.1205505]
- 9 田瑞卿, 刘民, 李欣, 汤华. PIWIL1在不同肿瘤细胞中的差异性表达. 中国生物化学与分子生物学报 2008; 11: 1072-1075
- 10 Lee JH, Schütte D, Wulf G, Füzesi L, Radzun HJ, Schweyer S, Engel W, Nayernia K. Stem-cell protein Piwil2 is widely expressed in tumors and inhibits apoptosis through activation of Stat3/Bcl-XL pathway. Hum Mol Genet 2006; 15: 201-211 [PMID: 16377660 DOI: 10.1093/hmg/ddi430]
- 11 Cox DN, Chao A, Baker J, Chang L, Qiao D, Lin H. A novel class of evolutionarily conserved genes defined by piwi are essential for stem cell self-renewal. Genes Dev 1998; 12: 3715-3727 [PMID: 9851978]
- 12 Taubert H, Würfl P, Greither T, Kappler M, Bache M, Bartel F, Kehlen A, Lautenschläger C, Harris LC, Kaushal D, Füssel S, Meyer A, Böhnke A, Schmidt H, Holzhausen HJ, Hauptmann S. Stem cell-associated genes are extremely poor prognostic factors for soft-tissue sarcoma patients. Oncogene 2007; 26: 7170-7174 [PMID: 17525744 DOI: 10.1038/sj.onc.1210530]
- 13 Grochola LF, Greither T, Taubert H, Möller P, Knippschild U, Udelnow A, Henne-Bruns D, Würfl

## ■应用要点

通过多种方法检测PIWIL1在肝细胞癌中的表达, 可能提高肿瘤的检出率, 对临床肝癌患者的预后推断也有一定的参考价值。



## ■同行评价

本文研究设计合理, 分析具体, 内容有很好的创新性, 能把PIWIL1和肝癌患者的预后结合起来, 对临床肝癌患者的治疗有一定的参考价值。

- 14 P. The stem cell-associated Hiwi gene in human adenocarcinoma of the pancreas: expression and risk of tumour-related death. *Br J Cancer* 2008; 99: 1083-1088 [PMID: 18781170 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604653]  
何伟, 解智慧, 王峰, 秦艳茹, 樊青霞. 干细胞因子HIWI在食管鳞癌中的表达及其与临床预后的关系.

- 15 中国肿瘤临床 2012; 19: 1401-1405  
Liu X, Sun Y, Guo J, Ma H, Li J, Dong B, Jin G, Zhang J, Wu J, Meng L, Shou C. Expression of hiwi gene in human gastric cancer was associated with proliferation of cancer cells. *Int J Cancer* 2006; 118: 1922-1929 [PMID: 16287078 DOI: 10.1002/ijc.21575]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

# 外周血端粒酶检测对肝细胞癌诊断价值的Meta分析

郑倩, 姜政, 赵亚楠

郑倩, 姜政, 赵亚楠, 重庆医科大学附属第一医院消化内科  
重庆市 400016

郑倩, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由姜政与郑倩设计; 郑倩与赵亚楠负责资料收集、文献纳入与排除、数据提取、数据分析; 论文写作由郑倩与姜政完成; 姜政审校。

通讯作者: 姜政, 主任医师, 400016, 重庆市渝中区袁家岗医学友谊路1号, 重庆医科大学附属第一医院消化内科。

jiangz1753@163.com

电话: 023-68891218

收稿日期: 2013-10-15 修回日期: 2013-11-10

接受日期: 2013-11-20 在线出版日期: 2014-01-08

## Diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis

Qian Zheng, Zheng Jiang, Ya-Nan Zhao

Qian Zheng, Zheng Jiang, Ya-Nan Zhao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Zheng Jiang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 1 Youyi Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, China. jiangz1753@163.com

Received: 2013-10-15 Revised: 2013-11-10

Accepted: 2013-11-20 Published online: 2014-01-08

### Abstract

**AIM:** To explore the diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** We searched the literature for studies on the relationship between the detection of telomerase activity in peripheral blood and HCC published in recent ten years. Meta-Disc1.4 statistical software was applied to perform comprehensive quantitative analysis. We discussed the overall diagnostic features of this assay by plotting the summary ROC curve (SROC) and calculating the area under the curve (AUC).

**RESULTS:** According to selection and exclusion criteria, 12 independent studies were finally selected in this meta-analysis. The random effects model was used for the meta-analysis, which showed that the comprehensive sensitivity

was 0.85 (95%CI: 0.82-0.87), specificity was 0.84 (95%CI: 0.81-0.86), comprehensive diagnostic odds ratio was 28.25 (95%CI: 17.90-44.56), average value of the maximum intersection point of the sensitivity and the specificity was 0.8419, AUC was 0.9098, combined positive likelihood ratio was 5.17 (95%CI: 3.96-6.74), and negative likelihood ratio was 0.20 (95%CI: 0.14-0.28).

**CONCLUSION:** Telomerase activity in peripheral blood can be used as an important index to help diagnose HCC, but more high-quality, large-sized, multi-center studies are still required to evaluate its clinical value.

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

**Key Words:** Telomerase activity; Hepatocellular carcinoma; Diagnosis; Meta-analysis

Zheng Q, Jiang Z, Zhao YN. Diagnostic value of telomerase activity in peripheral blood in hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 125-132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/125.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.125>

### 摘要

**目的:** 通过Meta分析方法评价外周血端粒酶活性检测对肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)诊断的临床价值。

**方法:** 检索国内外各类大型数据库近十余年来发表的有关外周血端粒酶活性检测与HCC关系的文献, 应用Meta-Disc1.4软件进行定量综合分析, 合并总灵敏度、总特异度、阳性预测值(positive likelihood ratio, PLR)、阴性预测值(negative likelihood ratio, NLR)、诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR), 同时绘制汇总受试者工作特征曲线(summary ROC curve, SROC)及计算曲线下面积(area under the curve, AUC)。

**结果:** 按照文献纳入及排除标准最终有12项独立研究纳入本次Meta分析, 采用随机效应

### ■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种来源于肝细胞的恶性肿瘤, 在我国其死亡率仅次于肺癌, 目前对于肝癌诊断应用最广的血清学指标为甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP), 但仍有40%的肝癌患者其表达为阴性。近年来有关外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌的研究颇多, 但其价值不尽相同。

### ■同行评议者

孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

## ■ 研发前沿

虽然外周血端粒酶对于HCC有较高的诊断率,但其结果存在一定的假阴性率,且其实验方法较复杂,检查费用较AFP贵,使其在临床的应用和受到一定限制,但其仍适用于AFP阴性的HCC的诊断。

模型合并总灵敏度为0.85(95%CI: 0.82-0.87),总特异度为0.84(95%CI: 0.81-0.86),阳性预测值为5.17(95%CI: 3.96-6.74),阴性预测值为0.20(95%CI: 0.14-0.28),诊断比值比为28.25(95%CI: 17.90-44.56)。本次Meta分析显示灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419, ROC曲线下面积为0.9098。

**结论:** 外周血端粒酶活性检测对HCC有较高的诊断价值,可作为较重要的参考指标之一,但需要更多高质量、大样本、多中心的研究加以验证。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 端粒酶活性; 肝细胞癌; 诊断; Meta分析

**核心提示:** 本研究通过对12篇国内外关于外周血端粒酶与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)关系的文献进行Meta分析,结果显示外周血对HCC的诊断灵敏度为0.85,总特异度为0.84,阳性预测值(positive likelihood ratio)为5.17,阴性预测值(negative likelihood ratio)为0.20,诊断比值比(diagnostic odds ratio)为28.25。灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419,曲线下面积(area under the curve)为0.9098,提示此次试验的总体诊断率较高。

郑倩, 姜政, 赵亚楠. 外周血端粒酶检测对肝细胞癌诊断价值的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 125-132 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/125.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.125>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种来源于肝细胞的恶性肿瘤,占原发性肝癌(primary carcinoma of the liver, PLA)的90%,是全球范围内第5大常见的恶性肿瘤。在我国每年约有200000例患者死于肝癌,其死亡率仅次于肺癌<sup>[1]</sup>。目前肝癌的术前诊断主要依靠影像学检查及血清学检测,影像学检查在肝癌的诊断中具有重要的地位,但对包膜完整、质地均匀、血供不丰富且分化良好的小肝癌有时也会遇到困难<sup>[2,3]</sup>。血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)是最常用的实验室诊断方法,但仍有40%的肝癌患者血清AFP呈阴性。近年来有关外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌的研究颇多,但其价值不尽相同。本文对近10年来有关外周血端粒酶检测与肝细胞癌关系的研究结果进行Meta分析,旨在评估其对肝细胞癌的总体诊断价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 通过计算机检索EMBASE、MEDLINE等外文数据库及中国生物医学文献数据库(Chinese BioMedical Literature Database, CBM)、万方数字化全文期刊、重庆维普中文科技期刊全文数据库、CNKI中国知网期刊数据库及CNKI《博硕士学位论文》5个中文数据库1989-01/2013-08公开发表的关于外周血端粒酶检测与肝细胞癌关系相关的文献资料,中文检索词为“端粒或端粒酶”、“肝癌”、“外周血或血清或血浆”,英文检索词为“telomerase”、“hepatocellular carcinoma或liver cancer”、“peripheral blood或serum或plasma”,检索策略根据具体数据库调整,采取主题词和自由词检索结合的方式,并对入选研究的参考文献进行网络在线手工检索。

### 1.2 方法

**1.2.1 文献资料纳入标准:** (1)研究主题为端粒酶活性(telomerase activity, TA)或者端粒酶逆转录酶(human telomerase transcriptase, hTERT)与肝细胞癌关系的诊断性研究; (2)纳入文献中患病组的定义为HCC组,非患病组的定义为肝脏良性疾病及健康对照组,组间年龄、性别等均衡性较好,具有可比性; (3)从文中能直接或者间接获得外周血端粒酶分别在HCC组和非HCC组的观察人数中的四格表数据; (4)对相同或相似内容的重复报道文献,只选用最新报道者。

**1.2.2 文献资料排除标准:** (1)诊断标准为非TA或者hTERT; (2)“金标准”或诊断标准未区分HCC组及非HCC组,而有可疑组存在; (3)文献中未直接或者间接提供外周血端粒酶检测在HCC组及非HCC组的观察人数中的真阳性数、假阳性数、假阴性数及真阴性数,仅提供定量分析结果; (4)单纯描述性研究,无对照组; (5)动物实验研究、综述及讲座。

**1.2.3 数据提取与质量评价:** 各篇文献提取的资料包括: 第一作者、发表年限、中位年龄、HCC组诊断标准、四格表数据等。对纳入文献采用Cochrane协作网推荐的诊断性试验准确性质量评价工具<sup>[4]</sup>(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS), 分别对14个条目按“是”、“否”、“不清楚”3个判别标准进行评价。由两名系统评价员独立进行文献评价,有异议时以小组讨论的方式解决。

**统计学处理** 异质性检验: 运用Meta-Disc1.4软件<sup>[5]</sup>进行Spearman相关分析检测有无阈值效



表 1 外周血端粒酶检测与HCC关系的文献纳入研究特征

研究	发表年限(年)	中位年龄(岁)	诊断标准/HCC组	TA/hTERT mRNA检测方法	阳性阈值	TP	FP	FN	TN	文献质量评分
邱谢武等 <sup>[6]</sup>	2012	53.3 ± 14.3	临床和病理	FQ-PCR	NR <sup>1</sup>	34	5	6	25	8
战淑慧等 <sup>[7]</sup>	2006	54	临床和病理	PCR-ELISA	$\Delta A(4_{450}-A_{650} \text{ nm}) > 0.2$	44	11	8	79	8
刘阳等 <sup>[8]</sup>	2012	NR	病理	RT-PCR	1.58	32	19	13	120	7
吴玮等 <sup>[9]</sup>	2004	49	病理	PCR-ELISA	$\Delta A(4_{450}-A_{650} \text{ nm}) > 0.2$	17	15	3	42	6
隋璐璐等 <sup>[10]</sup>	2011	50	病理	RT-PCR	88 bp、95 bp	24	6	6	24	7
张利国等 <sup>[11]</sup>	2010	51.2 ± 10.4	临床和病理	FQ-PCR	NR	50	2	10	28	8
冯众一等 <sup>[12]</sup>	2007	52	临床和病理	RT-PCR	NR	28	1	2	19	8
Miura等 <sup>[13]</sup>	2010	65	临床和病理	RT-PCR	3.97	273	49	30	286	9
Huang等 <sup>[14]</sup>	2013	51	病理	PCR-ELISA	$A > 0.7$	28	6	2	64	9
Yao等 <sup>[15]</sup>	2006	49	临床和病理	TRAP-ELISA	$A > 0.2 \Delta A^1$	115	48	20	139	8
Yang等 <sup>[16]</sup>	2011	51	NR	FQ-PCR	$1.87 \times 10^4 \text{ copies}/\mu\text{L}$	38	5	22	45	7
Tatsuma等 <sup>[17]</sup>	2000	NR	临床和病理	PCR-ELISA	NR	16	5	4	15	7

<sup>1</sup>NR: 文献中未报告; TP: 真阳性; FP: 假阳性; FN: 假阴性; TN: 真阴性; HCC: 肝细胞癌。

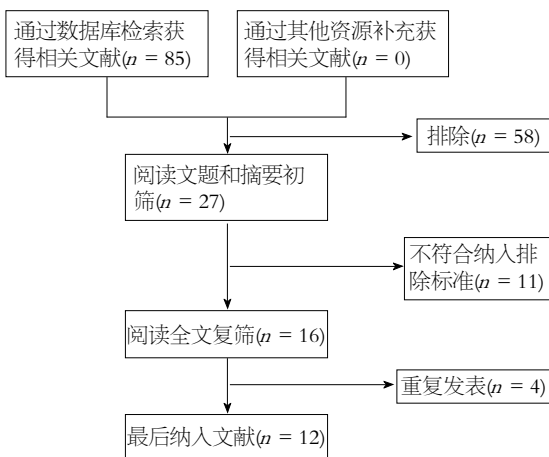


图 1 纳入文献检索流程

应引起的异质性。对其他因素所致异质性进行 $Q$ 检验( $\chi^2$ 检验), 并通过Meta回归分析及亚组分析探索异质性来源。如果存在异质性效应( $P < 0.1$ ), 采用随机效应模型合并灵敏度、特异度、阳性预测值、阴性预测值、诊断比值比, 反之( $P > 0.1$ )则采用固定效应模型。同时根据Moses'线性模型绘制总受试者工作特征曲线, 并计算SROC曲线下面积。

## 2 结果

**2.1 纳入研究的基本情况** 按上述检索策略检索到英文文献25篇, 中文文献60篇, 按照纳入标准初步排除58篇, 进一步阅读全文, 剩余文献中不符合纳入排除标准的11篇, 重复发表4篇, 故最后纳入文献共12篇, 其中英文文献5篇, 中文文献7篇, 样本量共计1897例, 其中HCC组839例, 非

HCC组1058例, 非HCC组均包括肝脏良性疾病及健康对照, 具体检索过程如图1, 各纳入文献基本特征如表1。

**2.2 纳入研究的质量评价** 纳入的研究中HCC组均以病理诊断作为金标准, 仅一项研究文中未提及诊断标准。HCC组均为HCC患者, 非HCC组为肝脏良性疾病患者和健康人。因非HCC组有健康人, 无法进行金标准检查, 所以并不是所有样本均接受金标准检查。所有文献均未明确是否为盲法设计。12篇文献明确描述待评价试验的实验步骤、操作方法等, 可在相同条件下重复。另外, 所有文献均无退出病例, 因此, 第14条不适用, 具体文献质量评分如表2。

**2.3 异质性分析** 本研究中Spearman相关系数为-0.137,  $P = 0.671$ , 提示不存在阈值效应。通过 $Q$ 检验测得 $Q$ 值为24.54,  $P = 0.0107$ , 提示入选文献间存在除阈值效应外的阈值效应, 选用随机效应模式合并统计量。

**2.4 诊断效率** Meta分析合并效应量时采用随机效应模型, 合并总灵敏度为0.85(95%CI: 0.82-0.87), 总特异度为0.84(95%CI: 0.81-0.86), 阳性预测值(positive likelihood ratio, PLR)为5.17(95%CI: 3.96-6.74), 阴性预测值(negative likelihood ratio, NLR)为0.20(95%CI: 0.14-0.28), 诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR)为28.25(95%CI: 17.90-44.56)。将各项研究的效应指标和合并的结果绘制森林图(图2-3、图4A)。本次Meta分析显示灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419, 曲线下面积(area under the curve,

## ■ 相关报道

Yang等运用FQ-PCR方法对HCC组和非HCC组患者血浆端粒酶进行定量分析显示, 血浆hTERT DNA水平与HCC患者肿瘤大小、门静脉癌栓形成和TNM分期相关, 而与淋巴结转移、HBV感染、血清AFP水平无关。若以 $1.87 \times 10^4 \text{ copies}/\mu\text{L}$ 为Cut-off值, 其对HCC诊断的灵敏度为64%, 而特异度高达90%。

## ■创新盘点

本研究采用循证医学的方法, 汇总分析了国内外近10年外周血端粒酶诊断HCC的价值, 减少了因各中心小样本的病例分析而出现的差异, 更准确地评价外周血端粒酶对于HCC诊断的临床价值。

表 2 纳入研究的方法学质量评价

纳入研究	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
邱谢武等 <sup>[6]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
战淑慧等 <sup>[7]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
刘阳等 <sup>[8]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	-
吴玮等 <sup>[9]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	N	S	S	Y	N	-
隋璐璐等 <sup>[10]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	-
张利国等 <sup>[11]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
冯众一等 <sup>[12]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
Miura等 <sup>[13]</sup>	Y	Y	Y	Y	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
Huang等 <sup>[14]</sup>	Y	Y	Y	Y	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
Yao等 <sup>[15]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	Y	-
Yang等 <sup>[16]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	-
Tatsuma等 <sup>[17]</sup>	Y	Y	Y	S	N	N	Y	Y	Y	S	S	Y	N	-

Y: 是; N: 否; S: 不清楚; 1: 疾病谱组成; 2: 选择标准; 3: 金标准; 4: 疾病进展偏倚; 5: 部分参照偏倚; 6: 多重参照偏倚; 7: 混合偏倚; 8: 待评价试验的实施; 9: 金标准的实施; 10: 试验解读偏倚; 11: 金标准解读偏倚; 12: 临床解读偏倚; 13: 难以解释的实验结果; 14: 退出病例。

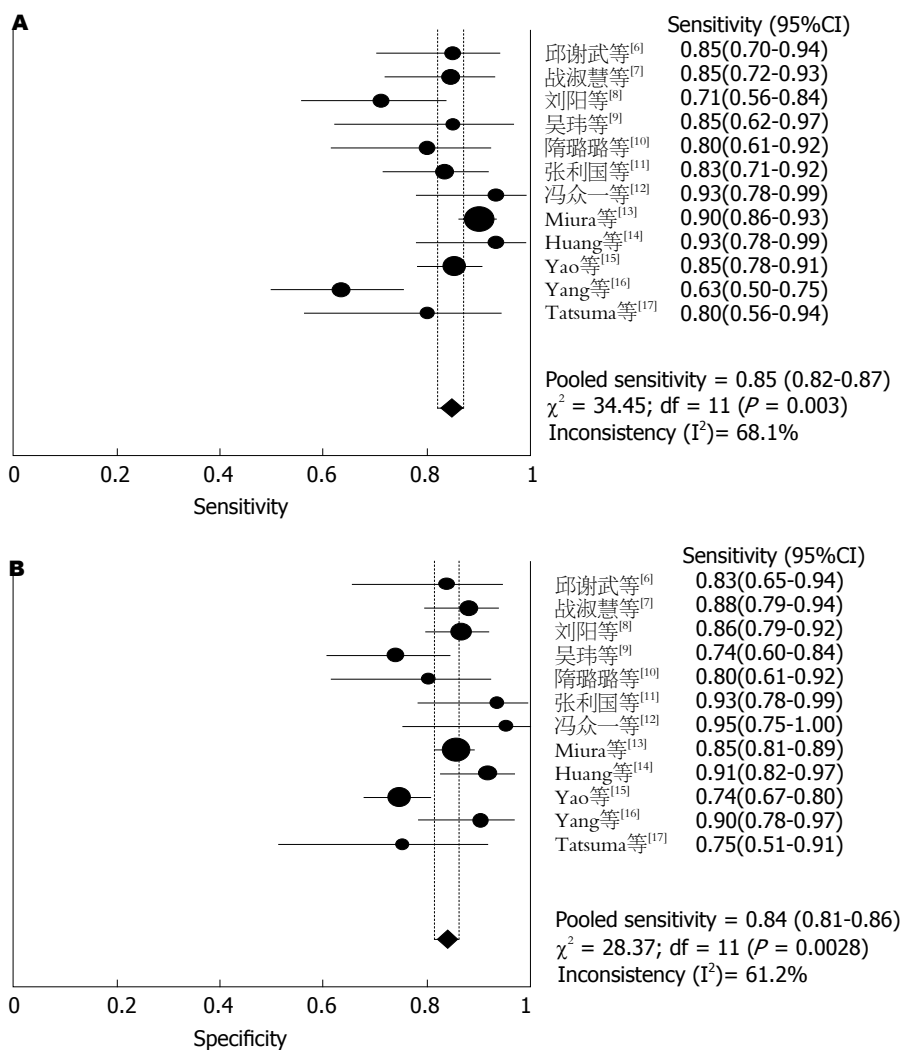
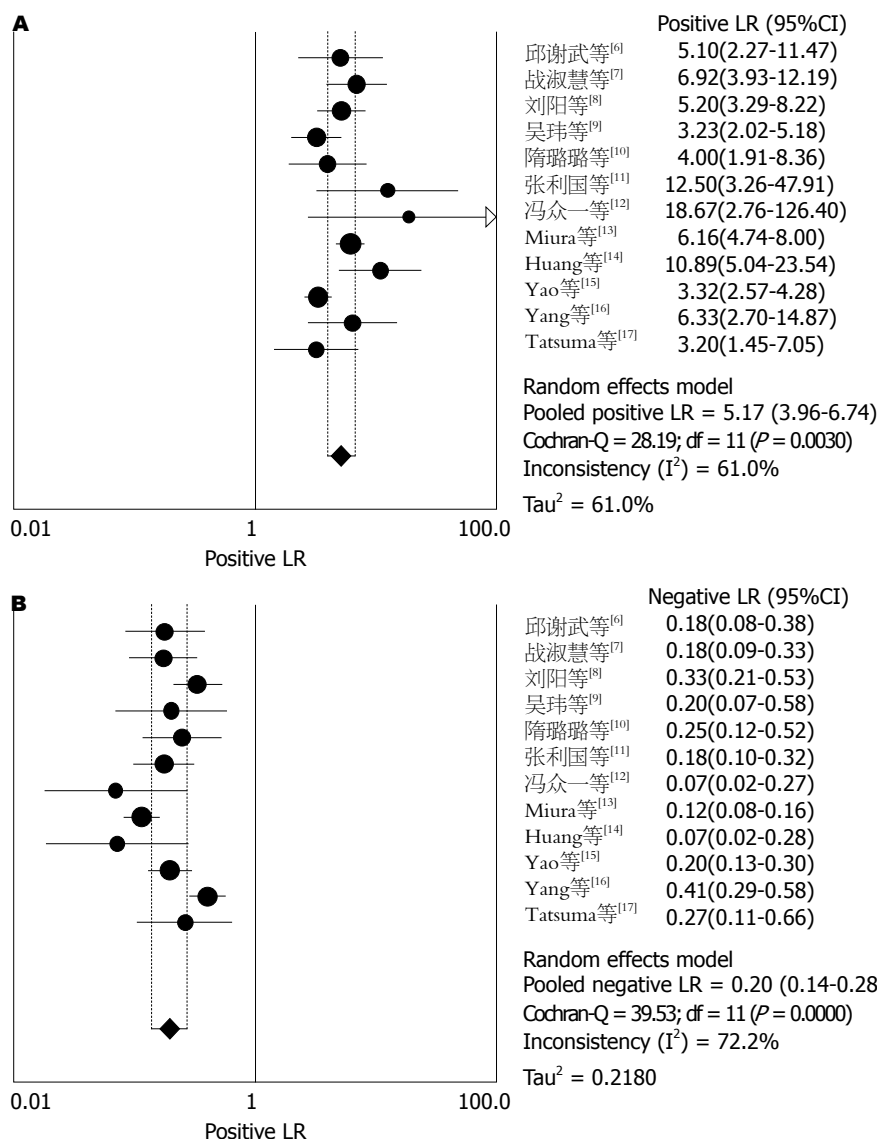


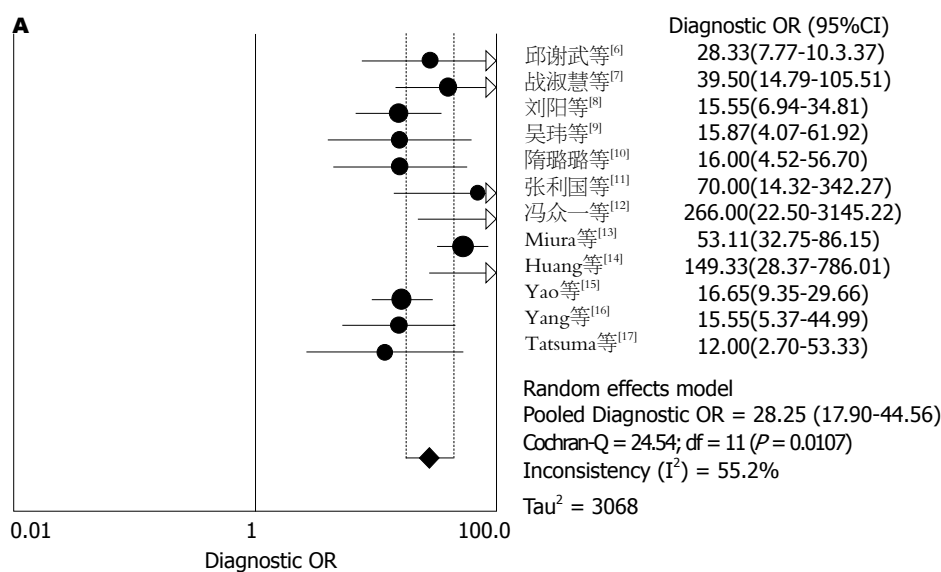
图 2 外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌的灵敏度与特异度森林图。A: 敏感性分析; B: 特异性分析。



## ■应用要点

临床上若高度怀疑HCC, 而影像学无重要发现, 血清AFP呈阴性, 可运用RQ-PCR、RCR-ELISA、RT-PCR及TRAP-ELISA等方法对患者血清端粒酶进行定量或者定性检测, 协助对HCC进行诊断。

图3 外周血端粒酶检测诊断HCC的PLR与NLR森林图. A: PLR分析; B: NLR分析. HCC: 肝细胞癌; PLR: 阳性预测值; NLR: 阴性预测值。





### 同行评价

本文对国内外有关外周血端粒酶与HCC关系的相关文献进行了meta分析,其研究目的明确,收集的文献较全面,同时制定了严格的纳入及排除标准,分析步骤正确,为外周血端粒酶诊断HCC提供了依据,其研究内容较为重要,有一定的临床应用价值。

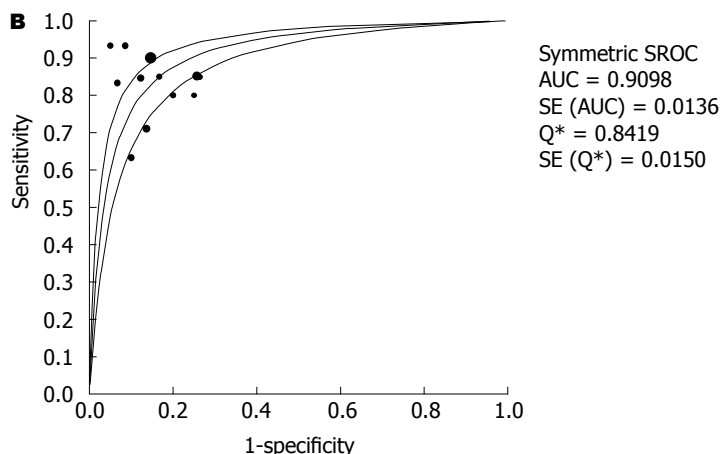


图4 外周血端粒酶检测诊断HCC的合并DOR的森林图及ROC曲线. A: DOR的meta分析; B: SROC曲线. HCC: 肝细胞癌; DOR: 诊断比值比; SROC: 汇总受试者工作特征曲线.

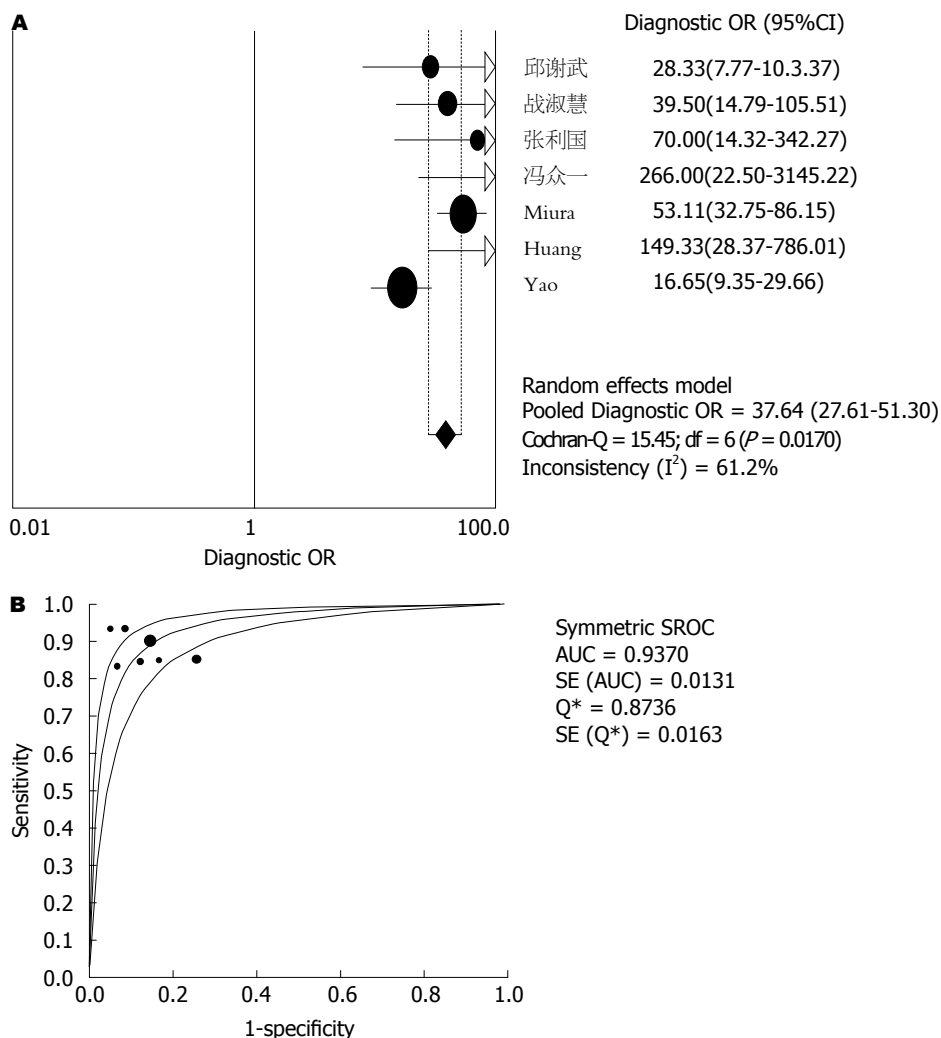


图5 较高质量外周血端粒酶检测研究诊断HCC研究的合并DOR森林图及ROC曲线. A: DOR的meta分析; B: SROC曲线. HCC: 肝细胞癌; DOR: 诊断比值比; SROC: 汇总受试者工作特征曲线.

AUC)为0.9098(图4B),提示此次试验的总诊断效率较高。

### 2.5 Meta回归和亚组分析 考虑端粒酶检测方

法、文献质量、样本量为可能异质性来源,进行Meta回归分析,结果显示纳入文献研究质量是导致异质性的来源( $P = 0.0267$ ).剔除较差质

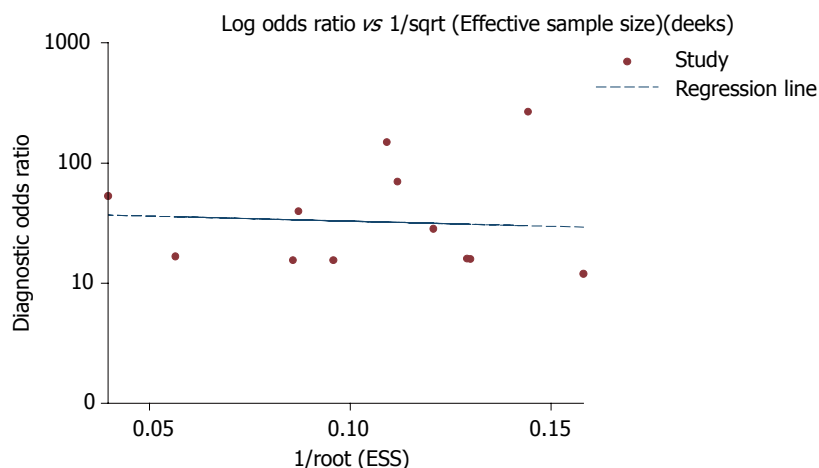


图6 外周血端粒酶检测诊断肝细胞癌纳入研究的发表偏倚漏斗图。

量(文献评分 $\leq 7$ 分)的研究后,结果显示剩余研究间无异质性( $P = 0.699$ ),同质性较好,利用固定效应模型对较高质量研究进行亚组分析显示,合并DOR为37.64, AUC为0.9370(图5)。

2.6 发表偏倚 Deeks检验结果提示纳入的研究基本呈对称分布( $P = 0.775$ ),提示本次Meta分析未检测到明显的发表偏倚(图6)。

### 3 讨论

肝癌为世界上第5大常见癌症,在我国也是最常见的恶性肿瘤之一,且死亡率极高。然而肝癌的早期诊断率如前所述仍然不高,许多患者早期症状缺乏特异性,就诊时往往已处于晚期,肝癌手术切除的5年生存率仅有20%<sup>[18]</sup>。因此如何早期诊断肝癌是临床急需解决的问题。目前对于HCC的诊断应用最广泛的血清学指标是AFP,其定位在第4号染色体上,全长约20 kb。Zhou等<sup>[19]</sup>通过荟萃分析显示,血清AFP对于HCC诊断的灵敏度为70%,特异度为89%, DOR为18.00, ROC曲线下面积为0.86。提示AFP作为HCC诊断的主要肿瘤标志物,尚有30%-40%肝癌不表达,成为诊断的盲区。

端粒(telomere)是真核细胞染色体末端的一种特殊结构,是维持染色体完整性的保护结构。端粒酶是一种能延长端粒末端的核酸蛋白酶,维持端粒长度,甚至可使端粒永生<sup>[20]</sup>,其主要成分包括人端粒酶RNA(hTR)、端粒酶相关蛋白(TP1)和人端粒逆转录酶(hTERT)。其中hTERT催化端粒DNA的合成,决定端粒酶的催化活性。有研究表明<sup>[21,22]</sup>,端粒酶在肿瘤组织中检出率为85%-95%。而非肿瘤组织和各种正常组织中其检出率为4%-6%。而染色体端粒酶表达异常在

肝癌发生过程中也扮演重要角色。早期研究<sup>[23]</sup>表明,肝癌模型的动态研究发现,在诱导过程中随着鼠肝细胞发生癌变,端粒酶水平越来越高。Luan等<sup>[24]</sup>的实验证明HBV蛋白preS2抗原可激活h-TERT基因从而促进肝癌细胞的生长。

本次Meta分析入选的12篇研究显示外周血端粒酶检测诊断HCC的总灵敏度0.85(95%CI: 0.82-0.87),而总特异度0.84(95%CI: 0.81-0.86),提示平均漏诊率为15%,平均误诊率为16%, DOR均值为28.25(95%CI: 17.90-44.56),灵敏度与特异度最大交点的均值为0.8419, AUC为0.9098。汇总PLR为5.17(95%CI: 3.96-6.74),提示外周血端粒酶活性检测测定HCC患者结果为阳性的机会较高,阳性的机会约为非HCC患者的5.17倍。NLR值为0.20(95%CI: 0.14-0.28),提示若外周血端粒酶活性检测的结果为阴性,而HCC患者经过其他“金标准”诊断为HCC的概率有20%。另外,我们对高质量纳入文献研究进行亚组分析显示,剔除QUADAS评分 $\leq 7$ 的研究后,剩余研究的同质性较好( $P = 0.699$ ),同时DOR为37.64 $>$ 28.25,而AUC为0.9370 $>$ 0.9098,说明通过QUADAS评分较高质量的研究对HCC的诊断效率较低质量研究高,总的来说,外周血端粒酶检测对于协助HCC的诊断有着重要的价值。

总之,外周血端粒酶检测诊断HCC的灵敏度、DOR及AUC均高于如前所述的血清AFP对于肝癌的诊断价值,且相对于经皮肝穿刺端粒酶检测创伤较小,操作简单,虽然有一定漏诊率及误诊率,但临床上仍可用于AFP阴性的HCC的诊断或者可以与AFP联合检测提高诊断效率。需要注意的是,由于纳入研究均是分散的小样本病例,希望通过更多的大样本、多中心、双盲

试验丰富Meta分析的证据, 获得更有科学价值的系统评价结果。

#### 4 参考文献

- 杨秉辉, 丛文铭, 周晓. 原发性肝癌规范化诊治专家共识. 临床肿瘤学杂志 2009; 14: 259-269
- Szklaruk J, Silverman PM, Charnsangavej C. Imaging in the diagnosis, staging, treatment, and surveillance of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 441-454 [PMID: 12540450 DOI: 10.2214/ajr.180.2.1800441]
- Kamel IR, Bluemke DA. Imaging evaluation of hepatocellular carcinoma. *J Vasc Interv Radiol* 2002; 13: S173-S184 [PMID: 12354834]
- Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. QUADAS的制定: 用于系统评价中评价诊断性研究质量的工具. 中国循证医学杂志 2007; 7: 296-306
- 张天蒿, 钟文昭. Meta-Disc软件在诊断试验Meta分析中的应用. 循征医学 2008; 8: 97-100
- 邱谢武, 于聪慧, 袁洪峰, 王剑飞, 奈超, 王伟. AFP、h-TERT及VEGF基因在肝细胞癌患者外周血中的诊断价值. 世界华人消化杂志 2012; 20: 610-614
- 战淑慧, 李宁, 宣世英, 李清华. 肝癌患者外周血单个核细胞端粒酶活性表达与临床相关性研究. 中国现代医学杂志 2006; 16: 3465-3467
- 刘阳, 胡梅, 吴娅娜, 喻红波. 肝癌患者血清端粒酶逆转录酶mRNA表达研究. 武警后勤学院学报 2012; 21: 161-163
- 吴玮, 姚登福, 邱历伟, 吴信华, 蒋道荣, 于志坚, 卜召祥. 肝癌组织及外周血端粒酶表达对肝癌的诊断和鉴别价值. 胃肠病学和肝病学杂志 2004; 13: 498-501
- 隋璐璐, 刘小方, 许政. 联合检测外周血hTERT mRNA及GGT mRNA-H表达对小肝癌早期诊断的价值. 中国普外基础与临床杂志 2011; 18: 59-62
- 张利国, 周杰, 林建华. 外周血AFP mRNA、hTERT mRNA检测对肝细胞肝癌患者预后的意义. 山东医药 2010; 50: 5-7
- 冯众一, 付维利, 杨玉龙, 谭文翔. 原发性肝癌血源性微转移检测及临床意义的研究. 中华肝胆外科杂志 2007; 13: 660-662
- Miura N, Osaki Y, Nagashima M, Kohno M, Yoroze K, Shomori K, Kanbe T, Oyama K, Kishimoto Y, Maruyama S, Noma E, Horie Y, Kudo M, Sakaguchi S, Hirooka Y, Ito H, Kawasaki H, Hasegawa J, Shiota G. A novel biomarker TERTmRNA is applicable for early detection of hepatoma. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 46 [PMID: 20482774 DOI: 10.1186/1471-230X-10-46]
- Huangl YK, Fan XG, Qiu F, Wang ZM. Combined detection of mRNA expression of Alpha-fetoprotein in peripheral blood and telomerase activity of monocytes in hepatocellular carcinoma patients. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 1-5 [PMID: 22773301 DOI: 10.5754/hge12359]
- Yao DF, Wu W, Yao M, Qiu LW, Wu XH, Su XQ, Zou L, Yao DB, Meng XY. Dynamic alteration of telomerase expression and its diagnostic significance in liver or peripheral blood for hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4966-4972 [PMID: 16937491]
- Yang YJ, Chen H, Huang P, Li CH, Dong ZH, Hou YL. Quantification of plasma hTERT DNA in hepatocellular carcinoma patients by quantitative fluorescent polymerase chain reaction. *Clin Invest Med* 2011; 34: E238 [PMID: 21810382]
- Tatsuma T, Goto S, Kitano S, Lin YC, Lee CM, Chen CL. Telomerase activity in peripheral blood for diagnosis of hepatoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2000; 15: 1064-1070 [PMID: 11059939]
- Dahiya D, Wu TJ, Lee CF, Chan KM, Lee WC, Chen MF. Minor versus major hepatic resection for small hepatocellular carcinoma (HCC) in cirrhotic patients: a 20-year experience. *Surgery* 2010; 147: 676-685 [PMID: 20004441 DOI: 10.1016/j.surg.2009.10.043]
- Zhou Y, Yin X, Ying J, Zhang B. Golgi protein 73 versus alpha-fetoprotein as a biomarker for hepatocellular carcinoma: a diagnostic Meta-analysis. *BMC Cancer* 2012; 12: 17 [PMID: 22244200 DOI: 10.1186/1471-2407-12-17]
- Hiraoka Y, Haraguchi T. [Mechanism of chromosome protection by telomere and telomerase]. *Tanpakushitsu Kakusan Koso* 2010; 55: 104-107 [PMID: 20162857]
- Rodriguez-Brenes IA, Peskin CS. Quantitative theory of telomere length regulation and cellular senescence. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 5387-5392 [PMID: 20207949 DOI: 10.1073/pnas.0914502107]
- Herbert GS, Sohn VY, Mulcahy MJ, Champeaux AL, Brown TA. Prognostic significance of reactivation of telomerase in breast core biopsy specimens. *Am J Surg* 2007; 193: 547-550; discussion 550 [PMID: 17434352 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.01.011]
- 吴玮, 姚登福, 吴信华, 陆建新, 邱历伟. 肝细胞癌变过程中端粒酶的表达及动态改变. 中国肿瘤 1999; 8: 375-377
- Luan F, Liu H, Gao L, Liu J, Sun Z, Ju Y, Hou N, Guo C, Liang X, Zhang L, Sun W, Ma C. Hepatitis B virus protein preS2 potentially promotes HCC development via its transcriptional activation of hTERT. *Gut* 2009; 58: 1528-1537 [PMID: 19651630 DOI: 10.1136/gut.2008.174029]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 血清及胆汁中NGAL对于区分良恶性胆道狭窄的临床意义

韩美玲, 吕志武

韩美玲, 吕志武, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科 黑龙江省哈尔滨市 150086

韩美玲, 在读硕士, 主要从事消化病学研究。

作者贡献分布: 课题设计、主要实验、临床资料整理、文章起草由韩美玲完成; 病例选择、样本取材、文章修改和审阅由吕志武完成。

通讯作者: 吕志武, 教授, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科。

944377508@qq.com

电话: 0451-86605404

收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-11-12

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2014-01-08

## Serum and bile NGAL for clinically distinguishing malignant biliary strictures from benign biliary strictures

Mei-Ling Han, Zhi-Wu Lv

Mei-Ling Han, Zhi-Wu Lv, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Zhi-Wu Lv, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Street, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. 944377508@qq.com

Received: 2013-10-23 Revised: 2013-11-12

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the value of serum and bile neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) for distinguishing malignant strictures caused by cholangiocarcinoma (CCA) or pancreatic cancer from benign biliary strictures.

**METHODS:** The study was performed prospectively on patients admitted for endoscopic retrograde cholangiopancreatography biliary decompression. Forty-four patients with dilated biliary ducts, including 12 cases of CCA, 8 cases of pancreatic cancer, 1 case of carcinoma of the ampulla, and 23 cases of benign biliary strictures, were enrolled. Their sera and bile were collected to measure NGAL. Routine biochemistry including liver function test and routine blood examination was also performed. Enzyme-linked immunosorbent assay was performed to measure the contents of NGAL in serum and

bile samples.

**RESULTS:** Serum NGAL had no significant value for discriminating malignant and benign biliary strictures (mean, 31.10 ng/mL vs 118.35 ng/mL,  $P = 0.0825$ ). Biliary NGAL levels were significantly raised in the malignant disease group compared with the benign disease group (mean, 199.0 ng/mL vs 466.7 ng/mL,  $P = 0.0215$ ).

**CONCLUSION:** Measurement of biliary NGAL, not serum NGAL, may differentiate malignant biliary strictures from benign biliary strictures.

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

**Key Words:** Benign biliary strictures; Malignant biliary strictures; Cholangiocarcinoma; Pancreatic cancer; NGAL

Han ML, Lv ZW. Serum and bile NGAL for clinically distinguishing malignant biliary strictures from benign biliary strictures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 133-139  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.133>

## 摘要

**目的:** 研究血清和胆汁中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)对于区分良恶性胆道狭窄的临床价值。

**方法:** 所研究患者是经内镜下逆行胰胆管造影进行胆道减压的患者。共44例胆总管扩张患者, 恶性胆道狭窄患者共21例, 其中胆管癌12例, 胰腺癌8例, 壶腹癌1例, 良性胆道狭窄患者23例。收集患者血清和胆汁并采用酶联免疫吸附试验方法检测其中NGAL的含量, 常规检测其他生化指标如血常规、肝功能等。

**结果:** 血清NGAL在区分良恶性胆道狭窄患者中没有明显区别, 差异无统计学意义(平均值 31.10 ng/mL vs 118.35 ng/mL,  $P = 0.0825$ )。比起良性胆道狭窄疾病患者, 胆汁NGAL含量在恶性胆道狭窄患者中明显升高, 差异有统计学

## ■背景资料

胰胆管恶性肿瘤是常见的癌症相关死亡原因之一, 死亡率高, 5年总体存活<5%。由于胰胆管肿瘤在早期缺乏特异性临床表现, 当患者被确诊时多已经出现远处转移, 因此对于该疾病的早诊较为困难。

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

## ■ 研发前沿

目前对于恶性胆道梗阻的诊断多依赖于影像学、胆道的细胞采集、胆道活检、血清肿瘤标志物等。通过细胞刷和活检在胆道狭窄的部位可获得组织学样本,但是细胞学和组织学检查敏感性一般<60%。目前最常用的血清肿瘤标志物为糖原-199和癌胚抗原,因其较低的敏感性和特异性对于胰胆管肿瘤的诊断仍需进一步研究。因此,临床中需要更多的可协助准确诊断并鉴别良恶性胆道梗阻的可靠的肿瘤标志物。

意义(平均值199.0 ng/mL vs 466.7 ng/mL,  $P = 0.0215$ )。

**结论:** 胆汁而非血清中NGAL含量对于鉴别良恶性胆道狭窄患者有临床意义。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 良性胆道狭窄; 恶性胆道狭窄; 胆管癌; 胰腺癌; NGAL

**核心提示:** 胆汁而非血清中中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)含量对于鉴别良恶性胆道狭窄患者有临床意义。相比较血清而言,测定胆汁中NGAL的含量所受到外界的影响要小,一定程度上使其特异性和敏感性高一些。

韩美玲, 吕志武. 血清及胆汁中NGAL对于区分良恶性胆道狭窄的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 133-139 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/133.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.133>

## 0 引言

胰胆管恶性肿瘤是常见的癌症相关死亡原因之一,死亡率高,5年总体存活<5%<sup>[1,2]</sup>。当患者诊断时多已经出现远处转移或局部浸润<sup>[3]</sup>。胆管癌在过去的十几年中发病率在逐年增加<sup>[4,5]</sup>。胰胆管肿瘤在早期往往缺乏特异性临床表现,可仅出现中上腹腹胀、不适、隐痛、纳差、乏力、消瘦等症状,因此对于该疾病的早诊较为困难,在后期患者多表现为梗阻性黄疸。

对于胆管癌患者确定诊断是很困难的,胆道狭窄的原因有很多,除了恶性胆道狭窄外,许多良性胆道疾病也有相似的临床表现,如炎症(自身免疫性、感染性)、基因性的、血管性的等。延迟的确定诊断和治疗多是因为诊断的不确定性。外科手术仅仅针对于那些可能治愈的患者,所以只能应用于一小部分人群<sup>[6,7]</sup>。诊断的不确定往往导致处理方面的偏差,目前对于恶性胆道梗阻的诊断多依赖于影像学(CT、MRI、超声内镜、胰胆管水成像)、胆道的细胞采集、胆道活检、血清肿瘤标志物等<sup>[8-10]</sup>。典型的胆管癌常沿着胆管长轴生长<sup>[11]</sup>,且很少局部聚集,然而影像学对于观察这一区域的病变往往可准定位,但在确定良恶性方面帮助较少。通过细胞刷和活检在胆道狭窄的部位可获得组织学样本,但是细胞学和组织学检查敏感性一般小于<60%<sup>[12]</sup>。蛋白质图谱在发现新的肿瘤标志物方

面很有前景<sup>[13,14]</sup>,但是在人类胆汁中很难成功。虽然人类的胆汁成分十分复杂,最近有研究证实在人类胆汁中蛋白可以定量,并且可以提取出蛋白质生物标记物<sup>[15-17]</sup>。目前最常用的血清肿瘤标志物为糖原抗体(carbohydrate antigen 19-9, CA19-9)和癌胚抗原,因其较低的敏感性和特异性对于胰胆管肿瘤的诊断仍需进一步研究。因此,临床中需要更多的可协助准确诊断并鉴别良恶性胆道梗阻的可靠的肿瘤标志物。

中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白(neutrophil gelatinase associated lipocalin, NGAL)是一24 kDa分泌型糖蛋白,从激活的中性粒细胞中释放出来,在人类NGAL基因定位于9q34。多种证据表明NGAL诱导了多种人类的癌症,并且在这些癌症患者中存在NGAL高表达的现象,比如皮肤癌<sup>[18]</sup>、甲状腺癌、乳腺癌<sup>[19,20]</sup>、卵巢癌<sup>[21,22]</sup>、子宫内膜癌<sup>[23]</sup>、结肠癌<sup>[24]</sup>、肺癌<sup>[25]</sup>、肝癌、胆管癌、食道癌<sup>[26]</sup>、胃癌<sup>[27,28]</sup>和胰腺癌<sup>[29,30]</sup>等。有报道称在胃癌、胰腺癌和肝细胞癌的患者血清中有NGAL水平增高的现象<sup>[31-33]</sup>。之前有研究报道了在胆管癌患者中血清NGAL有较正常患者明显升高的现象,差异有统计学意义<sup>[34,35]</sup>。很少有研究恶性胆道狭窄患者胆汁中NGAL含量的文献报道,本文就NGAL在良恶性胆道狭窄患者中的含量区别进行研究。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 选择于2013-02/2013-06就诊于哈医大二院的梗阻性黄疸的患者。收集该患者的逆行性胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术前周围静脉血,以及行ERCP检查时收集患者胆汁。将不符合实验要求的患者予以排除。排除标准:因NGAL在急性肾功能衰竭、肾功能不全或慢性胰腺炎的患者中明显增高<sup>[30,36,37]</sup>,因此以上疾病的患者予以排除。同时将除胰胆管癌症以外的其他部位的恶性肿瘤、ERCP胆总管插管未成功者排除。

**1.2 方法** 在患者行ERCP检查之前对患者进行采血至少4 mL,置于4 °C的冰箱中约2 h。待血液凝块后在室温条件下1000 r/min的速度离心10 min,取上清并置于EP管中密封后置于-80 °C中保存,待测量时备用。在受试者行ERCP检查时,向胆总管中注入造影剂之前抽出胆汁约5-10 mL,置于试管中,随后将试管避光并置于4 °C冰箱中。此后用离心机12000 r/min,离心10 min。取上清并置于EP管中密封后置于-80 °C中保存,待测

表 1 良恶性胆道梗阻患者基本信息以及血液生化指标的比较 (mean ± SD)

指标	分组		P值
	良性组	恶性组	
n	23	21	
年龄(岁)	59.13 ± 10.58	65 ± 10.50	
性别			
男	15	12	
女	8	8	
血红蛋白(g/L)	131.0(125.0 ± 140.5)	129.5(107.5 ± 139.25)	<0.05
ALT(U/L)	46.0(16.0 ± 103.0)	57(35.5 ± 103.25)	
AST(U/L)	26.0(16.0 ± 83.5)	70.5(44 ± 80.25)	
GGT(U/L)	156.0(47.5 ± 568.0)	542.5(232.5 ± 748.75)	<0.05
ALP(U/L)	105.5(78.5 ± 188.25)	189.5(156 ± 358.5)	
总胆红素(μmol/L)	20.7(15.2 ± 44.4)	75.2(39.05 ± 233.075)	<0.05
直接胆红(μmol/L)	16.2(6.65 ± 43.3)	70.25(33.02 ± 218.37)	
血清NGAL(ng/mL)	31.1(9.1 ± 215.325)	118.35(36.65 ± 256.2)	
胆汁NGAL(ng/mL)	199.0(27.9 ± 292.1)	466.7(270.05 ± 102.5)	<0.05

ALP: 碱性磷酸酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; GGT: γ-谷氨酰转氨酶。

## ■ 相关报道

多种证据表明 NGAL 诱导多种人类的癌症, 并且在这些癌症患者中存在 NGAL 高表达的现象, 比如皮肤癌、甲状腺癌、乳腺癌、卵巢癌、子宫内膜癌、结肠癌、肺癌、肝癌、胆管癌、食道癌、胃癌和胰腺癌。

量时备用。待样本数达到预计值后将血清以及胆汁样本取出后做ELISA分析。ELISA试剂盒购自美国Cloud-Clone Corp.公司, 货品编号为SEB388Hu, 各项操作均严格按照说明进行。同时患者的丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、γ-谷氨酰转氨酶等运用速率法进行检测, 血清总胆红素以及直接胆红素运用比色法进行检测。

**统计学处理** 使用Excel进行数据处理, 分析方法: 计量数据采用mean±SD进行描述, 计数数据采用计数和百分比进行描述; 主要分析指标与疾病是否具有相关性, 采用线性回归, 调整年龄与性别两个因素。分析过程采用SAS9.3进行分析。

## 2 结果

**2.1 良恶性胆道狭窄患者资料比较** 所选取符合实验入组标准的胆道狭窄的患者一共44例, 良性胆道狭窄患者23例, 恶性胆道狭窄患者21例。良性胆道狭窄的病因包括: 胆总管结石18例、Oddi括约肌功能失调1例、胆道炎性狭窄2例、胆囊管管状腺瘤1例、十二指肠憩室1例等, 恶性胆道狭窄包括胆管癌12例、胰腺癌8例、壶腹癌1例。在21例恶性胆道狭窄患者中有7例经病理证实, 其余患者均有影像学诊断为

恶性胆道狭窄, 包括彩超、超声内镜、肝胆胰CT/MRI、ERCP检查等。所有肿瘤患者术前均未做放疗、化疗或免疫治疗。按照 $\alpha = 0.05$ 检验水准, 良恶性胆道狭窄患者中血清NGAL含量在两组患者中分别为31.1 ng/mL(9.1 ng/mL ± 215.325 ng/mL) vs 118.35 ng/mL(36.65 ng/mL ± 256.2 ng/mL),  $P = 0.0825$ , 胆汁中NGAL含量在两组患者中分别为199.0 ng/mL(27.9 ng/mL ± 292.1 ng/mL) vs 466.7 ng/mL(270.05 ng/mL ± 102.5 ng/mL),  $P = 0.0215$ 。比起良性组, 恶性组患者血清总胆红素、γ-谷氨酰转氨酶水平均较高, 血红蛋白水平较低, 差异有统计学意义( $P$ 值分别为0.0208、0.0324、0.0416)。年龄、性别、ALT、AST、ALP等生化指标在两组之间无明显差异。患者良恶性胆道狭窄的基本特征比较如表1, 患者胆汁和血清中NGAL比较情况, 如图1。

**2.2 胆汁中NGAL多重线性分析结果** 胆汁NGAL的多重线性回归未进行变量筛选的结果如表2。按照 $\alpha = 0.05$ 检验水准, 胆汁NGAL在良恶性分组, 同时与总胆红素与直接胆红素呈负相关。

## 3 讨论

胰胆管恶性肿瘤发病隐匿, 早期发现以及诊断困难, 手术切除率低, 术后死亡率高, 预后差。至今, 常用于临床检测胆管癌的血清学肿瘤标志物有癌胚抗原和CA19-9。然而CEA因许在多其



## ■创新盘点

已经有许多国内外文献报道了NGAL在消化系统恶性肿瘤方面的研究,如胃癌、肝癌、胰腺癌患者血清中NGAL的含量,但是关于胆汁中的含量目前还比较少。

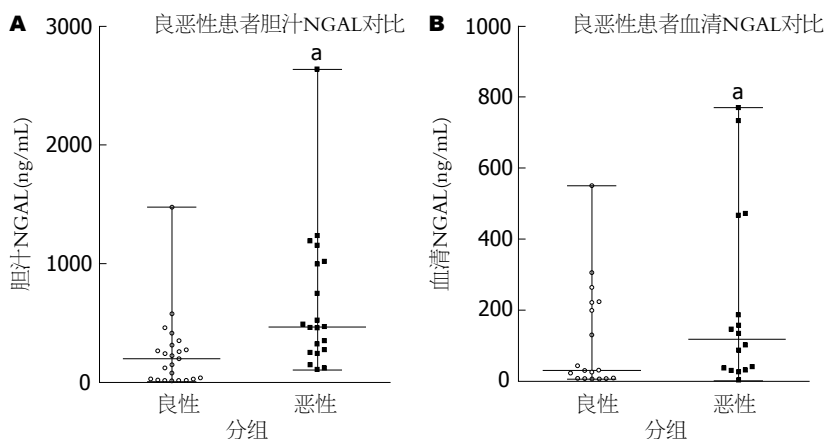


图1 良恶性胆道狭窄患者胆汁以及血清中NGAL含量的对比情况. A: 良恶性胆道狭窄患者胆汁中NGAL对比情况.  $^*P<0.05$  vs 良性; B: 良恶性胆道狭窄患者血清中NGAL对比情况.  $^*P<0.05$  vs 良性.

表2 胆汁中NGAL多重线性分析结果

	胆汁NGAL
年龄	0.0608
性别	0.9759
血红蛋白	0.4056
ALT	0.6524
AST	0.5749
GGT	0.1840
ALP	0.8518
总胆红素	<0.03
直接胆红素	<0.03

ALP: 碱性磷酸酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天门冬氨酸氨基转移酶; GGT:  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶。

他的消化系统肿瘤、妇产科恶性肿瘤或其他胆道病理性改变(如胆管炎或肝炎等)也增高,因此CEA在诊断胆管癌中特异性较差<sup>[38]</sup>。Leelawat等<sup>[39]</sup>曾报道了CEA在诊断胆管癌方面的敏感性和特异性分别仅为58.54%和62.50%。血清CA19-9值的显著升高对胆管良恶性病变有一定的鉴别诊断价值,但在胆道感染或其他胆管良性病变中CA19-9值亦可显著升高<sup>[40]</sup>,因此在本研究中并未将CEA、CA19-9列为测量指标,本研究旨在发现对鉴别良恶性胆道狭窄敏感性和特异性均高的新的肿瘤标志物。

NGAL又称人脂质运载蛋白2<sup>[41]</sup>, NGAL的表达在一些良性和恶性疾病中会出现表达失调的现象。NGAL在肿瘤中的功能从阻止凋亡(在甲状腺癌细胞),阻止肿瘤浸润和血管再生(在胰腺癌)到增加肿瘤的增殖和转移(在乳腺和结肠癌)<sup>[42]</sup>,因此近年来NGAL与人类恶性肿瘤的这

种多样性的关系越来越受到了人们的重视。此外, NGAL与基质金属蛋白酶-9(matrix metallo-protease-9, MMP-9)以二硫键形成复合物,促进MMP-9对细胞基底膜的降解,从而浸润周围基质,介导癌细胞转移<sup>[43]</sup>。尽管NGAL在肿瘤发生中的准确的机制尚不完全清楚,但是他确定与人类的一些常见的恶性肿瘤相关,包括胃癌、食道癌、胰腺癌和胆管癌等。有报道称比起非肿瘤组织NGAL与MMP-9复合物在胃癌和食道鳞状细胞癌的组织中表达增高<sup>[44,45]</sup>,同时在乳腺癌组织中, NGAL过表达是患者预后不良的标志,包括癌组织分化程度低和存在淋巴结转移<sup>[20]</sup>。

胰腺癌是致死率最高的恶性肿瘤之一, 5年存活率低于3.5%<sup>[3]</sup>。目前越来越多的证据表明NGAL与胆管恶性肿瘤相关<sup>[26,46,47]</sup>,有报道称<sup>[30]</sup>在胰腺癌中存在NGAL mRNA过度表达的现象,在组织学和血清学研究中,胰腺恶性肿瘤和胰腺炎患者中NGAL表达明显上调,但正常胰腺组织中却很少表达( $P<0.001$ )。

NGAL在胆管癌患者中存在表达增高的现象已经有一些研究报道。Nuntagowat等<sup>[48]</sup>报道在胆管癌患者中通过siRNA可以抑制70%-80%的NGAL mRNA和蛋白的表达。

在胰胆管恶性肿瘤中,胆汁是一潜在的有着丰富的肿瘤生物标志物的资源。胆汁从胆道中缓缓流出,理论上其含有丰富的肿瘤细胞代谢产物。此外,胆汁相对容易获得,多数胆道狭窄的患者都需经逆行性胰胆管造影检查以及相关内镜下治疗,通过此操作可获取胆汁。然而在正常胆管组织中无此蛋白的表达,因此,推测测量良恶性胆道狭窄患者的胆汁中NGAL的含量可

能有区别. 但目前国内外对胆汁中NGAL检测的文献报道少之又少.

本研究采用酶联免疫吸附法检测了良恶性胆道狭窄患者胆汁中NGAL蛋白表达水平, 结果提示与胆道良性狭窄患者相比, 胆道恶性狭窄患者胆汁中NGAL蛋白有较高的表达水平(平均值466.7 ng/mL vs 199.0 ng/mL), 差异有统计学意义( $P = 0.0215$ ), 说明检测胆汁中NGAL蛋白对胆道系统肿瘤的诊断具有临床意义. 因此, 根据本研究可推测出, 胆汁中NGAL蛋白含量的检测对肿瘤性质的鉴别诊断具有一定意义. 但是相对于患者血清来说, 患者胆汁的收集更为复杂. 因此本实验同时检测了两组患者血清中NGAL的含量, 检测结果示恶性胆道梗阻患者较良性组高(平均值118.35 ng/mL vs 31.10 ng/mL), 但差异没有统计学意义( $P = 0.0825$ ), 从另一方面证明了血清中NGAL蛋白含量在鉴别良恶性胆道狭窄的诊断方面临床价值较小. 最近有两项研究报道了血清或者胆汁中NGAL含量在胆管恶性肿瘤患者中的临床应用价值. 其中, Leela-wat<sup>[35]</sup>报道了血清中NGAL和CA19-9含量在鉴别良性胆道狭窄和胆管癌方面有临床意义, 差异有统计学意义( $P < 0.001$ ), 与本研究结果不一致. 然而在其实验中并未将患者胆汁中NGAL的含量进行检测. 另一项研究<sup>[34]</sup>显示胆汁中NGAL含量在区分良恶性胆道梗阻方面的敏感性为94%, 但在本研究中胆管癌患者数量较少, 众所周知比起胆管癌, 血清CA19-9和胰腺CT对胰腺癌的诊断更为有效.

在本研究中胆汁NGAL多元线性回归分析表明, 胆汁中NGAL含量与总胆红素与直接胆红素呈负相关, 而与其他因素如年龄、性别、血红蛋白、肝功能酶学指标等无明显相关性, 表明NGAL在区分良恶性胆道狭窄方面是一独立的预测指标. 本实验虽然证实检测胆汁中的NGAL蛋白在鉴别诊断胆道良恶性肿瘤等方面有一定的临床应用价值, 但因样本例数较少, 尚需更大样本量的研究结果进一步证实. 此外, 本实验无正常健康人的胆汁中NGAL的检测, 且有个别良性胆道狭窄患者胆汁中NGAL蛋白含量表达较高, 但可能与胆石等刺激胆管局部组织增生相关, 仍需进一步研究.

#### 4 参考文献

- 1 Raimondi S, Maisonneuve P, Lowenfels AB. Epidemiology of pancreatic cancer: an overview. *Nat*

- Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 699-708 [PMID: 19806144 DOI: 10.1038/nrgastro.2009.177]
- 2 Khan SA, Toledano MB, Taylor-Robinson SD. Epidemiology, risk factors, and pathogenesis of cholangiocarcinoma. *HPB (Oxford)* 2008; 10: 77-82 [PMID: 18773060 DOI: 10.1080/13651820801992641]
- 3 Chakraborty S, Baine MJ, Sasson AR, Batra SK. Current status of molecular markers for early detection of sporadic pancreatic cancer. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1815: 44-64 [PMID: 20888394 DOI: 10.1016/j.bbcan.2010.09.002]
- 4 Welzel TM, McGlynn KA, Hsing AW, O'Brien TR, Pfeiffer RM. Impact of classification of hilar cholangiocarcinomas (Klatskin tumors) on the incidence of intra- and extrahepatic cholangiocarcinoma in the United States. *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 873-875 [PMID: 16788161]
- 5 Khan SA, Emadossadaty S, Ladep NG, Thomas HC, Elliott P, Taylor-Robinson SD, Toledano MB. Rising trends in cholangiocarcinoma: is the ICD classification system misleading us? *J Hepatol* 2012; 56: 848-854 [PMID: 22173164 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.1.015]
- 6 Seehofer D, Kamphues C, Neuhaus P. Management of bile duct tumors. *Expert Opin Pharmacother* 2008; 9: 2843-2856 [PMID: 18937616 DOI: 10.1517/14656566.9.16.2843]
- 7 Khan SA, Davidson BR, Goldin RD, Heaton N, Karani J, Pereira SP, Rosenberg WM, Tait P, Taylor-Robinson SD, Thillainayagam AV, Thomas HC, Wasan H. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: an update. *Gut* 2012; 61: 1657-1669 [PMID: 22895392 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301748]
- 8 Hidalgo M. Pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 1605-1617 [PMID: 20427809 DOI: 10.1056/NEJMr0901557]
- 9 Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602]
- 10 Greenhalf W, Grocock C, Harcus M, Neoptolemos J. Screening of high-risk families for pancreatic cancer. *Pancreatol* 2009; 9: 215-222 [PMID: 19349734 DOI: 10.1159/000210262]
- 11 Weber A, Schmid RM, Prinz C. Diagnostic approaches for cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4131-4136 [PMID: 18636656]
- 12 Weber A, von Weyhern C, Fend F, Schneider J, Neu B, Meining A, Weidenbach H, Schmid RM, Prinz C. Endoscopic transpapillary brush cytology and forceps biopsy in patients with hilar cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1097-1101 [PMID: 18286693]
- 13 Farina A, Dumonceau JM, Lescuyer P. Proteomic analysis of human bile and potential applications for cancer diagnosis. *Expert Rev Proteomics* 2009; 6: 285-301 [PMID: 19489700 DOI: 10.1586/epr.09.12]
- 14 Hanash SM, Pitteri SJ, Faca VM. Mining the plasma proteome for cancer biomarkers. *Nature* 2008; 452: 571-579 [PMID: 18385731 DOI: 10.1038/nature06916]
- 15 Farina A, Dumonceau JM, Frossard JL, Hadengue A, Hochstrasser DF, Lescuyer P. Proteomic analysis of human bile from malignant biliary stenosis induced by pancreatic cancer. *J Proteome Res* 2009; 8: 159-169 [PMID: 19055478]
- 16 Alvaro D. Serum and bile biomarkers for cholangio-

#### ■应用要点

本研究表明NGAL在区分良恶性胆道狭窄方面是一独立的预测指标. 在鉴别诊断胆道良恶性肿瘤等方面有一定的临床应用价值.

## ■同行评价

本文立意新颖, 病例充分, 结果准确, 统计方法科学有意义, 本文有学术价值, 具有临床实践意义。

- carcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 279-284 [PMID: 19396965]
- 17 Bonney GK, Craven RA, Prasad R, Melcher AF, Selby PJ, Banks RE. Circulating markers of biliary malignancy: opportunities in proteomics? *Lancet Oncol* 2008; 9: 149-158 [PMID: 18237849]
- 18 Mallbris L, O'Brien KP, Hulthén A, Sandstedt B, Cowland JB, Borregaard N, Ståhle-Bäckdahl M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is a marker for dysregulated keratinocyte differentiation in human skin. *Exp Dermatol* 2002; 11: 584-591 [PMID: 12473066]
- 19 Nacht M, Ferguson AT, Zhang W, Petroziello JM, Cook BP, Gao YH, Maguire S, Riley D, Coppola G, Landes GM, Madden SL, Sukumar S. Combining serial analysis of gene expression and array technologies to identify genes differentially expressed in breast cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 5464-5470 [PMID: 10554019]
- 20 Bauer M, Eickhoff JC, Gould MN, Mundhenke C, Maass N, Friedl A. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) is a predictor of poor prognosis in human primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2008; 108: 389-397 [PMID: 17554627]
- 21 Santin AD, Zhan F, Bellone S, Palmieri M, Cane S, Bignotti E, Anfossi S, Gokden M, Dunn D, Roman JJ, O'Brien TJ, Tian E, Cannon MJ, Shaughnessy J, Pecorelli S. Gene expression profiles in primary ovarian serous papillary tumors and normal ovarian epithelium: identification of candidate molecular markers for ovarian cancer diagnosis and therapy. *Int J Cancer* 2004; 112: 14-25 [PMID: 15305371]
- 22 Cho H, Kim JH. Lipocalin2 expressions correlate significantly with tumor differentiation in epithelial ovarian cancer. *J Histochem Cytochem* 2009; 57: 513-521 [PMID: 19188485 DOI: 10.1369/jhc.2009.953257]
- 23 Miyamoto T, Kashima H, Suzuki A, Kikuchi N, Konishi I, Seki N, Shiozawa T. Laser-captured microdissection-microarray analysis of the genes involved in endometrial carcinogenesis: stepwise up-regulation of lipocalin2 expression in normal and neoplastic endometria and its functional relevance. *Hum Pathol* 2011; 42: 1265-1274 [PMID: 21334721 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.07.027]
- 24 Bousserouel S, Kauntz H, Gossé F, Bouhadjar M, Soler L, Marescaux J, Raul F. Identification of gene expression profiles correlated to tumor progression in a preclinical model of colon carcinogenesis. *Int J Oncol* 2010; 36: 1485-1490 [PMID: 20428773]
- 25 Linnerth NM, Sirbovan K, Moorehead RA. Use of a transgenic mouse model to identify markers of human lung tumors. *Int J Cancer* 2005; 114: 977-982 [PMID: 15645424]
- 26 Furutani M, Arai S, Mizumoto M, Kato M, Imamura M. Identification of a neutrophil gelatinase-associated lipocalin mRNA in human pancreatic cancers using a modified signal sequence trap method. *Cancer Lett* 1998; 122: 209-214 [PMID: 9464512]
- 27 Wang HJ, He XJ, Ma YY, Jiang XT, Xia YJ, Ye ZY, Zhao ZS, Tao HQ. Expressions of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in gastric cancer: a potential biomarker for prognosis and an ancillary diagnostic test. *Anat Rec (Hoboken)* 2010; 293: 1855-1863 [PMID: 20730863 DOI: 10.1002/ar.21230]
- 28 Alpizar YA, Ramírez BS, Fernández DR, Capote AR, Hidalgo GG, Rodríguez RP, Molina LE. HER1-ECD vaccination dispenses with emulsification to elicit HER1-specific anti-proliferative effects. *Hum Vaccin* 2009; 5: 158-165 [PMID: 19246985]
- 29 Laurell H, Bouisson M, Berthelemy P, Rochaix P, Dejean S, Besse P, Susini C, Pradayrol L, Vaysse N, Buscail L. Identification of biomarkers of human pancreatic adenocarcinomas by expression profiling and validation with gene expression analysis in endoscopic ultrasound-guided fine needle aspiration samples. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3344-3351 [PMID: 16733850]
- 30 Moniaux N, Chakraborty S, Yalniz M, Gonzalez J, Shostrom VK, Standop J, Lele SM, Ouellette M, Pour PM, Sasson AR, Brand RE, Hollingsworth MA, Jain M, Batra SK. Early diagnosis of pancreatic cancer: neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Br J Cancer* 2008; 98: 1540-1547 [PMID: 18392050 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604329]
- 31 Chan AO, Chu KM, Lam SK, Cheung KL, Law S, Kwok KF, Wong WM, Yuen MF, Wong BC. Early prediction of tumor recurrence after curative resection of gastric carcinoma by measuring soluble E-cadherin. *Cancer* 2005; 104: 740-746 [PMID: 15991243]
- 32 Reckamp KL, Gardner BK, Figlin RA, Elashoff D, Krysan K, Dohadwala M, Mao J, Sharma S, Inge L, Rajasekaran A, Dubinett SM. Tumor response to combination celecoxib and erlotinib therapy in non-small cell lung cancer is associated with a low baseline matrix metalloproteinase-9 and a decline in serum-soluble E-cadherin. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 117-124 [PMID: 18303430 DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181622bef]
- 33 Soyama A, Eguchi S, Takatsuki M, Kawashita Y, Hidaka M, Tokai H, Nagayoshi S, Mochizuki S, Matsumoto S, Hamasaki K, Tajima Y, Kanematsu T. Significance of the serum level of soluble E-cadherin in patients with HCC. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1390-1393 [PMID: 18795696]
- 34 Zabron AA, Horneffer-van der Sluis VM, Wadsworth CA, Laird F, Gierula M, Thillainayagam AV, Vlavianos P, Westaby D, Taylor-Robinson SD, Edwards RJ, Khan SA. Elevated levels of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in bile from patients with malignant pancreatobiliary disease. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1711-1717 [PMID: 21670771 DOI: 10.1038/ajg.2011.187]
- 35 Leelawat K, Narong S, Wannaprasert J, Leelawat S. Serum NGAL to Clinically Distinguish Cholangiocarcinoma from Benign Biliary Tract Diseases. *Int J Hepatol* 2011; 2011: 873548 [PMID: 21994874 DOI: 10.4061/2011/873548]
- 36 Bolignano D, Lacquaniti A, Coppolino G, Donato V, Campo S, Fazio MR, Nicocia G, Buemi M. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) and progression of chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 337-344 [PMID: 19176795 DOI: 10.2215/CJN.03530708]
- 37 Tong Z, Kunnumakkara AB, Wang H, Matsuo Y, Diagaradjane P, Harikumar KB, Ramachandran V, Sung B, Chakraborty A, Bresalier RS, Logsdon C, Aggarwal BB, Krishnan S, Guha S. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel suppressor of invasion and angiogenesis in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 6100-6108 [PMID: 18676832 DOI: 10.1158/0008-5472]



- 38 Hultcrantz R, Olsson R, Danielsson A, Järnerot G, Löf L, Ryden BO, Wahren B, Broomé U. A 3-year prospective study on serum tumor markers used for detecting cholangiocarcinoma in patients with primary sclerosing cholangitis. *J Hepatol* 1999; 30: 669-673 [PMID: 10207809]
- 39 Leelawat K, Sakchinabut S, Narong S, Wan-naprasert J. Detection of serum MMP-7 and MMP-9 in cholangiocarcinoma patients: evaluation of diagnostic accuracy. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 30 [PMID: 19405942 DOI: 10.1186/1471-230X-9-30]
- 40 Ker CG, Chen JS, Lee KT, Sheen PC, Wu CC. Assessment of serum and bile levels of CA19-9 and CA125 in cholangitis and bile duct carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 1991; 6: 505-508 [PMID: 1657243]
- 41 Chakraborty S, Kaur S, Guha S, Batra SK. The multifaceted roles of neutrophil gelatinase associated lipocalin (NGAL) in inflammation and cancer. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1826: 129-169 [PMID: 22513004 DOI: 10.1016/j.bbcan.2012.03.008]
- 42 Roudkenar MH, Halabian R, Ghasemipour Z, Roushandeh AM, Rouhbakhsh M, Nekogoftar M, Kuwahara Y, Fukumoto M, Shokrgozar MA. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin acts as a protective factor against H(2)O(2) toxicity. *Arch Med Res* 2008; 39: 560-566 [PMID: 18662586 DOI: 10.1016/j.arcmed.2008.05.003]
- 43 许文荣, 廖盛恺. 中性粒细胞明胶酶相关脂质运载蛋白——一种新的肾损伤标志物. *临床检验杂志* 2011; 29: 1001-764X
- 44 Kubben FJ, Sier CF, Hawinkels LJ, Tschesche H, van Duijn W, Zuidwijk K, van der Reijden JJ, Hane-maaijer R, Griffioen G, Lamers CB, Verspaget HW. Clinical evidence for a protective role of lipocalin-2 against MMP-9 autodegradation and the impact for gastric cancer. *Eur J Cancer* 2007; 43: 1869-1876 [PMID: 17604154]
- 45 Zhang H, Xu L, Xiao D, Xie J, Zeng H, Wang Z, Zhang X, Niu Y, Shen Z, Shen J, Wu X, Li E. Up-regulation of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in oesophageal squamous cell carcinoma: significant correlation with cell differentiation and tumour invasion. *J Clin Pathol* 2007; 60: 555-561 [PMID: 17412867]
- 46 Han H, Bearss DJ, Browne LW, Calaluze R, Nagle RB, Von Hoff DD. Identification of differentially expressed genes in pancreatic cancer cells using cDNA microarray. *Cancer Res* 2002; 62: 2890-2896 [PMID: 12019169]
- 47 Iacobuzio-Donahue CA, Maitra A, Olsen M, Lowe AW, van Heek NT, Rosty C, Walter K, Sato N, Parker A, Ashfaq R, Jaffee E, Ryu B, Jones J, Eshleman JR, Yeo CJ, Cameron JL, Kern SE, Hruban RH, Brown PO, Goggins M. Exploration of global gene expression patterns in pancreatic adenocarcinoma using cDNA microarrays. *Am J Pathol* 2003; 162: 1151-1162 [PMID: 12651607]
- 48 Nuntagawat C, Leelawat K, Tohtong R. NGAL knock-down by siRNA in human cholangiocarcinoma cells suppressed invasion by reducing NGAL/MMP-9 complex formation. *Clin Exp Metastasis* 2010; 27: 295-305 [PMID: 20373132 DOI: 10.1007/s10585-010-9327-y]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义

## ■背景资料

胰颈部是胰腺肿瘤局部晚期最多见的部位, 同时也是手术难度最大的部位, 以往对于此部位的肿瘤大多放弃。然而, 手术切除作为唯一有望根治胰腺癌的治疗方式, 我们有必要对这类患者引起重视并进行重新审视, 提出一些新的理念和手术方式, 以改善胰腺癌患者的整体治疗效果。

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义, 华中科技大学同济医学院附属同济医院胆胰外科 湖北省武汉市 430030  
陈冬, 在读博士, 主要从事胰腺胆道肿瘤方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81071775, 81272659

作者贡献分布: 课题设计由陈冬与秦仁义共同完成; 手术由秦仁义完成; 课题数据收集及统计分析由陈冬、朱峰、王敏、田锐及卢文亮完成; 论文撰写由陈冬与秦仁义完成; 课题监督由秦仁义完成。

通讯作者: 秦仁义, 教授, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院。

ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 027-83665314

收稿日期: 2013-09-23 修回日期: 2013-10-24

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-08

## Pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Wen-liang Lu, Ren-Yi Qin

Dong Chen, Feng Zhu, Min Wang, Rui Tian, Wen-liang Lu, Ren-Yi Qin, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Affiliated Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81071775 and 81272659

Correspondence to: Ren-Yi Qin, Professor, Department of Biliary-Pancreatic Surgery, Tongji Hospital, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Avenue, Wuhan 430030, Hubei Province, China. ryqin@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-09-23 Revised: 2013-10-24

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To summarize the clinical features of tumors of the neck of the pancreas and investigate the application of selective arteriovenous priority processing and total pancreatic blood occlusion in pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas.

**METHODS:** Clinical and pathological data for 25 patients with tumors of the neck of the pancreas who underwent pancreatoduodenectomy at our hospital from January 2011 to June 2013 were retrospectively analyzed. Selective arteriovenous priority processing and total pancreatic blood occlusion were performed depending on the patient's features.

## ■同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

**RESULTS:** This group of patients had no jaundice but suffered from back pain, and 21 of them had severe back pain. During the operation, hard pancreatic texture, dilatation of the pancreatic duct, and various degree of inflammation were visible. All the tumors invaded either arteries or veins. No morbidity was observed. The operative time was 7-8 h, and the blood loss was 600-900 mL. Among all the postoperative mortalities, there were 2 cases of gastrointestinal bleeding, 4 cases of delayed gastric emptying and 3 cases of diarrhea after, and all were treated by conservative management without reoperation. The symptoms of back pain was totally relieved in 10 cases, substantially relieved in 13 and partially relieved in 2.

**CONCLUSION:** Tumors of the neck of the pancreas have no specific symptoms in early stages. The symptom of jaundice appears late. In the late stages of the disease, back pain occurs in all cases, with the dilation of the distal pancreatic duct, a hard texture of the pancreas and severe inflammation. The tumor boundary is not clear, and there is a tendency to involve adjacent vessels. Selective arteriovenous priority processing and total pancreatic blood occlusion can guarantee the safety of the operation and reduce the incidence of postoperative complications.

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

**Key Words:** Pancreatoduodenectomy; Tumor of the neck of the pancreas

Chen D, Zhu F, Wang M, Tian R, Lu WL, Qin RY. Pancreatoduodenectomy for tumors of the neck of the pancreas. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 140-143  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/140.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.140>

## 摘要

**目的:** 总结胰颈部肿瘤的临床特点并探讨选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法在胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术(pancreatoduodenectomy, PD)中的应用。

**方法:** 回顾性分析我院2011-01/2013-06收治的25例胰颈部肿瘤行胰十二指肠切除术的患者的临床病理资料, 针对每例患者的不同情况分别采用了选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法。

**结果:** 本组患者中, 25例患者均无黄疸, 但均有不同程度的腰背部疼痛, 其中21例为剧烈的腰背部疼痛, 术中可见胰腺质地硬, 胰管均扩张, 并可见不同程度的炎症表现, 肿瘤基本都累及静脉或者动脉; 25例患者均行PD, 全组无1例术中死亡, 术中出血量600-900 mL, 手术时间7-8 h, 术后消化系出血2例, 胃排空延迟4例, 腹泻3例, 均经保守治疗好转出院, 术后腰背部疼痛完全缓解10例, 明显缓解13例, 部分缓解2例。

**结论:** 胰颈部肿瘤早期一般无特异症状, 黄疸出现较晚, 甚至至就诊时亦未出现, 晚期均出现腰背部疼痛, 基本都伴有远端胰管扩张, 胰腺质地很硬, 炎症较重, 肿瘤边界不清, 容易累及邻近的重要血管, 手术难度大, 采用选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法能保障手术安全进行, 减少术后并发症的发生。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胰颈部肿瘤; 胰十二指肠切除术

**核心提示:** 胰颈部肿瘤容易累及邻近的重要血管, 手术难度大, 采用选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法能保障手术安全进行, 减少术后并发症的发生。

陈冬, 朱峰, 王敏, 田锐, 卢文亮, 秦仁义. 胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 140-143 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/140.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.140>

## 0 引言

相对于胰腺头部和体尾部而言, 胰颈部应该是肿瘤局部晚期最多见的部位, 同时也是手术难度最大的部位, 以往对于此部位的肿瘤大多放弃。然而, 手术切除作为唯一有望根治胰腺癌的治疗方式<sup>[1]</sup>, 我们有必要对这类患者引起重视并进行重新审视, 提出一些新的理念和手术方式, 以改善胰腺癌患者的整体治疗效果。自2010-01以来, 我们已顺利完成25例胰颈部肿瘤的胰十二指肠切除术, 现将我们的诊治经验报告如下。

## 1 材料和方法

1.1 材料 本组男11例, 女14例。年龄43-67岁, 25

例患者均伴有腰背部疼痛, 其中21例为剧烈疼痛。所有患者术前均采用多排螺旋CT薄层扫描+三维重建评估肿瘤的可切除性及肿瘤与周围血管的关系, 其中7例为门静脉(portal vein, PV)-肠系膜上静脉(superior mesenteric vein, SMV)闭塞, 但尚可安全重建, 肿瘤包绕腹腔动脉干(celiac, CA)和/或肠系膜上动脉(superior mesenteric artery, SMA) $<180^\circ$ ; 10例为PV-SMV可疑受侵, CA/SMA包绕 $<180^\circ$ , 其中1例肝动脉(hepatic artery, HA)完全被完全包绕, 但切除后尚可重建; 8例为CA/SMA  $270^\circ$ - $360^\circ$ 包绕, 其中6例为PV-SMV可疑受侵, 2例为PV-SMV闭塞。

### 1.2 方法

1.2.1 选择性动静脉优先处理: 根据术前CT评估及术中探查肿瘤与周围血管的关系, 如果动静脉均被肿瘤累及, 但评估静脉较动脉容易处理, 采用选择性静脉优先处理, 即先沿SMV-PV游离胰头及钩突部, 切断其静脉回流血管, 再处理肿瘤与动脉系统; 若评估静脉较难处理, 则采用动脉优先处理, 即先离断胰头部所有的动脉血供, 最后通过预置SMV、PV、脾静脉(splenic vein, SV)三阻断带或四阻断带(附加肠系膜下静脉, inferior mesenteric vein, IMV)<sup>[2,3]</sup>, 安全处理肿瘤与静脉系统。

1.2.2 全胰头血流阻断法: 先离断胰头部所有动脉血供, 即: (1)肝动脉的分支, 胃右动脉和胃十二指肠动脉; (2)脾动脉的胰腺分支; (3)SMA的分支; (4)钩突系膜小血管。然后通过预置SMV、PV、SV三阻断带或四阻断带(附加肠系膜下静脉), 安全剥离、切除或重建SMV-PV, 从而整块切除肿瘤。

**统计学处理** 所有数据均用SPSS13.0软件进行统计学分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 临床特点 胰颈部肿瘤早期一般无特异症状, 黄疸出现较晚, 甚至至就诊时亦未出现, 晚期均出现腰背部疼痛, 全组患者胰腺质地均较硬, 肿瘤边界不清, 远端胰管扩张, 胰腺周围炎症重, 肿瘤常同时累及PV-SMV和SMA、CA和HA。

2.2 术后并发症 25例患者均行PD, 全组无1例术中死亡, 术中出血量600-900 mL, 手术时间7-8 h, 术后消化系出血2例, 胃排空延迟4例, 腹泻3例, 均经保守治疗好转出院, 术后腰背部疼痛完全缓解10例, 明显缓解13例, 部分缓解2例。

### ■ 研究前沿

目前国内外学者认为胰颈部肿瘤容易累及周围重要血管, 手术风险大, 临床治疗效果差, 属于难治性疾病。



### ■创新盘点

本文首次系统地总结了此类疾病的特点,并创新性地提出了选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法的手术方式。



图1 见胰颈部肿瘤累及门静脉及其与脾静脉汇合处(蓝色箭头),红色箭头为胰管横断处。

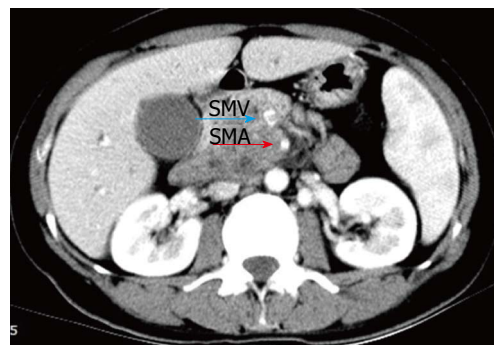


图3 肿瘤累及SMV及SMA,动静脉系统均很难处理。SMV:肠系膜上静脉;SMA:肠系膜上动脉。

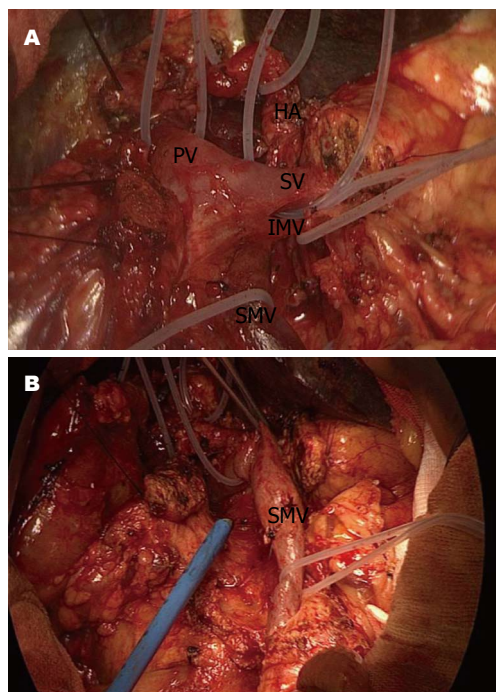


图2 手术处理。A: 动脉优先处理,胰头全血流阻断法,胰头部动脉血供全部阻断,仅SMV与胰头及钩突相连,预置4阻断带;B: 静脉优先处理,胰头及钩突与SMV完全离断。SMV: 肠系膜上静脉;SV: 脾静脉;PV: 门静脉;IMV: 肠系膜下静脉。

### 3 讨论

胰颈部肿瘤位于门静脉-肠系膜上静脉-脾静脉正前方,毗邻肝动脉、腹腔动脉干、肠系膜上动脉等重要血管,但距离胆总管较远,患者早期一般无特异性的症状和体征,待出现症状就诊时肿瘤大多已累及这些重要的血管甚至伴有胰管梗阻和胰管高压以及腹膜后神经丛侵犯从而导致患者难以忍受的剧烈的腰背部疼痛。但此部位的肿瘤手术难度极大,且绝大多数被术前评估为不能切除的病例,故以往对于此类患者基本放弃手术。要想彻底改善此类患者的治疗状况,我们必须总结疾病的特点,重新调整术前

评估理念,提高我们的手术技巧。

美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)(2013版)指南没有明确指出胰颈部肿瘤可切除的判定标准,但此部位的肿瘤可向头部或者体部生长,故我们一般参照胰头体部肿瘤的判定标准,即可切除为:无远处转移,腹腔动脉干和肠系膜上动脉周围有清晰的脂肪层,肠系膜上静脉-门静脉通畅;可能切除标准为:严重的单侧或双侧SMV/PV侵犯,肿瘤围绕腹腔动脉干 $<180^\circ$ (胰头肿瘤为禁忌症),围绕SMA $<180^\circ$ ,围绕或包裹肝动脉但可以重建,SMV闭塞但仅一小段受累且可以重建。目前国内术前评估肿瘤是否侵犯血管的检查手段很多,但尚无金标准,多排螺旋CT薄层扫描+三维血管重建为首选及运用最多的方法<sup>[4]</sup>,但仍不能完全分辨与血管是侵蚀还是压迫或是炎性粘连<sup>[5]</sup>,亦不能认为肿瘤累及血管就是恶性<sup>[6]</sup>,尤其是对于静脉血管的判断还存在一定的缺陷。国外文献报道,术前CT诊断为血管受侵犯的病例中经手术及术后病检证实约37%-58%的血管标本并未侵犯<sup>[7,8]</sup>,国内也有类似的文献报道<sup>[9]</sup>,且即使侵犯,只要血管内膜未受侵,联合血管切除的PD手术效果还是非常满意的<sup>[10-12]</sup>,随着外科技术的发展,手术的安全性也得到了国内外学者的认可<sup>[13-15]</sup>,因此我们在进行术前评估时不可过于保守,尤其是对于静脉受累的病例,贸然放弃手术甚至放弃手术探查是不可取的。另外,对于某些疼痛非常剧烈的患者,虽然已失去了根治切除的机会,但只要患者态度积极,全身情况可,无远处转移及大量腹水,也可尝试姑息性PD<sup>[16]</sup>。在本组患者中,有8例患者肠系膜上动脉根部或者腹腔干被肿瘤超过 $180^\circ$ 包绕,一般情况可,没有远处转移及大量腹水,术前腰背部剧烈疼痛,患者强烈要求手术,经R1胰十二指肠切除术后,疼

痛完全缓解3例,明显缓解4例,部分缓解1例,随访6-18 mo患者均存活,生活质量明显改善,生存时间也明显延长,而且患者经过SMA 360°游离,仅3例发生术后腹泻,胃管注入易蒙停(盐酸洛哌丁胺胶囊)后缓解。

胰颈部肿瘤患者就诊时大多已累及周围重要血管,常常同时累及动静脉系统,我们可根据术中探查情况决定优先处理动脉系统还是静脉系统,对于SMV-PV-SV受累且评估较难处理的患者(图1),我们可以采用选择性动脉优先处理及全胰头血流阻断法,在横结肠系膜根部显露并悬吊SMA和SMV,将SMA向左上方牵引,使其与胰头及钩突部之间保持一定的张力,沿SMA系膜至其根部离断胰腺钩突部系膜血管及SMA分支,解剖肝十二指肠韧带,从而离断肝动脉的分支,胃右动脉和胃十二指肠动脉,于肿瘤左侧胰管扩张处横断胰腺(保证切缘阴性),可离断脾动脉的分支,此时胰头部动脉血供全部离断(图2A),通过预置SMV、PV、SV三阻断带或四阻断带(附加肠系膜下静脉),安全剥离、切除或重建SMV-PV,从而整块切除肿瘤。如果动脉系统较难处理,我们采用静脉优先处理(图2B)。如果动静脉均较难处理(图3),我们则应该采用动脉优先和静脉优先相结合,先易后难,同时注意血流控制理念。

总之,胰颈部肿瘤早期一般无特异症状,黄疸出现较晚,甚至至就诊时亦未出现,晚期均出现腰背部疼痛,基本都伴有远端胰管扩张,胰腺质地很硬,炎症较重,肿瘤边界不清,容易累及邻近的重要血管,手术难度大,采用选择性动静脉优先处理及全胰头血流阻断法能保障手术安全进行,减少术后并发症的发生。

#### 4 参考文献

- 1 朱峰,徐盟,王敏,秦仁义.选择性动静脉优先处理在根治性胰十二指肠切除术中的应用.中华普通外科学文献(电子版) 2012; 6: 479-483
- 2 秦仁义,邹声泉,裘法祖.肠系膜上血管或门静脉受压性胰头部恶性肿瘤根治性胰十二指肠切除术的技巧.中华外科杂志 2008; 46: 366-369
- 3 秦仁义,曹鑫彦,朱峰,王欣.胰腺钩突部根治性完整切除的新方法(附306例报告).中华外科杂志 2010; 48: 1379-1382
- 4 彭承宏,金佳斌,邓侠兴.联合血管切除的胰头部肿瘤手术合理应用及评价.中华实用外科杂志 2009; 29: 647-648
- 5 胡先贵,邵成浩,张怡杰,刘瑞,周颖奇,金钢,唐岩.联合血管切除的胰十二指肠切除术61例临床分析.中华肝胆外科杂志 2006; 2: 177-179
- 6 Leach SD, Lee JE, Charnsangavej C, Cleary KR, Lowy AM, Fenoglio CJ, Pisters PW, Evans DB. Survival following pancreaticoduodenectomy with resection of the superior mesenteric-portal vein confluence for adenocarcinoma of the pancreatic head. *Br J Surg* 1998; 85: 611-617 [PMID: 9635805]
- 7 Aramaki M, Matsumoto T, Etoh T, Ishio T, Himeno Y, Sasaki A, Yada K, Kawano K, Kitano S. Clinical significance of combined pancreas and portal vein resection in surgery for pancreatic adenocarcinoma. *Hepatogastroenterology* 2003; 50: 263-266 [PMID: 12630036]
- 8 Fuhrman GM, Leach SD, Staley CA, Cusack JC, Charnsangavej C, Cleary KR, El-Naggar AK, Fenoglio CJ, Lee JE, Evans DB. Rationale for en bloc vein resection in the treatment of pancreatic adenocarcinoma adherent to the superior mesenteric-portal vein confluence. Pancreatic Tumor Study Group. *Ann Surg* 1996; 223: 154-162 [PMID: 8597509]
- 9 彭承宏,程东峰,周光文,陶宗元,陈泉宁,林晓珠,扬卫平,李宏为.累及肠系膜上静脉的胰腺钩突肿瘤的临床分级及其意义.中华外科杂志 2006; 44: 317-320
- 10 郑英键.带血管切除重建的胰十二指肠切除术治疗胰头癌.中国普通外科杂志 2005; 11: 721-723
- 11 Raut CP, Tseng JF, Sun CC, Wang H, Wolff RA, Crane CH, Hwang R, Vauthey JN, Abdalla EK, Lee JE, Pisters PW, Evans DB. Impact of resection status on pattern of failure and survival after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Ann Surg* 2007; 246: 52-60 [PMID: 17592291 DOI: 10.1097/01.sla.0000259391.84304.2b]
- 12 Tseng JF, Raut CP, Lee JE, Pisters PW, Vauthey JN, Abdalla EK, Gomez HF, Sun CC, Crane CH, Wolff RA, Evans DB. Pancreaticoduodenectomy with vascular resection: margin status and survival duration. *J Gastrointest Surg* 2004; 8: 935-949; discussion 949-950 [PMID: 15585381 DOI: 10.1016/j.gassur.2004.09.046]
- 13 Bachellier P, Nakano H, Oussoultzoglou PD, Weber JC, Boudjema K, Wolf PD, Jaeck D. Is pancreaticoduodenectomy with mesentericportal venous resection safe and worthwhile? *Am J Surg* 2001; 182: 120-129 [PMID: 11574081 DOI: 10.1016/S0002-9610(01)00686-9]
- 14 Kawada M, Kondo S, Okushiba S, Morikawa T, Katoh H. Reevaluation of the indications for radical pancreatectomy to treat pancreatic carcinoma: is portal vein infiltration a contraindication? *Surg Today* 2002; 32: 598-601 [PMID: 12111516 DOI: 10.1007/s005950200108]
- 15 Tuech JJ, Pessaux P, Arnaud JP. Portal vein resection in pancreatic head carcinoma. Part 2: Clinical significance. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 888-891 [PMID: 11462949]
- 16 彭淑牖,钱浩然.困难的胰十二指肠切除术.中国普外基础与临床杂志 2006; 13: 496-497

#### ■同行评价

本文立意新颖,具有很高的临床价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 黄术灌肠液对肠易激综合征患者TNF- $\alpha$ 表达的影响

庄李磊, 胡团敏, 黄思付, 黄更新

### ■背景资料

肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS)是临床上最常见的胃肠功能紊乱性疾病之一,其发病率高,目前治疗IBS的药物有限,且以对症治疗为主,效果不佳。近些年来肠道持续性低度炎症与IBS的发生发展关系密切。

庄李磊, 南昌大学医学院 江西省南昌市 330000  
胡团敏, 黄思付, 黄更新, 中国人民解放军第180医院消化内科 福建省泉州市 362000  
庄李磊, 南昌大学医学院在读消化内科硕士, 主要从事胃肠动力障碍性疾病的研究  
南京军区“十一五”医药卫生科研基金资助项目, No. 09MA075  
作者贡献分布: 本课题由庄李磊与胡团敏设计; 研究过程由庄李磊、胡团敏、黄思付及黄更新共同操作完成; 数据分析和论文写作由庄李磊与胡团敏完成。  
通讯作者: 胡团敏, 主任医师, 硕士生导师, 362000, 福建省泉州市北门外清源山下, 中国人民解放军第180医院。  
yihu180@163.com  
电话: 0595-28919151  
收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-10-25  
接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-08

### Effects of Huangshu enema on serum levels of TNF- $\alpha$ in patients with irritable bowel syndrome

Li-Lei Zhuang, Tuan-Min Hu, Si-Fu Huang, Geng-Xin Huang

Li-Lei Zhuang, Nanchang University School of Medicine, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China  
Tuan-Min Hu, Si-Fu Huang, Geng-Xin Huang, Department of Gastroenterology, the 180<sup>th</sup> Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China  
Supported by: the "Eleven Five" Nanjing Military Medical Scientific Research Fund, No. 09MA075  
Correspondence to: Tuan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the 180<sup>th</sup> Hospital of Chinese PLA, Beimenwai Qingquanshan, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@163.com  
Received: 2013-10-10 Revised: 2013-10-25  
Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the effects of Chinese medicine Huangshu enema (HSE) on the level of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in serum of patients with irritable bowel syndrome (IBS) and to explore the underlying mechanism.

**METHODS:** Sixty IBS patients were randomly divided into an observation group and a control group. The observation group was given Huangshu enema for 10 d, and the control group was given pinaverium bromide tablets for 10

d. The observation group included 18 patients with IBS-D (IBS with diarrhea), 12 patients with IBS-C (IBS with constipation), while the control group included 17 patients with IBS-D and 13 patients with IBS-C. Serum levels of TNF- $\alpha$  and symptom score were measured before and after treatment.

**RESULTS:** For patients with IBS-D, diarrhea score, abdominal pain score, abdominal distension score, total symptom score and serum level of TNF- $\alpha$  after treatment were significantly lower than those before treatment in the observation group ( $1.44 \pm 0.70$  vs  $2.17 \pm 0.79$ ;  $1.00 \pm 0.77$  vs  $2.22 \pm 0.55$ ;  $0.73 \pm 0.67$  vs  $1.22 \pm 0.72$ ;  $3.12 \pm 1.34$  vs  $5.61 \pm 1.42$ ;  $42.73 \pm 11.45$  vs  $53.06 \pm 6.49$ , all  $P < 0.05$ ); abdominal pain score after treatment was lower than that before treatment in the control group ( $1.53 \pm 0.62$  vs  $2.24 \pm 0.56$ ,  $P < 0.05$ ), but the diarrhea score, abdominal distension score, total symptom score and serum level of TNF- $\alpha$  did not differ significantly between before and after treatment ( $2.17 \pm 0.73$  vs  $2.24 \pm 0.75$ ;  $1.35 \pm 0.49$  vs  $1.29 \pm 0.69$ ;  $5.00 \pm 1.71$  vs  $5.76 \pm 1.30$ ;  $44.34 \pm 10.25$  vs  $50.00 \pm 6.75$ , all  $P > 0.05$ ). For patients with IBS-C, constipation score, abdominal pain score, abdominal distension score and total symptom score after treatment were significantly lower than those before treatment in the observation group ( $1.42 \pm 0.52$  vs  $2.08 \pm 0.79$ ;  $1.17 \pm 0.71$  vs  $2.17 \pm 0.58$ ;  $0.72 \pm 0.52$  vs  $1.17 \pm 0.50$ ;  $1.08 \pm 1.00$  vs  $5.42 \pm 3.08$ , all  $P < 0.05$ ), but serum level of TNF- $\alpha$  showed no significant difference between after and before treatment ( $23.89 \pm 5.92$  vs  $23.94 \pm 4.62$ ,  $P > 0.05$ ); abdominal pain score after treatment was lower than that before treatment in the control group ( $1.46 \pm 0.66$  vs  $2.23 \pm 0.60$ ,  $P < 0.05$ ), but the constipation score, abdominal distension score, total symptom score and the level of TNF- $\alpha$  showed no significant differences between after and before treatment ( $2.08 \pm 0.76$  vs  $2.15 \pm 0.80$ ;  $1.30 \pm 0.48$  vs  $1.23 \pm 0.73$ ;  $4.77 \pm 1.09$  vs  $5.62 \pm 1.26$ ;  $22.87 \pm 1.64$  vs  $23.53 \pm 4.53$ , all  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Huangshu enema can effectively improve the symptoms of IBS, which is

■同行评议者  
潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科



possibly associated with changing serum levels of TNF- $\alpha$ .

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

**Key Words:** Huangshu enema; Irritable bowel syndrome; Tumor necrosis factor- $\alpha$

Zhuang LL, Hu TM, Huang SF, Huang GX. Effects of Huangshu enema on serum levels of TNF- $\alpha$  in patients with irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 144-148 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/144.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.144>

## 摘要

**目的:** 探讨中药自组方剂黄术灌肠液对肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS)患者血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )表达的影响及其治疗IBS的可能机制。

**方法:** 将60名IBS患者随机分为观察组和对照组, 观察组运用黄术灌肠液灌肠治疗10 d, 对照组给予匹维溴铵(得舒特)治疗10 d, 其中观察组腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS-D)18例, 便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)12例, 对照组中IBS-D 17例, IBS-C 13例, 并记录治疗前后TNF- $\alpha$ 浓度水平及症状积分。

**结果:** (1)对于IBS-D患者, 观察组治疗后腹泻积分、腹痛积分、腹胀积分及总积分、TNF- $\alpha$ 水平明显低于治疗前 ( $1.44 \pm 0.70$  vs  $2.17 \pm 0.79$ ;  $1.00 \pm 0.77$  vs  $2.22 \pm 0.55$ ;  $0.73 \pm 0.67$  vs  $1.22 \pm 0.72$ ;  $3.12 \pm 1.34$  vs  $5.61 \pm 1.42$ ;  $42.73 \pm 11.45$  vs  $53.06 \pm 6.49$ , 均 $P < 0.05$ ), 对照组治疗后的腹痛积分低于治疗前 ( $1.53 \pm 0.62$  vs  $2.24 \pm 0.56$ ,  $P < 0.05$ ), 但腹泻积分、腹胀积分及总积分、TNF- $\alpha$ 水平与治疗前无明显差异 ( $2.17 \pm 0.73$  vs  $2.24 \pm 0.75$ ;  $1.35 \pm 0.49$  vs  $1.29 \pm 0.69$ ;  $5.00 \pm 1.71$  vs  $5.76 \pm 1.30$ ;  $44.34 \pm 10.25$  vs  $50.00 \pm 6.75$ , 均 $P < 0.05$ )。 (2)对于IBS-C患者, 观察组治疗后便秘、腹痛、腹胀积分及总积分明显低于治疗前 ( $1.42 \pm 0.52$  vs  $2.08 \pm 0.79$ ;  $1.17 \pm 0.71$  vs  $2.17 \pm 0.58$ ;  $0.72 \pm 0.52$  vs  $1.17 \pm 0.50$ ;  $1.08 \pm 1.00$  vs  $5.42 \pm 3.08$ , 均 $P < 0.05$ ), 但TNF- $\alpha$ 水平与治疗前无明显差异 ( $23.89$  pg/mL  $\pm 5.92$  pg/mL vs  $23.94$  pg/mL  $\pm 4.62$  pg/mL,  $P < 0.05$ ), 对照组治疗后腹痛积分低于治疗前积分 ( $1.46 \pm 0.66$  vs  $2.23 \pm 0.60$ ,

$P < 0.05$ ), 而治疗后的便秘积分、腹胀积分及总积分、TNF- $\alpha$ 水平与治疗前无明显差异 ( $2.08 \pm 0.76$  vs  $2.15 \pm 0.80$ ;  $1.30 \pm 0.48$  vs  $1.23 \pm 0.73$ ;  $4.77 \pm 1.09$  vs  $5.62 \pm 1.26$ ;  $22.87$  pg/mL  $\pm 1.64$  pg/mL vs  $23.53$  pg/mL  $\pm 4.53$  pg/mL, 均 $P < 0.05$ )。

**结论:** 黄术灌肠液能有效改善肠易激综合征的症状, 并与血清TNF- $\alpha$ 浓度水平调节有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 黄术灌肠液; 肠易激综合征; 肿瘤坏死因子- $\alpha$

**核心提示:** 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ )通过激活核因子- $\kappa$ B, 进而诱导产物白介素-8趋化因子导致中性粒细胞及淋巴细胞向炎症部位聚集, 导致肠壁渗出增多, 引起腹泻的发生。

庄李磊, 胡团敏, 黄思付, 黄更新. 黄术灌肠液对肠易激综合征患者TNF- $\alpha$ 表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(1): 144-148 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/144.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.144>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以慢性或反复发作的腹痛伴排便习惯改变为特征的功能性肠病, 并缺乏形态学和生化标志的异常<sup>[1]</sup>, IBS是消化系统常见病、多发病, 全球IBS总患病率在5%-25%之间<sup>[2]</sup>, 大部分亚洲国家的发病率在5%-10%<sup>[3]</sup>, 我国北京地区的发病率约7.62%<sup>[4]</sup>. IBS的发病机制复杂, 近年来肠黏膜低度炎症及免疫机制是国内外研究的热点. Papadakis等<sup>[5]</sup>研究发现低浓度的肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )在肠黏膜内通过自分泌或旁分泌方式诱发肠黏膜炎症反应, 导致肠系膜血管通透性增强, 渗出增多, 刺激肠壁导致腹痛腹泻的发生. 本实验主要通过观察黄术灌肠液治疗IBS患者前后临床症状及血清TNF- $\alpha$ 水平的变化水平, 探讨黄术灌肠液对IBS患者血清TNF- $\alpha$ 水平表达的影响及其治疗IBS的作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机选取2012-06/2013-06就诊中国人民解放军第180医院消化科门诊及病房的60例患者作为研究对象, 所有患者肠镜检查、生化、大便常规和潜血检查结果均为阴性, 按IBS

## ■ 研究前沿

越来越多的观点认为IBS的发病与肠道黏膜低度炎症、免疫因素密切相关, 肠道持续性低度炎症、免疫因素与IBS发病之间的联系是近年来研究的热点. 肠道持续性低度炎症及免疫激活导致IBS发病的发生机制尚待进一步研究。

## ■相关报道

霍涛、胡团敏等通过对腹泻型肠易激综合征大鼠回盲部肥大细胞数量以及血清和回盲部肠组织匀浆P物质含量的研究发现肠道激活状态的肥大细胞可能在IBS中所表现的以动力改变、感觉异常为特征的内脏高敏感性病理生理过程中起到关键性作用。

表 1 黄术灌肠液对IBS-D患者症状积分、TNF- $\alpha$ 的影响 ( $n = 18$ )

时间	腹泻	腹痛	腹胀	总积分	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
治疗前	2.17 $\pm$ 0.79	2.22 $\pm$ 0.55	1.22 $\pm$ 0.72	5.61 $\pm$ 1.42	53.06 $\pm$ 6.49
治疗后	1.44 $\pm$ 0.70 <sup>b</sup>	1.00 $\pm$ 0.77 <sup>b</sup>	0.73 $\pm$ 0.67 <sup>a</sup>	3.12 $\pm$ 1.34 <sup>b</sup>	42.73 $\pm$ 11.45 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 同组治疗前. IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ .

表 2 黄术灌肠液对IBS-C患者症状积分、TNF- $\alpha$ 的影响 ( $n = 12$ )

时间	便秘	腹痛	腹胀	总积分	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
治疗前	2.08 $\pm$ 0.79	2.17 $\pm$ 0.58	1.17 $\pm$ 0.50	5.42 $\pm$ 3.08	23.94 $\pm$ 4.62
治疗后	1.42 $\pm$ 0.52 <sup>b</sup>	1.17 $\pm$ 0.71 <sup>b</sup>	0.72 $\pm$ 0.52 <sup>a</sup>	1.08 $\pm$ 1.00 <sup>b</sup>	23.89 $\pm$ 5.92

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 同组治疗前. IBS-C: 便秘型肠易激综合征; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ .

表 3 匹维溴铵对IBS-D患者症状积分、TNF- $\alpha$ 的影响 ( $n = 17$ )

时间	腹泻	腹痛	腹胀	总积分	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
治疗前	2.24 $\pm$ 0.75	2.24 $\pm$ 0.56	1.29 $\pm$ 0.69	5.76 $\pm$ 1.30	50.00 $\pm$ 6.75
治疗后	2.17 $\pm$ 0.73	1.53 $\pm$ 0.62 <sup>b</sup>	1.35 $\pm$ 0.49	5.00 $\pm$ 1.71	44.34 $\pm$ 10.25

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 同组治疗前. IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ .

罗马III标准<sup>[6]</sup>诊断为IBS, 且近期无感染史, 无服用药物治疗史, 其中男26例, 女34例, 年龄在18-65岁, 平均年龄35.75岁, 腹泻型肠易激综合征(irritable bowel syndrome diarrhea, IBS-D)患者35例, 便秘型肠易激综合征(irritable bowel syndrome with constipation, IBS-C)患者25例. 入组前均签署知情同意书. 自组方剂黄术灌肠液250 mL(大黄、黄芩、黄芩、黄连、白术各15 g, 加水煎制成500 mL). 匹维溴铵(得舒特, 法国苏威制药(批号: H20040759). 人TNF- $\alpha$ 定量酶联检测试剂(批号: 01C01)购自上海森雄科技实业有限公司.

1.2 方法 将60例IBS患者随机分为对照组与观察组, 其中对照组中IBS-D组17例, IBS-C组13例, 观察组中IBS-D组18例、IBS-C组12例. 所有患者均在一般治疗(包括心理治疗、改善生活习惯、调节饮食结构等)基础上进行, 对照组均给予匹维溴铵治疗10 d, 观察组给予黄术灌肠液250 mL)连续灌肠10 d, 分别抽取2组治疗前后的血液2 mL, 分离血清, 转入-80℃冰箱保存, 采用ELISA法检测血清TNF- $\alpha$ 浓度, 操作严格按照试剂盒说明进行. 症状疗效评价标准: 参照中华中医药学会脾胃病专业委员会制定的分级标准<sup>[7]</sup>:

(1)腹痛和腹胀程度评分: 无症状为0分; 经提示后方觉有症状为轻度 = 1分; 不经提示即有症状为中度 = 2分; 患者主诉为主要症状为重度 = 3分; (2)腹泻的频率评分: 无症状为0分; <3次/d为轻度 = 1分; 3-5次/d为中度 = 2分; 6次/d为重度 = 3分. (3)便秘的频率评分: 排便正常为0分; 排便 $\geq$ 3次/wk为轻度 = 1分; 排便1-2次/wk为中度 = 2分; 排便<1次/wk为重度 = 3分.

**统计学处理** 计量资料数据均以mean  $\pm$  SD表示, 采用SPSS13.0统计软件包进行统计学处理, 软件包进行统计学处理, 组间比较采用配对 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 黄术灌肠液对IBS-D的症状积分及血清TNF- $\alpha$ 浓度的影响 观察组中的IBS-D患者通过黄术灌肠液治疗后其症状积分和TNF- $\alpha$ 水平明显较治疗前下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 表1).

2.2 黄术灌肠液对IBS-C的症状积分及血清TNF- $\alpha$ 浓度的影响 观察组中的IBS-C患者通过黄术灌肠液治疗后其症状积分较治疗前明显下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但TNF- $\alpha$ 水平无

表 4 匹维溴铵对IBS-C患者症状积分、TNF- $\alpha$ 的影响 ( $n=13$ )

时间	便秘	腹痛	腹胀	总积分	TNF- $\alpha$ (pg/mL)
治疗前	2.15 $\pm$ 0.80	2.23 $\pm$ 0.60	1.23 $\pm$ 0.73	5.62 $\pm$ 1.26	23.53 $\pm$ 4.53
治疗后	2.08 $\pm$ 0.76	1.46 $\pm$ 0.66 <sup>a</sup>	1.30 $\pm$ 0.48	4.77 $\pm$ 1.09	22.87 $\pm$ 1.64

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 同组治疗前. IBS-C: 便秘型肠易激综合征; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ .

明显下降, 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表2).

2.3 匹维溴铵对IBS-D患者症状积分、TNF- $\alpha$ 的影响 对照组中的IBS-D患者通过匹维溴铵治疗后其腹痛的症状积分较前明显下降, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ). 但腹胀、腹泻积分及TNF- $\alpha$ 水平无明显下降, 差异无统计学意义( $P>0.05$ , 表3).

2.4 匹维溴铵对IBS-C患者症状积分、TNF- $\alpha$ 的影响 对照组中的IBS-C患者通过匹维溴铵治疗后其腹痛的症状积分较前明显下降, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ). 但腹胀、便秘积分及TNF- $\alpha$ 水平无明显下降, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表4).

### 3 讨论

IBS发病机制复杂, 近些年来多项研究表明IBS-D患者促炎因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-6)水平增加及抑炎因子(IL-10、IL-1RA)水平减少, 导致炎症的持续发展, 提示炎症因子在IBS致病过程中起了重要作用<sup>[8-10]</sup>. 1975年Carswell等<sup>[11]</sup>发现接种卡介苗的小鼠注射细菌脂多糖后, 血清中出现一种能使多种肿瘤发生出血性坏死的物质, 将其命名为肿瘤坏死因子TNF. TNF按其结构分两型: TNF- $\alpha$ 和TNF- $\beta$ , 其中由活化的巨噬细胞、单核细胞和T细胞产生的能使肿瘤坏死的因子称为TNF- $\alpha$ , 他是宿主抗革兰氏阴性菌感染免疫的主要介质之一. 本实验研究表明, IBS-D患者血清中的TNF- $\alpha$ 的浓度明显高于IBS-C患者血清中的TNF- $\alpha$ 浓度, 因此我们认为TNF- $\alpha$ 可能参与了IBS-D的发病过程, TNF- $\alpha$ 通过激活核因子(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B), 进而诱导产物IL-8趋化因子导致中性粒细胞及淋巴细胞向炎症部位聚集<sup>[12]</sup>, 而中性粒细胞及淋巴细胞释放的炎症因子(TNF- $\alpha$ 、IL-1)又是NF- $\kappa$ B的激活剂, 导致局部炎症的持续存在, 导致肠黏膜屏障功能的损害, 渗出增多, 刺激肠黏膜引起腹泻的发生<sup>[13]</sup>. 研究同时表明TNF- $\alpha$ 还可激活并动员未成熟的树突状细胞进入局部淋巴结, 启动病理性

的T辅助细胞(Th1)免疫反应<sup>[5]</sup>, 李延青等<sup>[14]</sup>研究发现IBS-D患者肠黏膜内存在Th1/Th2漂移, Th1反应增强, 便秘型患者Th1/Th2仍趋于平衡状态. 多项研究同时证实IBS患者外周血和结肠组织存在T淋巴细胞的激活, 从而使免疫调节发生异常<sup>[15-17]</sup>, 以上研究表明TNF- $\alpha$ 可能通过激活免疫反应参与IBS-D的发生.

目前治疗IBS的药物有限<sup>[18-20]</sup>, 且以对症治疗为主, 效果不佳, 采用中药灌肠治疗IBS具有其独特优势, 避免了药物的肝脏首过效应, 且性质温和, 直达病灶部位, 通过调节肠道微环境改善IBS症状. 我们所采用的“黄术灌肠液”是一自组中药方剂, 主要由大黄、黄芩、黄连、黄芪、白术组成, 该方剂配伍合理, 已获国家发明专利. 研究表明该组方具有调节肠管舒缩功能、改善肠道局部的血液循环及调节肠道功能紊乱等作用<sup>[21]</sup>. 我们前期动物实验研究发现<sup>[22]</sup>, 黄术灌肠液可减少促炎因子IL-1 $\beta$ 表达, 并上调抗炎因子IL-10, 从而纠正抗炎/促炎因子失衡; 并且能够显著降低IBS-D大鼠结肠黏膜肥大细胞的脱颗粒作用<sup>[23]</sup>, 从而治疗IBS-D, 本实验的研究发现, IBS-D患者通过黄术灌肠液治疗后, TNF- $\alpha$ 水平明显下降, 而症状积分也明显下降, 因此认为黄术灌肠液治疗IBS-D的部分机制可能是抑制了TNF- $\alpha$ 的表达, 从而减轻局部的炎症免疫反应, 达到治疗作用; 而IBS-C患者通过黄术灌肠液治疗后, TNF- $\alpha$ 水平虽无明显下降, 但症状积分明显下降. 因此我们推测黄术灌肠液治疗IBS-C可能存在其他作用机制, 需要进一步探讨.

### 4 参考文献

- 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 肠易激综合征诊断和治疗的共识意见(2007, 长沙). 中华消化杂志 2008; 28: 38-41
- 何宛蓉, 张法灿, 梁列. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 83-87
- Chang FY, Lu CL. Irritable bowel syndrome in the 21st century: perspectives from Asia or South-east Asia. *Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 4-12
- 潘国宗, 鲁素彩, 柯美云, 韩少梅, 郭慧平, 方秀才. 北

### ■创新盘点

中药灌肠近年来成为治疗IBS的一条新的途径, 本文运用自组方剂“黄术灌肠液”灌肠治疗IBS, 实验结果较基础研究更为可靠, 同时阐明中药黄术灌肠液对IBS患者TNF- $\alpha$ 表达的影响, 推测黄术灌肠液治疗IBS的可能机制.



## ■同行评价

本文黄术灌肠液治疗IBS尤其腹泻型IBS有一定效果,且探讨了机制,其结果对IBS临床防治有一定参考意义。

- 5 Papadakis KA, Targan SR. Tumor necrosis factor: biology and therapeutic inhibitors. *Gastroenterology* 2000; 119: 1148-1157 [PMID: 11040201]
- 6 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479 [PMID: 16678560]
- 7 赵荣莱. 中医药治疗肠易激综合征探讨. *北京中医* 2000; 19: 9-10
- 8 Rana SV, Sharma S, Sinha SK, Parsad KK, Malik A, Singh K. Pro-inflammatory and anti-inflammatory cytokine response in diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome patients. *Trop Gastroenterol* 2012; 33: 251-256 [PMID: 23923350]
- 9 Schmulson M, Pulido-London D, Rodriguez O, Morales-Rochlin N, Martinez-García R, Gutierrez-Ruiz MC, López-Alvarenga JC, Robles-Díaz G, Gutiérrez-Reyes G. Lower serum IL-10 is an independent predictor of IBS among volunteers in Mexico. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 747-753 [PMID: 22270083]
- 10 Mozaffari S, Esmaily H, Rahimi R, Baeeri M, Sanei Y, Asadi-Shahmirzadi A, Salehi-Surmaghi MH, Abdollahi M. Effects of Hypericum perforatum extract on rat irritable bowel syndrome. *Pharmacogn Mag* 2011; 7: 213-223 [PMID: 21969792 DOI: 10.4103/0973-1296]
- 11 Carswell EA, Old LJ, Kassel RL, Green S, Fiore N, Williamson B. An endotoxin-induced serum factor that causes necrosis of tumors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1975; 72: 3666-3670 [PMID: 1103152]
- 12 Lampinen M, Carlson M, Sangfelt P, Taha Y, Thörn M, Löf L, Raab Y, Venge P. IL-5 and TNF- $\alpha$  participate in recruitment of eosinophils to intestinal mucosa in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 2004-2009 [PMID: 11575456]
- 13 张茹, 王福贤. 肠易激综合征患者IL-8和TNF- $\alpha$ 含量变化的意义. *临床消化病杂志* 2004; 16: 167-168
- 14 李延青, 张海燕, 左秀丽, 袁海鹏, 卢雪峰, 李君曼. 肠易激综合征患者肠黏膜Th1/Th2漂移的研究. *中华消化杂志* 2004; 12: 728-731
- 15 Ohman L, Isaksson S, Lindmark AC, Posserud I, Stotzer PO, Strid H, Sjövall H, Simrén M. T-cell activation in patients with irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1205-1212 [PMID: 19367268 DOI: 10.1038/ajg.2009.116]
- 16 Gwee KA, Collins SM, Read NW, Rajnakova A, Deng Y, Graham JC, McKendrick MW, Mouchhala SM. Increased rectal mucosal expression of interleukin 1 $\beta$  in recently acquired post-infectious irritable bowel syndrome. *Gut* 2003; 52: 523-526 [PMID: 12631663 DOI: 10.1136/gut.52.4.523]
- 17 Khan WJ, Collins SM. Gut motor function: immunological control in enteric infection and inflammation. *Clin Exp Immunol* 2006; 143: 389-397 [PMID: 16487236 DOI: 10.1111/j.1365-2249.2005.02979.x]
- 18 Bueno L, Fioramonti J, Delvaux M, Frexinos J. Mediators and pharmacology of visceral sensitivity: from basic to clinical investigations. *Gastroenterology* 1997; 112: 1714-1743 [PMID: 9136853]
- 19 Klooker TK, Braak B, Koopman KE, Welting O, Wouters MM, van der Heide S, Schemann M, Bischoff SC, van den Wijngaard RM, Boeckstaens GE. The mast cell stabiliser ketotifen decreases visceral hypersensitivity and improves intestinal symptoms in patients with irritable bowel syndrome. *Gut* 2010; 59: 1213-1221 [PMID: 20650926]
- 20 Hu XG, Xu D, Zhao Y, Yang XB, Meng J, Shen H, Guo J. The alleviating pain effect of aqueous extract from tong-xie-yao-fang, on experimental visceral hypersensitivity and its mechanism. *Biol Pharm Bull* 2009; 32: 1075-1079 [PMID: 19483318]
- 21 胡团敏, 黄永德, 张丽婷. 结肠易激综合征128例中药灌肠治疗探讨. *中国现代医生* 2008; 46: 29-30
- 22 胡俊, 胡团敏, 何文钦, 黄永德. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠IL-1 $\beta$ 、IL-10表达的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2188-2191
- 23 霍涛, 胡团敏, 黄思付. 黄术灌肠液对腹泻型肠易激综合征大鼠肥大细胞与P物质的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 219-223

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 奥沙利铂联合氟尿密啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的 临床疗效

姚彪, 徐润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬

姚彪, 徐润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬, 贵州省铜仁市第一人民医院肿瘤科 贵州省铜仁市 554300

姚彪, 副主任医师, 主要从事肿瘤临床方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由于姚彪设计; 研究过程由姚彪与徐润完成; 数据分析由魏万高、商妮娅及杨丽芬完成; 写作由于姚彪、徐润、魏万高、商妮娅及杨丽芬共同完成。

通讯作者: 姚彪, 副主任医师, 554300, 贵州省铜仁市解放路87号, 贵州省铜仁市第一人民医院肿瘤科, 4962482@qq.com

收稿日期: 2013-11-20 修回日期: 2013-11-28

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-08

## **Oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate for metastatic colorectal cancer**

Biao Yao, Run Xu, Wan-Gao Wei, Ni-Ya Shang, Li-Fen Yang

Biao Yao, Run Xu, Wan-Gao Wei, Ni-Ya Shang, Li-Fen Yang, Department of Oncology, the First People's Hospital of Tongren, Tongren 554300, Guizhou Province, China

Correspondence to: Biao Yao, Associate Chief Physician, Department of Oncology, the First People's Hospital of Tongren, 87 Jiefang Road, Tongren 554300, Guizhou Province, China. 4962482@qq.com

Received: 2013-11-20 Revised: 2013-11-28

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-08

## **Abstract**

**AIM:** To explore the effects of oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate in the treatment of metastatic colorectal cancer.

**METHODS:** Ninety-six patients with metastatic colorectal cancer were randomly divided into two groups. All patients were treated by oxaliplatin plus fluorouracil. On the basis of this treatment, the experiment group was treated with calcium levofolinate, and the control group was treated with calcium folinate. The clinical effects and adverse reactions were compared, and the influencing factors were analyzed.

**RESULTS:** The effective rate in the treatment group was higher than that in the control group, but the difference was not statistically significant (29.17% vs 20.83%,  $P > 0.05$ ). The incidence of adverse reactions in the two groups also had

no significant difference ( $P > 0.05$ ). Although the total effective rate did not differ significantly between the rectal cancer group and the colonic cancer group (31.11% vs 19.61%,  $P > 0.05$ ) and between the liver, lung and other groups ( $P > 0.05$ ), a significant difference was noted between the initial treatment group and retreatment group (43.59% vs 12.28%,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The efficacy of oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate in metastatic colorectal cancer was similar to that of oxaliplatin plus fluorouracil and calcium levofolinate. The efficacy was more significant in patients without previous chemotherapy.

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

**Key Words:** Oxaliplatin; Fluorouracil; Calcium folinate; Calcium levofolinate; Metastatic colorectal cancer

Yao B, Xu R, Wei WG, Shang NY, Yang LF. Oxaliplatin plus fluorouracil and calcium folinate for metastatic colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 149-152  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/149.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.149>

## **摘要**

**目的:** 探讨奥沙利铂联合氟尿密啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效。

**方法:** 按照数字随机分组法将我院收治的96例晚期转移性大肠癌患者均分为实验组和对照组, 两组患者均给予奥沙利铂联合氟尿密啶治疗, 实验组患者在此基础上加用左亚叶酸钙治疗, 对照组在此基础上加用亚叶酸钙治疗, 比较两组患者临床疗效及不良反应发生情况, 并分析临床疗效的影响因素。

**结果:** 实验组治疗有效率和总有效率高于对照组, 但两组比较(29.17% vs 20.83%)差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 两组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 直肠

## **■背景资料**

氟尿密啶联合亚叶酸钙治疗晚期大肠癌是临床较为常用的治疗组合。亚叶酸钙并不具有灭杀肿瘤的能力, 也无明显不良反应, 其与氟尿密啶联合应用能够有效提高氟尿密啶的临床疗效。左亚叶酸钙为亚叶酸的左旋体, 也是亚叶酸钙发挥功效主要成分。

## **■同行评议者**

李革, 副教授, 延边大学附属医院

## ■研究前沿

临床上对亚叶酸钙的使用剂量存在较大争议。亚叶酸钙低剂量与高剂量的对照研究表明,两种剂量临床疗效无明显差异,但剂量过低时疗效不能保证,剂量过高时不良反应发生率有所增加。

组与结肠组患者治疗总有效率比较(31.11% vs 19.61%),差异无统计学意义( $P>0.05$ );肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ );初治组与复治组治疗总有效率比较(43.59% vs 12.28%),差异具有显著性( $P<0.05$ )。

**结论:**奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌临床疗效均显著,不良反应发生情况相似,患者既往是否接受化疗对临床疗效影响较大。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**奥沙利铂; 氟尿嘧啶; 亚叶酸钙; 左亚叶酸钙; 转移性大肠癌

**核心提示:**左亚叶酸钙组与亚叶酸钙组临床疗效、不良反应发生率比较,差异无统计学意义,表明两药临床疗效相似。直肠组与结肠组患者治疗总有效率比较,差异无统计学意义;肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较,差异无统计学意义;初治组与复治组治疗总有效率比较差异具有显著性。表明原发部位和转移部位均不会影响治疗效果,而既往是否接受化疗对临床疗效影响较大。

姚彪, 徐润, 魏万高, 商妮娅, 杨丽芬. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶、亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 149-152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/149.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.149>

## 0 引言

大肠癌包括结肠癌和直肠癌,临床发病率和死亡率较高,且随着人们生活方式的改变以及生活水平的提高发病率呈现逐年增高的趋势<sup>[1]</sup>。氟尿嘧啶联合亚叶酸钙治疗晚期大肠癌是临床较为常用的治疗组合。亚叶酸钙并不具有灭杀肿瘤的能力,也无明显不良反应,其与氟尿嘧啶联合应用能够有效提高氟尿嘧啶的临床疗效。左亚叶酸钙为亚叶酸钙的左旋体,也是亚叶酸钙发挥功效的主要成分。现对奥沙利铂联合氟尿嘧啶以及亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌的临床疗效进行比较分析,探讨最佳用药组合报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-08/2013-08我院收治的晚期转移性大肠癌患者96例作为研究对象。所有患

者均经常规实验室检查、病理学检查及CT或MRI检查结合临床症状和体征确诊<sup>[2]</sup>,患者病灶直径 $>1$  cm,白细胞(white blood cell, WBC)计数 $\geq 4.0 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞绝对计数(absolute neutrophil count, ANC) $\geq 1.5 \times 10^9/L$ ,血小板计数(blood platelet count, BPC) $\geq 80 \times 10^9/L$ ,血清胆红素和肌酐均低于1.5倍正常值高限,体力状况ECOG评分 $<2$ 分,预计生存期均超过3 mo<sup>[3]</sup>。排除治疗前4 wk内使用其他抗肿瘤药物治疗、有其他恶性肿瘤病史、重要脏器功能障碍以及化疗禁忌症患者。按照数字随机分组法将96例患者均分为实验组和对照组,两组患者在性别、年龄、病程等上差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1),具有可比性。

**1.2 方法** 两组患者均于治疗第1天给予奥沙利铂200 mg+葡萄糖溶液250 mg静脉滴注,同时连续5 d给予氟尿嘧啶300 mg/m<sup>2</sup>+生理盐水500 mL静脉滴注治疗。实验组在此基础上给予连续5 d左亚叶酸钙100 mg/m<sup>2</sup>+生理盐水250 mL静脉滴注治疗<sup>[4]</sup>;对照组在此基础上给予连续5 d亚叶酸钙100 mg/m<sup>2</sup>+生理盐水250 mL静脉滴注治疗。每3 wk重复1个疗程,2个疗程后评价临床疗效,对治疗有效、一般及无效患者视情况延长治疗1个疗程。观察指标:所有患者2个疗程后进行常规影像学检查作为疗效评价依据,4 wk后复查确认疗效评价。比较两组患者临床疗效和不良反应发生情况,并对影响临床疗效的相关因素进行比较分析<sup>[5]</sup>。疗效评价标准:显效:肿瘤完全消失,维持4 wk以上;有效:肿瘤两径乘积减少50%以上,维持4 wk以上;一般:肿瘤体积无明显改变或两径乘积减少低于50%或增大低于25%,未出现新病灶;无效:肿瘤两径乘积增大超过25%或出现新病灶<sup>[6]</sup>。总有效率 = (显效+有效)/总病例数。

**统计学处理** 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理,计量资料采用mean $\pm$ SD表示,差异性比较使用 $t$ 检验,计数资料比较使用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组患者临床疗效比较** 实验组治疗有效率和总有效率高于对照组,但两组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表2)。

**2.2 两组患者不良反应发生情况比较** 两组患者均发生不同程度食欲减退、恶心、呕吐、腹泻、腹痛、口腔黏膜炎、手指脚趾麻木、脱



表 1 两组患者临床资料比较 ( $n = 48$ )

分组	性别		平均年龄(岁)	病理诊断		原发部位		转移部位			
	男	女		腺癌	其他	直肠	结肠	肝脏	肺	肝脏、肺	其他
实验组	33	15	50.73 ± 9.22	46	2	22	26	26	13	4	5
对照组	32	16	51.18 ± 8.89	46	2	23	25	27	14	4	3

## ■ 相关报道

临床研究表明, 亚叶酸钙本身无灭杀肿瘤能力, 患者服用后也不会产生明显不良反应。

表 2 两组患者临床疗效比较 ( $n = 48, n(\%)$ )

分组	显效	有效	一般	无效	总有效率(%)
实验组	0(0.00)	14(29.17)	26(54.17)	8(16.67)	29.17
对照组	0(0.00)	10(20.83)	25(52.08)	13(27.08)	20.83

表 3 两组患者不良反应发生情况比较  $n(\%)$ 

不良反应	实验组	对照组
食欲减退	24(50.00)	28(58.33)
恶心、呕吐	22(45.83)	24(50.00)
腹泻、腹痛	7(14.58)	6(12.50)
口腔黏膜炎	4(8.33)	4(8.33)
手指脚趾麻木	11(22.92)	13(27.08)
脱发	2(4.17)	2(4.17)
乏力	17(35.42)	18(37.50)
白细胞下降	9(18.75)	11(22.92)
血红蛋白下降	7(14.58)	9(18.75)
血小板下降	5(10.42)	7(14.58)
TBIL升高	6(12.50)	4(8.33)
ALT升高	4(8.33)	6(12.50)
BUN升高	0(0.00)	0(0.00)
心电图异常	0(0.00)	0(0.00)
耳聋	0(0.00)	0(0.00)

表 4 转移性大肠癌原发部位与临床疗效的关系比较

原发部位	$n$	显效	有效	总有效率(%)
直肠	45	0	14	31.11
结肠	51	0	10	19.61

发、乏力、白细胞下降、血红蛋白下降、血小板下降、总胆红素(total bilirubin, TBIL)升高和谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)升高, 均未发生血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、心电图异常和耳聋。两组患者不良反应发生率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表3)。

2.3 两组患者治疗效果影响因素分析 直肠组与结肠组患者治疗总有效率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表4); 肝脏组、肺组和其他组治疗

总有效率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表5); 初治组与复治组治疗总有效率比较, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表6)。

## 3 讨论

化疗时晚期大肠癌治疗的重要手段, 其临床应用价值已被广泛认可。氟尿嘧啶是化疗中常用的基本药物, 临床研究指出其单药治疗大肠癌有效率约为20%<sup>[7]</sup>。大量文献报道指出氟尿嘧啶与大剂量亚叶酸钙联合应用可提高治疗大肠癌的有效率, 与单用氟尿嘧啶治疗疗效比较存在显著差异<sup>[8]</sup>。因此, 亚叶酸钙在与氟尿嘧啶联合应用中增敏效果确切。

临床研究表明, 亚叶酸钙本身无灭杀肿瘤能力, 患者服用后也不会产生明显不良反应<sup>[9]</sup>。其在与氟尿嘧啶联合应用的增敏机制为氟尿嘧啶在人体内可正常代谢成为5-氟-2'-脱氧尿苷酸盐<sup>[10]</sup>, 5-氟-2'-脱氧尿苷酸盐能够与胸苷酸合成酶的巯基以及甲基四氢叶酸的甲叉相互结合, 形成稳定的共价三元复合物, 有效抑制了胸苷酸和三磷酸脱氧腺苷的分泌, 切断了三磷酸脱氧腺苷和DNA的合成, 从而发挥抑制肿瘤细胞增殖和生长的效果<sup>[11]</sup>。正常机体由于还原性叶酸浓度不高, 达不到三原复合物大量形成的要求, 因此导致氟尿嘧啶单独应用时效果不佳<sup>[12]</sup>。针对上述情况, 外源性添加亚叶酸钙, 在患者体内转变成为甲基四氢叶酸, 从而促进了共价三元复合物的大量形成, 提高氟尿嘧啶的临床效果。但临床上对亚叶酸钙的使用剂量存在较大争议, 亚叶酸钙低剂量与高剂量的对照研究表明, 两种剂量临床疗效无明显差异, 但剂量过低时疗效不能够保证, 剂量过高时不良反应发生率有所增加<sup>[13,14]</sup>。因此,

## ■应用要点

奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌临床疗效确切,具有较高的临床应用价值。

表 5 转移性大肠癌转移部位与临床疗效的关系比较

转移部位	n	显效	有效	总有效率(%)
肝脏	61	0	17	27.87
肺	35	0	4	11.43
其他	8	0	3	37.50

表 6 转移性大肠癌既往化疗情况与临床疗效的关系比较

既往化疗	n	显效	有效	总有效率(%)
初治组	39	0	17	43.59 <sup>a</sup>
复治组	57	0	7	12.28

<sup>a</sup>P<0.05 vs 复治组。

本研究中给予患者中等剂量亚叶酸钙。由于亚叶酸钙为混旋体,由左旋体和右旋体按照1:1比例合成,其中右亚叶酸钙无活性成分;而左亚叶酸钙是代谢为甲基四氢叶酸发挥其增敏效果的主要成分<sup>[15]</sup>。

本研究结果显示,左亚叶酸钙组与亚叶酸钙组临床疗效、不良反应发生率比较,差异无统计学意义,表明两药临床疗效相似。直肠组与结肠组患者治疗总有效率比较,差异无统计学意义;肝脏组、肺组和其他组治疗总有效率比较,差异无统计学意义;初治组与复治组治疗总有效率比较差异具有显著性。表明原发部位和转移部位均不会影响治疗效果,而既往是否接受化疗对临床疗效影响较大。

另外,本研究中两组患者均发生不同程度食欲减退、恶心、呕吐、腹泻、腹痛、口腔黏膜炎、手指脚趾麻木、脱发、乏力、白细胞下降、血红蛋白下降、血小板下降、TBIL升高和ALT升高等不良反应,但多数患者为I-II级,并无严重不良反应发生,也未出现过敏反应。表明奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌安全性较高。

总之,奥沙利铂、氟尿密啶联合亚叶酸钙或左亚叶酸钙治疗转移性大肠癌临床疗效确切,具有较高的临床应用价值。

## ■同行评价

本文设计尚可,内容实用,对临床医师有一定的参考价值。

## 4 参考文献

- 胡水清, 张玫. 大肠癌筛查研究进展. 中国肿瘤 2012; 21: 363-367
- 朱东, 刘小方, 梁丕霞, 徐有青. 螺旋CT诊断老年大肠癌162例. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2951-2954
- Hazra A, Fuchs CS, Kawasaki T, Kirkner GJ, Hunter DJ, Ogino S. Germline polymorphisms in the one-carbon metabolism pathway and DNA methylation in colorectal cancer. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 331-345 [PMID: 19936946 DOI: 10.1007/s10552-009-9464-2]
- 翟红珍, 台卫平. 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶及亚叶酸钙治疗老年晚期大肠癌患者的临床研究. 北京医学 2012; 34: 4, 14
- 李韧, 曹京旭, 布洁, 宋薇, 史铭, 苏航. 氟尿嘧啶、亚叶酸钙和奥沙利铂联合贝伐单抗治疗转移性结肠癌疗效观察. 武警医学 2009; 20: 224-226
- 陈烜鑫, 顾汉民, 黄建华, 徐道静. 奥沙利铂、亚叶酸钙、5氟尿嘧啶联合治疗进展期胃癌疗效和安全性的临床观察. 中国保健营养 2013; (01): 330
- 王佳蕾, 李进, 秦叔逵, 程颖, 张清媛, 刘天舒, 杨春康, 叶正宝, 徐衣, 郑磊贞, 胡春宏, 张沂平, 陶敏, 于志坚, 庄志祥. 雷替曲塞或氟尿嘧啶/亚叶酸钙联合奥沙利铂治疗局部晚期或复发转移性结直肠癌的随机对照多中心Ⅲ期临床试验. 临床肿瘤学杂志 2012; 17: 06-11
- Marrelli D, Roviello F, de Manzoni G, Morgagni P, Di Leo A, Saragoni L, De Stefano A, Folli S, Cordiano C, Pinto E. Different patterns of recurrence in gastric cancer depending on Lauren's histological type: longitudinal study. *World J Surg* 2002; 26: 1160-1165 [PMID: 12209247]
- 王慧娟, 张雁山, 董雪山, 张振帅, 潘玉娇. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶/亚叶酸钙治疗晚期大肠癌的疗效观察. 甘肃医药 2011; 30: 497-498
- 黄志荣, 曹齐生, 杜成荣, 丁德权, 何昌霞. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶和亚叶酸钙行新辅助化疗治疗进展期胃癌的疗效研究. 河北医药 2013; 35: 538-539
- 王峰, 秦环龙. 大肠癌microRNA与DNA甲基化修饰相互调控的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 808-814
- Tournigand C, Cervantes A, Figer A, Lledo G, Flesch M, Buyse M, Mineur L, Carola E, Etienne PL, Rivera F, Chirivella I, Perez-Staub N, Louvet C, André T, Tabah-Fisch I, de Gramont A. OPTIMO1: a randomized study of FOLFOX4 or FOLFOX7 with oxaliplatin in a stop-and-go fashion in advanced colorectal cancer--a GERCOR study. *J Clin Oncol* 2006; 24: 394-400 [PMID: 16421419]
- 田忠凯, 郑瑾. 奥沙利铂联合氟尿嘧啶治疗晚期胃癌的临床疗效. 中外医疗 2010; (28): 98-99
- 赵亚恒. 用奥沙利铂联合氟尿嘧啶和四氢叶酸钙治疗晚期大肠癌的疗效观察. 求医问药(下半月) 2012; 10: 613-614
- 陈志和, 黄灵珍. 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶、亚叶酸钙治疗晚期大肠癌的临床观察. 医学理论与实践 2011; 24: 543-544

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 清热活血法在痔病术后的用药规律

赵红波, 吴晓晶, 杨云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁

赵红波, 吴晓晶, 杨云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁, 银川市中医医院肛肠科 宁夏回族自治区银川市 750001

赵红波, 住院医师, 主要从事肛肠病中医药的临床应用与研究。

作者贡献分布: 本文选题与设计由赵红波完成; 文献资料收集与数据分析由吴晓晶与杨云完成; 资料筛选与数据录入由梁同义、葛志明及吴学宁完成; 论文写作与修改由赵红波与吴晓晶共同完成。

通讯作者: 赵红波, 住院医师, 750001, 宁夏回族自治区银川市兴庆区解放西街231号, 银川市中医医院肛肠科。

zhaohb110@163.com

电话: 0951-5045240

收稿日期: 2013-09-04 修回日期: 2013-10-07

接受日期: 2013-10-15 在线出版日期: 2014-01-08

## Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery

Hong-Bo Zhao, Xiao-Jing Wu, Yun Yang, Tong-Yi Liang, Zhi-Ming Ge, Xue-Ning Wu

Hong-Bo Zhao, Xiao-Jing Wu, Yun Yang, Tong-Yi Liang, Zhi-Ming Ge, Xue-Ning Wu, Traditional Chinese Medicine Hospital of Yinchuan, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Correspondence to: Hong-Bo Zhao, Resident Physician, Department of Colorectal Medicine, Yinchuan Hospital of Traditional Chinese Medicine, 231 Liberation West Street, Yinchuan 750001, Ningxia Hui Autonomous Region, China. zhaohb110@163.com

Received: 2013-09-04 Revised: 2013-10-07

Accepted: 2013-10-15 Published online: 2014-01-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the medication regularity of the prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery.

**METHODS:** Clinical studies on heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery were searched from CNKI and CBM databases. A total of 87 papers meeting the criteria were retrieved. Data were extracted to analyze medication frequency, meridian affinity and efficacy, as well as herb-pairs principle using apriori method of connection rule.

**RESULTS:** In 87 prescriptions, there were 95 Chinese medicines, of which 62 appeared twice. The appearing frequency was 691. The medicine core coefficients of Kushen, Wubeizi and

Mangxiao were higher than those of others. With regard to herb meridian affinity, the integrals of liver meridian, stomach meridian, lung meridian and spleen meridian were higher than those of others. With regard to the herb efficacy, the use frequencies of heat-clearing herbs, blood-activating and stasis-dissolving herbs and purgatives herbs were high. With regard to herb pairs, the frequencies of Kushen-Huangbai, Kushen-Danggui and Huangbai-Diyu were high.

**CONCLUSION:** Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery was obtained by analyzing the core coefficient, meridian affinity and efficacy of herbs, which will provide a theoretical basis for clinical work.

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

**Key Words:** Hemorrhoids; Heat-clearing and blood-activating method; Core coefficient; Meridian affinity; Herb pairs; Apriori algorithm

Zhao HB, Wu XJ, Yang Y, Liang TY, Ge ZM, Wu XN. Medication regularity of prescriptions for heat-clearing and blood-activating method in hemorrhoids after surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(1): 153-158 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i1.153>

## 摘要

**目的:** 中药熏洗法在预防和治疗痔病术后并发症疗效显著, 旨在分析探讨清热活血法在痔病术后中的用药规律。

**方法:** 检索中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)等医学数据库中清热活血法为主治疗痔病术后的临床研究报道(共检索出87篇符合标准的文献), 收录方剂进行药物使用频率、归经和功效统计分析; 并应用关联规则方法中的Apriori算法分析方剂中药对的配伍规律。

**结果:** 在87首方剂中, 共出现了95味中药, 其

## ■背景资料

以清热活血为主的中药熏洗法是预防和减少痔病术后并发症, 增强术后患者耐受性有效治法之一。通过探讨方剂中单味药物归经及在方剂中的使用频次、配伍规律、组成结构及功效特点, 分析方药取效机制, 为中医药治疗痔病术后并发症临证用药提供新思路。

## ■同行评议者

郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科



## ■ 研发前沿

中医药在疾病发生发展的不同阶段,由于药物的不同配伍而产生不同疗效。目前,中药单味药及组方的抗炎、止痛、止血、促愈的机制仍缺乏客观量化指标。因此,要实现中西医结合学科的长足发展和新突破,中医药现代化依然是热点领域。

中出现两次以上中药共62味,出现频次共为691次。在药物核心系数(H)的统计中,苦参、五倍子、芒硝等药物的应用频次较多;在归经的统计中,归肝、胃、肺、脾经的药味和积分较高;在功效的统计中,以清热药、活血化瘀药、泻下药等使用次数较高;在药对的统计分析中,苦参-黄柏、苦参-当归、黄柏-地榆等药对的使用频率较高。

**结论:**通过对药物核心系数(H)、归经、功效和药对的使用频率进行统计分析,能较好的发现应用清热活血法在痔病术后进行熏洗治疗的用药规律、配伍组成和临床疗效,为临床治疗痔病术后并发症用药提供理论指导。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**痔病术后;清热活血法;核心系数;归经;药对;Apriori算法

**核心提示:**痔病术后早期应用清热活血法进行熏洗治疗,使药液直接作用于患处,起到清热燥湿、消肿止痛、生肌止血之功效,有效预防了术后再次出血,水肿和因疼痛引起尿潴留、排便困难等并发症发生,揭示清热活血法中方剂应用配伍规律,是中医药更合理有效的服务于临床。

赵红波, 吴晓磊, 杨云, 梁同义, 葛志明, 吴学宁. 清热活血法在痔病术后的用药规律. 世界华人消化杂志 2014; 22(1): 153-158  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i1.153>

## 0 引言

痔病(内痔、外痔、混合痔)是肛肠病中的常见病、多发病,主要病因是饮食不节、湿热内生、下迫肛门或久蹲久坐、排便努责、生育过多等,致经脉横解,气血凝滞而成。现代医学对痔病形成的原因尚无确切定论,目前多认为痔病的发生与肛垫下移、静脉曲张相关。手术是治疗的重要方法之一,由于肛门直肠特殊的组织解剖结构和相对复杂的生理功能,术后常出现切口疼痛、水肿、出血、创面延期愈合等并发症,增加了患者痛苦,延长住院时间,加重经济负担,影响患者生活质量,必须积极防治。

痔病做为我科的优势病种之一,以清热活血为主的中药熏洗法是痔病术后恢复期的基本治法之一,在预防和减少术后并发症、促进创面愈合、缩短病程、缓解患者痛苦等方面发挥了独到的优势,并在治疗过程中积累了大量临床资料。本研究通过数据统计,积极探索不同知识背景的学者选用清热活血为主的中药熏洗方

在治疗痔病术后恢复期的临证经验、辨证思路及用药规律,分析大量数据后发现隐藏其后的药味归经及在方剂中的使用频次、配伍规律、组成结构及功效特点,从基本的角度探讨方药取效机制和方证体系内在的联系和特征,为中医药治疗痔病术后并发症临证用药提供新思路。现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 根据国际循证医学中心协作网工作手册标准,以“中药熏洗and痔”为主题词检索中国知网(China National Knowledge Infrastructure, CNKI)(1980-01/2012-12)、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM)(1980-01/2012-12)中有关运用清热、活血方为主的熏洗法治疗痔病术后恢复期的临床研究报道。

### 1.2 方法

**1.2.1 中医疾病诊断标准:**采用2006-06中华医学会外科学分会肛肠外科学组等制定的《痔临床诊治指南》<sup>[1]</sup>。

**1.2.2 文献的纳入标准:**(1)符合混合痔、内痔、外痔的诊断标准;(2)必须行具体手术治疗,术后伴有疼痛、水肿、出血等并发症发生;(3)有中医症候诊断、治法、方药名和剂量。

**1.2.3 文献的排除标准:**(1)综述性文献;(2)研究对象是实验动物;(3)没有具体方药、剂量、使用方法和治疗结果;(4)中药为内服、外敷方药;(5)伴有急性传染病,或合并有特异性感染(如结核病、克罗恩病、溃疡性结肠炎等)。共检索出87篇符合标准的文献。

**1.2.4 中药数据的标引:**在同一类方的统计上,同一首方剂无论出现几次,共计为1次;中药药名主要参照2005版中华人民共和国药典<sup>[2]</sup>的中药部分进行统一,若本书无该药,则以常用药名统一。例如“皂刺”统一为“皂角刺”,“川椒”统一为“花椒”,“杠板归”统一为“雷公藤”,“明矾”统一为“白矾”,产地不同的药物都统一为同一个药名。

**1.2.5 药物核心系数分析:**按照每味中药在整个类方中出现频率的平均值进行确定,此平均值即为该方元的核心系数(H)<sup>[3]</sup>。假设某类方由M个方元组成,中药Zi在其中的Ni个类方元中出现(i = 1、2、3、... N)则类方中中药的核心系数为H = Ni/Mi, H的系数越大,表明中药Zi在整个类方中的频率较高,在类方中的贡献较大,为该类方

表 1 药物的核心系数

序号	药名	出现次数	H	序号	药名	出现次数	H
1	苦参	50	0.575	20	血竭	6	0.069
2	五倍子	49	0.563	20	地肤子	6	0.069
3	芒硝	37	0.425	20	栀子	6	0.069
3	大黄	36	0.414	20	泽泻	6	0.069
4	黄柏	36	0.414	21	皂角刺	5	0.057
5	地榆	34	0.391	21	川芎	5	0.057
5	当归	34	0.391	21	侧柏叶	5	0.057
6	白矾	23	0.264	21	紫草	5	0.057
6	蒲公英	23	0.264	21	连翘	5	0.057
8	金银花	20	0.230	21	两面针	5	0.057
9	防风	18	0.207	21	白及	5	0.057
9	赤芍	18	0.207	21	生地	5	0.057
10	冰片	17	0.195	21	土茯苓	5	0.057
11	黄芩	15	0.172	22	鱼腥草	4	0.046
12	乳香	14	0.161	22	艾叶	4	0.046
12	苍术	14	0.161	23	丹皮	3	0.034
13	黄连	13	0.149	23	野菊花	3	0.034
14	马齿苋	12	0.138	23	槐角	3	0.034
14	桃仁	12	0.138	23	丹参	3	0.034
14	甘草	12	0.138	23	槟榔	3	0.034
15	没药	11	0.126	24	仙鹤草	2	0.023
15	花椒	11	0.126	24	黄芪	2	0.023
16	蛇床子	10	0.115	24	三七	2	0.023
17	红花	9	0.103	24	百部	2	0.023
18	紫花地丁	8	0.092	24	川乌	2	0.023
18	白芷	8	0.092	24	姜黄	2	0.023
18	荆芥	8	0.092	24	秦皮	2	0.023
19	槐花	7	0.080	24	虎杖	2	0.023
20	秦艽	6	0.069	24	升麻	2	0.023
20	延胡索	6	0.069	24	白鲜皮	2	0.023
20	薄荷	6	0.069	24	陈皮	2	0.023

## ■ 相关报道

常惟智通过方剂量效关联的方法进行归纳和探讨,从多维角度对方-药-证-症关联进行研究,着重分析了药对配伍、剂量在文献、药理实验、临床研究等方面的进展,提出方证相应论,为中医药临床准确辨证施治提供了科学理论依据。

的核心药物,反之为该类方的边缘药物。

1.2.6 药物归经分析: 参考黄书慧等<sup>[4]</sup>对类方涉及的每一味药物的归经分析方法,根据七版《中药学》全国统编教材<sup>[5]</sup>中对归经记载的顺序予以标注,然后计算总积分。设类方中共用到N种归心经的药物,则归心经的总积分为 $W = \sum H(H$ 为药物核心系数)。

1.2.7 药物功效分析: 对87首清热活血方的95味中药按功效予以标注,计算各类功效中中药的药味及其应用频次。

1.2.8 药对分析: 应用关联规则方法中的Apriori<sup>[6]</sup>计算药对的使用次数和使用频率,使用频率 = 药对的使用次数/类方的方剂数(87)。

**统计学处理** 利用Excel2003软件把收集到的87首方剂按一定的格式(编号、方剂名、药

名、功效、归经、药物分类)建立的数据库为统计元,分析方法如前述。

## 2 结果

2.1 药物核心系数的统计 87首方剂中出现2次以上中药共有62味,按药物的核心系数降序排列,结果表明苦参、五倍子、芒硝、大黄、黄柏等药物的H较高(表1)。

2.2 归经的统计 87首方剂中的95味药物的归经涉及到十二经,而入肝经、胃经、肺经、脾经等药味较多,积分较大(表2)。

2.3 药物功效的统计 为了解清热活血法中药物的功效,对87首方剂中的95味药物的功效进行分析,发现清热药、活血化瘀药、泻下药、止血药的使用次数较多(表3)。

## ■创新盘点

本文采用现代统计学多元分析技术探索清热活血法组方中药物核心系数、归经、功效和药对应用频率的内在联系和特征,发现中医药在治疗痔病术后并发症的用药规律、配伍组成和疗效特点,使中医药诊疗过程中辨证更准确,用药更恰当,疗效更佳。

表 2 药物的归经

归经	用药味数	积分	归经	用药味数	积分
心	27	2.821	胃	33	3.243
肾	15	1.571	大肠	27	4.085
肝	57	4.997	膀胱	8	1.379
脾	31	2.924	小肠	4	0.251
胆	8	0.515	三焦	2	0.080
肺	32	2.405	心包	4	0.516

表 3 药物功效的用药种数与使用次数

药类名	用药种数	使用次数	药类名	用药种数	使用次数
清热药	27	243	利水渗湿药	5	16
泻下药	2	73	补虚药	4	49
活血化瘀药	13	76	消食药	0	0
化湿药	2	15	涌吐药	0	0
收涩药	4	52	开窍药	2	18
温里药	1	11	安神药	0	0
理气药	3	4	祛风湿药	8	14
解表药	8	45	平肝息风药	0	0
攻毒杀虫止痒药	2	33	化痰止咳平喘药	2	7
止血药	10	64	拔毒化腐生肌药	1	1
驱虫药	1	3			

2.4 药对的统计 应用关联规则方法中的Apriori计算得到了药对的使用次数和使用频率,使用次数在8次以上的药对(表4)。

## 3 讨论

中药熏洗是中医肛肠外科重要外治法之一,是治疗痔疮的传统方法,熏洗是指借蒸腾之药气熏患处,再将药汤乘热淋洗患部,依靠其药力和热力直接作用于病变部位,使肛门部腠理疏通,气血流畅,从而达到清热燥湿、活血消肿、止血生肌功效。《外科启玄明·疮疡宜漏浴洗论》云<sup>[7]</sup>：“凡治疮肿,初起一二日之间,宜药煎汤洗浴熏蒸,不过取其开通腠理,血脉调和,使无凝滞之意,免其痛苦,亦消毒耳”。痔病手术的患者,多为患病日久,病情较重。术后虽然祛除了有形之邪,但肌肉受损,脉络断裂,经脉阻滞,气血不畅,致“不荣则痛”和“不通则痛”;加之正气虚,湿热之邪留滞不散,则水肿;又气虚血亏,摄血无力,或瘀血阻滞,血不循经,则出血;血虚无以濡养皮肉,则新肉不生,愈合缓慢。因此,湿热血瘀是痔术后创面的病理基础,正虚与邪实并存,以邪实为主。所以,在采用具有清热

活血作用为主的中药,运用熏洗的方法预防和控制肛肠病术后并发症,有理论依据,疗效可靠。祖国医学认为痔病术后及时采用清热活血为主的中药熏洗法,配合相关对症治疗和临床护理<sup>[8]</sup>,其中98%以上患者均能使并发症消除,创面愈合。本研究通过统计分析了87篇利用清热活血法为主的熏洗方治疗痔病术后恢复期的文献报道,结果表明采用该法共治疗痔病术后恢复期患者5483例,其中治愈4825例,有效576例,无效82例,总有效率为98.50%,也证实清热活血法为主的熏洗疗法是治疗痔病术后恢复期并发症的基本大法。

在药物核心系数的统计中,苦参、五倍子、芒硝、大黄、黄柏、地榆、当归、白矾、蒲公英、金银花的核心系数较大,使用次数较多。其中苦参、芒硝、大黄、黄柏、蒲公英、金银花清热燥湿,泻火解毒;地榆、当归凉血止血,活血止痛;五倍子、白矾收湿敛疮。现代医学研究表明:苦参、大黄、黄柏等均具有明显抗炎作用,能抑制炎症早期的水肿、渗出和炎症后期的结缔组织增生,尚具有调节免疫,促进抗体生成,清理创面的作用<sup>[9]</sup>。地榆、当归能明



表 4 药对的使用次数与频率

药名	药名	使用次数	使用频率(%)	药名	药名	使用次数	使用频率(%)
苦参	黄柏	32	36.78	苍术	防风	11	12.64
苦参	当归	31	35.63	五倍子	白矾	11	12.64
黄柏	地榆	30	34.48	黄柏	桃仁	10	11.49
苦参	五倍子	29	33.33	黄柏	黄芩	10	11.49
大黄	黄柏	27	31.03	乳香	没药	10	11.49
五倍子	黄柏	27	31.03	五倍子	地榆	9	10.34
五倍子	芒硝	20	22.99	五倍子	冰片	9	10.34
大黄	五倍子	18	20.69	当归	防风	9	10.34
大黄	芒硝	18	20.69	五倍子	防风	9	10.34
苦参	大黄	18	20.69	大黄	黄芩	9	10.34
苦参	芒硝	18	20.69	黄柏	赤芍	9	10.34
黄柏	芒硝	17	19.54	大黄	赤芍	9	10.34
苦参	金银花	16	18.39	大黄	当归	9	10.34
芒硝	白矾	14	16.09	当归	红花	9	10.34
黄柏	防风	14	16.09	当归	乳香	9	10.34
黄柏	金银花	14	16.09	当归	没药	9	10.34
苦参	白矾	14	16.09	防风	苍术	8	9.195
苦参	地榆	13	14.94	黄柏	黄连	8	9.195
五倍子	乳香	12	13.79	芒硝	赤芍	8	9.195
黄柏	当归	12	13.79	金银花	蒲公英	8	9.195
黄柏	白矾	12	13.79	大黄	金银花	8	9.195
苦参	赤芍	11	12.64	五倍子	当归	8	9.195
黄柏	乳香	11	12.64	苦参	桃仁	8	9.195
芒硝	冰片	11	12.64	苦参	乳香	8	9.195
芒硝	蒲公英	11	12.64				

## ■应用要点

痔病术后早期应用清热活血药物进行中药熏洗, 不仅缓解创面疼痛、减少出血、促进创面愈合, 缩短住院周期, 减少住院费用; 而且, 通过数据分析能真实反映了证-法-方-药之间的相应关系, 进一步提高中医药诊治水平, 具有积极的意义。

显缩短出血和凝血时间, 解除血管痉挛, 降低毛细血管通透性, 抑制炎性介质释放而减轻组织渗出、水肿、出血; 还能在创面形成保护膜, 防止感染和镇痛作用<sup>[10]</sup>。五倍子、白矾中的鞣酸能使皮肤黏膜、溃疡等部位的组织蛋白凝固而具有收敛、抑制腺体分泌、减轻炎症反应、减缓感染过程及病理损害<sup>[11]</sup>。诸药紧扣病机, 既可清热解毒, 活血化瘀, 又可凉血止血, 消肿生肌, 标本兼顾。

痔病术后恢复期与肝、肺、脾、胃诸脏腑关系密切, 脾胃为“后天之本”, “气血生化之源”, 二者一阴一阳, 互为表里, 共同参与饮食的消化吸收。脾胃虚则气血生化乏源, 致血随气脱, 或离经之血溢于脉外而出血, 并证见脾虚湿困, 湿热下注而致痔病发生。肝主疏泄, 助脾胃运化水谷精微, 维持气血、津液的运行。若肝失疏泄, 气血亏虚, 气机阻滞, 气滞则血瘀, 不通则痛。肝主藏血, 具有贮藏血液和调节血量功能, 其异常易引起血虚或出血。肺朝百脉, 主宣发肃降, 将气血津液布散全身, 肺气虚则无力推动血

行, 全身经脉失于濡养, 致筋脉横解。在药物归经的统计中, 我们发现归肝、肺、脾、胃经的药物和积分较高; 在药物功效的统计中, 清热药、活血化瘀药、泻下药、止血药、收涩药的用药次数较高, 提示从肝经、胃经、肺经、脾经、大肠经论治痔病术后创面恢复是有效的临床治疗法则。

长期的医疗实践中, 人们认识到针对一定病证, 结合中药性、味、归经及功效, 把两味中药有机组合, 使药物作用增强, 不良反应减轻, 或产生新的不良作用, 从而形成相对固定的药物搭配-药对。在治疗本病中经药对分析结果表明部分药对应用频率较高, 如苦参-黄柏, 苦参-当归, 黄柏-地榆, 苦参-五倍子, 其中苦参大苦大寒, 归心、肝、胃、大肠、膀胱经, 清热燥湿, 杀虫止痒, 以清下焦湿热为主; 黄柏性降属阴, 其味厚, 归肾、膀胱、大肠经, 清热燥湿, 泻火解毒, 善清二阴湿热; 二药配伍, 禀至阴之气兼得清寒之性, 使清热燥湿之力尤甚, 清瘀消肿止痛之功更佳。苦参-当归: 当归为补血活血之圣药, 还能

# ■同行评价

痔病是肛肠病中的常见病、多发病,本文探讨清热活血法在痔病术后中的用药规律,有一定临床价值。

润肠通便。实验研究表明<sup>[12]</sup>,二药为伍,既能抗炎、止痛,又能改善微循环,降低血小板的聚集性,提高皮肤温度,保护创面,阻止组织坏死,促进愈合;还能改善血液的浓、粘、凝、聚状态,具有明显抗血栓形成<sup>[13]</sup>。黄柏-地榆:其中地榆性寒入血分,长于泄热而凉血止血,又其性下行,尤易于治下焦出血。与黄柏配伍,加强抗菌作用,尚能缩短凝血血时间,降低毛细血管通透性,减少渗出及组织水肿,两者相得益彰,协同增效<sup>[14]</sup>。苦参-五倍子<sup>[15]</sup>:五倍子功能涩肠,止血,解毒,酸涩收敛而能止血,除湿固脱。与苦参合用,既清风湿疮疡脓水,又能散热毒疮肿,而收敛止血、消肿生肌。

总之,中药熏洗法属中医外治法之一,在疾病发生发展的不同阶段,由于药物的不同配伍而具有不同治疗作用。本研究是在中、西医理论指导下,利用多元分析技术探讨清热活血法中方剂配伍规律的内在联系,为临床用药提供理论依据和思路,具有重要的现实意义。经统计分析后发现熏洗方中利用清热药和活血化瘀药物的使用频次、药对配伍最多,对痔病术后预防和缓解并发症疗效确切,治愈率高,使用安全,操作简单。但目前中药抗炎、止血、促愈的机制只是一个粗浅的轮廓,仍缺乏客观量化指标,不利于促进中西医结合学科的长足发展和新突破<sup>[16]</sup>。今后在综合运用分子生物学、中药信息学、计算机信息学等交叉学科,将有利于研究中医基础理论体系的合理性,能充分反映出证-法-方-药之间的密切联系和方证与药物量效关系<sup>[17]</sup>,从而使辨证准确,用药剂量恰当,疗效自佳,使中医药资源合理利用,更有效的指导临床实践。

# 4 参考文献

- 1 中华医学会外科学分会结直肠肛门外科学组, 中华中医药学会肛肠病专业委员会, 中国中西医结合学会结直肠肛门病专业委员会. 痔临床诊治指南. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 461-463
- 2 国家药典委员会. 中华人民共和国药典: 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 2010
- 3 金锐, 林茜, 张冰, 刘欣, 刘森茂, 赵茜, 刘秀兰. 基于Apriori算法的中药气-味-效三维数据关联规则挖掘研究. 中西医结合学报 2011; 9: 794-803
- 4 黄书慧, 曾薇薇, 邢斌. 二陈汤类方主治病症规律探析. 中华中医药杂志 2010; (3): 428-430
- 5 高学敏. 中药学. 第二版. 北京: 中国中医药出版社, 2007
- 6 尚尔鑫, 叶亮, 范欣生, 唐于平, 段金彪. 基于改进关联规则算法的中药药对药味间性味归经功效属性关系的发现研究. 世界科学技术-中医药现代化 2010; 12: 377-382
- 7 李晶. 痔疮外洗液坐浴治疗混合痔术后水肿50例. 新中医 2007; 39: 72-73
- 8 孙美春, 李佩芳, 张群, 朱萍. 痔疮患者术后用中药熏洗伤口的疗效观察与护理. 上海护理 2006; 6: 48-49
- 9 廖波, 袁可, 琚晓. 苦参汤加减对混合痔外剥内扎术后创缘水肿疗效观察. 长春中医药大学学报 2011; 24: 254-255
- 10 黄河, 陆金根, 曹永清. 促愈汤改善混合痔术后疼痛和水肿的临床观察. 上海中医药杂志 2008; 42: 42-44
- 11 王丽娜, 陈红锦. 愈创熏洗1号方促进混合痔术后创面愈合临床观察. 吉林中医药 2009; 29: 43-44
- 12 王锦, 印义琼, 覃清梅. 混合痔外剥内扎术后坐浴方法与切口愈合的相关性研究. 华西医学 2009; 24: 3236-3238
- 13 马辉, 王曦, 南京燕, 郭鹏. 自制中药洗剂对混合痔术后水肿和疼痛的疗效观察. 广西中医药 2011; 34: 18-19
- 14 张志强, 王振彪, 焦霞, 张君峰. 三草洗剂对混合痔术后止痛促愈合作用的临床观察. 北京中医药 2010; 29: 863-864
- 15 徐伟祥, 朱焜, 李永健. 复方大黄汤熏洗治疗混合痔临床研究. 上海中医药杂志 2008; 42: 40-41
- 16 刘永琦. 系统生物学对中西医结合研究的影响. 中医杂志 2007; 48: 869-871
- 17 常惟智, 刘树民, 卢芳. 中药药性与功效关联性的研究分析及展望. 时珍国医国药 2009; 20: 633-634

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。



《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$  ( $P>0.05$  不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上



角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授  
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白岚 教授  
南方医院惠侨科

白雪巍 副主任医师  
哈尔滨医科大学

蔡开琳 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

崔莲花 副教授  
青岛大学医学院公共卫生系

方今女 教授  
延边大学医学院预防医学教研部

何松 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

黄颖秋 教授  
本溪钢铁(集团)总医院消化内科

蓝宇 教授  
北京积水潭医院消化科

李孟森 教授  
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李涛 副主任医师  
北京大学人民医院肝胆外科

李小荣 教授  
中南大学湘雅三医院普外二科

李宗芳 教授  
西安交通大学医学院第二附属医院

刘丽江 教授  
江汉大学医学院病理学

刘连新 教授  
哈尔滨医科大学第一临床医学院

刘亮明 副教授  
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

缪应雷 主任医师  
昆明医科大学第一附属医院消化内科

倪润洲 教授  
南通大学附属医院消化内科

牛英才 研究员  
齐齐哈尔医学院医药科学研究所

麻勇 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院肝脏外科

孙明军 教授  
中国医科大学附属第一医院内镜中心

汤静 主管药师  
上海交通大学附属第一人民医院药学部

庾必光 教授  
遵义医学院附属医院消化科

王德盛 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王小众 教授  
福建医科大学附属协和医院消化内科

杨建民 教授  
浙江省人民医院消化内科

殷正丰 教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

庄林 主任医师  
昆明市第三人民医院肝病科

张火俊 副教授  
长海医院放射科

张力为 副教授  
新疆医科大学第一附属医院胸外科

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章:





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



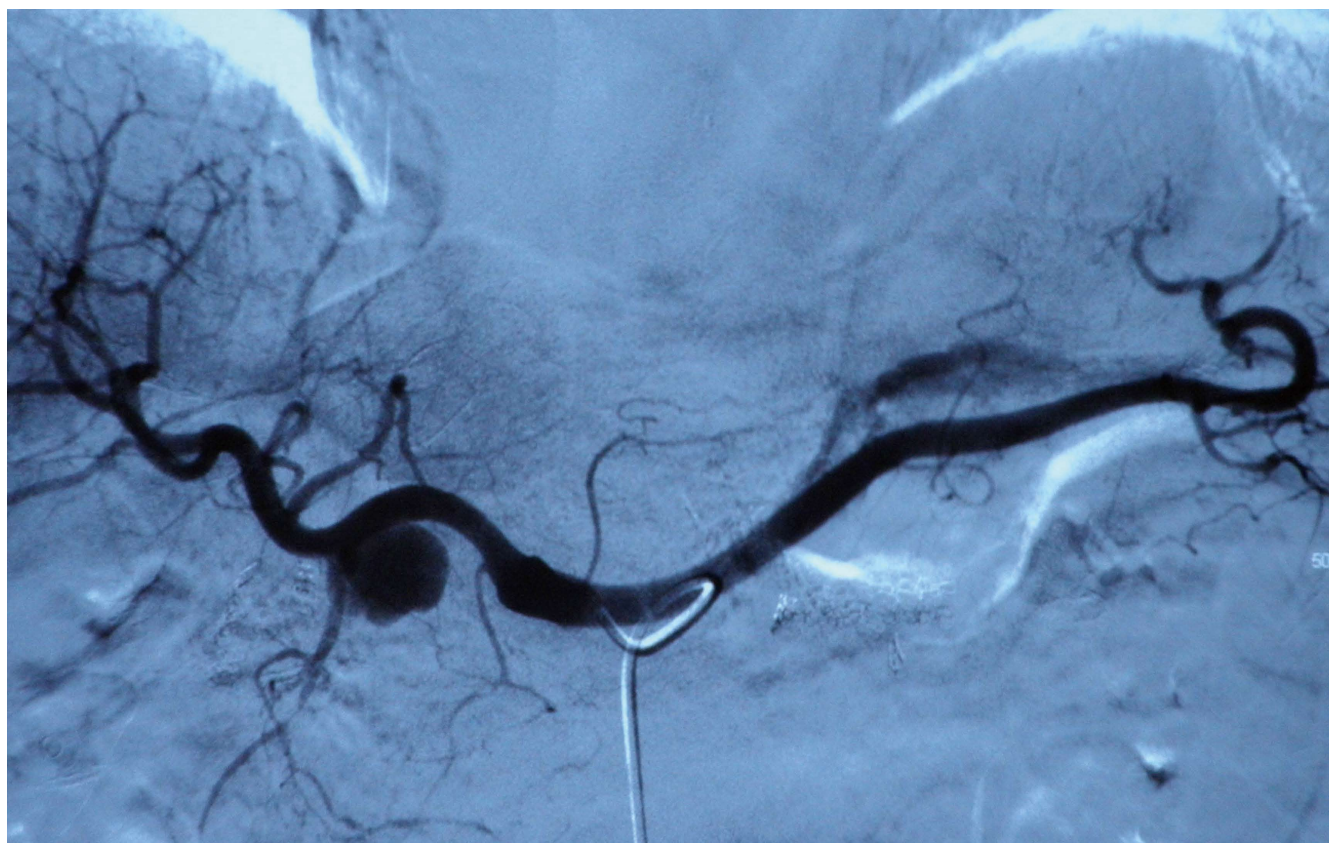
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 1 月 18 日 第 22 卷 第 2 期 (Volume 22 Number 2)**



**2/2014**

ISSN 1009-3079



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



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 1 月 18 日 第 22 卷 第 2 期 (总第442期)

述 评	159 胰腺癌的外科综合治疗 孙诚谊, 朱海涛
基础研究	164 前列腺素E1对肝动脉栓塞后肝纤维化进展的防治 陈宝祥, 曹海利, 郭若涵, 金书强, 白彬 171 麦角甾苷调节HIPK2-P53通路对人大肠癌裸鼠移植瘤的治疗作用 周利红, 胡强, 陈星竹, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 任建琳, 李琦
文献综述	179 ChREBP及其靶基因 <i>PNPLA3</i> 在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用 季玲, 李昌平 184 诱发电位在功能性肠病研究中的价值 张琼, 倪敏, 周惠芬, 丁曙晴, 樊志敏 190 溃疡性结肠炎组织病理学诊断的研究进展 郭倩, 唐志鹏, 王立娟 197 幽门螺杆菌对左氧氟沙星耐药的研究进展 吴李培, 宣世海
研究快报	203 PTEN/PI3K在小鼠肝缺血再灌注损伤中的调控作用及机制 白丽, 任锋, 郑素军, 张晶, 陈煜, 段钟平 210 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型 王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫 215 MK-886与塞来昔布小剂量联合对小鼠结肠癌的抑制作用 何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏
临床经验	221 一种光纤压力传感器测量食管曲张静脉压力的方法 余芳芳, 王进广, 何兵兵, 吴艾久, 孙斌, 庄小金, 许建明, 孔德润 227 PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B p50/p65在哈萨克族食管癌中的表达及意义 庞雪莲, 崔晓宾, 李肃, 金静, 梁伟华, 李锋, 陈云昭 233 针灸治疗慢性萎缩性胃炎的Meta分析 廖伟琳, 陈国忠, 胡辉, 夏李明 239 DNA修复蛋白RAD52在胃癌中的表达及意义 刘坤, 杨小丽, 窦东伟, 吕文鑫, 李萍, 吴华, 吕小平, 何敏 244 假性动脉瘤破裂导致胃癌术后上消化道大出血 汪雷, 万圣云, 周连帮, 吴春利, 钱波, 侯辉 249 进展期胃癌应用SOX方案新辅助化疗对肿瘤TNM分期的影响 李涛, 冯道夫, 梁美霞, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凛 253 三种不同方法预防肝硬化食管静脉曲张首次出血的疗效及安全性评价 刘信, 李敏 259 胶囊内镜对于不明原因消化系出血与小肠血管发育不良的诊断价值 许统俭, 王营 263 南宁市大学生功能性消化不良的流行病学调查 左国文, 梁列新, 姚萍, 黄丹, 刘鑫, 何宛蓉, 张法灿 268 上消化道息肉临床诊治332例 陈翀, 张月华, 叶学勇, 章格宁, 倪敏, 吴有香, 汪玲荣 273 VEGF 165b在结直肠癌组织中的差异表达及其意义 赵一军, 梁勇, 石忱长, 韩华中, 朱庆超, 杨俊 279 NF- $\kappa$ B p65在溃疡性结肠炎与结直肠癌患者肠黏膜中的表达差异与意义 加秀凤, 沈霖, 范恒, 谢纪文, 曾宇阳, 陈曦, 朱锐 286 结直肠癌患者伴发结直肠息肉的临床特点 王玉欣, 路国涛, 肖炜明, 吴健, 陈姚生, 薛艳, 陈海燕, 丁岩冰 291 腹腔镜直肠癌根治术与Dixon直肠癌根治术的临床疗效对比 黄甫达, 杨昌谋, 郭俊宇, 浦润



	296 腹腔镜与开腹直肠癌Dixon术的近期疗效比较 丁伟超, 张蓬波, 张秀忠, 张冲, 任泽强
附 录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	178 《世界华人消化杂志》出版流程 189 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 196 《世界华人消化杂志》正文要求 202 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 214 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 220 《世界华人消化杂志》栏目设置 226 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 238 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 243 《世界华人消化杂志》外文字符标准 262 《世界华人消化杂志》参考文献要求 300 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	汪雷, 万圣云, 周连帮, 吴春利, 钱波, 侯辉. 假性动脉瘤破裂导致胃癌术后上消化道大出血. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 244-248 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/244.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/244.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.244">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.244</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-01-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## January 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 2

<b>EDITORIAL</b>	159 Comprehensive surgical management of pancreatic cancer <i>Sun CY, Zhu HT</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	164 Prostaglandin E1 for prevention and treatment of liver fibrosis progression after hepatic arterial embolization in a rabbit model <i>Chen BX, Cao HL, Guo RH, Jin SQ, Bai B</i> 171 Verbascoside exerts therapeutic effects against colorectal cancer xenografts in nude mice <i>via</i> HIPK2-P53 pathway <i>Zhou LH, Hu Q, Chen XZ, Liu X, Sui H, Fu XL, Ren JL, Li Q</i>
<b>REVIEW</b>	179 Role of ChREBP and its target gene <i>PNPLA3</i> in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease <i>Ji L, Li CP</i> 184 Value of evoked potential in study of functional bowel disorders <i>Zhang Q, Ni M, Zhou HF, Ding SQ, Fan ZM</i> 190 Progress in histopathological diagnosis of ulcerative colitis <i>Guo Q, Tang ZP, Wang LJ</i> 197 Advances in research of <i>Helicobacter pylori</i> resistance to levofloxacin <i>Wu LP, Xuan SH</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	203 Regulatory role of PTEN/PI3K in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice <i>Bai L, Ren F, Zheng SJ, Zhang J, Chen Y, Duan ZP</i> 210 Establishment of a rat model of functional dyspepsia by a compound method <i>Wang YJ, Ling JH, Zhang YQ, Liang G, Nong YF, Liu PF, Li DX</i> 215 MK-886 combined with celecoxib inhibits colon cancer in mice <i>He LY, Liu CY, Gao S, Shu M</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	221 A fiber-optic pressure sensor for measuring esophageal variceal pressure <i>Yu FF, Wang JG, He BB, Wu AJ, Sun B, Zhuang XJ, Xu JM, Kong DR</i> 227 Clinical significance of expression of PKC $\alpha$ and NF- $\kappa$ B p50/p65 in esophageal squamous cell carcinoma in Kazakh patients <i>Pang XL, Cui XB, Li S, Jin J, Liang WH, Li F, Chen YZ</i> 233 Acupuncture and moxibustion for treatment of chronic atrophic gastritis: A Meta-analysis <i>Liao WL, Chen GZ, Hu H, Xia LM</i> 239 Clinical significance of expression of RAD52 in gastric cancer <i>Liu K, Yang XL, Dou DW, Lv WX, Li P, Wu H, lv XP, He M</i> 244 Diagnosis and treatment of upper gastrointestinal bleeding caused by pseudoaneurysm rupture following radical gastrectomy <i>Wang L, Wan SY, Zhou LB, Wu CL, Qian B, Hou H</i> 249 TNM downstaging after SOX neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer <i>Li T, Feng DF, Liang MX, Yuan J, Guo X, Li T, Chen L</i> 253 Efficacy and safety of three different methods for primary prophylaxis of variceal bleeding in cirrhosis <i>Liu X, Li M</i> 259 Diagnostic value of capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding and intestinal angiodysplasia <i>Xu TJ, Wang Y</i> 263 Prevalence and risk factors for functional dyspepsia in university students in Nanning <i>Zuo GW, Liang LX, Yao P, Huang D, Liu X, He WR, Zhang FC</i> 268 Clinical and endoscopic features and endoscopic therapy of upper gastrointestinal polyps: An analysis of 332 cases <i>Chen C, Zhang YH, Ye XY, Zhang GN, Ni M, Wu YX, Wang LR</i> 273 Clinical significance of differential expression of VEGF 165b between colorectal cancer and normal intestinal mucosa tissues <i>Zhao YJ, Liang Y, Shi CZ, Han HZ, Zhu QC, Yang J</i> 279 Significance of NF- $\kappa$ B p65 expression in ulcerative colitis and colorectal adenocarcinoma <i>Jia XF, Shen L, Fan H, Xie JW, Zeng YY, Chen X, Zhu R</i> 286 Clinical characteristics of adenomatous polyps in colorectal cancer <i>Wang YX, Lu GT, Xiao WM, Wu J, Chen YS, Xue Y, Chen HY, Ding YB</i> 291 Efficacy of laparoscopic versus Dixon radical resection for rectal cancer <i>Huang FD, Yang CM, Guo JY, Pu J</i>

	296 Short-term efficacy of laparoscopic and open Dixon surgery for rectal cancer <i>Ding WC, Zhang PB, Zhang XZ, Zhang C, Ren ZQ</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Wang L, Wan SY, Zhou LB, Wu CL, Qian B, Hou H.</i> Diagnosis and treatment of upper gastrointestinal bleeding caused by pseudoaneurysm rupture following radical gastrectomy. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(2): 244-248 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/244.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/244.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.244">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.244</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** January 18, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

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

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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



# 胰腺癌的外科综合治疗

孙诚谊, 朱海涛

孙诚谊, 朱海涛, 贵阳医学院附属医院肝胆外科 贵州省贵阳市 550001

孙诚谊, 教授, 主任医师, 主要从事肝胆胰脾疾病的基础与临床研究.

作者贡献分布: 本文由孙诚谊构思完成; 查阅文献及校对工作由朱海涛完成.

通讯作者: 孙诚谊, 教授, 主任医师, 博士生导师, 550001, 贵州省贵阳市贵医街28号, 贵阳医学院附属医院肝胆外科.

chengyisun@medmail.com.cn

电话: 0851-6771326

收稿日期: 2013-07-04 修回日期: 2013-08-03

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-18

## Comprehensive surgical management of pancreatic cancer

Cheng-Yi Sun, Hai-Tao Zhu

Cheng-Yi Sun, Hai-Tao Zhu, Department of Hepatic and Biliary Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, Guiyang 550001, Guizhou Province, China

Correspondence to: Cheng-Yi Sun, Professor, Chief Physician, Department of Hepatic and Biliary Surgery, Affiliated Hospital of Guiyang Medical University, 28 Guiyi Street, Guiyang 550001, Guizhou Province, China. chengyisun@medmail.com.cn

Received: 2013-07-04 Revised: 2013-08-03

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-18

## Abstract

Pancreatic cancer is a malignancy with a very poor prognosis. Currently, surgery-based comprehensive management may be the only treatment able to significantly improve long-term survival. Radical resection is the first choice for pancreatic cancer patients. Unfortunately, less than 20% of patients are found to have resectable tumors at the time of diagnosis. In addition, only few people can acquire long-term survival even after radical resection because of recurrence and metastasis after surgery. Therefore, surgery-based comprehensive management, including iodine-125 seed implantation, sustained release 5-fluorouracil, argon-helium cryosurgery, radiofrequency ablation, immunotherapy, and regional intra-arterial infusion chemotherapy, may improve the survival and life quality of pancreatic cancer patients.

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

**Key Words:** Pancreatic cancer; Iodine-125 seed implantation; Sustained release 5-fluorouracil; Argon-helium cryosurgery; Radiofrequency ablation; Immunotherapy; Regional intra-arterial infusion chemotherapy

Sun CY, Zhu HT. Comprehensive surgical management of pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 159-163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/159.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.159>

## 摘要

胰腺癌是一种预后很差的恶性肿瘤. 以外科为主的综合治疗是目前可能让胰腺癌患者获得长期生存的唯一手段. 根治性切除是胰腺癌患者的首选治疗方式, 但因为仅不到20%的胰腺癌患者有根治性切除的手术机会, 此外, 由于术后转移复发等因素, 根治术后也仅有少数患者能获得长期生存. 因此, 包括I<sup>125</sup>粒子植入术、术中植入5-氟尿嘧啶缓释剂、氩氦刀超导治疗、射频治疗、免疫治疗、区域性动脉灌注介入治疗等以外科为基础的综合治疗可以延长胰腺癌患者的生存时间, 改善其生存质量.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胰腺癌; I<sup>125</sup>粒子植入术; 5-氟尿嘧啶缓释剂; 氩氦刀; 射频治疗; 免疫治疗; 区域性动脉灌注介入治疗

**核心提示:** 外科手术是目前胰腺癌患者获得长期生存的唯一手段, 但是仅仅依靠手术只有很少的胰腺癌患者能获得长期生存. 而以外科手术为基础的综合治疗则是改善胰腺癌疗效努力的方向.

孙诚谊, 朱海涛. 胰腺癌的外科综合治疗. *世界华人消化杂志* 2014; 22(2): 159-163 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/159.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.159>

## 0 引言

胰腺癌是恶性程度最高的恶性肿瘤之一, 由于其易于发生局部侵犯及远处的转移和对放疗、化疗等不敏感, 所以胰腺癌预后很差, 胰腺癌患

## ■背景资料

胰腺癌是恶性程度最高的恶性肿瘤之一. 根治性切除是目前胰腺癌患者可能获得长期生存的唯一手段, 但仅不到20%的胰腺癌患者有进行根治性手术的机会, 而且由于肿瘤易于转移复发等, 很多胰腺癌患者即使根治术后也不能获得长期生存. 因此, 以外科手术为基础的综合治疗是目前改善胰腺癌疗效努力的方向.

## ■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科)

## ■ 研发前沿

根治性切除是目前胰腺癌患者可能获得长期生存的唯一手段,但由于胰腺癌切除率低、术后易于出现转移复发等,大多数胰腺癌患者的疗效并不佳。而在术前采用区域性动脉灌注介入治疗等提高肿瘤的切除率,以及在外科手术基础上结合免疫治疗等延缓转移复发的发生会成为改善胰腺癌疗效的重要发展方向。

## ■ 相关报道

Davis等通过对1995-2010年的文献回顾发现局部化疗可能通过使不可切除的胰腺癌降期为可切除的胰腺癌从而改善患者的生存。

者的5年生存率低于5%,确诊后的中位生存时间只有6 mo<sup>[1]</sup>。以手术为主的综合治疗是目前可能让胰腺癌患者获得长期生存的唯一治疗手段。由于血管侵犯及转移等因素,仅不到20%的胰腺癌患者在确诊后有根治性切除的机会。但是即使是对于根治术后的胰腺癌患者来说,由于术后的复发和转移其5年生存率也很少超过20%<sup>[2]</sup>。而患者的生活质量也常常由于难以忍受的疼痛而降低。此外,有很多的胰腺癌患者在术中探查才发现肿瘤无法行根治性切除。因此,采用外科综合治疗应是目前改善胰腺癌患者疗效及提高生存质量的治疗选择。

## 1 胰腺癌根治术

外科手术切除结合辅助治疗是目前可切除胰腺癌患者的标准治疗模式。而对于处于可切除与不可切除临界状态的胰腺癌患者来说,在辅助治疗后再获得根治术的机会也是不错的治疗选择。已有前瞻性随机试验发现扩大根治术对于胰头癌来说并不比标准的胰十二指肠切除术更能改善患者的生存<sup>[3]</sup>。不同的是,胰腺体尾部癌的扩大手术则可以使患者得到更高的R0切除率和更好的生存。而腹腔镜技术在胰腺癌外科中也发展迅速,目前越来越多的胰腺体尾部切除手术在腹腔镜下完成。机器人辅助的胰腺癌外科手术也在很多大的医疗中心逐渐开展,由于该手术方式较传统的腹腔镜手术具有先天的器械等方面的优势,可以预见机器人辅助的胰腺癌外科手术将逐渐成为胰腺癌手术的一个重要选择。而对于腹腔镜手术及机器人辅助的外科手术在胰腺癌外科中的价值则需要进一步的研究来说明。

## 2 I<sup>125</sup>粒子植入术

通常来说,对于不能切除的恶性实体肿瘤而言,外部的放射治疗是治疗的选择之一,但是由于胰腺周围器官对放射治疗很敏感,而影响了外放疗作用于胰腺肿瘤的剂量<sup>[4]</sup>,从而使外部的放射治疗在胰腺癌中的应用受到了局限。间质内放射治疗(interstitial brachytherapy, IBT)由于能使局部放射剂量最大化,而对周围正常组织的放射影响很小,已经被用于治疗不能切除的胰腺癌<sup>[5]</sup>。I<sup>125</sup>粒子植入术作为间质内放射治疗的一种在胰腺癌治疗中的作用由于具有以下优势而越来越引起人们的重视:(1)一次治疗就能给予有效的放射剂量;(2)对肿瘤外组织的放射影

响小;(3)持续对肿瘤杀伤可达数周或数月;(4)可在B超或CT引导下经皮植入<sup>[6,7]</sup>。未予治疗的胰腺癌患者中位生存时间约为4 mo,而Zhongmin等<sup>[7]</sup>通过CT引导对31例不能切除的胰腺癌患者行I<sup>125</sup>粒子植入术,其中10例患者同时还用吉西他滨和5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)行化疗,所有31例患者的中位生存时间达10.31 mo。胰腺癌由于生长在腹膜后,且易于侵犯腹腔神经节所以会导致患者出现难以控制的疼痛。将近75%的胰腺癌患者在确诊时有疼痛症状,而超过90%的晚期患者有疼痛症状<sup>[8]</sup>。疼痛会严重影响胰腺癌患者的生活质量,到后期疼痛的治疗甚至会成为胰腺癌患者治疗的主要目标。I<sup>125</sup>粒子植入术不仅仅可用于杀伤胰腺癌细胞,他还可以用于缓解由胰腺癌所导致的疼痛。Wang等<sup>[9]</sup>通过B超引导将I<sup>125</sup>粒子植于23例不能切除胰腺癌患者腹腔神经节的周围,这些患者在I<sup>125</sup>粒子植入术后1 wk用吉西他滨进行化疗,I<sup>125</sup>粒子植入术后2 wk,患者疼痛缓解明显。我们自2005年以来针对术中探查发现不能切除的胰腺癌患者开展了术中I<sup>125</sup>粒子植入术共计63例,这些患者的中位生存时间为8.7 mo,且并无一例胰瘘发生。另外,在根治性切除肿瘤后我们也在6例病例局部种植了少量的I<sup>125</sup>粒子以延缓其复发,在这些病例中并未出现胰瘘、胆瘘、肠瘘等吻合口瘘并发症。术后随访发现其中位生存时间为19.1 mo。由此可见,对于不能切除的胰腺癌患者,无论采用经CT引导或术中行I<sup>125</sup>粒子植入术,不仅可能缓解患者疼痛,也可能延长其生存时间。而根治性切除肿瘤后局部行I<sup>125</sup>粒子植入可能也是一种可以尝试的治疗方法。

## 3 5-FU缓释剂

5-FU是对胰腺癌有效的少有化疗药物之一,但化疗药物的全身应用使局部药物浓度很难达到很高的水平,同时不良反应很大。5-FU缓释剂可以使局部达到相对较高的血药浓度,而不良反应也不如静脉给药大。自2008年以来,我们已经开展胰腺癌患者根治术后局部使用5-FU缓释剂延缓其复发(病例共计76例),以及不能切除患者局部使用5-FU缓释剂联合术后吉西他滨静脉给药治疗(病例共计124例)。在术后的随访中发现,前者1年无瘤生存率为53%,中位生存时间为20.4 mo,而后者患者的中位生存时间为7.3 mo。国内亦有研究报道术中在根治术后胰腺癌患者的腹腔内植入5-FU缓释剂可延缓胰腺癌患者术

后肿瘤的复发, 提高患者生活质量, 明显延长其生存时间<sup>[10]</sup>. 而对于术中发现不能切除者行局部的5-FU缓释剂植入也有研究认为可以延长患者的生存时间, 提高患者的生活质量, 且无明显的不良反应<sup>[11]</sup>. 由此可见, 5-FU缓释剂可能可以作为延缓胰腺癌根治术后复发及对术中发现无法切除胰腺癌的一种治疗.

#### 4 氩氦刀超导治疗

氩氦刀是一种通过微创超低温冷冻消融而杀灭肿瘤细胞的技术. 其治疗肿瘤的机制一般认为包括以下几个方面: (1)溶解效应: 靠近冷冻探头的区域冷冻速度很快, 可迅速在细胞内形成冰晶, 这可引起细胞膜破裂致肿瘤细胞死亡; (2)微血栓形成: 当靶区溶化后微小血管内血小板聚集及血流瘀滞形成冰晶和微血栓, 对于肿瘤及肿瘤周围病灶有明显治疗作用; (3)热池效应: 较粗血管中正常的血液仍在不停地流动, 所以不会损伤血管, 使靠近大血管的肿瘤根治成为可能; (4)凋亡效应: 在冷冻的周边地带, 低温不足以杀死肿瘤细胞, 但肿瘤细胞表达凋亡信号, 引起细胞凋亡; (5)抗肿瘤免疫作用: 冷冻坏死的肿瘤细胞可致敏树突状细胞, 激活T淋巴细胞, 刺激机体产生冷冻免疫抗体, 即超低温诱导的免疫反应, 同时具有增强残存的肿瘤细胞对化疗敏感性的作用. 氩氦刀已被发现在治疗原发性肝癌、非细胞细胞肺癌等多种实体肿瘤中有显著疗效<sup>[12,13]</sup>. Chiu等<sup>[14]</sup>通过对15例西藏小型猪的胰腺进行氩氦刀治疗实验后发现该治疗是安全有效的治疗方式. Chen等<sup>[15]</sup>也通过猪的动物实验证明对胰腺行冷冻治疗是安全的. 近年来, 越来越多的研究发现氩氦刀对于治疗不能切除的胰腺癌有一定的疗效. 易峰涛等报道对8例晚期胰腺癌患者行术中氩氦刀治疗, 结果发现术中氩氦刀治疗尽管不能明显延长晚期胰腺癌患者的平均生存期, 但能明显缓解患者的疼痛<sup>[16]</sup>. Tao等<sup>[17]</sup>通过回顾文献发现经术中氩氦刀治疗的胰腺癌患者术后最主要的并发症是胃排空延迟, 而胆瘘和胰瘘等并发症的发生率很低, 但所有并发症都是可以治愈的. 此外, 经过冷冻治疗后胰腺癌患者的疼痛缓解率可达66.7%-100%, 中位生存时间为13.4-16.0 mo<sup>[17]</sup>. 自2009年以来, 我们也使用八刀控制器的氩氦刀开展了不能切除胰腺癌患者的氩氦刀治疗6例, 术后并未出现胰瘘和胆瘘等并发症, 其中位生存时间为8.9 mo. 由此可见, 对于术中探查发现不能切除的胰腺

癌患者氩氦刀也是治疗的选择之一.

#### 5 射频消融治疗

射频治疗是一种基于热凝固和蛋白质变性的局部消融治疗. 射频治疗已经被广泛地应用于许多包括肝、肺、前列腺、肾脏、骨、乳腺、肾上腺及脾等器官不能切除的和转移的实体肿瘤的治疗中<sup>[18-25]</sup>. 因为胰腺癌手术切除率低, 所以术中探查发现肿瘤不能切除时, 射频治疗也可以是治疗的一个选择. 我们自2006年以来开展不能切除胰腺癌患者的术中射频联合术后吉西他滨治疗13例, 术后出现2例胰瘘, 通过引流及保守治疗后痊愈, 其中位生存时间为13.1 mo. 此外, Girelli等<sup>[26]</sup>也报道了对100例III期胰腺导管腺癌患者进行射频联合化疗治疗的研究, 结果发现24例患者出现腹部并发症, 其中15例与射频治疗有关. 这15例与射频治疗有关的并发症包括: 3例重症急性胰腺炎, 3例胰瘘, 4例门静脉血栓形成, 2例十二指肠穿透性溃疡, 2例腹腔积液和1例淋巴瘘. 术后30 d内死亡3例, 1例死于肝功能衰竭, 1例死于重症急性胰腺炎, 1例死于十二指肠出血. 经过上述治疗后, 这100例患者自诊断时起其总的中位生存时间为20 mo, 而疾病特异生存时间(disease-specific survival, DSS)为23 mo<sup>[26]</sup>. 射频治疗可能是术中探查发现不能切除胰腺癌的一个治疗选择.

#### 6 免疫治疗

目前的治疗手段对于胰腺癌的治疗效果欠佳, 这促使研究者对新的治疗手段进行研究, 这其中包括了免疫治疗. 目前, 免疫治疗已经逐渐成为了恶性肿瘤重要的治疗选择之一, 也可能成为治疗胰腺癌的一种治疗手段<sup>[27-30]</sup>. 对于胰腺癌的免疫治疗, 目前仍处于研究阶段, 并未在临床实践中大规模开展. 但仍有临床中应用免疫治疗胰腺癌的文献报道. Li等<sup>[31]</sup>报道了1例77岁女性胰腺癌患者, 行胰体尾加脾切除术, 但术后病理提示切缘阳性. 且在术后1 mo的随访中经腹部增强CT检查发现在手术区域出现了低密度结节, CA-199、CA-724及CEA均升高, 其中CA-199升高至1000 U/mL(参考值范围, 0-35 U/mL), 考虑为肿瘤复发. 给予患者CIK细胞治疗4次后该低密度结节几乎消失, CA-199、CA-724及CEA等肿瘤标志物也恢复至正常. 但在术后19 mo的随访中, 腹部增强CT检查发现该低密度结节再次出现, CA-199水平也再次升高至1000 U/mL<sup>[31]</sup>.

#### ■创新盘点

本文集中回顾了胰腺癌以外科手术为主, 结合区域性动脉灌注介入治疗、<sup>125</sup>I粒子植入等的主要治疗方式, 并结合我们多年来在胰腺癌治疗中所得到的随访数据以及相关文献, 认为以外科手术为基础的综合治疗是目前改善胰腺癌患者预后的努力方向.



## ■应用要点

胰腺癌手术切除率低,术前的区域性动脉灌注介入治疗有助于提高胰腺癌的切除率,从而可能延长这些患者的生存时间。术中若发现肿瘤不能切除,则可采用 $I^{125}$ 粒子植入、射频消融、氩氦刀超导治疗,而同时根治肿瘤后用5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil)缓释剂可能延缓肿瘤的复发。

该研究说明CIK免疫治疗可能对于进展期胰腺癌是一种有效的治疗手段,尤其是老年患者。虽然该研究报道的是免疫治疗晚期不能手术的胰腺癌患者,但由于胰腺癌组织血供并不丰富,所以相信随着免疫治疗的发展,对于根治术后患者免疫治疗抑制转移复发才是更有效的治疗方法。

## 7 区域性动脉灌注介入治疗

化疗是对胰腺癌有效的治疗手段之一,但是临床实践中发现肿瘤对于全身应用化疗药物有一定的耐药性。区域性动脉灌注介入治疗则能通过动脉灌注在靶器官区域达到化疗药物的高浓度,在提高化疗药物疗效的同时对患者身体其他器官的不良反应较小。目前研究发现对于某些术前评估为不能切除的胰腺癌行区域性动脉灌注介入治疗可使肿瘤降期,并最终达到根治性切除的目的<sup>[32]</sup>。此外,区域性动脉灌注介入治疗还可以使肿瘤与周围血管之间产生炎性间隙,利于手术操作。对不能切除的胰腺癌行区域性动脉灌注介入治疗可能可以抑制肿瘤的生长,从而延长患者的生存时间。而根治术后的区域性动脉灌注介入治疗则可能减少术后的复发和转移<sup>[33]</sup>。我院自1990年以来开展不能切除胰腺癌的区域性动脉灌注介入治疗共183例,其中3例在区域性动脉灌注介入治疗之后获得了行根治术的机会。区域性动脉灌注介入治疗作为胰腺癌的辅助治疗措施具有能使药物在局部达到高浓度的优势,随着胰腺癌化疗药物研究的进展,区域性动脉灌注介入治疗会在今后胰腺癌的治疗中发挥更重要的作用。

## 8 结论

胰腺癌是恶性程度最高,治疗效果最差的恶性肿瘤之一。由于其对放疗、化疗等治疗的不敏感,根治性切除是患者可能获得长期生存的唯一手段,但仅不到20%的胰腺癌患者有进行根治性手术的机会,而由于肿瘤易于转移复发等,很多胰腺癌患者即使根治术后也不能获得长期生存。由此可见,仅靠外科手术切除治疗胰腺癌是远远不够的。对于胰腺癌的治疗应是在外科基础之上的综合治疗。根治术是治疗胰腺癌的第一选择,而延缓术后的转移复发则是根治术后的主要治疗目标。目前看来,术中植入5-FU缓释剂、根治术后的区域性动脉灌注介入治疗有可能延缓胰腺癌根治术后的复发,但这些仍需进

一步验证。免疫治疗恶性肿瘤近年来进展很快,相信随着研究的发展,免疫治疗会是抑制胰腺癌根治术后转移复发的重要治疗手段之一。对于不能切除的胰腺癌患者来说,射频治疗、氩氦刀、 $I^{125}$ 粒子植入术、术中植入5-FU缓释剂、区域性动脉灌注介入治疗等都可能是治疗选择。具体治疗方法的选择当然首先受制于客观条件,但这些治疗方法之间疗效的差异尚有待进一步对比研究,这些治疗方法的疗效还需要进一步进行多中心、大样本的随机对照实验进一步明确其疗效。对于不能切除的胰腺癌患者来说,缓解疼痛,提高生活质量和延长患者的寿命一样重要,而外科综合治疗不仅能治疗肿瘤本身,也可以缓解疼痛,所以胰腺癌的外科综合治疗是目前改善胰腺癌疗效的努力方向。

## 9 参考文献

- 1 Krejs GJ. Pancreatic cancer: epidemiology and risk factors. *Dig Dis* 2010; 28: 355-358 [PMID: 20814212 DOI: 10.1159/000319414]
- 2 Stathis A, Moore MJ. Advanced pancreatic carcinoma: current treatment and future challenges. *Nat Rev Clin Oncol* 2010; 7: 163-172 [PMID: 20101258 DOI: 10.1038/nrclinonc.2009.236]
- 3 Farnell MB, Pearson RK, Sarr MG, DiMagno EP, Burgart LJ, Dahl TR, Foster N, Sargent DJ. A prospective randomized trial comparing standard pancreatoduodenectomy with pancreatoduodenectomy with extended lymphadenectomy in resectable pancreatic head adenocarcinoma. *Surgery* 2005; 138: 618-628; discussion 628-630 [PMID: 16269290 DOI: 10.1016/j.surg.2005.06.044]
- 4 Minsky BD, Hilaris B, Fuks Z. The role of radiation therapy in the control of pain from pancreatic carcinoma. *J Pain Symptom Manage* 1988; 3: 199-205 [PMID: 2461422 DOI: 10.1016/0885-3924(88)90031-0]
- 5 Montemaggi P, Dobelbower R, Crucitti F, Caracciolo F, Morganti AG, Smaniotto D, Luzi S, Cellini N. Interstitial brachytherapy for pancreatic cancer: report of seven cases treated with  $^{125}I$  and a review of the literature. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 1991; 21: 451-457 [PMID: 2061121 DOI: 10.1016/0360-3016(91)90795-6]
- 6 Wang J, Jiang Y, Li J, Tian S, Ran W, Xiu D. Intraoperative ultrasound-guided iodine-125 seed implantation for unresectable pancreatic carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2009; 28: 88 [PMID: 19545454 DOI: 10.1186/1756-9966-28-88]
- 7 Zhongmin W, Yu L, Fenju L, Kemin C, Gang H. Clinical efficacy of CT-guided iodine-125 seed implantation therapy in patients with advanced pancreatic cancer. *Eur Radiol* 2010; 20: 1786-1791 [PMID: 20069424 DOI: 10.1007/s00330-009-1703-0]
- 8 Grahm AL, Andrén-Sandberg A. Prospective evaluation of pain in exocrine pancreatic cancer. *Digestion* 1997; 58: 542-549 [PMID: 9438600 DOI: 10.1159/000201499]
- 9 Wang KX, Jin ZD, Du YQ, Zhan XB, Zou DW, Liu Y, Wang D, Chen J, Xu C, Li ZS. EUS-guided celiac

- ganglion irradiation with iodine-125 seeds for pain control in pancreatic carcinoma: a prospective pilot study. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 945-952 [PMID: 22841501 DOI: 10.1016/j.gie.2012.05.032]
- 10 苑占娜, 盛俊, 李莎莎, 郝继辉. 5-氟尿嘧啶缓释剂在胰腺癌根治性切除术中植入疗效的研究. *山东医药* 2012; 52: 1-3
  - 11 王成锋, 赵平, 单毅, 赵东兵, 田艳涛, 白晓枫, 孙跃民, 车旭, 曲辉. 5-氟尿嘧啶缓释剂植入治疗局部进展期胰腺癌. *中华肿瘤杂志* 2010; 32: 706-708
  - 12 Yang Y, Wang C, Lu Y, Bai W, An L, Qu J, Gao X, Chen Y, Zhou L, Wu Y, Feng Y, Zhang M, Chang X, Lv J. Outcomes of ultrasound-guided percutaneous argon-helium cryoablation of hepatocellular carcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 674-684 [PMID: 22187145 DOI: 10.1007/s00534-011-0490-6]
  - 13 Hu KW, Li QW, Zuo MH, Sun T, Jiang M. Clinical observation on the combined treatment of 57 cases of non-small cell lung cancer using argon-helium cryosurgery and Chinese herbal medicine. *Chin J Integr Med* 2007; 13: 224-227 [PMID: 17898956]
  - 14 Chiu D, Niu L, Mu F, Peng X, Zhou L, Li H, Li R, Ni J, Jiang N, Hu Y, Hao Z, Xu K. The experimental study for efficacy and safety of pancreatic cryosurgery. *Cryobiology* 2010; 60: 281-286 [PMID: 20152824 DOI: 10.1016/j.cryobiol.2010.01.006]
  - 15 Chen XL, Ma Y, Wan Y, Duan LG. Experimental study of the safety of pancreas cryosurgery: the comparison of 2 different techniques of cryosurgery. *Pancreas* 2010; 39: 92-96 [PMID: 19952969 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181b5dd41a]
  - 16 易峰涛, 宋华志, 李静. 术中氩氦刀治疗晚期胰腺癌. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 186-187
  - 17 Tao Z, Tang Y, Li B, Yuan Z, Liu FH. Safety and effectiveness of cryosurgery on advanced pancreatic cancer: a systematic review. *Pancreas* 2012; 41: 809-811 [PMID: 22695092 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318243a503]
  - 18 Lencioni R, Crocetti L. A critical appraisal of the literature on local ablative therapies for hepatocellular carcinoma. *Clin Liver Dis* 2005; 9: 301-314, viii [PMID: 15831275 DOI: 10.1016/j.cld.2004.12.002]
  - 19 Simon CJ, Dupuy DE. Current role of image-guided ablative therapies in lung cancer. *Expert Rev Anticancer Ther* 2005; 5: 657-666 [PMID: 16111466 DOI: 10.1586/14737140.5.4.657]
  - 20 Boss A, Clasen S, Kuczyk M, Anastasiadis A, Schmidt D, Graf H, Schick F, Claussen CD, Pereira PL. Magnetic resonance-guided percutaneous radiofrequency ablation of renal cell carcinomas: a pilot clinical study. *Invest Radiol* 2005; 40: 583-590 [PMID: 16118551 DOI: 10.1097/01.rli.0000174473.32130.28]
  - 21 Shariat SF, Raptidis G, Masatoschi M, Bergamaschi F, Slawin KM. Pilot study of radiofrequency interstitial tumor ablation (RITA) for the treatment of radio-recurrent prostate cancer. *Prostate* 2005; 65: 260-267 [PMID: 16015591 DOI: 10.1002/pros.20242]
  - 22 Noguchi M. Minimally invasive surgery for small breast cancer. *J Surg Oncol* 2003; 84: 94-101; discussion 102 [PMID: 14502783 DOI: 10.1002/jso.10292]
  - 23 Martel J, Bueno A, Ortiz E. Percutaneous radiofrequency treatment of osteoid osteoma using cool-tip electrodes. *Eur J Radiol* 2005; 56: 403-408 [PMID: 15964164 DOI: 10.1016/j.ejrad.2005.05.014]
  - 24 Gananadha S, Wulf S, Morris DL. Safety and efficacy of radiofrequency ablation of brain: a potentially minimally invasive treatment for brain tumours. *Minim Invasive Neurosurg* 2004; 47: 325-328 [PMID: 15674746 DOI: 10.1055/s-2004-830124]
  - 25 Miličević M, Bulajić P, Zuvella M, Raznatović Z, Obradović V, Lekić N, Palibrk I, Basarić D. [Elective resection of the spleen--overview of resection techniques and description of a new technic based on radiofrequency coagulation and dessication]. *Acta Chir Jugosl* 2002; 49: 19-24 [PMID: 12587443]
  - 26 Girelli R, Frigerio I, Giardino A, Regi P, Gobbo S, Malleo G, Salvia R, Bassi C. Results of 100 pancreatic radiofrequency ablations in the context of a multimodal strategy for stage III ductal adenocarcinoma. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 63-69 [PMID: 23053459 DOI: 10.1007/s00423-012-1011-z]
  - 27 Dougan M, Dranoff G. Immune therapy for cancer. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 83-117 [PMID: 19007331 DOI: 10.1146/annurev.immunol.021908.132544]
  - 28 Hontscha C, Borck Y, Zhou H, Messmer D, Schmidt-Wolf IG. Clinical trials on CIK cells: first report of the international registry on CIK cells (IRCC). *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 305-310 [PMID: 20407789 DOI: 10.1007/s00432-010-0887-7]
  - 29 Schwaab T, Schwarzer A, Wolf B, Crocenzi TS, Seigne JD, Crosby NA, Cole BF, Fisher JL, Uhlenhake JC, Mellinger D, Foster C, Szczepiorkowski ZM, Webber SM, Schned AR, Harris RD, Barth RJ, Heaney JA, Noelle RJ, Ernstoff MS. Clinical and immunologic effects of intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccine with Aldesleukin (Interleukin 2) and IFN- $\alpha$ 2a therapy in metastatic renal cell carcinoma patients. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 4986-4992 [PMID: 19622576 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3240]
  - 30 Liu L, Zhang W, Qi X, Li H, Yu J, Wei S, Hao X, Ren X. Randomized study of autologous cytokine-induced killer cell immunotherapy in metastatic renal carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 1751-1759 [PMID: 22275504 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2442]
  - 31 Li W, Xu LP, Di Zhao L, Wang L, Zhang Y, Gao QL, Mai L. Cytokine-induced killer cell therapy for advanced pancreatic adenocarcinoma: A case report and review of the literature. *Oncol Lett* 2013; 5: 1427-1429 [PMID: 23599807]
  - 32 Davis JL, Pandalai PK, Ripley RT, Langan RC, Avital I. Expanding surgical treatment of pancreatic cancer: the role of regional chemotherapy. *Pancreas* 2012; 41: 678-684 [PMID: 22695088 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318249955a]
  - 33 Jin C, Yao L, Long J, Fu DL, Yu XJ, Xu J, Yang F, Ni QX. Effect of multiple-phase regional intra-arterial infusion chemotherapy on patients with resectable pancreatic head adenocarcinoma. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 284-290 [PMID: 19236805]

# 同行评价

本文对胰腺癌的临床诊治有一定的指导作用。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 前列腺素E1对肝动脉栓塞后肝纤维化进展的防治

陈宝祥, 曹海利, 郭若涵, 金书强, 白彬

## ■背景资料

肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已经成为治疗中晚期肝癌的重要方法,但是随着介入次数的增加,栓塞剂和化疗药物不可避免的进入非肿瘤区,导致原有的肝纤维化和肝硬化加重,而相关的预防研究措施较少。我们选用家兔作为建立肝纤维化动物模型并模拟TACE术,术中加入前列腺素E1(prostaglandin E1, PGE1)来预防TACE术后肝纤维化和肝硬化的进展,对于介入术后肝损伤的防治研究具有十分重要的意义。

陈宝祥, 曹海利, 金书强, 白彬, 哈尔滨医科大学附属第二医院介入科 黑龙江省哈尔滨市 150086  
郭若涵, 大庆市第四医院超声科, 黑龙江省大庆市 163712  
陈宝祥, 在读硕士, 主要从事肿瘤及血管介入的研究。  
黑龙江省自然科学基金资助项目, No. D201270  
作者贡献分布: 此课题由曹海利与白彬设计; 研究过程由曹海利、陈宝祥、郭若涵及金书强操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由白彬提供; 数据分析由陈宝祥与曹海利完成; 本论文写作由陈宝祥完成。  
通讯作者: 白彬, 教授, 主任医师, 150086, 黑龙江省哈尔滨市南岗区学府路246号, 哈尔滨医科大学附属第二医院介入科。baibin1962@163.com  
电话: 0451-86297433  
收稿日期: 2013-10-20 修回日期: 2013-11-23  
接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Prostaglandin E1 for prevention and treatment of liver fibrosis progression after hepatic arterial embolization in a rabbit model

Bao-Xiang Chen, Hai-Li Cao, Ruo-Han Guo, Shu-Qiang Jin, Bin Bai

Bao-Xiang Chen, Hai-Li Cao, Shu-Qiang Jin, Bin Bai, Department of Interventional Radiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China

Ruo-Han Guo, Department of Ultrasound, the Fourth Daqing Municipal Hospital, Daqing 163712, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Nature Science Foundation of Heilongjiang Province, No. D201270

Correspondence to: Bin Bai, Professor, Chief Physician, Department of Interventional Radiology, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 246 Xuefu Road, Nangang District, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. baibin1962@163.com

Received: 2013-10-20 Revised: 2013-11-23

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate whether prostaglandin E1 (PGE1) has preventive and therapeutic effects on liver fibrosis progression after transcatheter hepatic arterial embolization in a rabbit model.

**METHODS:** Thirty rabbits were used to induce liver fibrosis with carbon tetrachloride (CCl<sub>4</sub>), and transcatheter right hepatic arterial embolization was performed. The rabbits were divided into three groups randomly (groups A, B and C) and

infused with 1 mL of 0.9% saline, 1 mL of lipiodol and 1 mL of lipiodol plus 0.2 mL of PGE1 via the right hepatic artery, respectively. Serum levels of hyaluronic acid (HA), laminin (LN), procollagen III (PCIII), and collagen IV (IV-C) on postoperative days 2, 4, 6 and 8 were measured, and the animals were killed on postoperative day 8 to detect pathological changes in liver tissues.

**RESULTS:** Liver fibrosis was successfully induced in rabbits, and addition of PGE1 in hepatic arterial embolization significantly reduced serum levels of HA, LN, PCIII and IV-C, and alleviated hepatic histological abnormalities.

**CONCLUSION:** PGE1 can prevent liver fibrosis progression in rabbits after transcatheter hepatic arterial embolization with lipiodol.

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

**Key Words:** Liver fibrosis; Animal model; Hepatic arterial embolization; Prostaglandin E1; Therapeutic

Chen BX, Cao HL, Guo RH, Jin SQ, Bai B. Prostaglandin E1 for prevention and treatment of liver fibrosis progression after hepatic arterial embolization in a rabbit model. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 164-170  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/164.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.164>

## 摘要

**目的:** 探讨前列腺素E1(prostaglandin E1, PGE1)在家兔肝纤维化模型基础上行肝动脉栓塞后肝纤维化进展的防治。

**方法:** 选取四氯化碳(CCl<sub>4</sub>)肝纤维化动物模型家兔30只, 模拟肝癌行肝右动脉碘化油栓塞, 随机分为3组: A组经导管向肝右动脉注入生理盐水1 mL; B组经导管向肝右动脉注入碘化油1 mL; C组经导管向肝右动脉注入碘化油1 mL+PGE1 0.2 mL, 术后第2、4、6、8天抽取静脉血行肝纤维化血清学检测, 术后第8天处死动物行肝组织病理学检测。

**结果:** 建立家兔肝纤维化模型, 行肝动脉栓

## ■同行评议者

李涛, 副主任医师, 北京大学人民医院肝胆外科



塞术中加入PGE1显著降低血清学透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原(procollagen Ⅲ, PCⅢ)及Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, Ⅳ-C)水平及减轻肝组织病理学损伤。

**结论:** PGE1对肝纤维化肝动脉碘化油栓塞术后肝纤维化进展具有保护作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝纤维化; 动物模型; 肝动脉栓塞; 前列腺素; 治疗性

**核心提示:** 成功建立CCl<sub>4</sub>家兔肝纤维化动物模型并模拟肝癌行肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization), 术中加用前列腺素E1(prostaglandin E1, PGE1), 根据血清学、病理学结果显示, PGE1能显著降低血清透明质酸、层粘连蛋白Ⅳ型胶原、Ⅲ型前胶原水平及减轻肝组织病理损伤。因此PGE1对肝纤维化肝动脉碘化油栓塞术后肝纤维化进展具有保护作用。

陈宝祥, 曹海利, 郭若涵, 金书强, 白彬. 前列腺素E1对肝动脉栓塞后肝纤维化进展的防治. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 164-170 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/164.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.164>

## 0 引言

肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已经成为治疗中晚期肝癌的重要治疗方法, 但随着介入治疗次数增加, 不可避免发生栓塞剂和化疗药物进入非肿瘤区, 栓塞正常区血管, 阻断血液供应, 引起或加重肝损伤, 导致肝纤维化和肝硬化进一步发展<sup>[1-3]</sup>。而有关TACE术后肝纤维化、肝硬化进展机制及预防措施研究较少。近些年研究发现<sup>[4-8]</sup>, 肝纤维化是可逆的, 若能得到及时的治疗, 便可以阻止向肝硬化的发展。本课题拟通过建立家兔肝纤维化模型基础上模拟TACE术, 在术中加入前列腺素E1(prostaglandin E1, PGE1)进行干预, 观察血清肝纤维化指标和病理的变化, 探讨肝癌TACE术后预防肝纤维化进展的有效治疗措施。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取健康新西兰大白兔, 体质量2.5-3.0 kg, 5月龄, 由哈尔滨医科大学附属第二医院动物实验中心提供。CCl<sub>4</sub>购自海建信化工有限公司试剂厂; 前列地尔注射液(PGE1, 凯时)(2 mL: 10 μg)(北京泰德制药股份有限公司); 碘比醇注射液

(30 gI/100 mL, 法国GuerI); 超液化碘化油(10 mL/支, 法国加柏公司); 血清学四项指标透明质酸(hyaluronic acid, HA)、层粘连蛋白(laminin, LN)、Ⅲ型前胶原(procollagen Ⅲ, PCⅢ)及Ⅳ型胶原(collagen Ⅳ, Ⅳ-C)ELISA试剂盒(上海沪宇生物科技有限公司); 微导管(2.6 F, 日本ASAJ); 微导丝(日本泰尔茂公司); 血管造影机(digital subtraction angiography, DSA)数字减影机(Siemens Angiostr-100 mA)(德国)。

### 1.2 方法

**1.2.1 手术:** 选取肝功能正常家兔, 随机分为对照组10只和模型组40只; 模型组给予背部皮下注射40%CCl<sub>4</sub>橄榄油溶液, 对照组注射等量生理盐水。共计16 wk, 剂量从0.2 mL/kg逐渐增加到1.5 mL/kg, 分别于造模前及造模第4、8、12、16周随机处死1只家兔, 留取肝组织行病理学检查。造模结束后模型组家兔存活30只, 造模期处死5只, 死亡5只, 死亡原因主要为急性肝坏死或对药物的耐受性差<sup>[9]</sup>; 对照组家兔全部存活。将模型建立成功的30只家兔随机分为A、B、C 3组, 每组各10只。采用速眠新II 0.2 mL/kg, 肌肉注射麻醉, 仰卧位固定于介入DSA上, 腹股沟区备皮, 常规消毒, 铺单, 无菌操作逐层切开, 暴露并分离股动脉长约2-3 cm, 用5 mL注射器针头为穿刺针穿刺股动脉, 见鲜血喷出, 沿穿刺针送入微导丝、2.6 F微导管进入股动脉, 将导管头置于胸12、腰1椎体附近造影。在DSA“路图”下导管经腹主动脉、腹腔动脉、胃肝动脉超选择进入肝右动脉<sup>[10]</sup>, 再次造影观察肝右动脉位置及其分支走行。在DSA透视下向导管分别推注如下药物: A组生理盐水1 mL; B组碘化油1 mL; C组碘化油1 mL+PGE1 0.2 mL。推注完毕, 重复造影见肝右动脉及其分支未见显影, 退出导管, 局部止血缝合切口, 术后肌注青霉素, 预防感染。

**1.2.2 肝纤维化指标检测:** 造模期16 wk内每2 wk抽血1次, 介入栓塞术后第2、4、6、8天各抽血1次, 每次抽取耳缘静脉血4 mL, 抽血前家兔禁食6 h、不禁水, 送至哈尔滨医科大学附属第二医院检验科。采集的血液以3500 r/min的速度离心10 min, 将上层血清平均分为2份, 贴上标签, 放入-80 °C冰箱中保存。等所有血标本集齐后检测HA、LN、PCⅢ及Ⅳ-C四项指标血清水平。

**1.2.3 动物处死情况、标本病理学检查:** 术后第8天末次采血后采用耳缘静脉空气栓塞法处死全部存活的家兔, 剖取肝脏。于肝右叶相同部位取样, 40 g/L甲醛溶液浸泡固定。常规固定24-48 h

### ■ 研究前沿

随着介入诊疗技术的不断发展, 寻求有效的药物治疗来预防TACE术后纤维化及硬化的进展, 以及选取适合的实验动物肝纤维化模型并在此模型上行TACE术显得尤其重要, 而这方面相关详细的研究报道较少, 不能满足当前实验研究的需要。

### ■相关报道

家兔与人类肝脏都是脂类代谢,肝纤维化发表机制相似,其肝脏体积和血容量都是行TACE术实验动物模型中最优的选择。经股动脉插管技术较直视下外科手术肝动脉插管容易,国外报道经股动脉引入4 F导管鞘,再经鞘管引入2.5 F微导管能够超选进入肝脏肿瘤供血动脉。而PGE1在介入术后12 h通过调节细胞周期蛋白及基因方面能有效的预防碘化油和化疗药物对肝脏造成的肝衰竭。

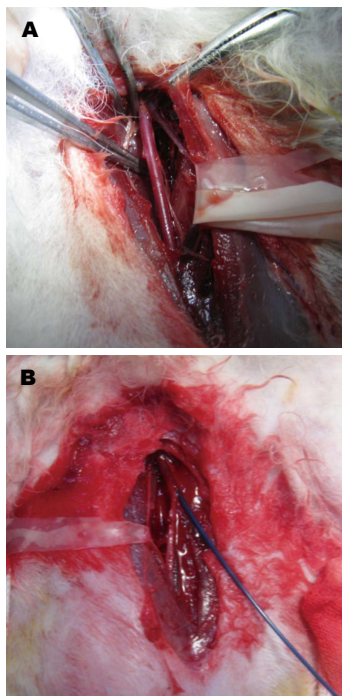


图1 手术图。A: 分离暴露股动脉; B: 穿刺并将导管顺利送入股动脉。

后行病理取材,取材大小约为1.5 cm×1.5 cm×0.5 cm,脱水,石蜡包埋,切片采用苏木精-伊红染色(HE)和胶原纤维染色(Masson)作肝脏病理组织学检查。光镜下观察肝细胞变性、坏死、炎症反应程度以及胶原增生情况。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计软件包。计量资料采用mean±SD表示,进行单因素方差分析及LSD检验,计数资料组间比较采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 家兔手术及术后情况** 3组家兔均一次性穿刺右侧股动脉成功(图1),均超选择进入肝右动脉(图2);术中因麻醉意外和失血过多B、C组各死亡一只,A组全部存活;术后至第8天采血完毕3组家兔均存活,无死亡。

**2.2 血清学结果** 在造模期间肝纤维化四项指标血清含量随着肝纤维化程度加重均逐渐上升;行TACE术中加入PGE1后,HA、LN、PCIII、IV-C四项指标血清含量均降低(图3)。

### 2.3 病理学

**2.3.1 大体观察及肝纤维化分期:** 对照组肝脏呈鲜红色,质地柔软,有光泽。模型组随着肝纤维化程度逐渐加重,肝脏呈灰褐色、灰白色;质韧;无光泽;体积增大、被膜肿胀;边缘圆钝。各组肝纤维化分期,按照分期评判标准<sup>[1]</sup>,A组: S2

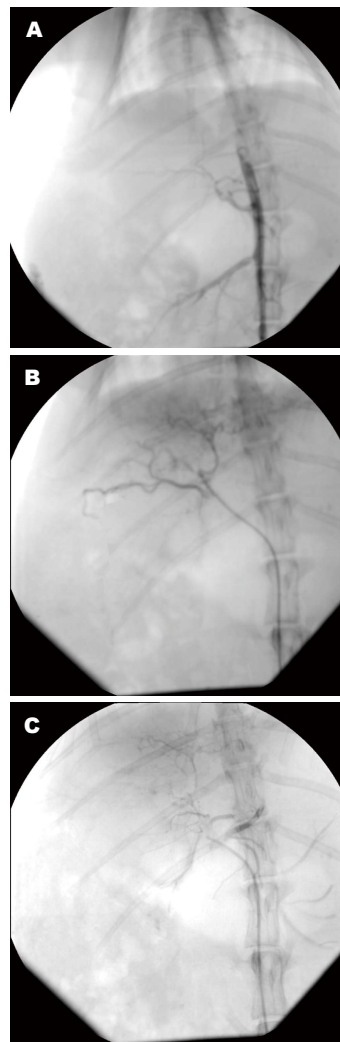


图2 家兔肝右动脉栓塞前、后DSA图像。A: 栓塞前,造影了解腹主动脉、腹腔动脉位置及走行; B: 栓塞前,造影了解胃肝动脉、肝动脉及分支走行; C: 栓塞后,造影证实肝右动脉及其分支未见显影。

期7例,占70.0%, S3期3例,占30.0%; B组: S2期2例,占22.2%, S3期7例,占77.8%; C组: S2期6例,占66.7%, S3期3例,占33.3%; 对照组: S0期9例, S1期1例。C组与B组比较S3期肝纤维化率降低( $P<0.05$ ),与A组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**2.3.2 HE染色:** 对照组肝小叶结构形态正常,肝细胞大小一致,围绕中央静脉呈放射状排列(图4A);模型组16 wk时,随给药时间延长、浓度增大,肝细胞脂肪变性、坏死、汇管区炎症细胞浸润逐渐加重,肝小叶结构破坏,周围细胞可见透亮脂滴,肝纤维化形成(图4B)。介入术后, A组肝细胞变性坏死明显,排列紊乱,肝小叶结构破坏,坏死区周围见炎症细胞浸润和纤维组织增生,纤维间隔形成(图4C); B组大片肝细胞变性坏死,坏死区周围见炎症细胞浸润和纤维组织增

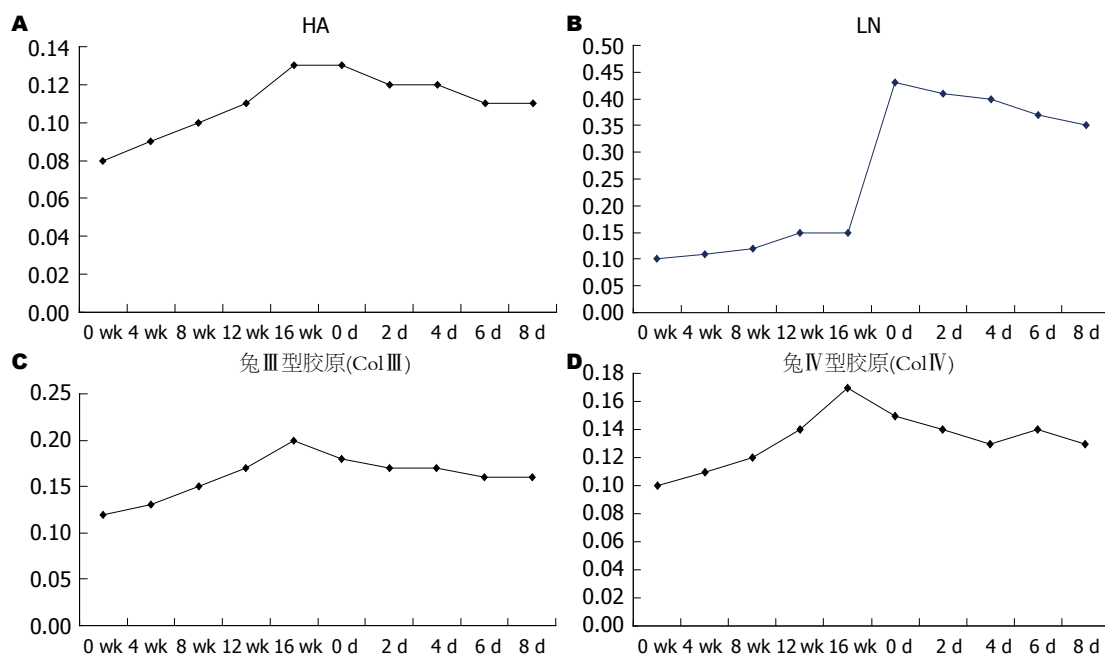


图3 HA、LN、PCⅢ、Ⅳ-C 4项指标血清含量与肝纤维化程度的关系. A: HA; B: LN; C: PCⅢ; D: Ⅳ-C在造模期间血清含量均随肝纤维化程度加重而逐渐上升, 行TACE术中加PGE1后4项指标血清含量均降低. HA: 透明质酸; LN: 层粘连蛋白; PCⅢ: Ⅲ型前胶原; Ⅳ-C: Ⅳ型胶原.

#### ■创新盘点

本实验选择PGE1作为TACE术后抗纤维化进展的药物. 股动脉穿刺方法用5 mL注射器针头为穿刺针, 用2.6 F微导管利用导丝导管配合超选至肝右动脉行碘化油栓塞, 在肝纤维化家兔模型上成功复制TACE术这一过程, 实验证实PGE1能明显发挥TACE术后抗纤维化和硬化的作用. 此实验完成过程中获得的经验本文都做了详细的阐述, 对于在家兔身上进行肝动脉插管及选择药物控制TACE术后纤维化和硬化进展的实验研究人员来说提供了一个有价值的参考.

生进一步加重, 并向小叶内伸展(图4D); C组肝细胞水肿、空泡样变性伴少量点灶状坏死, 汇管区少量炎细胞浸润(图4E).

**2.3.3 Masson染色:** 对照组汇管区有极少量胶原纤维存在, 肝小叶间未见纤维组织增生(图5A); 模型组16 wk时大量的胶原纤维存在, 纤维组织增生, 形成纤维间隔交织成网分布并包绕肝小叶(图5B). 介入术后, A组汇管区出现大量胶原纤维, 纤维组织增生形成纤维间隔分割包绕肝小叶, 肝小叶结构被破坏(图5C); B组大量纤维增生, 粗大的纤维间隔分布, 并向小叶内伸展, 可见假小叶形成(图5D); C组少量的胶原纤维存在, 纤维组织增生及纤维间隔形成减少, 肝小叶结构破坏程度减轻, 坏死肝细胞及炎性细胞减少(图5E).

### 3 讨论

选用家兔作为建立肝纤维化动物模型, 因其肝脏代谢方式与人类相同, 都是脂类代谢, 肝纤维化发病机制相似<sup>[12]</sup>; 家兔性情温顺、费用低廉, 肝脏体积大小适中、便于操作, 血容量相对较多, 作为中等动物模型能满足一般的化验、影像检查需要<sup>[13]</sup>, 更适用于介入治疗研究; 而其他动物如小鼠、大鼠存在肝脏体积较小, 血容量少、操作不便等<sup>[14,15]</sup>, 大型动物如犬、猪、狒狒等存在肝脏体积较大、价格昂贵、手术难以操控等众多缺点.

对于家兔肝脏选择何种DSA血管造影方法显得尤其重要, 兔肝动脉插管主要有两种方法: 一种是经股动脉超选至肝动脉插管法; 另一种是开腹直视下肝动脉插管法. 开腹直视下肝动脉插管法由于家兔肝动脉血管细小, 在插管操作过程中容易造成血管痉挛、闭塞, 甚至离断, 出血量多, 插管成功率低, 对正常肝脏血管的解剖及血运破坏较严重; 而经股动脉插管法在实际操作中相对简单、容易掌握、而且成功率较高, 适用于经肝动脉灌注药物或细胞悬液对肝脏进行研究<sup>[16]</sup>. 另外此方法术中血管和肝脏的创伤小, 术后能够保持完整的血管解剖位置及良好的肝脏血运状况, 当一侧股动脉因血管破坏严重不能进行穿刺插管操作时, 可选用对侧股动脉进行手术操作, 故被广泛采用. 江雄鹰等<sup>[17]</sup>实验证实肝左动脉插管较肝右动脉容易, 但我们为模拟人类肝癌好发于肝右叶, 并且在家兔模型上成功复制TACE术这一过程, 尽可能将导管插管至肝右动脉. Lee等<sup>[18]</sup>报道经股动脉引入4 F导管鞘, 再经鞘管引入2.5 F微导管, 经腹腔动脉能够超选择进入肿瘤供血动脉, 而我们采用2.6 F微导管直接插管至肝右动脉. 用5 mL注射器针头作为穿刺针穿刺暴露的股动脉, 沿针头引入微导丝, 再引入微导管, 利用导丝导管配合超选择至肝右动脉行碘化油栓塞, 操作时要求技术娴熟、尽量做到一次穿刺插管成功,



## ■应用要点

PGE1能有效的预防TACE术后纤维化和硬化进展,发挥抗纤维化作用.对于临床工作中肝癌介入治疗术后,有效地控制肝纤维化和肝硬化的进展提供一个可行的治疗方法.

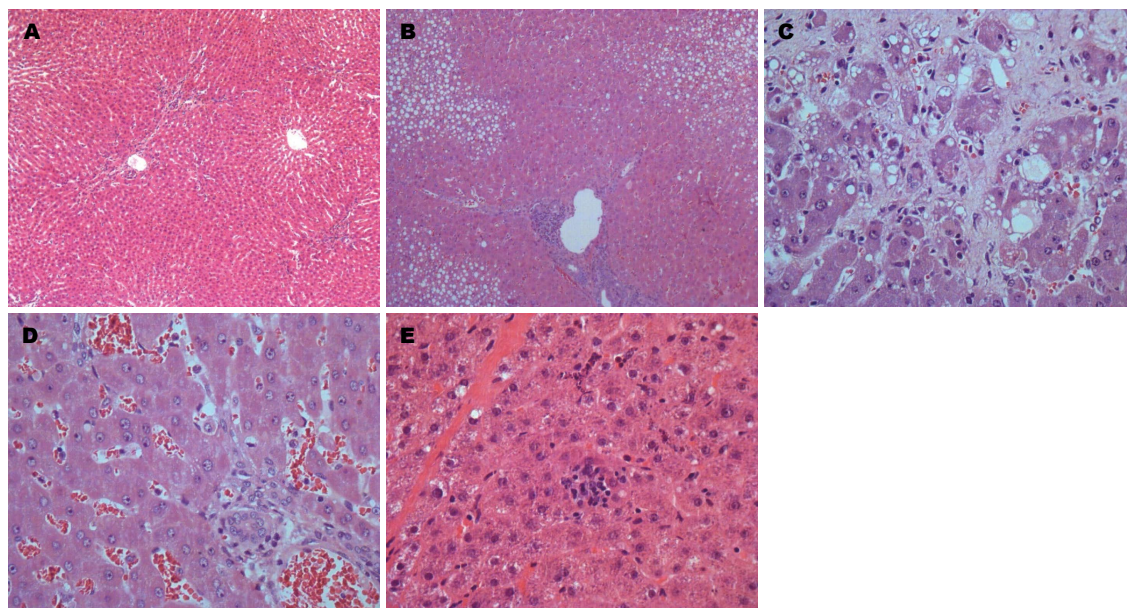


图4 家兔肝组织HE染色. A: 肝小叶结构形态正常, 肝细胞大小一致, 围绕中央静脉呈放射状排列( $\times 100$ ); B: 肝细胞脂肪变性、坏死、汇管区炎症细胞浸润, 肝小叶结构破坏, 周围细胞可见透亮脂滴( $\times 100$ ); C: 肝细胞变性坏死明显, 排列紊乱, 肝小叶结构破坏, 坏死区周围见炎症细胞浸润和纤维组织增生, 纤维间隔形成( $\times 400$ ); D: 肝细胞变性坏死明显, 坏死区周围见炎症细胞浸润和纤维组织增生加重, 向小叶内伸展( $\times 400$ ); E: 肝细胞水肿、空泡样变性伴少量点灶状坏死, 汇管区少量炎症细胞浸润( $\times 400$ ).

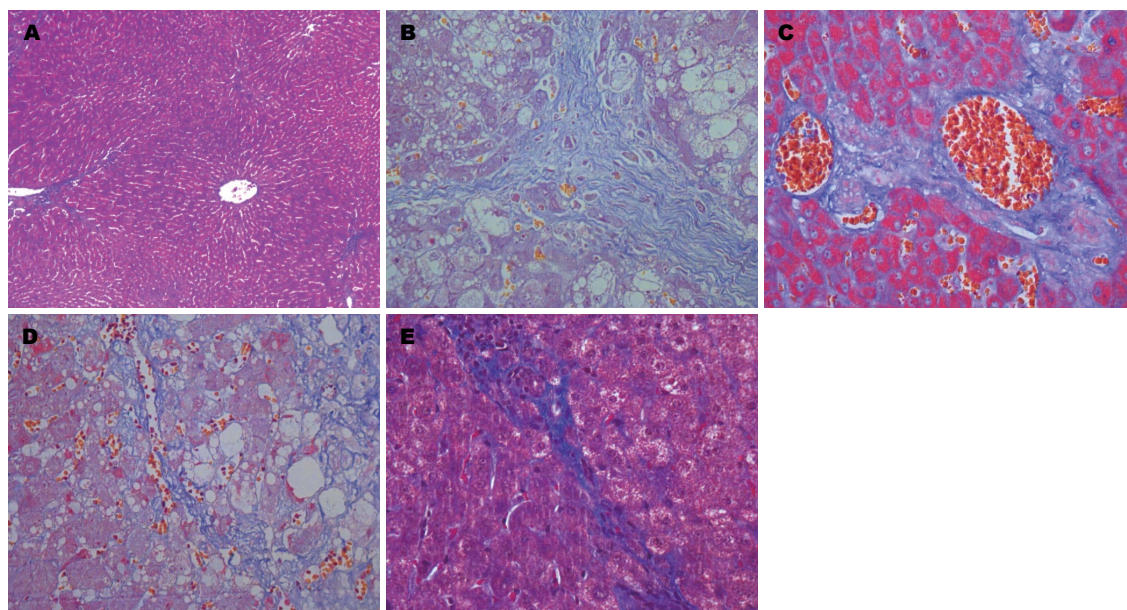


图5 家兔肝组织MASSON染色. A: 汇管区有极少量胶原纤维存在, 肝小叶间未见纤维组织增生( $\times 100$ ); B: 大量的胶原纤维存在, 纤维组织增生, 形成纤维间隔交织成网分布并包绕肝小叶( $\times 100$ ); C: 汇管区出现大量胶原纤维, 纤维组织增生形成纤维间隔分割包绕肝小叶, 肝小叶结构被破坏( $\times 400$ ); D: 大量纤维增生, 粗大的纤维间隔分布, 并向小叶内伸展, 可见假小叶形成( $\times 400$ ); E: 少量的胶原纤维存在, 纤维组织增生及纤维间隔形成减少, 肝小叶结构破坏程度减轻, 坏死肝细胞及炎症细胞减少( $\times 400$ ).

将对血管的损伤程度减少到最低. 超选困难时, 将微导管头端塑形、改变其原始形状等办法, 均成功超选到位进行肝右动脉碘油栓塞, 最终在家兔肝纤维化模型基础上成功复制TACE术这一过程, 本实验采用栓塞肝右动脉, 目的是防

止大面积肝坏死和肝功能衰竭, 降低死亡率.

研究发现PGE1具有抑制免疫反应、防止肝细胞坏死、减少肝细胞变性、促进肝细胞再生、改善肝脏微循环等保肝、抗纤维化作用<sup>[19-24]</sup>. 而HA、LN、PCIII、IV-C在肝纤维形成过程中

又是重要的生物标志物<sup>[25,26]</sup>, 这四项指标在血清中的浓度变化, 直接反应肝纤维化的严重程度, 同时也是检测肝纤维化程度的重要血液学指标。从实验的结果显示来看, 在造模期间肝纤维化四项指标HA、LN、PCIII、IV-C血清含量均随着肝纤维化程度加重而逐渐上升, 行TACE术中加入PGE1后, HA、LN、PCIII、IV-C四项指标血清含量均随肝纤维化程度减轻而逐渐降低。从病理学HE和MASSON染色结果来看, 行TACE术中加入PGE1干预后C组与B组比较, 肝细胞水肿和肝细胞坏死减少, 仅有少量空泡样变性及点灶状坏死, 坏死区周围炎症细胞浸润减轻, 少量的胶原纤维存在, 纤维组织增生及纤维间隔形成明显减少, 肝小叶结构破坏程度减轻。并且C组与B组比较S3期肝纤维化率明显降低( $P<0.05$ )。以上说明PGE1对TACE术后肝纤维化进展起到了抗纤维化的作用。TACE术中碘化油与PGE1的联合应用, 一方面碘化油不仅栓塞肿瘤供血动脉, 还不可避免的栓塞正常的肝组织, 从而加重肝纤维程度, 甚至造成大量肝细胞坏死及急性肝衰竭, 而PGE1在TACE术后12 h通过调节细胞周期蛋白及基因方面有效的预防肝衰竭的发生<sup>[27]</sup>; TACE术后少部分残留于瘤周组织和非瘤区的碘化油可达数月之久才能被完全消除, 在此期间内均能造成肝组织缺血、缺氧加重<sup>[28]</sup>, 同时化疗药物对肝细胞的直接损害<sup>[29]</sup>, 这些因素都将进一步加重肝纤维化的程度; 另一方面碘化油也作为PGE1药物的一种载体, 增加了PGE1在受损肝脏供血动脉内的药物浓度, 并在栓塞区域内被逐渐缓慢释放, PGE1再通过激活抗氧化应激的防御系统来减少脂质过氧化反应和抗氧化的作用<sup>[30-32]</sup>, 发挥抗纤维化的作用。因此, PGE1本身抗纤维化的药效作用对于TACE术中、术后碘化油和化疗药物对肝脏造成的肝损伤具有拮抗作用, 阻止肝纤维化的进一步发展, 最终达到治疗肝纤维化进展保护肝脏的作用。

总之, PGE1作为一个单独干预药物, 在预防TACE术后肝纤维化的进展方面有着深远的意义, 我们通过设计这个实验仅仅是从血液学和病理学结果, 直观的观察PGE1的抗纤维化作用。还有微观分子水平的实验研究去观察PGE1的抗纤维化作用, 有待于更多的研究发现。

**志谢:** 感谢谭妙欣、周德杰、史中兴及徐伟在本试验中给予的大力帮助。

## 4 参考文献

- 1 Chan AO, Yuen MF, Hui CK, Tso WK, Lai CL. A prospective study regarding the complications of transcatheter intraarterial lipiodol chemoembolization in patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2002; 94: 1747-1752 [PMID: 11920537 DOI: 10.1002/cncr.10407]
- 2 Artinyan A, Nelson R, Soriano P, Chung V, Retseck J, Reynolds J, Marx H, Kim J, Wagman L. Treatment response to transcatheter arterial embolization and chemoembolization in primary and metastatic tumors of the liver. *HPB (Oxford)* 2008; 10: 396-404 [PMID: 19088924 DOI: 10.1080/13651820802356564]
- 3 Farinati F, De Maria N, Marafin C, Herszényi L, Del Prato S, Rinaldi M, Perini L, Cardin R, Naccarato R. Unresectable hepatocellular carcinoma in cirrhosis: survival, prognostic factors, and unexpected side effects after transcatheter arterial chemoembolization. *Dig Dis Sci* 1996; 41: 2332-2339 [PMID: 9011438 DOI: 10.1007/BF02100123]
- 4 Friedman SL. Liver fibrosis-from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-S53 [PMID: 12591185]
- 5 Popov Y, Schuppan D. Targeting liver fibrosis: strategies for development and validation of antifibrotic therapies. *Hepatology* 2009; 50: 1294-1306 [PMID: 19711424 DOI: 10.1002/hep.23123]
- 6 Friedman SL. Evolving challenges in hepatic fibrosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 425-436 [PMID: 20585339 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.97]
- 7 Schuppan D, Pinzani M. Anti-fibrotic therapy: lost in translation? *J Hepatol* 2012; 56 Suppl 1: S66-S74 [PMID: 22300467 DOI: 10.1016/S0168-8278(12)60008-7]
- 8 Friedman SL, Sheppard D, Duffield JS, Violette S. Therapy for fibrotic diseases: nearing the starting line. *Sci Transl Med* 2013; 5: 167sr1 [PMID: 23303606 DOI: 10.1126/scitranslmed.3004700]
- 9 Mao YL, Zhang T, Sang XT, Li F, Ba JT, Lu X, Yang ZY, Zhong SX, Huang JF. [Three-dimensional assessment of the remnant hepatic function following surgery using single photon emission computed tomography in an animal model]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2007; 45: 609-612 [PMID: 17688795]
- 10 杨安峰. 兔的解剖. 北京: 科学出版社, 1979: 102
- 11 Hepatic Fibrosis Study Group Of Chinese Liver Diseases Association. [Consensus on evaluation of the diagnosis and efficacy of hepatic fibrosis]. *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2002; 10: 327-328 [PMID: 12392606]
- 12 Hawes BE, O'Neill KA, Yao X, Crona JH, Davis HR, Graziano MP, Altmann SW. In vivo responsiveness to ezetimibe correlates with niemann-pick C1 like-1 (NPC1L1) binding affinity: Comparison of multiple species NPC1L1 orthologs. *Mol Pharmacol* 2007; 71: 19-29 [PMID: 17005902 DOI: 10.1124/mol.106.027896]
- 13 Bravo E, D'Amore E, Ciaffoni F, Mammola CL. Evaluation of the spontaneous reversibility of carbon tetrachloride-induced liver cirrhosis in rabbits. *Lab Anim* 2012; 46: 122-128 [PMID: 22522417 DOI: 10.1258/la.2012.011035]
- 14 Ogawa T, Fujii H, Yoshizato K, Kawada N. A human-type nonalcoholic steatohepatitis model with advanced fibrosis in rabbits. *Am J Pathol* 2010; 177: 153-165 [PMID: 20489159 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090895]
- 15 Bailey SA, Zidell RH, Perry RW. Relationships between organ weight and body/brain weight in the rat: what is the best analytical endpoint? *Toxi-*

## ■同行评价

本文阐述的观点很好, 具有一定的创新性, 研究工作量也比较大, 具有一定指导意义。



- col Pathol* 2004; 32: 448-466 [PMID: 15204968 DOI: 10.1080/01926230490465874]
- 16 许卫国, 谭国胜, 彭秀斌, 王于, 陈伟, 杨建勇. 兔肝动脉插管技术的方法学及DSA表现. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 2612-2615
  - 17 江雄鹰, 罗荣光, 黄金华, 苗碧建, 王琰. 兔VX2肝癌模型建立与经兔股动脉微导管超选择性肝左动脉插管技术的探讨. *介入放射学杂志* 2011; 20: 214-217
  - 18 Lee KH, Liapi EA, Cornell C, Reb P, Buijs M, Vossen JA, Ventura VP, Geschwind JF. Doxorubicin-loaded QuadraSphere microspheres: plasma pharmacokinetics and intratumoral drug concentration in an animal model of liver cancer. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010; 33: 576-582 [PMID: 20087738 DOI: 10.1007/s00270-010-9794-1]
  - 19 Riquet FB, Lai WF, Birkhead JR, Suen LF, Karsenty G, Goldring MB. Suppression of type I collagen gene expression by prostaglandins in fibroblasts is mediated at the transcriptional level. *Mol Med* 2000; 6: 705-719 [PMID: 11055589]
  - 20 Cattaneo MG, Pola S, Dehò V, Sanguini AM, Vicentini LM. Alprostadil suppresses angiogenesis in vitro and in vivo in the murine Matrigel plug assay. *Br J Pharmacol* 2003; 138: 377-385 [PMID: 12540529 DOI: 10.1038/sj.bjp.0705051]
  - 21 Hanazaki K, Kajikawa S, Fujimori Y, Nakata S, Shimozawa N, Koide N, Adachi W, Amano J. Effects of prostaglandin E1 administration during hepatectomy for cirrhotic hepatocellular carcinoma. *Hepato-gastroenterology* 2000; 47: 461-464 [PMID: 10791213]
  - 22 Zou WL, Yang Z, Zang YJ, Li DJ, Liang ZP, Shen ZY. Inhibitory effects of prostaglandin E1 on activation of hepatic stellate cells in rabbits with schistosomiasis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 176-181 [PMID: 17374578]
  - 23 Kubo S, Tanaka H, Shuto T, Takemura S, Uenishi T, Tanaka S, Hirohashi K. [Hepatic failure after liver resection in patients with cirrhosis]. *Nihon Geka Gakkai Zasshi* 2004; 105: 669-673 [PMID: 15521384]
  - 24 Hafez T, Moussa M, Nesim I, Baligh N, Davidson B, Abdul-Hadi A. The effect of intraportal prostaglandin E1 on adhesion molecule expression, inflammatory modulator function, and histology in canine hepatic ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2007; 138: 88-99 [PMID: 17174338 DOI: 10.1016/j.jss.2006.05.009]
  - 25 Kaneda H, Hashimoto E, Yatsuji S, Tokushige K, Shiratori K. Hyaluronic acid levels can predict severe fibrosis and platelet counts can predict cirrhosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1459-1465 [PMID: 16911693]
  - 26 Li CH, Pan LH, Yang ZW, Li CY, Xu WX. Preventive effect of Qianggan-Rongxian Decoction on rat liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3569-3573 [PMID: 18567088 DOI: 10.3748/wjg.14.3569]
  - 27 Ishibe A, Togo S, Kumamoto T, Watanabe K, Takahashi T, Shimizu T, Makino H, Matsuo K, Kubota T, Nagashima Y, Shimada H. Prostaglandin E1 prevents liver failure after excessive hepatectomy in the rat by up-regulating Cyclin C, Cyclin D1, and Bclxl. *Wound Repair Regen* 2009; 17: 62-70 [PMID: 19152652 DOI: 10.1111/j.1524-475X.2008.00442.x]
  - 28 Chung J, Yu JS, Chung JJ, Kim JH, Kim KW. Haemodynamic events and localised parenchymal changes following transcatheter arterial chemoembolisation for hepatic malignancy: interpretation of imaging findings. *Br J Radiol* 2010; 83: 71-81 [PMID: 19581309 DOI: 10.1259/bjr/82377365]
  - 29 Wang Y, Xiong B, Liang B, Zhao H, Li H, Qian J, Liang HM, Feng GS, Zheng CS. Hepatic parenchymal changes following transcatheter embolization and chemoembolization in a rabbit tumor model. *PLoS One* 2013; 8: e70757 [PMID: 23967098 DOI: 10.1371/journal.pone.0070757]
  - 30 房龙, 杜时雨, 赵洪川, 姚树坤. 氧应激在大鼠乙醇及四氯化碳致慢性肝损伤中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 234-239
  - 31 Otogawa K, Kinoshita K, Fujii H, Sakabe M, Shiga R, Nakatani K, Ikeda K, Nakajima Y, Ikura Y, Ueda M, Arakawa T, Hato F, Kawada N. Erythrophagocytosis by liver macrophages (Kupffer cells) promotes oxidative stress, inflammation, and fibrosis in a rabbit model of steatohepatitis: implications for the pathogenesis of human nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Pathol* 2007; 170: 967-980 [PMID: 17322381 DOI: 10.2353/ajpath.2007.060441]
  - 32 Jia C, Dai C, Bu X, Peng S, Xu F, Xu Y, Zhao Y. Co-administration of prostaglandin E1 with somatostatin attenuates acute liver damage after massive hepatectomy in rats via inhibition of inflammatory responses, apoptosis and endoplasmic reticulum stress. *Int J Mol Med* 2013; 31: 416-422 [PMID: 23242071 DOI: 10.3892/ijmm.2012.1213]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 麦角甾苷调节HIPK2-P53通路对人大肠癌裸鼠移植瘤的治疗作用

周利红, 胡强, 陈星竹, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 任建琳, 李琦

周利红, 陈星竹, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 李琦, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科 上海市 201203  
胡强, 上海市徐汇区大华医院普外科 上海市 200237  
任建琳, 上海市中医医院肿瘤科 上海市 200071  
周利红, 硕士, 助理研究员, 主要从事中西医结合防治肿瘤的临床及基础研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81303103, 81303106  
上海市科委基金资助项目, Nos. 13140902500, 13ZR1462200  
上海市教委创新基金资助项目, Nos. 12ZZ118, 12YZ058  
上海市卫生局基金资助项目, Nos. 2010161, 2011ZJ030, 20124048

上海市徐汇区医学科研基金资助项目, No. SHXH201004  
作者贡献分布: 本课题由李琦与周利红设计; 研究过程由周利红、胡强、陈星竹、刘宣、隋华及付晓伶共同完成; 研究所用新试剂及分析工具由李琦提供; 数据分析由任建琳与胡强共同完成; 本论文写作由周利红与陈星竹完成.

通讯作者: 李琦, 主任医师, 博士生导师, 201203, 上海市张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科.

lzwf@hotmail.com

收稿日期: 2013-10-29 修回日期: 2013-11-18

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Verbascoide exerts therapeutic effects against colorectal cancer xenografts in nude mice *via* HIPK2-P53 pathway

Li-Hong Zhou, Qiang Hu, Xing-Zhu Chen, Xuan Liu, Hua Sui, Xiao-Ling Fu, Jian-Lin Ren, Qi Li

Li-Hong Zhou, Xing-Zhu Chen, Xuan Liu, Hua Sui, Xiao-Ling Fu, Qi Li, Department of Clinical Oncology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China

Qiang Hu, Department of Surgery, Dahua Hospital of Xuhui District, Shanghai 200237, China

Jian-Lin Ren, Department of Clinical Oncology, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81303103 and 81303106; the Program of Science and Technology Commission of Shanghai, Nos. 13140902500 and 13ZR1462200; the Foundation of Shanghai Municipal Education Commission, Nos. 12ZZ118 and 12YZ058; the Program of Shanghai Municipal Health Bureau, Nos. 2010161, 2011ZJ030, and 20124048; the Medical Research Program of Shanghai Xuhui District Health Bureau, No. SHXH201004

Correspondence to: Qi Li, Chief Physician, Department of Clinical Oncology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Shanghai 201203, China. lzwf@hotmail.com

Received: 2013-10-29 Revised: 2013-11-18

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate whether verbascoide exerts therapeutic effects against colorectal cancer xenografts in nude mice and the possible role of the HIPK2-P53 pathway in this process.

**METHODS:** An ectopic nude mice model of colorectal cancer was established by subcutaneously inoculating human colorectal carcinoma HCT-116 cells into the armpit of nude mice. The mice were then randomly divided into 5 groups: a model control group, low- [20 mg/(kg·d)], medium- [40 mg/(kg·d)], high-dose verbascoide groups [80 mg/(kg·d)], and a 5-fluorouracil (5-FU) group [1 mg/(kg·d)]. Drugs were injected intraperitoneally for two weeks. Two weeks later, the mice were sacrificed and the tumors were peeled off to measure tumor size and weight. The expression of apoptosis-related proteins HIPK2, P53, Bax, and Bcl-2 in tumor tissues was tested by immunohistochemistry.

**RESULTS:** Compared with the model control group, tumor size decreased by 48.41%, 61.04%, 63.75%, and 75.14% in the low-, medium-, high-dose verbascoide groups and the 5-FU group, respectively, and tumor weight decreased by 42.79%, 53.90%, 60.99%, and 66.19%. The relative expression levels of HIPK2 in tumor tissues were  $4.83 \pm 0.62$ ,  $8.46 \pm 0.99$ ,  $11.90 \pm 1.21$  and  $13.50 \pm 0.94$ , in the low-, medium-, high-dose verbascoide groups and the 5-FU group, respectively. The corresponding values were  $14.59 \pm 0.90$ ,  $17.60 \pm 1.40$ ,  $23.10 \pm 2.10$  and  $22.44 \pm 2.05$  for P53,  $14.41 \pm 0.38$ ,  $15.84 \pm 0.54$ ,  $26.28 \pm 0.55$  and  $26.34 \pm 2.33$  for Bax, and  $14.08 \pm 1.04$ ,  $11.93 \pm 0.93$ ,  $7.48 \pm 0.86$  and  $5.46 \pm 0.67$  for Bcl-2.

**CONCLUSION:** Verbascoide can inhibit the growth of human colorectal cancer xenografts in mice, up-regulate the expression of HIPK2, P53 and Bax, and down-regulate Bcl-2 expression. The inhibition of colorectal cancer by verbascoide was closely with the promotion of tumor cell apoptosis.

## ■背景资料

大肠癌是临床常见的恶性肿瘤, 发病率男性居于第3位, 女性居于第2位, 2011年死亡人数占所有癌症死亡人数的8%。中国大肠癌的发病率呈逐年上升趋势, 其上升速度远高于国际水平, 上海等沿海发达地区的发病率高居所有恶性肿瘤的第2位, 远高于内地其他城市, 且呈现逐年上升的趋势。

## ■同行评议者

侯凤刚, 副教授, 副主任医师, 上海中医药大学附属中医医院肿瘤科

## ■ 研发前沿

肉苁蓉提取物麦角甾苷具有调节免疫功能及抑制端粒酶活性,对肝癌、胃癌、肠癌、骨肉瘤等肿瘤生长有明显的抑制作用,可以通过促进淋巴细胞增殖,提高和调节机体的非特异性细胞免疫,进而增强机体的免疫功能。

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

**Key Words:** Verbascoside; Colorectal cancer; Nude mice; Cell apoptosis; Homeodomain-interacting protein kinase 2

Zhou LH, Hu Q, Chen XZ, Liu X, Sui H, Fu XL, Ren JL, Li Q. Verbascoside exerts therapeutic effects against colorectal cancer xenografts in nude mice *via* HIPK2-P53 pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 171-178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.171>

## 摘要

**目的:** 研究肉苁蓉提取物麦角甾苷对人大肠癌裸鼠移植瘤模型肿瘤生长的作用, 及对人大肠癌细胞HIPK2-P53通路的影响, 探讨麦角甾苷抑制人大肠癌的作用机制。

**方法:** 通过腋下接种人结肠癌HCT-116细胞, 建立人大肠癌裸鼠移植瘤模型, 随机分为: 模型组(生理盐水)、麦角甾苷低[20 mg/(kg·d)]、中[40 mg/(kg·d)]、高[80 mg/(kg·d)]剂量组和5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)组[1 mg/(kg·d)], 经腹腔分别给药0.2 mL, 连续给药2 wk。2 wk后处死裸鼠, 分别检测裸鼠瘤体体积、瘤质量, 采用免疫组织化学法检测瘤组织中凋亡相关蛋白同源结构域相互作用蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinase 2, HIPK2)、P53、Bax和Bcl-2的表达情况。

**结果:** 麦角甾苷低、中、高剂量及5-FU对裸鼠瘤体大小抑制率分别为: 48.41%、61.04%、63.75%和75.14%, 瘤体质量抑制率分别为: 42.79%、53.90%、60.99%、66.19%。免疫组织化学结果显示, 裸鼠大肠癌肿瘤组织中麦角甾苷低、中、高剂量及5-FU组HIPK2的表达量分别为:  $4.83 \pm 0.62$ 、 $8.46 \pm 0.99$ 、 $11.90 \pm 1.21$ 、 $13.50 \pm 0.94$ ; P53的表达量分别为:  $14.59 \pm 0.90$ 、 $17.60 \pm 1.40$ 、 $23.10 \pm 2.10$ 、 $22.44 \pm 2.05$ ; Bax表达量分别为  $14.41 \pm 0.38$ 、 $15.84 \pm 0.54$ 、 $26.28 \pm 0.55$ 、 $26.34 \pm 2.33$ ; Bcl-2的表达量分别为  $14.08 \pm 1.04$ 、 $11.93 \pm 0.93$ 、 $7.48 \pm 0.86$ 、 $5.46 \pm 0.67$ 。

**结论:** 麦角甾苷能够抑制人大肠癌裸鼠移植瘤生长, 上调凋亡相关蛋白HIPK2、P53、Bax的表达, 下调Bcl-2表达, 其抑制大肠癌的作用与促进肿瘤细胞凋亡密切相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 麦角甾苷; 大肠癌; 裸鼠; 细胞凋亡; 同源结构域相互作用蛋白激酶2

**核心提示:** 肉苁蓉提取物麦角甾苷能够抑制人大肠癌裸鼠移植瘤生长, 上调凋亡相关蛋白同源结构域相互作用蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinase 2)、P53、Bax的表达, 下调Bcl-2表达, 其抑制大肠癌的作用与促进肿瘤细胞凋亡密切相关。

周利红, 胡强, 陈星竹, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 任建琳, 李琦. 麦角甾苷调节HIPK2-P53通路对人大肠癌裸鼠移植瘤的治疗作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(2): 171-178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.171>

## 0 引言

大肠癌(colorectal cancer)是全球范围内常见的恶性肿瘤之一, 根据Global Cancer Statistics 2011最新数据显示, 大肠癌发病率居于男性癌症患者的第3位, 女性位于第2位, 2011年死亡人数占有所有癌症死亡人数的8%, 为癌症中第4大常见致死恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。在我国, 大肠癌的发病率呈逐年上升趋势, 其上升速度远高于国际水平<sup>[2]</sup>, 平均发病率居于所有恶性肿瘤第5位, 上海等沿海发达地区的发病率高居所有恶性肿瘤的第2位<sup>[3]</sup>, 远高于内地其他城市, 且呈现逐年上升的趋势。

近年研究发现, 扶正中药肉苁蓉具有明显的抗肿瘤作用, 其主要活性成分麦角甾苷(verbascoside, Verb)具有调节免疫功能及抑制端粒酶活性<sup>[4-6]</sup>, 对肿瘤生长有明显的抑制作用, 但其作用机制尚不清楚。本研究通过裸鼠动物实验, 研究肉苁蓉活性成分麦角甾苷对人大肠癌裸鼠移植瘤体生长及凋亡相关蛋白同源结构域相互作用蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinase 2, HIPK2)、P53、Bax和Bcl-2表达的影响, 并探讨其抗大肠癌的作用机制, 为扶正中药用于临床肿瘤治疗提供理论指导和实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ Balb/c裸小鼠30只, 4-6周龄, 体重 $18 \pm 2$  g, 购自上海西普尔-必凯实验有限公司[生产许可证号码: SCXK(沪)2008-0016], 饲养于上海中医药大学附属普陀医院SPF级动物实验室[动物实验室许可证号码: SYXK(沪)2005-0008]。饲养条件为自由摄食饮水、通风、相对湿度50%-65%、22℃-24℃、12 h光照条件的SPF级动物室内常规饲养。动物

饲养符合动物伦理委员会相关规定。人结肠癌HCT-116细胞(购自中国科学院上海细胞库), 细胞培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 置于5%CO<sub>2</sub>、37℃及饱和湿度的培养箱中培养。Verb, 成都瑞芬思生物科技有限公司; 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU), 上海旭东海普药业有限公司; 即用型快捷免疫组织化学MaxVision试剂盒、柠檬酸抗原修复缓冲液、3,3'-二氨基联苯胺四盐酸盐(DAB)(福州迈新生物科技有限公司); 2.5%戊巴比妥钠(上海菲达工贸有限公司); RPMI 1640培养基干粉、胎牛血清(Gibco公司); 苏木素精、冰乙酸(上海凌峰化学试剂有限公司); CO<sub>2</sub>培养箱(英国RS Biotech公司, GAL-AXYS); 相差倒置显微镜(日本OLMYPUS公司, CKX41/U-RFLT50); 动物造模手术器材(苏州六六视觉科技公司); 转轮式病理切片机(德国LEICA公司, UC6); 病理组织包埋机、包埋冷冻台(常州中威电子仪器厂); 病理染色机(德国LEICA公司, ST5010); 高清晰度彩色医学图文分析系统(武汉千屏影像技术有限公司)电热恒温鼓风干燥箱、隔水式恒温培养箱(上海精宏实验设备有限公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 人结肠癌HCT-116细胞培养: 人结肠癌HCT-116细胞培养于10%胎牛血清的RPMI 1640培养基中, 放置于5%CO<sub>2</sub>、37℃及饱和湿度的培养箱培养, 待细胞处于对数生长期时, 用于后续实验。

1.2.2 人大肠癌裸鼠移植瘤模型的建立: 取对数生长期的人肠癌HCT-116细胞, 0.25%的胰蛋白酶消化, 以0.01 mol/L PBS稀释成 $1 \times 10^7$  cell/mL单细胞悬液。取4-6周龄、18-20 g Balb/c裸鼠3只。常规消毒裸鼠近右腋侧背部皮肤, 用1 mL注射器吸取人肠癌HCT-116单细胞悬液, 按0.2 mL/只( $2 \times 10^6$  cell), 接种到裸鼠右前肢腋部皮下后, 用乙醇棉球压迫针孔以防细胞流出, SPF条件下常规饲养。2 wk左右, 当裸鼠皮下肿瘤长至50-100 mm<sup>3</sup>时, 选取生长状态佳瘤体无溃破的裸鼠作为供瘤鼠, 脱颈处死, 无菌条件下剥离瘤体。以生理盐水洗净血污, 去除坏死组织和纤维组织, 取肿瘤边缘新鲜组织切成1 mm<sup>3</sup>大小, 将瘤块接种于裸鼠右前肢腋部皮下, 以此法传代3次。3代后, 取4-6周龄、18-20 g Balb/c裸鼠30只。选取生长状态佳、无溃破的瘤体, 接种于裸鼠右前肢腋部皮下, 常规饲养, 待裸鼠皮下肿瘤生长到50-100 mm<sup>3</sup>时, 随机分组并给药。

1.2.3 裸鼠分组及给药: 裸鼠接种皮下瘤后, 当肿瘤生长到50-100 mm<sup>3</sup>时, 随机分为5组: 模型组、麦角甾苷低、中、高剂量组、5-FU组, 每组6只。各组裸鼠分别经腹腔给予0.2 mL/d生理盐水, 20、40、80 mg/(kg·d)麦角甾苷各0.2 mL/d, 1 mg/(kg·d) 5-FU 0.2 mL, 连续给药2 wk。

1.2.4 肿瘤抑制率的计算: 分别在给药的第1、4、7、10、14天测量肿瘤长、短径(分别用a、b表示), 计算肿瘤体积(TV = tumor volume) =  $1/2 \times a \times b^2$ , 描绘肿瘤生长曲线, 计算肿瘤体积抑制率: 肿瘤体积抑制率% =  $(1 - \text{实验组平均肿瘤体积} / \text{模型组平均肿瘤体积}) \times 100\%$ 。在末次给药后脱颈处死裸鼠, 剥离瘤体, 剔除结缔组织, 称瘤体质量, 计算瘤质量抑制率: 瘤质量抑制率% =  $(1 - \text{实验组肿瘤平均质量} / \text{模型组肿瘤平均质量}) \times 100\%$ 。

1.2.5 SP免疫组织化学染色: 将上述取出的瘤体用40 g/L的甲醛溶液固定, 石蜡包埋, 4 μm厚连续切片, 二甲苯脱蜡, 梯度乙醇脱水。将切片依次经内源性过氧化物酶清除、抗原修复、正常血清封闭、抗体结合、DAB染色、蒸馏水洗涤, 再经苏木素衬染, 烟酸乙醇分化, 稀氨水蓝化。递增梯度乙醇脱水, 二甲苯透明, 常规树脂封片。所用一抗为1:200稀释的小鼠抗人HIPK2、P53、Bax、Bcl-2, 二抗为1:200生物素标记二抗, 显色时加入1:200辣根酶标记链霉卵白素, 3种试剂均以磷酸盐缓冲液稀释。

1.2.6 阳性表达率结果判读: 光镜下观察切片, HIPK2、P53、Bax、Bcl-2四种蛋白的阳性反应均为棕黄色颗粒染色, 表达强时为深棕色染色。其中HIPK2、P53阳性表达定位于细胞核, Bax、Bcl-2阳性表达定位于细胞浆, 少数同时可有胞核表达。运用高清晰度彩色病理图文分析系统对免疫组织化学结果进行判定, 每张切片在400倍下随机选取5个视野, 对测定视野内棕黄色阳性信号进行图像分析, 计算平均阳性表达率, 取其均值作为该切片测量结果。

**统计学处理** 所有数据整理后, 应用SPSS18.0统计软件进行统计学处理。计量资料用mean±SD表示, 若服从正态性和方差齐性分布, 采用单因素方差分析(One-Way ANOVA)进行统计推断, 组间多重性比较用LSD检验, 不服从正态性和方差齐性分布, 采用Welch检验, 组间多重性比较用Dunnett's T3检验。等级资料用非参数检验(Wilcoxon秩和检验)。检验标准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## ■ 相关报道

意大利里贾纳埃伦娜癌症研究所D'Orazi研究发现, HIPK2与p53、PML3共同定位于核小体内, 并磷酸化p53的46位丝氨酸(Ser46)而促进肿瘤细胞凋亡。Hofmann等进一步利用紫外线(UV)照射活化HIPK2, 使p53的Ser46磷酸化, 促进CREB结合蛋白导致的p53的382位赖氨酸(Lys382)乙酰化, 加强p53促进肿瘤细胞凋亡的功能活性。



## ■ 创新盘点

本研究通过建立裸鼠人大肠癌移植瘤模型,采用扶正中药肉苁蓉的有效活性成分麦角甾苷进行治疗,从体内观察麦角甾苷对人大肠癌的抑制作用及其对凋亡相关蛋白表达的影响。根据裸鼠瘤体生长曲线,说明麦角甾苷对动物瘤体的抑制作用比较明显,并且呈现剂量依赖性,证实麦角甾苷在体内能够抑制大肠癌肿瘤的生长。

表 1 各组肿瘤生长曲线及瘤体抑制率( $n = 6$ , mean  $\pm$  SD)

分组	治疗后肿瘤体积 (mm <sup>3</sup> )	抑制率 (%)
模型组	353.44 $\pm$ 124.75	—
20 mg/(kg · d) 麦角甾苷组	182.37 $\pm$ 54.50	48.41
40 mg/(kg · d) 麦角甾苷组	137.72 $\pm$ 37.51 <sup>a</sup>	61.04
80 mg/(kg · d) 麦角甾苷组	128.14 $\pm$ 40.16 <sup>a</sup>	63.75
1 mg/(kg · d) 5-FU组	87.90 $\pm$ 62.04 <sup>b</sup>	75.14

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型组。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

## 2 结果

2.1 麦角甾苷对人大肠癌裸鼠移植瘤模型肿瘤体积的影响 分别在给药第1、4、7、10、14天测量瘤体长径(a)、短径(b), 计算瘤体体积TV, 描绘瘤体生长曲线, 计算瘤体抑制率。治疗前模型组、麦角甾苷低[20 mg/(kg · d)]、中[40 mg/(kg · d)]、高[80 mg/(kg · d)]剂量组、5-FU[1 mg/(kg · d)]组, 各组瘤体体积无统计学差异( $P > 0.05$ ), 随着给药时间的延长, 麦角甾苷低、中、高剂量组及5-FU组均表现出不同的抑瘤效果, 肿瘤体积分别为353.44 mm<sup>3</sup>  $\pm$  124.75 mm<sup>3</sup>、182.37 mm<sup>3</sup>  $\pm$  54.50 mm<sup>3</sup>、137.72 mm<sup>3</sup>  $\pm$  37.51 mm<sup>3</sup>、128.14 mm<sup>3</sup>  $\pm$  40.16 mm<sup>3</sup>、87.90 mm<sup>3</sup>  $\pm$  62.04 mm<sup>3</sup>, 且除麦角甾苷低剂量组外, 中、高剂量组及5-FU组相对于模型组均有统计学意义( $P < 0.05$ )。结果显示, 治疗后麦角甾苷低、中、高剂量组及5-FU组的瘤体大小(体积)抑制率分别为48.41%、61.04%、63.75%、75.14%(表1, 图1, 2), 说明麦角甾苷在体内能够抑制人大肠癌裸鼠移植瘤的生长, 并且呈现剂量的依赖性。

2.2 麦角甾苷对人大肠癌裸鼠移植瘤模型瘤重的影响 给药2 wk后, 剥离瘤体, 称质量, 计算瘤质量抑制率, 结果如表2所示。经过麦角甾苷或5-FU治疗2 wk后, 各组瘤重相对于模型组瘤体质量明显较小, 模型组、麦角甾苷低、中、高剂量组、5-FU组的瘤体质量分别是0.423 g  $\pm$  0.150 g、0.242 g  $\pm$  0.135 g、0.195 g  $\pm$  0.057 g、0.165 g  $\pm$  0.065 g、0.143 g  $\pm$  0.067 g, 与模型组比较, 麦角甾苷低、中剂量虽有抑瘤作用, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 而麦角甾苷高剂量组及5-FU组与模型组比较差异明显( $P < 0.05$ )。各组瘤质量抑制率分别是42.79%、53.90%、60.99%、66.19%(表2, 图3, 4)。说明麦角甾苷对裸鼠肿瘤质量有明显的抑制作用。

2.3 麦角甾苷对人大肠癌裸鼠移植瘤模型肿瘤

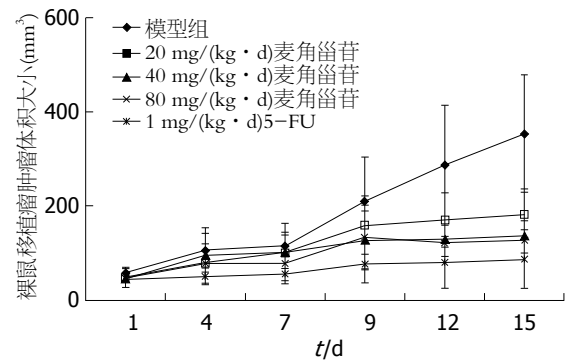
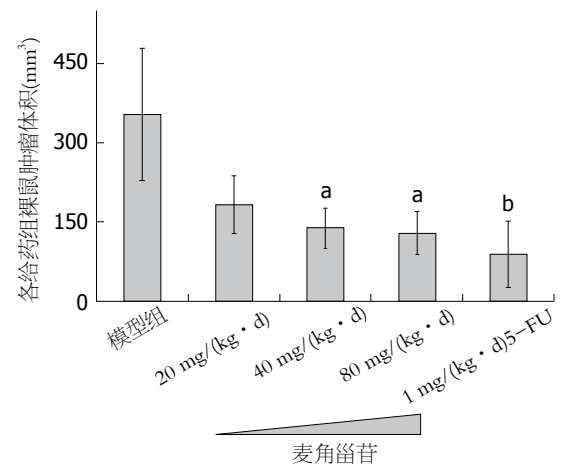


图 1 麦角甾苷治疗前后各组裸鼠瘤体生长曲线。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

图 2 麦角甾苷治疗前后各组裸鼠瘤体的大小。 <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型组。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

组织中凋亡相关蛋白HIPK2、P53、Bax、Bcl-2表达的影响 免疫组织化学结果显示, 模型组、麦角甾苷低、中、高剂量组、5-FU组HIPK2表达为3.23  $\pm$  0.61、4.83  $\pm$  0.62、8.46  $\pm$  0.99、11.90  $\pm$  1.21、13.50  $\pm$  0.94, 麦角甾苷中、高剂量及5-FU组表达与模型组相比表达上调, 且有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而麦角甾苷低剂量组与模型组相比表达略有上调, 但差异无统计学意义( $P = 0.126$ )。在各组瘤体组织中P53表达分别为11.70  $\pm$  2.08、14.59  $\pm$  0.90、17.60  $\pm$  1.40、23.10  $\pm$  2.10、22.44  $\pm$  2.05, 麦角甾苷高剂量及5-FU组表达与模型组相比表达上调, 且差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 低、中剂量组虽表达也略有上调, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。Bax表达在模型组、麦角甾苷低、中、高剂量组、5-FU组分别为9.82  $\pm$  0.55、14.41  $\pm$  0.38、15.84  $\pm$  0.54、26.28  $\pm$  0.55、26.34  $\pm$  2.33, 与模型组相比, 麦角甾苷低、中、高剂量及5-FU表达明显上调, 且差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。Bcl-2表达在模型组、麦角甾苷低、中、高剂量组、5-FU组分

表 2 给药后各组裸鼠瘤重及肿瘤抑制率( $n=6$ , mean  $\pm$  SD)

分组	瘤质量(g)	抑制率(%)
模型组	0.423 $\pm$ 0.150	—
20 mg/(kg $\cdot$ d)麦角甾苷组	0.242 $\pm$ 0.135	42.79
40 mg/(kg $\cdot$ d)麦角甾苷组	0.195 $\pm$ 0.057	53.90
80 mg/(kg $\cdot$ d)麦角甾苷组	0.165 $\pm$ 0.065 <sup>a</sup>	60.99
1 mg/(kg $\cdot$ d) 5-FU组	0.143 $\pm$ 0.067 <sup>a</sup>	66.19

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 模型组. 5-FU: 5-氟尿嘧啶.

别为 $17.43 \pm 1.50$ 、 $14.08 \pm 1.04$ 、 $11.93 \pm 0.93$ 、 $7.48 \pm 0.86$ 、 $5.46 \pm 0.67$ , 与模型组相比麦角甾苷高剂量及5-FU表达明显下调, 且差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 低、中剂量组虽表达也略有下调, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表3, 图5).

### 3 讨论

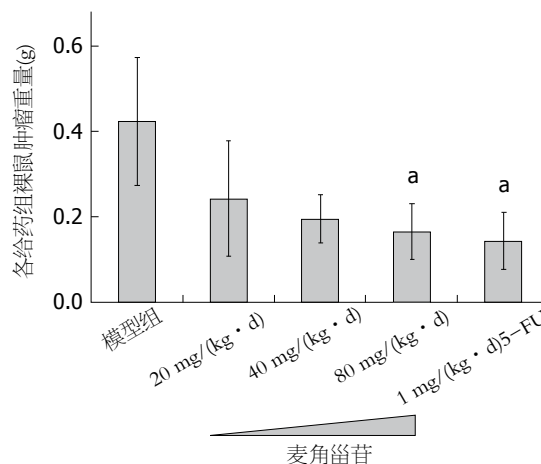
随着城镇化进程的发展, 人民生活水平得到很大的提高, 饮食结构也随之发生改变, 大肠癌, 已经成为严重威胁居民身体健康的重大疾病<sup>[7-9]</sup>. 目前大肠癌治疗的主要手段是手术切除, 及手术后的放化疗, 但手术后五年生存还相当低, 不能从根本上提高肠癌患者的术后生存率<sup>[10,11]</sup>. 大肠癌在体内的生长过程本身就是人体正气被癌毒不断耗损的过程. 临床上常用扶正培本的中药<sup>[12-14]</sup>, 可以提高患者机体的免疫能力<sup>[15]</sup>, 通过多靶点、多环节不同程度地抑制肿瘤的发生、发展与转移.

肉苁蓉是临床上常用的扶正固本类中药之一, 其味甘、咸而性温, 入肾、大肠经, 具滋肾肝精血, 润肠胃结燥之效. 《本草正义》记载其“主症瘕者, 咸能软坚, 而入血分, 且补益阴精, 温养阳气, 斯气血流利而否塞通矣”. 中医典籍指出, 肉苁蓉以其甘温入肾, 补养精血; 滋阴以通阳, 阴阳双补; 咸而能软能下, 软坚散结, 润肠通便. 临床应用肉苁蓉, 一般取其双补阴阳和润肠通便, 且以咸能软坚散结. 近年来, 随着扶正固本类中药在肿瘤治疗中的应用越来越多, 肉苁蓉以“补肾精血”、“归经大肠”及“味咸软坚”, 成为中医药“扶正抗癌”的重要药物. 麦角甾苷是肉苁蓉最主要的活性成分之一. 研究表明, 麦角甾苷可以通过促进淋巴细胞增殖, 提高和调节机体的非特异性细胞免疫, 进而增强机体的免疫功能<sup>[4]</sup>, 在抗炎症特别是肠炎方面具有较好的作用<sup>[16,17]</sup>, 但其在抗肿瘤乃至大肠癌方面的研究未见报道.

模型组

20 mg/(kg  $\cdot$  d)麦角甾苷40 mg/(kg  $\cdot$  d)麦角甾苷80 mg/(kg  $\cdot$  d)麦角甾苷1 mg/(kg  $\cdot$  d)5-FU

图 3 给药后各组裸鼠瘤体大小. 5-FU: 5-氟尿嘧啶.

图 4 麦角甾苷治疗前后各组裸鼠瘤体的质量情况. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 模型组. 5-FU: 5-氟尿嘧啶.

细胞凋亡是机体受到体内外生理或某些病理信号刺激时, 在多种基因调控下细胞自我毁灭的过程<sup>[18]</sup>. 研究表明, HIPK2可以通过多种途径参与细胞凋亡<sup>[19-21]</sup>. 2002年, 意大利里贾纳埃伦娜癌症研究所D'Orazi等<sup>[22]</sup>研究发现, HIPK2与p53、PML3共同定位于核小体内, 并磷酸化p53的46位丝氨酸(Ser46)而促进肿瘤细胞凋亡. Hofmann等<sup>[23]</sup>进一步利用紫外线(UV)照射活化HIPK2, 使p53的Ser46磷酸化, 促进cAMP应答元件结合蛋白导致的p53的382位赖氨酸(Lys382)乙酰化, 加强p53促进肿瘤细胞凋亡的功能活性, 而反义寡核苷酸阻断HIPK2时可以削弱UV诱发的凋亡. Wang等<sup>[24]</sup>研究发现, HIPK2可通过对p53抑制蛋白MDM2的修饰或胞内移位而降低MDM2蛋白水平, 增加p53转录活性. Di Stefano等<sup>[25]</sup>研究发现, HIPK2能阻断MDM2对p53的抑制作用而使p53的活性恢复.

细胞内 $\beta$ -catenin表达水平是Wnt/ $\beta$ -catenin信号级联和Wnt靶基因激活的中心环节, 细胞浆内 $\beta$ -catenin的积聚则有助于肿瘤的发生发展. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活是由该途径

### ■应用要点

通过研究肉苁蓉提取物麦角甾苷对人大肠癌裸鼠移植瘤瘤体生长及凋亡相关蛋白HIPK2、P53、Bax和Bcl-2表达的影响, 探讨麦角甾苷抗大肠癌的作用机制, 为扶正中药在临床上用于大肠癌治疗提供理论指导和实验依据.



## ■同行评价

本文具有有较好的科学性、创新性和可读性。

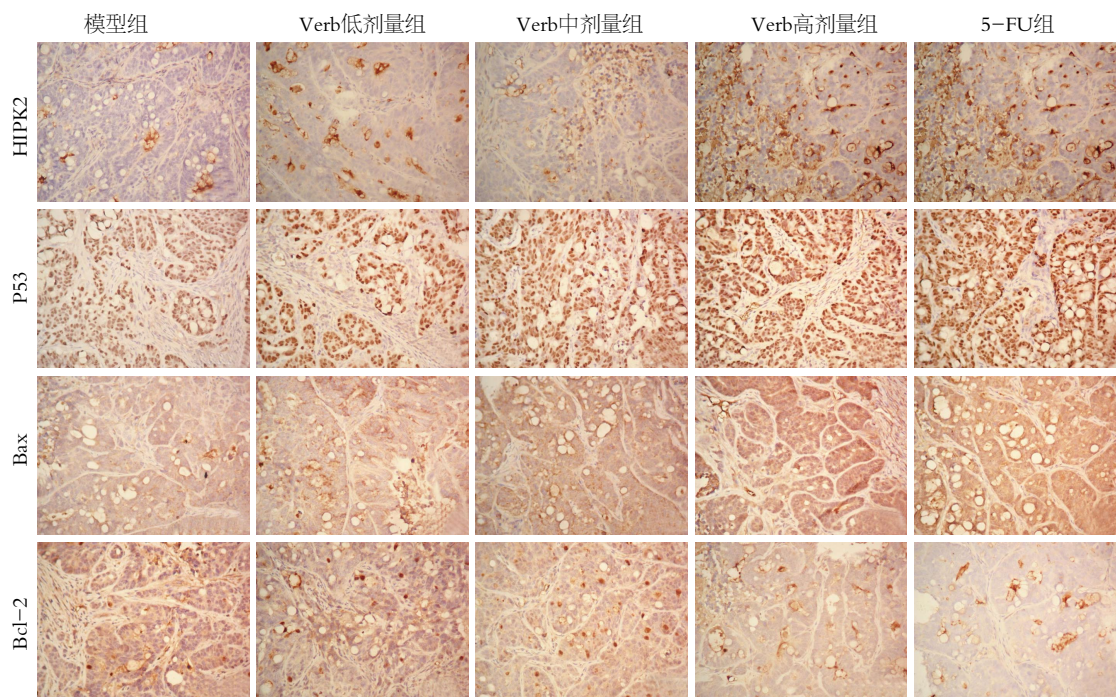


图5 麦角甾苷对人结肠癌裸鼠移植瘤模型组织中HIPK2、P53、Bax、Bcl-2表达的影响( $\times 200$ )。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

表3 麦角甾苷对人结肠癌裸鼠移植瘤模型组织中HIPK2、P53、Bax、Bcl-2表达的影响( $n = 6$ , mean  $\pm$  SD)

分组	裸鼠肿瘤组织蛋白相对表达量			
	HIPK2	P53	Bax	Bcl-2
模型组	3.23 $\pm$ 0.61	11.70 $\pm$ 2.08	9.82 $\pm$ 0.55	17.43 $\pm$ 1.50
低剂量组	4.83 $\pm$ 0.62	14.59 $\pm$ 0.90	14.41 $\pm$ 0.38 <sup>a</sup>	14.08 $\pm$ 1.04
中剂量组	8.46 $\pm$ 0.99 <sup>a</sup>	17.60 $\pm$ 1.40	15.84 $\pm$ 0.54 <sup>a</sup>	11.93 $\pm$ 0.93
高剂量组	11.90 $\pm$ 1.21 <sup>b</sup>	23.10 $\pm$ 2.10 <sup>a</sup>	26.28 $\pm$ 0.55 <sup>b</sup>	7.48 $\pm$ 0.86 <sup>a</sup>
5-FU组	13.50 $\pm$ 0.94 <sup>b</sup>	22.44 $\pm$ 2.05 <sup>a</sup>	26.34 $\pm$ 2.33 <sup>b</sup>	5.46 $\pm$ 0.67 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 模型组。5-FU: 5-氟尿嘧啶。

任何一个信号分子异常而致 $\beta$ -catenin在胞质中累积, 继而进入核内激活T细胞因子4(T cell factor 4, TCF-4)/LEF转录因子, 启动下游靶基因(如cyclinD1、成纤维细胞生长因子18、表皮生长因子受体等)转录<sup>[26-28]</sup>。Kim等<sup>[29]</sup>发现抑制HIPK2能明显增加 $\beta$ -catenin的稳定性和导致细胞核内 $\beta$ -catenin的积聚, 但是Lee等<sup>[30]</sup>在果蝇的研究中发现, HIPK家族特别是HIPK2是Wnt信号通路的正调节因子, HIPK以激酶依赖的方式增强TCF/Arm介导的基因表达, 通过 $\beta$ -catenin/Arm的稳定作用和靶基因表达的刺激作用激活Wnt信号。激活转录因子TCF-4/LEF是细胞核内重要的转录因子, Wei等<sup>[31]</sup>研究结果显示, HIPK2过表达能够抑制LEF1/ $\beta$ -catenin介导的Cyclin D1的转录表达, 但其抑制作用与其羧基端的YH域的功能

密切相关。Puca等<sup>[32]</sup>利用HIPK2可抑制 $\beta$ -catenin转录活性, 采用荧光素酶活性检测VEGF报告构件, 研究了HIPK2的过表达能否下调VEGF的水平( $\beta$ -catenin的一种靶基因)以及 $\beta$ -catenin在这种调节中的作用。

本研究通过建立裸鼠人大肠癌移植瘤模型, 采用扶正中药肉苁蓉的有效活性成分麦角甾苷进行治疗, 从体内观察麦角甾苷对人大肠癌的抑制作用及其对凋亡相关蛋白表达的影响。根据裸鼠瘤体生长曲线, 说明麦角甾苷对动物瘤体的抑制作用比较明显, 并且呈现剂量依赖性, 证实麦角甾苷在体内能够抑制大肠癌肿瘤的生长。同时, 我们对瘤体组织进行免疫组织化学法检测各组裸鼠瘤体组织中HIPK2、P53及凋亡相关因子Bax、Bcl-2的蛋白表达。结果显示, 随



着麦角甾苷浓度的增加, 瘤组织中促凋亡基因 *HIPK2*、*p53*、*Bax* 的表达明显增加, 而抑制凋亡基因 *Bcl-2* 的表达降低, 说明麦角甾苷能够提高裸鼠体内凋亡相关基因的蛋白表达, 促进大肠癌细胞凋亡, 从而发挥其抗肿瘤的作用。

#### 4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 刘国伟, 蔡全才. 大肠癌筛查现状及早期诊断进展. *现代肿瘤医学* 2009; 17: 770-774
- 上海市疾病预防控制中心. 2009年上海市恶性肿瘤发病率. *上海预防医学* 2013; 25: 2
- 张洪泉, 翁晓静, 陈莉莉, 李心. 管花肉苁蓉麦角甾苷对衰老小鼠端粒酶活性和免疫功能的影响. *中国药理学与毒理学杂志* 2008; 22: 270-273
- 张炜煜, 朴熙绪, 金海燕, 李成浩, 金爱花, 韩红梅. 草苁蓉乙醇提取物对大鼠非酒精性脂肪性肝病的保护作用及机制. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3087-3094
- 朴熙绪, 黄红果, 朴东明. 草苁蓉乙醇提取物对二甲亚硝胺诱导大鼠肝纤维化的治疗作用. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2205-2209
- Siegel R, Ward E, Brawley O, Jemal A. Cancer statistics, 2011: the impact of eliminating socioeconomic and racial disparities on premature cancer deaths. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 212-236 [PMID: 21685461 DOI: 10.3322/caac.20121]
- 郑荣寿, 张思维, 吴良有, 李光琳, 赵平, 赫捷, 陈万青. 中国肿瘤登记地区2008年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 1-12
- Mäkelä JT, Kiviniemi H. Surgical treatment of colorectal cancer in patients aged over 80 years. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1055-1060 [PMID: 22322532 DOI: 10.1007/s00384-012-1427-5]
- Yiu HY, Whittemore AS, Shibata A. Increasing colorectal cancer incidence rates in Japan. *Int J Cancer* 2004; 109: 777-781 [PMID: 14999789]
- Hagggar FA, Boushey RP. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. *Clin Colon Rectal Surg* 2009; 22: 191-197 [PMID: 21037809 DOI: 10.1055/s-0029-1242458]
- 吴皓, 林洪生, 裴迎霞, 祁鑫, 吕诚, 赵林华, 肖诚, 吕爱平. 人参皂甙Rg3对荷瘤及环磷酰胺化疗小鼠黏膜免疫力影响. *中国肿瘤* 2006; 15: 369-371
- 曹月娇, 包素珍, 翟海龙. 扶正固本类药物抗肿瘤转移作用机制的研究进展. *浙江中医杂志* 2010; 45: 150-151
- 曹敏, 余世锋. 扶正法治疗肿瘤思维辨析. *长春中医药大学学报* 2011; 27: 557-558
- 张剑军, 刘鲁明. 扶正中药治疗恶性肿瘤患者正气虚弱的免疫学机理. *中医药临床杂志* 2006; 18: 417-419
- Speranza L, Franceschelli S, Pesce M, Reale M, Menghini L, Vinciguerra I, De Lutiis MA, Felaco M, Grilli A. Antiinflammatory effects in THP-1 cells treated with verbascoside. *Phytother Res* 2010; 24: 1398-1404 [PMID: 20812283 DOI: 10.1002/ptr.3173]
- Mazzon E, Esposito E, Di Paola R, Riccardi L, Caminiti R, Dal Toso R, Pressi G, Cuzzocrea S. Effects of verbascoside biotechnologically produced by *Syngonium vulgaris* plant cell cultures in a rodent model of colitis. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2009; 380: 79-94 [PMID: 19242677 DOI: 10.1007/s00210-009-0400-5]
- Schultz DR, Harrington WJ. Apoptosis: programmed cell death at a molecular level. *Semin Arthritis Rheum* 2003; 32: 345-369 [PMID: 12833244]
- Puca R, Nardinocchi L, Sacchi A, Rechavi G, Givol D, D'Orazi G. HIPK2 modulates p53 activity towards pro-apoptotic transcription. *Mol Cancer* 2009; 8: 85 [PMID: 19828042 DOI: 10.1186/1476-4598-8-85]
- Nardinocchi L, Puca R, Givol D, D'Orazi G. Counteracting MDM2-induced HIPK2 downregulation restores HIPK2/p53 apoptotic signaling in cancer cells. *FEBS Lett* 2010; 584: 4253-4258 [PMID: 20849851 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.09.018]
- Crone J, Glas C, Schultheiss K, Moehlenbrink J, Kriehoff-Henning E, Hofmann TG. Zyxin is a critical regulator of the apoptotic HIPK2-p53 signaling axis. *Cancer Res* 2011; 71: 2350-2359 [PMID: 21248071 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-3486]
- D'Orazi G, Cecchinelli B, Bruno T, Manni I, Higashimoto Y, Saito S, Gostissa M, Coen S, Marchetti A, Del Sal G, Piaggio G, Fanciulli M, Appella E, Soddu S. Homeodomain-interacting protein kinase-2 phosphorylates p53 at Ser 46 and mediates apoptosis. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 11-19 [PMID: 11780126]
- Hofmann TG, Möller A, Sirma H, Zentgraf H, Taya Y, Dröge W, Will H, Schmitz ML. Regulation of p53 activity by its interaction with homeodomain-interacting protein kinase-2. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 1-10 [PMID: 11740489]
- Wang Y, Hofmann TG, Runkel L, Haaf T, Schaller H, Debatin K, Hug H. Isolation and characterization of cDNAs for the protein kinase HIPK2. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1518: 168-172 [PMID: 11267674]
- Di Stefano V, Blandino G, Sacchi A, Soddu S, D'Orazi G. HIPK2 neutralizes MDM2 inhibition rescuing p53 transcriptional activity and apoptotic function. *Oncogene* 2004; 23: 5185-5192 [PMID: 15122315]
- Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 1999; 398: 422-426 [PMID: 10201372]
- Shimokawa T, Furukawa Y, Sakai M, Li M, Miwa N, Lin YM, Nakamura Y. Involvement of the FGF18 gene in colorectal carcinogenesis, as a novel downstream target of the beta-catenin/T-cell factor complex. *Cancer Res* 2003; 63: 6116-6120 [PMID: 14559787]
- Tan X, Apte U, Micsenyi A, Kotsagrelis E, Luo JH, Ranganathan S, Monga DK, Bell A, Michalopoulos GK, Monga SP. Epidermal growth factor receptor: a novel target of the Wnt/beta-catenin pathway in liver. *Gastroenterology* 2005; 129: 285-302 [PMID: 16012954]
- Kim EA, Kim JE, Sung KS, Choi DW, Lee BJ, Choi CY. Homeodomain-interacting protein kinase 2 (HIPK2) targets beta-catenin for phosphorylation and proteasomal degradation. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394: 966-971 [PMID: 20307497 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.03.099]
- Lee W, Swarup S, Chen J, Ishitani T, Verheyen EM. Homeodomain-interacting protein kinases (Hipks) promote Wnt/Wg signaling through stabilization of beta-catenin/Arm and stimulation of target gene expression. *Development* 2009; 136: 241-251 [PMID: 19088090 DOI: 10.1242/dev.025460]
- Wei G, Ku S, Ma GK, Saito S, Tang AA, Zhang J, Mao JH, Appella E, Balmain A, Huang EJ. HIPK2 represses beta-catenin-mediated transcription,

## ■同行评价

本文具有有较好的科学性、创新性和可读性。

epidermal stem cell expansion, and skin tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 13040-13045 [PMID: 17666529]  
32 Puca R, Nardinocchi L, D'Orazi G. Regulation of

vascular endothelial growth factor expression by homeodomain-interacting protein kinase-2. *J Exp Clin Cancer Res* 2008; 27: 22 [PMID: 18644116 DOI: 10.1186/1756-9966-27-22]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》出版流程

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

# ChREBP及其靶基因*PNPLA3*在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用

季玲, 李昌平

季玲, 李昌平, 四川省泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

季玲, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由季玲综述; 李昌平选题和审校。

通讯作者: 李昌平, 教授, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. 506854209@qq.com

电话: 0830-3161276

收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-11-19

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Role of ChREBP and its target gene *PNPLA3* in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease

Ling Ji, Chang-Ping Li

Ling Ji, Chang-Ping Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Chang-Ping Li, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 506854209@qq.com

Received: 2013-11-05 Revised: 2013-11-19

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

Nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a clinical and pathological syndrome caused by excessive triglyceride accumulation in liver cells. Its hepatic histological changes are similar to those of alcoholic liver disease (ALD), but the patients do not have a history of heavy alcohol drinking. NAFLD includes nonalcoholic simple fatty liver (NASFL), nonalcoholic steatohepatitis (NASH) and nonalcoholic fatty hepatitis related to liver fibrosis and cirrhosis. At present, the detailed pathogenesis of NAFLD is unclear. Many studies have reported the relationship between ChREBP and its target gene *PNPLA3* and NAFLD occurrence. ChREBP and *PNPLA3* are associated with liver fat content and inflammation. This article reviews the role of ChREBP and its target gene *PNPLA3* in the pathogenesis of NAFLD, in order to provide a theoretical basis for further research of the occurrence and treatment of NAFLD.

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

**Key Words:** Nonalcoholic fatty liver disease; *ChREBP* gene; *PNPLA3* gene; Insulin resistance

Ji L, Li CP. Role of ChREBP and its target gene *PNPLA3* in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 179-183 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.179>

## 摘要

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是肝细胞内大量甘油三酯聚集而引起的临床病理综合征, 肝的组织学改变与酒精性肝病(alcoholic liver disease, ALD)相似, 但无过量饮酒史. NAFLD包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、NASH相关肝纤维化和肝硬化. 目前其详细发病机制尚不清楚, 但国内外已有较多关于ChREBP及其靶基因*PNPLA3*与NAFLD发病关系的研究, 证实了ChREBP和*PNPLA3*与肝内脂肪含量及炎症相关. 本文主要综述了ChREBP及其靶基因*PNPLA3*在NAFLD发病过程中的作用, 为脂肪肝的发生和治疗提供更多的理论基础.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 非酒精性肝病; *ChREBP*基因; *PNPLA3*基因; 胰岛素抵抗

**核心提示:** 对ChREBP和*PNPLA3*在非酒精性肝病中的作用机制的深入研究, 将有利于对非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)等疾病的治疗提供新理论依据, 成为解决这系列健康问题的新途径. 对于消除人们对于NAFLD所带来的潜在的恐惧将具有极大的现实效果.

季玲, 李昌平. ChREBP及其靶基因*PNPLA3*在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 179-183 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.179>

## ■背景资料

随着生活水平、饮食习惯的改变和代谢综合征等患病率的上升, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发病率也在不断上升, 且有低龄化趋势. 影响范围甚广, 严重危害着人民的身心健康, 国内外已有较多关于ChREBP及其靶基因*PNPLA3*与NAFLD发病关系的研究, 但其发病机制仍不明确.

## ■同行评议者

孙学英, 教授, 哈尔滨医科大学第一附属医院



## ■研发前沿

NAFLD的发病可能是遗传-环境-代谢-应激等因素所致,但越来越多研究认为ChREBP、PNPLA3基因在NAFLD的发病中起着相当重要的作用。ChREBP、PNPLA3基因与NAFLD的关系日益成为现阶段的研究热点。

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是无过量饮酒史但肝病理学改变与酒精性肝病相似的临床病理综合征。按严重程度分为脂肪变性、脂肪肝、肝纤维化和坏死<sup>[1]</sup>,最终可发展成肝硬化、肝癌<sup>[2-6]</sup>。近年NAFLD成日益上升趋势,成为我国发达地区和富裕人群的常见病<sup>[7,8]</sup>。据统计全世界成人约10%-30%有NAFLD, 70%以上肥胖、糖尿病患者患有NAFLD, 肥胖儿童10%-50%患有NAFLD<sup>[9]</sup>,在我国上海地区NAFLD的发病率为15%<sup>[9]</sup>。目前其发病机制尚不完全清楚,可能是遗传环境、代谢应激等所致,常与肥胖、高脂血症、胰岛素抵抗等代谢综合征相关<sup>[10,11]</sup>。本文主要综述ChREBP(碳水化合物反应元件结合蛋白)及其靶基因PNPLA3基因(脂肪滋养蛋白或者含patatin样磷脂酶域3)在NAFLD发病中的作用。

## 1 碳水化合物反应元件结合蛋白

2001年Yamashita等<sup>[12]</sup>发现碳水化合物反应元件结合蛋白(carbohydrate response element binding protein, ChREBP),是一种与肝丙酮酸激酶(liver pyruvate kinase, LPK)基因启动子区的碳水化合物反应元件(carbohydrate response element, ChRE)相结合的蛋白。目前大量研究示ChREBP的靶基因主要是控制如肝型丙酮酸激酶(liver pyruvate kinase, LPK)、脂肪酸合酶(fatty acid synthase, FAS)、乙酰辅酶A羧化酶(acetyl-coenzyme A carboxylase, ACC)等糖脂代谢过程中酶类的表达<sup>[13]</sup>。在肝的代谢中起重要作用。

1.1 ChREBP的结构与功能 ChREBP属于转录因子Mondo-家族<sup>[14]</sup>,是由864个氨基酸组成的碱性螺旋-环-螺旋/亮氨酸拉链(bHLH/ZIP)大分子DNA结合蛋白,含聚脯氨酸区(PRO)、核定位信号区(nuclear localization signal, NLS)、亮氨酸拉链区(bHLH/ZIP)和类亮氨酸拉链(ZIP-like)区域(ZIP样区)(图1)<sup>[15]</sup>等多个结构域,还含有cAMP依赖蛋白激酶(protein kinase A, PKA)和AMP活化蛋白激酶(AMP-activated protein kinase, AMPK)的磷酸化位点,包括可以被PKA磷酸化的Ser196、Ser626、Thr666以及AMPK的磷酸化位点ser568(图1)。低糖时,ChREBP以不活泼的磷酸化形式存在于胞质中, Ser196和Thr666位点磷酸化。在高糖条件下,葡萄糖激活ChREBP,并去磷酸化进入细胞核变成有活性的ChREBP结合在葡萄糖反应基因的ChRE上,促进其转录。

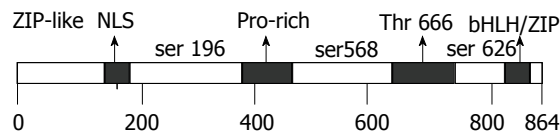


图1 ChREBP上的功能域和PKA及AMPK的磷酸化位点示意图。Ser196、Ser626和Thr666是PKA的3个磷酸化位点, Ser568是AMPK的磷酸化位点。PKA: 蛋白激酶; AMPK: AMP活化蛋白激酶。

1.2 ChREBP的作用机制及其表达的调控与活性调节 ChREBP是葡萄糖过程中的关键转录因子<sup>[16]</sup>,需异二聚体伴侣才能与ChRE序列结合并调控转录,只有M1x存在时,ChREBP才能结合到葡萄糖反应基因的ChRE上并激活其转录。ChREBP还可能通过其他因子共同调节。研究发现高浓度葡萄糖激活ChREBP表达,而胰高血糖素、游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)、cAMP抑制其表达<sup>[17]</sup>。而ChREBP活性的调节通过磷酸化位点的磷酸化和去磷酸化从细胞质到细胞核的转移以及转录活性的激活两个水平上进行调节。除此还有其他调节机制,如cha等报道肝x受体(liver x receptor, LXR)在转录水平上调控其表达; Hashimoto等<sup>[18]</sup>也证实了甲状腺激素可以上调其表达水平。Li等<sup>[14]</sup>也发现通过葡萄糖敏感组件(glucose-sensing module, GSM)的方式能控制ChREBP对葡萄糖的调节作用。

1.3 ChREBP在NAFLD中的作用 过多脂质堆积会出现肥胖、脂肪肝、胰岛素抵抗等代谢综合征。敲除ChREBP基因的ob/ob小鼠体质量明显下降,代谢综合症状也明显改善,且肝细胞内异常表达的糖酵解、脂质合成基因也得到了纠正<sup>[19]</sup>。Dentin等<sup>[20]</sup>研究示抑制肝ChREBP可以纠正小鼠脂肪肝和葡萄糖耐受情况,缓解小鼠的代谢综合征情况。所以抑制ChREBP活性可削弱高碳水化合物引起的过多脂质沉积、改善肥胖症状,成为解决肥胖、脂肪肝等新途径。ChREBP通过对成脂相关的基因的转录调控在肝脂质合成中起重要的决定因子的作用<sup>[21]</sup>。所以ChREBP在NAFLD的进展中起重要作用。

## 2 脂肪滋养蛋白或者含patatin样磷脂酶域3

目前NAFLD越来越多地被重视,有研究指出接触了相似危险因素的个体间NAFLD的发病率差异较大以及病程亦不同,这提示遗传、基因多态性与NAFLD发病及进程相关,目前磷脂酶家族成员A3(PNPLA3, SNP rs738409, 编码1148M)引起了广泛关注。国外许多报道证明PNPLA3基因多态性与NAFLD发生和发展有相关性<sup>[22,23]</sup>。

## ■相关报道

He等推断PNPLA3变异导致了肝甘油三酯的聚集, Dentin等研究示抑制肝ChREBP可以纠正小鼠脂肪肝和葡萄糖耐受情况,削弱高碳水化合物引起的过多脂质沉积、改善肥胖症状。他们可能成为解决肥胖、脂肪肝等新途径。

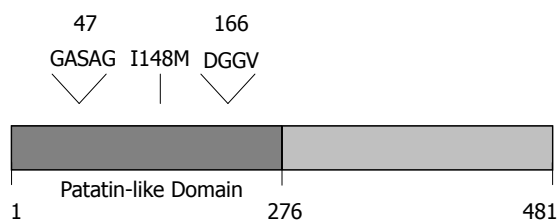


图2 PNPLA3蛋白的patatin样结构域示意图。PNPLA3是含有patatin样结构域蛋白, 由481个氨基酸编码的N端结构域含有两个经典的保守序列, 第148位的异亮氨酸, 位于两端保守序列之间, 蛋氨酸(Met148)替代异亮氨酸(Ile148)之后, 使其失去水解酶的活性, 增加了人体肝脏脂肪聚集的风险。

**2.1 PNPLA3概述及调节** PNPLA3(patatin-like phospholipase domain containing family member A3)又称脂肪滋养蛋白, 属patatin类磷酸酯酶结构域蛋白家族, 该家族蛋白在C末端有一个共有的patatin类结构域<sup>[24]</sup>, 位于22号染色体, 编码一种由481个氨基酸组成的非分泌性蛋白(图2)。PNPLA3主要在肝细胞内表达<sup>[25]</sup>, 主要定位在细胞膜脂间, 并可能在细胞膜和脂滴之间执行不同功能<sup>[26]</sup>。徐静等<sup>[27]</sup>发现PNPLA3在肝脂质代谢中起重要作用, 其表达水平的改变与脂肪合成密切相关。而PNPLA3可通过胆固醇应答元件结合蛋白1(sterol regulatory element binding protein-1, SREBP-1)结合到*PNPLA3*启动子区SREs上进行调节, 且*PNPLA3*启动子上游-4931--4915 bp之间的CHRE序列与ChREBP结合后激活PNPLA3转录<sup>[28]</sup>, 促进脂肪合成并影响糖代谢。PNPLA3还受营养因素、葡萄糖、胰岛素和LXR的激活剂T0901317调节<sup>[29]</sup>。

**2.2 PNPLA3基因与NAFLD** 研究发现*PNPLA3*基因是一易感NAFLD的关键遗传因素<sup>[30-34]</sup>, 与胰岛素抵抗密切相关<sup>[34-36]</sup>, Wang等<sup>[37]</sup>在最近的研究报道中也有类似的发现。国内外很多研究示PNPLA3多态性与肝脂肪含量、血ALT水平增加有关<sup>[38-41]</sup>, 还与酒精性肝病、病毒性肝炎甚至肝癌的疾病进展密切相关<sup>[41-43]</sup>。其突变可引起普通人群<sup>[44]</sup>、肥胖人群<sup>[45]</sup>、肝病患者谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)增高, 且该基因与肝炎、肝纤维化的发展也有密切联系<sup>[39,40,46]</sup>。*PNPLA3*突变是NAFLD疾病单纯性脂肪肝向肝炎进展的危险因子, 可能影响肝纤维化进展过程<sup>[47,48]</sup>。He等<sup>[49]</sup>推断PNPLA3变异导致了肝甘油三酯的聚集, Basantani等<sup>[50]</sup>也推断*PNPLA3*基因是参与了脂肪合成且其突变体能增强其脂肪合成的功能。Romeo等<sup>[32]</sup>发现在

11000例欧裔美国人中*PNPLA3*突变后有胆固醇累计现象。Sookoian等<sup>[31]</sup>也发现PNPLA3变异与NAFLD密切相关。这些都是以不同种族地区的人为研究对象, 说明在不同种族及地区PNPLA3多态性与肝脂肪含量及肝炎症有关且其变异也可能是不同种族地区间其易感性和肝脂肪含量差异的原因之一, 所以*PNPLA3*基因突变与总胆固醇、低密度脂蛋白明显相关<sup>[51]</sup>。因此, PNPLA3在NAFLD的发病中起重要作用。

### 3 结论

有关非酒精性肝病的防治研究中, 已初步证明ChREBP在糖脂代谢过程中发挥重要作用, 可能具有延缓脂肪肝发生进展的作用, 对治疗糖脂类代谢紊乱、肝疾病等有重大意义。PNPLA3与NAFLD的发生密切相关, 国内外虽有较多研究, 但其具体机制仍未阐明, 未来仍需更多研究来证实其对NAFLD的致病和病变发展的影响。对ChREBP和PNPLA3在非酒精性肝病中的作用机制的深入研究, 将有利于对NAFLD等疾病的治疗提供新的作用靶点及理论依据, 成为解决这系列健康问题的新途径。

### 4 参考文献

- 1 Brunt EM. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 195-203 [PMID: 20195271 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.21]
- 2 Lam B, Younossi ZM. Treatment options for nonalcoholic fatty liver disease. *Therap Adv Gastroenterol* 2010; 3: 121-137 [PMID: 21180596 DOI: 10.1177/1756283X09359964]
- 3 Bellentani S, Scaglioni F, Marino M, Bedogni G. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 155-161 [PMID: 20460905 DOI: 10.1159/000282080]
- 4 Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S4-S8 [PMID: 19381118]
- 5 Schmoldt A, Benthe HF, Haberland G. Digitoxin metabolism by rat liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1975; 24: 1639-1641 [DOI: 10.1016/0006-2952(75)90094-5]
- 6 Vernon G, Baranova A, Younossi ZM. Systematic review: the epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease and non-alcoholic steatohepatitis in adults. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 274-285 [PMID: 21623852 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04724.x]
- 7 Fan JG, Saibara T, Chitturi S, Kim BI, Sung JJ, Chutaputti A. What are the risk factors and settings for non-alcoholic fatty liver disease in Asia-Pacific? *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 794-800 [PMID: 17498218 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04952.x]
- 8 Fan JG. [Advances in research on nonalcoholic fatty liver disease]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2008; 16: 801-803 [PMID: 19032857 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]

### ■创新盘点

ChREBP以及*PNPLA3*基因与胰岛素抵抗、肝炎、肝纤维化的发展程度有着密切的联系, 但目前关于这方面的报道仍较少。本文探讨了ChREBP及其靶基因*PNPLA3*与NAFLD发病关系的研究以及他们对NAFLD的影响。

## ■应用要点

ChREBP调控糖酵解和脂肪生成途径,在肝脂肪变性、肥胖症、2型糖尿病、胰岛素抵抗等方面起重要作用,PNPLA3与肝炎、肝纤维化的发展程度也有密切的联系,因此他们可以为脂肪肝的发生和治疗提供更多的理论基础。

- 9 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878]
- 10 Nannipieri M, Gonzales C, Baldi S, Posadas R, Williams K, Haffner SM, Stern MP, Ferrannini E. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes: the Mexico City diabetes study. *Diabetes Care* 2005; 28: 1757-1762 [PMID: 15983331]
- 11 向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元. 脂肪肝相关危险因素的评估. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1038-1041
- 12 Yamashita H, Takenoshita M, Sakurai M, Bruick RK, Henzel WJ, Shillinglaw W, Arnot D, Uyeda K. A glucose-responsive transcription factor that regulates carbohydrate metabolism in the liver. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 9116-9121 [PMID: 11470916]
- 13 李小山, 何松. ChREBP及其靶基因在高脂大鼠非酒精性脂肪肝中的表达. *重庆医学* 2011; 40: 1671-8348
- 14 Li MV, Chang B, Imamura M, Pongvarin N, Chan L. Glucose-dependent transcriptional regulation by an evolutionarily conserved glucose-sensing module. *Diabetes* 2006; 55: 1179-1189 [PMID: 16644671]
- 15 符白英, 王继文, 韩春春. ChREBP和Mix在调控葡萄糖反应基因表达中的作用. *中国生物化学与分子生物学报* 2007; 23: 977-980
- 16 卢建雄, 陈粉粉, 杨公社. 调控糖酵解和生脂的重要转录因子: 碳水化合物反应元件结合蛋白. *生理科学进展* 2006; 37: 266-269
- 17 刘振山, 李齐发, 李学斌, 谢庄. 糖类应答元件结合蛋白-葡萄糖信号途径中的转录因子. *生命的化学* 2006; 26: 302-304
- 18 Hashimoto K, Ishida E, Matsumoto S, Okada S, Yamada M, Satoh T, Monden T, Mori M. Carbohydrate response element binding protein gene expression is positively regulated by thyroid hormone. *Endocrinology* 2009; 150: 3417-3424 [PMID: 19324998 DOI: 10.1210/en.2009-0059]
- 19 郑芳. 碳水化合物反应元件结合蛋白研究进展. *医学研究生学报* 2011; 24: 1008-8199
- 20 Dentin R, Benhamed F, Hainault I, Fauveau V, Foufelle F, Dyck JR, Girard J, Postic C. Liver-specific inhibition of ChREBP improves hepatic steatosis and insulin resistance in ob/ob mice. *Diabetes* 2006; 55: 2159-2170 [PMID: 16873678]
- 21 程维肖, 赵和平. 动态观察非酒精性脂肪肝大鼠肝脏ChREBP的表达. *山西医科大学学报* 2009; 40: 308-311
- 22 Krawczyk M, Grünhage F, Zimmer V, Lammert F. Variant adiponutrin (PNPLA3) represents a common fibrosis risk gene: non-invasive elastography-based study in chronic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 299-306 [PMID: 21168459 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.10.042]
- 23 Chen W, Chang B, Li L, Chan L. Patatin-like phospholipase domain-containing 3/adiponutrin deficiency in mice is not associated with fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 1134-1142 [PMID: 20648554 DOI: 10.1002/hep.23812]
- 24 Kienesberger PC, Oberer M, Lass A, Zechner R. Mammalian patatin domain containing proteins: a family with diverse lipolytic activities involved in multiple biological functions. *J Lipid Res* 2009; 50 Suppl: S63-S68 [PMID: 19029121 DOI: 10.1194/jlr.R800082-JLR200]
- 25 李冬阳, 林连捷, 郑长青. PNPLA3基因在非酒精性脂肪性肝病中的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1796-1801
- 26 Soni KG, Mardones GA, Sougrat R, Smirnova E, Jackson CL, Bonifacino JS. Coatamer-dependent protein delivery to lipid droplets. *J Cell Sci* 2009; 122: 1834-1841 [PMID: 19461073 DOI: 10.1242/jcs.045849]
- 27 徐静, 辛永宁, 宣世英. PNPLA3基因多态性与非酒精性脂肪性肝病关系的研究进展. *临床肝胆病杂志* 2012; 28: 316-320
- 28 Perttilä J, Huaman-Samanez C, Caron S, Tanhuanpää K, Staels B, Yki-Järvinen H, Olkkonen VM. PNPLA3 is regulated by glucose in human hepatocytes, and its I148M mutant slows down triglyceride hydrolysis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2012; 302: E1063-E1069 [PMID: 22338072 DOI: 10.1152/ajpendo.00125.2011]
- 29 Huang Y, He S, Li JZ, Seo YK, Osborne TF, Cohen JC, Hobbs HH. A feed-forward loop amplifies nutritional regulation of PNPLA3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 7892-7897 [PMID: 20385813 DOI: 10.1073/pnas.1003585107]
- 30 Valenti L, Alisi A, Galmozzi E, Bartoli A, Del Menico B, Alterio A, Dongiovanni P, Fargion S, Nobili V. I148M patatin-like phospholipase domain-containing 3 gene variant and severity of pediatric nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 1274-1280 [PMID: 20648474 DOI: 10.1002/hep.23823]
- 31 Sookoian S, Castaño GO, Burgueño AL, Gianotti TF, Rosselli MS, Pirola CJ. A nonsynonymous gene variant in the adiponutrin gene is associated with nonalcoholic fatty liver disease severity. *J Lipid Res* 2009; 50: 2111-2116 [PMID: 19738004 DOI: 10.1194/jlr.P900013-JLR200]
- 32 Romeo S, Kozlitina J, Xing C, Pertsemlidis A, Cox D, Pennacchio LA, Boerwinkle E, Cohen JC, Hobbs HH. Genetic variation in PNPLA3 confers susceptibility to nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Genet* 2008; 40: 1461-1465 [PMID: 18820647 DOI: 10.1038/ng.257]
- 33 Kotronen A, Johansson LE, Johansson LM, Roos C, Westerbacka J, Hamsten A, Bergholm R, Arkkila P, Arola J, Kiviluoto T, Fisher RM, Ehrenborg E, Orholm-Melander M, Ridderstråle M, Groop L, Yki-Järvinen H. A common variant in PNPLA3, which encodes adiponutrin, is associated with liver fat content in humans. *Diabetologia* 2009; 52: 1056-1060 [PMID: 19224197 DOI: 10.1007/s00125-009-1285-z]
- 34 Li X, Zhao Q, Wu K, Fan D. I148M variant of PNPLA3 confer increased risk for nonalcoholic fatty liver disease not only in European population, but also in Chinese population. *Hepatology* 2011; 54: 2275 [PMID: 21793025 DOI: 10.1002/hep.24567]
- 35 Johansson LE, Lindblad U, Larsson CA, Råstam L, Ridderstråle M. Polymorphisms in the adiponutrin gene are associated with increased insulin secretion and obesity. *Eur J Endocrinol* 2008; 159: 577-583 [PMID: 18728122 DOI: 10.1530/EJE-08-0426]
- 36 Palmer CN, Maglio C, Pirazzi C, Burza MA, Adiels M, Burch L, Donnelly LA, Colhoun H, Doney AS, Dillon JF, Pearson ER, McCarthy M, Hattersley AT, Frayling T, Morris AD, Peltonen M, Svensson PA, Jacobson P, Borén J, Sjöström L, Carlsson LM, Romeo S. Paradoxical lower serum triglyceride levels and higher type 2 diabetes mellitus susceptibility in obese individuals with the PNPLA3 148M variant. *PLoS One* 2012; 7: e39362 [PMID: 22724004 DOI: 10.1371/journal.pone.0039362]
- 37 Wang CW, Lin HY, Shin SJ, Yu ML, Lin ZY, Dai CY, Huang JF, Chen SC, Li SS, Chuang WL. The



- PNPLA3 I148M polymorphism is associated with insulin resistance and nonalcoholic fatty liver disease in a normoglycaemic population. *Liver Int* 2011; 31: 1326-1331 [PMID: 21745282 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02526.x]
- 38 Speliotes EK, Butler JL, Palmer CD, Voight BF, Hirschhorn JN. PNPLA3 variants specifically confer increased risk for histologic nonalcoholic fatty liver disease but not metabolic disease. *Hepatology* 2010; 52: 904-912 [PMID: 20648472 DOI: 10.1002/hep.23768]
- 39 Rotman Y, Koh C, Zmuda JM, Kleiner DE, Liang TJ. The association of genetic variability in patatin-like phospholipase domain-containing protein 3 (PNPLA3) with histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 52: 894-903 [PMID: 20684021 DOI: 10.1002/hep.23759]
- 40 Kollerits B, Coassin S, Kiechl S, Hunt SC, Paulweber B, Willeit J, Brandstätter A, Lamina C, Adams TD, Kronenberg F. A common variant in the adiponutrin gene influences liver enzyme values. *J Med Genet* 2010; 47: 116-119 [PMID: 19542081 DOI: 10.1136/jmg.2009.066597]
- 41 Trépo E, Gustot T, Degré D, Lemmers A, Verset L, Demetter P, Ouziel R, Quertinmont E, Vercruysse V, Amininejad L, Deltenre P, Le Moine O, Devière J, Franchimont D, Moreno C. Common polymorphism in the PNPLA3/adiponutrin gene confers higher risk of cirrhosis and liver damage in alcoholic liver disease. *J Hepatol* 2011; 55: 906-912 [PMID: 21334404 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.01.028]
- 42 Trépo E, Pradat P, Potthoff A, Momozawa Y, Quertinmont E, Gustot T, Lemmers A, Berthillon P, Amininejad L, Chevallier M, Schlué J, Kreipe H, Devière J, Manns M, Trépo C, Sninsky J, Wedemeyer H, Franchimont D, Moreno C. Impact of patatin-like phospholipase-3 (rs738409 C > G) polymorphism on fibrosis progression and steatosis in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 54: 60-69 [PMID: 21488075 DOI: 10.1002/hep.24350]
- 43 Trepo E, Guyot E, Ganne-Carrie N, Degre D, Gustot T, Franchimont D, Sutton A, Nahon P, Moreno C. PNPLA3 (rs738409 C > G) is a common risk variant associated with hepatocellular carcinoma in alcoholic cirrhosis. *Hepatology* 2012; 55: 1307-1308 [PMID: 22162034 DOI: 10.1002/hep.25518]
- 44 Li Q, Qu HQ, Rentfro AR, Grove ML, Mirza S, Lu Y, Hanis CL, Fallon MB, Boerwinkle E, Fisher-Hoch SP, McCormick JB. PNPLA3 polymorphisms and liver aminotransferase levels in a Mexican American population. *Clin Invest Med* 2012; 35: E237-E245 [PMID: 22863562]
- 45 Romeo S, Sentinelli F, Cambuli VM, Incani M, Congiu T, Matta V, Pilia S, Huang-Doran I, Cossu E, Loche S, Baroni MG. The 148M allele of the PNPLA3 gene is associated with indices of liver damage early in life. *J Hepatol* 2010; 53: 335-338 [PMID: 20546964 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.02.034]
- 46 Santoro N, Kursawe R, D'Adamo E, Dykas DJ, Zhang CK, Bale AE, Calí AM, Narayan D, Shaw MM, Pierpont B, Savoye M, Lartaud D, Eldrich S, Cushman SW, Zhao H, Shulman GI, Caprio S. A common variant in the patatin-like phospholipase 3 gene (PNPLA3) is associated with fatty liver disease in obese children and adolescents. *Hepatology* 2010; 52: 1281-1290 [PMID: 20803499 DOI: 10.1002/hep.23832]
- 47 Valenti L, Al-Serri A, Daly AK, Galmozzi E, Rametta R, Dongiovanni P, Nobili V, Mozzi E, Roviario G, Vanni E, Bugianesi E, Maggioni M, Fracanzani AL, Fargion S, Day CP. Homozygosity for the patatin-like phospholipase-3/adiponutrin I148M polymorphism influences liver fibrosis in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2010; 51: 1209-1217 [PMID: 20373368 DOI: 10.1002/hep.23622]
- 48 Sookoian S, Pirola CJ. Meta-analysis of the influence of I148M variant of patatin-like phospholipase domain containing 3 gene (PNPLA3) on the susceptibility and histological severity of nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2011; 53: 1883-1894 [PMID: 21381068 DOI: 10.1002/hep.24283]
- 49 He S, McPhaul C, Li JZ, Garuti R, Kinch L, Grishin NV, Cohen JC, Hobbs HH. A sequence variation (I148M) in PNPLA3 associated with nonalcoholic fatty liver disease disrupts triglyceride hydrolysis. *J Biol Chem* 2010; 285: 6706-6715 [PMID: 20034933 DOI: 10.1074/jbc.M109.064501]
- 50 Basantani MK, Sitnick MT, Cai L, Brenner DS, Gardner NP, Li JZ, Schoiswohl G, Yang K, Kumari M, Gross RW, Zechner R, Kershaw EE. Pnpla3/Adiponutrin deficiency in mice does not contribute to fatty liver disease or metabolic syndrome. *J Lipid Res* 2011; 52: 318-329 [PMID: 21068004 DOI: 10.1194/jlr.M011205]
- 51 Kollerits B, Coassin S, Beckmann ND, Teumer A, Kiechl S, Döring A, Kavousi M, Hunt SC, Lamina C, Paulweber B, Kutalik Z, Nauck M, van Duijn CM, Heid IM, Willeit J, Brandstätter A, Adams TD, Mooser V, Aulchenko YS, Völzke H, Kronenberg F. Genetic evidence for a role of adiponutrin in the metabolism of apolipoprotein B-containing lipoproteins. *Hum Mol Genet* 2009; 18: 4669-4676 [PMID: 19729411 DOI: 10.1093/hmg/ddp424]

## ■同行评价

本文对ChREBP、PNPLA3两种蛋白的分子结构、功能和在脂肪肝的发生中的作用进行了综述,有一定的科学意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 诱发电位在功能性肠病研究中的价值

张琼, 倪敏, 周惠芬, 丁曙晴, 樊志敏

## ■背景资料

近年来随着神经胃肠学的发展, “脑-肠轴”、“脑肠互动”相继被提出, 脑-肠轴在功能性肠病诊治中的作用有待进一步证实和深入。

张琼, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

倪敏, 周惠芬, 丁曙晴, 樊志敏, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科 江苏省南京市 210001

张琼, 在读研究生, 主要从事肛肠疾病方面的学习和研究。

2012江苏省自然科学基金资助项目, No. 2012省-153

2011南京市医学科技发展基金资助项目, No. QYK11134

作者贡献分布: 文献查阅、分析及论文写作由张琼、倪敏、周惠芬及丁曙晴完成; 樊志敏审校。

通讯作者: 樊志敏, 主任中医师, 硕士生导师, 210001, 江苏省南京市秦淮区金陵路1号, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科。fanzm711@163.com

电话: 025-52276501

收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-11-14

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2014-01-18

## Value of evoked potential in study of functional bowel disorders

Qiong Zhang, Min Ni, Hui-Fen Zhou, Shu-Qing Ding, Zhi-Min Fan

Qiong Zhang, Department of TCM Surgery, the First School of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Min Ni, Hui-Fen Zhou, Shu-Qing Ding, Zhi-Min Fan, National Medical Center for Colorectal Disease, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. 2012-153; and the Nanjing Medical Science and Technology Development Foundation, No. QYK11134

Correspondence to: Zhi-Min Fan, Chief TCM Physician, Department of Anorectal Surgery, Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Qinhuai District, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. fanzm711@163.com

Received: 2013-10-23 Revised: 2013-11-14

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2014-01-18

## Abstract

In recent years, the development of neurogastroenterology and the application of neurophysiologic examinations have gradually revealed the association of gastrointestinal activity with cortical activity through the efferent and afferent pathways. The state of nerve conduction pathway between the brain and gastrointestinal tract is closely related with specific functions of the anus and rectum. Scholars have put forward the "brain gut axis" and "brain gut interaction" theories to explain the bidirectional interaction

between the gastrointestinal tract and central nervous system. Evoked potentials have an important role in the diagnosis and research of electrophysiological changes in various parts of the neural system, which provides practical information for the study of the brain-gut pathway, promotes the diagnosis and understanding of diseases related to the brain-gut axis abnormalities, and provides the basis for developing new treatment methods. In this paper, we summarize the roles of various evoked potential techniques in the study of functional bowel disorders.

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

Key Words: Functional bowel disease; Evoked potential; Brain gut axis

Zhang Q, Ni M, Zhou HF, Ding SQ, Fan ZM. Value of evoked potential in study of functional bowel disorders. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 184-189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/184.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.184>

## 摘要

近年来, 随着神经胃肠病学的发展及神经生理学检查的应用, 逐步揭示了胃肠道活动通过各处的传出和传入通路与大脑皮质活动相关联。大脑中枢和胃肠道之间传出及传入神经通路状态与肛门直肠的具体功能密切联系, 学者们提出“脑肠轴”、“脑肠互动”解释消化系统与中枢神经系统之间的双向作用。诱发电位在诊断及研究神经系统各部位电生理变化方面有重要作用, 并为研究脑-肠传导通路提供了具体信息, 促进了对脑-肠轴异常相关疾病的诊断和理解, 为探索新的治疗方法提供依据。本文在文献研究的基础上, 对各种诱发电位技术在功能性肠病研究中的作用作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 功能性肠病; 诱发电位; 脑肠轴

核心提示: 神经胃肠学发现: 大脑和胃肠道之

## ■同行评议者

齐清会, 教授, 大连医科大学附属第一医院

间的传出和传入神经通路与支配肛门和直肠功能的感知觉和反射作用密切相关, 因此“脑肠轴”、“脑肠互动”被提出用以说明消化系与中枢神经系统之间具有双向作用. 诱发电位为研究脑-肠传出通路提供了具体信息, 促进了对脑-肠轴异常相关疾病的诊断和理解.

张琼, 倪敏, 周惠芬, 丁曙晴, 樊志敏. 诱发电位在功能性肠病研究中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 184-189 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/184.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.184>

## 0 引言

功能性肠病(functional bowel disorders, FBDs)是一组表现为肠道运动与分泌功能失调而无器质性改变的综合征, 临床表现为腹痛、腹部不适、排便习惯及大便性状异常持续存在或间歇发作的非器质性、非感染性肠道病. 在罗马III标准中被分为肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)、功能性腹胀、功能性便秘、功能性腹泻和非特异性功能性肠病5类<sup>[1-3]</sup>. 由于功能性肠病病因的多样性及症状存在的长期性, 使其严重影响着人们的身心健康以及生活质量, 因此对其临床诊治的研究也越来越受到国内外学者们的重视. 有研究发现, 胃肠道总是在与大脑进行着比其他内脏器官更加密切、复杂的“互动”, 随着神经影像学发展和电生理技术的应用, 逐步揭示了胃肠道活动通过各处的传出和传入通路与大脑皮质活动相关并且受到调节, 即“脑肠互动”. “脑-肠轴”、“脑肠互动”在功能性肠病诊治中的作用越来越受到重视. 本文在文献研究的基础上, 对各种诱发电位技术在功能性肠病研究中的作用作一综述.

## 1 体感诱发电位

体感诱发电位(cerebral evoked potentials, CEP)系指对神经系统某一特定部位给予适宜刺激后, 在该系统和脑的相应部位产生的可检出的与刺激有相对固定时间间隔和特定定位相的生物电反应. 这种刺激特异性的CEP在每个刺激后的固定时间内产生, 而其他的脑电活动无此特点. 因此, 通过将记录到的皮层电活动进行叠加后平均可以把这些刺激特异性的CEP从大脑的背景电活动中分离出来. 直肠刺激CEP是刺激直肠的肠壁感受器, 通过特定的感觉传导通路记录到的脑诱发电位, 可用于判断直肠接受刺激后感觉传导通路的情况. 目前国内外研究应用较多的两

种刺激方法-机械扩张刺激和电刺激, 他们产生的CEP形态相似, 峰间潜伏期无差异, 提示两种刺激激活了相同的皮层神经网络<sup>[4]</sup>. 电刺激为电脉冲刺激, 与机械扩张刺激相比, 直肠受电刺激后产生的收缩可以影响刺激电极和肠壁的接触, 所以电刺激后记录的CEP变异度较小. 故电刺激优点明确: 刺激操作简便; 刺激部位准确, 易于定量控制及测量; 刺激得到的诱发电位波幅较高, 潜伏期明确, 可重复性好, 图像清晰<sup>[5-7]</sup>. Chan等<sup>[8]</sup>与Hobday等<sup>[9]</sup>通过对IBS患者和健康志愿者直肠刺激后CEP的比较, 发现IBS患者CEP潜伏期缩短, 振幅增加, 而且IBS患者餐后CEP出现早期峰值(潜伏期100 ms左右)的概率较高, 并且餐前餐后都有类似的短小波型. 这些发现为IBS内脏传入敏感机制提供了依据. IBS主要表现为腹部不适或腹痛伴排便习惯改变, Rössel等<sup>[10,11]</sup>通过肠道刺激在相关的内部或外部的牵涉痛区记录到相应的短潜伏期体感诱发电位, 通过对照, 发现IBS患者的中枢应答发生了改变; Drewes等<sup>[12]</sup>对伴有内脏痛的肠易激综合征患者给予乙状结肠电刺激后通过脑诱发电位记录到大脑皮质发生变化并涉及到前部扣带回, 这些都说明脑肠相互作用对疼痛的IBS等胃肠道疾病相关机制的理解具有重要作用. Loening-Baucke等<sup>[13]</sup>研究便秘和肛门失禁儿童的肛门直肠CEP应答, 发现早期诱发电位的潜伏期延长了. 此外, 最新的研究发现成年盆底失迟缓便秘患者的肛门和直肠感觉诱发电位比正常人群的潜伏期有所延长, 但振幅有所降低<sup>[14]</sup>. 这表明盆底失迟缓便秘患者的胃肠道和大脑之间的感觉传入通路可能受损. 动物实验显示电刺激运动神经皮层(邻近大脑镰)的内层表面可以直接引出肛门括约肌收缩反应, 但是以人为研究对象的关于会阴部等区域的肛门直肠肌肉对大脑皮质层刺激的反应应答研究则很少.

目前关于传入神经通路的研究除了CEP, 还有功能性脑成像包括正电子发射断层扫描(positron emission tomography, PET)和功能性磁共振成像(functional magnetic resonance imaging, fMRI). PET和fMRI的共同特征是通过观察局部脑血流或血氧水平依赖性信号变化来显示参与人体活动调节的中枢部位<sup>[7,10]</sup>. 而CEP记录的则是脑干或大脑皮质对刺激的应答, 是通过非侵入性头皮电极直接实时检测脑电活动而获得, 这种方法客观、定量的评估了感觉传入通路状态, 涉及整个传入通路(包括脊髓和大脑皮层)<sup>[15]</sup>.

## ■研发前沿

诱发电位是一种新颖的检测脑-肠轴神经传导通路的方法, 促进了对脑-肠轴异常相关疾病的诊断和理解, 为探索新的治疗方法提供理论依据. 其技术检测方法需要进一步的完善, 相关参数和标准有待进一步规范.

## ■相关报道

目前诱发电位在疾病的诊疗中应用较多的是脑部及中枢神经系统方面的疾病, 对于在功能性肠病中的应用相关报道较少, 且偏于实验研究方面.



## ■创新盘点

在文献研究的基础上总结盆地诱发电位及相关的脑诱发电位在功能性肠病中的应用,未涉及实验研究,展示了一种新颖的检测脑-肠轴神经传导通路的方法,为从脑论治功能性肠病提供了依据。

故CEP的优势是实时显示脑电活动,并且是非侵入和完全无害的。当然这项检查目前主要是在实验室开展,临床推广还需要一段时间。

## 2 运动诱发电位

运动诱发电位(motor evoked potential, MEP)系指用电或磁刺激大脑皮层,使锥体细胞轴突产生一个去极化的动作电位,在锥体束或骨骼肌上进行记录的一项检查运动神经系统功能的神经电生理学方法。运动诱发电位MEP是检测运动系统传导功能状态的神经电生理技术,能够检测运动神经通路不同部位的传导功能状态<sup>[16-18]</sup>,其波幅反映放电神经元的数量、潜伏期的长短反映神经传导速度<sup>[19,20]</sup>。MEP根据刺激方式不同,分为电或磁刺激MEP;根据刺激部位的不同,又分为经颅刺激MEP、经腰刺激MEP和术中直接刺激MEP。经颅磁刺激运动诱发电位可反映皮层至肛门直肠的运动通路,经腰磁刺激运动诱发电位反映的是腰脊神经根至肛门直肠的运动通路。Barker等<sup>[21]</sup>首次报道了这个技术,是一种新的无创的不适感极小的皮质层磁刺激技术。MacDonald等<sup>[22]</sup>详细阐述了电刺激的安全问题,认为经颅刺激时大多数电流没有穿透颅骨,每一阶段的刺激在脑内的电流水平比用于脑定位的直接电刺激的电流水平要低,故MEP是一种安全可行神经通路检测技术。

经颅磁刺激运动诱发电位(transcranial magnetic stimulation-motor evoked potential, TMS-MEP)是指经颅的磁刺激激活了皮层运动神经元通路,使得兴奋下行至脊髓运动神经元,激活其支配的效应器-肌肉,并产生复合肌肉动作电位<sup>[21,23]</sup>。TMS是无创性评估神经系统传导通路功能、运动皮质兴奋性的重要手段,有完善的应用在神经和精神疾病的神经科学基础,具有广阔的应用前景<sup>[24-28]</sup>。Ertekin和Hamdy等学者先后报道了TMS-MEP对正常人肛门括约肌的研究<sup>[29-32]</sup>,但国内对正常人群的研究目前还没有报道。目前,TMS-MEP已经被广泛地运用于评定中枢运动通路功能,被认为是检测和诊断中枢运动功能障碍的唯一直接而灵敏的方法<sup>[33]</sup>。与健康对照组比较,功能性便秘(functional constipation, FC)患者组MEP的波形分化良,变异性大,重复性差,证明FC患者皮质-肛门直肠运动神经通路存在异常,提示功能性便秘的发生可能与脑-肠轴传出通路异常有关<sup>[34]</sup>。肛门括约肌对维持肛门功能,控制排便有着重要作用,其受到大脑皮

质及皮质下通路的控制。目前皮质定位图说明直肠和肛门应答的高级运动中枢在第四脑室区<sup>[35]</sup>,通过磁刺激皮质层第四脑室区,记录肛门外括约肌MEP,故而评估大脑中枢皮质至肛门直肠整个运动通路的状态。另外磁刺激腰骶运动神经根和阴部神经可以评估脊髓到肛门的运动通路状态<sup>[36,37]</sup>。Rao等<sup>[38]</sup>与Remes-Troche等<sup>[39]</sup>研究采用磁刺激腰脊神经根并在肛门括约肌处记录磁刺激,评估外周神经的传导功能。倪敏等<sup>[34]</sup>研究发现,FC患者磁刺激腰骶脊神经根运动诱发电位(MS-LMEP)与健康志愿者比较,潜伏期延长,波幅降低,提示脊髓到肛门的周围神经运动通路可能受损。近年来,还有学者尝试联合应用脑功能成像技术与电刺激MEP技术,提高脑功能定位的阳性率<sup>[40-42]</sup>。TMS-CMEP研究了大脑皮质-肛门直肠整个传出通路状态,为脑-肠轴传出通路提供了信息,促进了对脑-肠轴异常相关疾病的诊断和理解,并且为探索新的治疗方法提供理论依据。

## 3 事件相关电位

3.1 事件相关电位 事件相关电位(event-related potentials, ERP)是一种特殊的脑诱发电位,是人对某客观事物进行认知加工(如注意、记忆、思维)时,通过平均叠加从头颅表面记录到的大脑电位,一般在某刺激的出现对被试者来说具有重要意义时出现。研究认为,该电位与“认知过程”密切相关,是“窥视”心理活动的一个“窗口”。ERP包括P300、N400、阴性相减波、失匹配阴性波、运动相关电位及伴随负反应等,与识别、期待、比较、判断、记忆和决断过程有关。目前应用较多的主要是P300,他能反映人心理过程的电位变化。

3.2 ERP在功能性肠病中的应用 脑-肠轴的提出,为进一步认识精神心理因素对胃肠道病理生理的影响提供了理论依据。有关文献<sup>[43]</sup>表明精神心理异常可影响消化系激素分泌和对胃肠运动的调节。心理障碍尤其是焦虑可增加盆底肌群的紧张度,从而引起排便时肛门直肠矛盾运动,导致便秘。精神心理因素是引起胃肠道功能紊乱的重要因素,部分学者认为功能性肠病亦是一种典型的心身疾病,是心理障碍的躯体化表现<sup>[44]</sup>。张晓敏等<sup>[45]</sup>采用Zung焦虑自评量表和抑郁自评量表调查发现功能性肠病患者多伴有焦虑、抑郁倾向。Neal等<sup>[46]</sup>通过研究结肠炎后IBS,发现有焦虑和抑郁心理的IBS患者症状难以恢

复,心理变化是IBS的基础.严重焦虑的IBS患者表现出前脑部事件相关电位明显增强<sup>[47]</sup>.还有学者认为各种精神心理因素,特别是长期处于高紧张状态,可以造成脑肠轴的紊乱,引起内脏感觉过敏,进而造成胃肠道功能紊乱<sup>[16]</sup>.近年来众多研究显示,心理社会因素与IBS,尤其是与非便秘型IBS的发生、发展和预后密切相关.普通IBS患者中有40%-90%存在不同程度的焦虑、抑郁等精神心理障碍,其中难治性IBS患者焦虑障碍高达83.3%,抑郁障碍高达76.7%,与健康人群相比,IBS患者中心理障碍的发病率更高<sup>[48]</sup>.Dykes等<sup>[49]</sup>对28例女性难治性特发性便秘患者进行便秘与心理因素的研究,采用标准化诊断量表评价患者的既往和近期精神心理状态,结果表明61%的患者有近期精神心理障碍,64%患者有精神心理疾病.Chattat等<sup>[50]</sup>研究了45例正常传输型及29例慢传输型便秘患者的疾病行为及情感状态.并与正常人群相比较,发现便秘患者比正常人群表现出更多的心理压抑,便秘患者中正常传输型患者的疾病行为指数显著增高.如何客观有效地研究功能性肠病患者心理和精神异常表现,以及心理异常如何参与排便功能异常的形成一直困扰着广大学者及临床医生.使用传统的心理学方法,如行为观察、各类问卷、量表等只是根据言语反应及个体外部行为的表现或结果去推断或解释心理活动,得到的结论有很大的局限性.

令人振奋的是,1965年Satton开创的事件相关电位ERP为解决此难题提供了一个客观又可行的手段.其与复杂的多层次心理因素(认知过程)有关,是感觉、知觉、记忆、理解、学习及判断等心理过程的电位变化反映,是人对客观事物的反应过程,因而,现已作为判断大脑高级功能的一个客观指标,应用于精神及心理研究,为高级中枢参与功能性肠病患者排便功能异常的形成提供了客观依据.

#### 4 结论

机体可以通过脑肠轴之间的神经内分泌网络的双向环路进行胃肠功能的调节,为从脑论治功能性肠病提供了依据.而盆底诱发电位通过记录神经刺激和反应之间的潜伏期和波幅,来检测相应的神经传导通路是否存在异常,确定神经损伤在哪一环节,进一步证明了脑肠轴在功能性肠病诊治中的重要作用.

目前诱发电位关于功能性肠病电生理方面

的研究还有待进一步的完善,对于脑肠轴在功能性肠病中的作用机制通过诱发电位的研究有望得到进一步的明确.尽管目前这些诱发电位的研究主要用于盆底中心实验室,但以后这些检查将得到更广泛的临床应用,为肛门直肠疾病的诊断提供帮助.随着国内外学者对功能性肠病研究的不断深入,相信在不久的将来,诱发电位技术将日趋完善,并广泛应用于临床,为功能性肠病患者摆脱疾病的困扰.

#### 5 参考文献

- 1 秦环龙,杨俊.功能性肠病的多学科治疗.中国实用外科杂志 2011; 31: 50-51
- 2 秦德刚.功能性肠病的中医辨证治疗.中国现代药物应用 2013; 7: 91-92
- 3 张学君,陈采益.基于脑肠轴学说探讨针灸治疗功能性肠病的思路.福建中医药大学学报 2011; 21: 55-58
- 4 Hobday DI, Hobson A, Furlong PL, Thompson DG, Aziz Q. Comparison of cortical potentials evoked by mechanical and electrical stimulation of the rectum. *Neurogastroenterol Motil* 2000; 12: 547-554 [PMID: 11123710 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2000.00231.x]
- 5 Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. Methods to assess visceral hypersensitivity in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G141-G154 [PMID: 22595988 DOI: 10.1152/ajpgi.00060.2012]
- 6 Drewes AM, Dimcevski G, Sami SA, Funch-Jensen P, Huynh KD, Le Pera D, Arendt-Nielsen L, Valeriani M. The "human visceral homunculus" to pain evoked in the oesophagus, stomach, duodenum and sigmoid colon. *Exp Brain Res* 2006; 174: 443-452 [PMID: 16676165 DOI: 10.1007/s00221-006-0480-0]
- 7 Sinhamahapatra P, Saha SP, Chowdhury A, Chakrabarti SK, Ghosh A, Maiti B. Visceral afferent hypersensitivity in irritable bowel syndrome-evaluation by cerebral evoked potential after rectal stimulation. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2150-2157 [PMID: 11467647]
- 8 Chan YK, Herkes GK, Badcock C, Evans PR, Bennett E, Kellow JE. Alterations in cerebral potentials evoked by rectal distension in irritable bowel syndrome. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2413-2417 [PMID: 11513183 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.04088.x]
- 9 Hobday DI, Hobson AR, Sarkar S, Furlong PL, Thompson DG, Aziz Q. Cortical processing of human gut sensation: an evoked potential study. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2002; 283: G335-G339 [PMID: 12121880]
- 10 Rössel P, Arendt-Nielsen L, Niddam D, Chen AC, Drewes AM. Short latency cerebral response evoked by painful electrical stimulation applied to the human sigmoid colon and to the convergent referred somatic pain area. *Exp Brain Res* 2003; 151: 115-122 [PMID: 12712308 DOI: 10.1007/s00221-003-1484-7]
- 11 Rössel P, Pedersen P, Niddam D, Arendt-Nielsen L, Chen AC, Drewes AM. Cerebral response to electric stimulation of the colon and abdominal skin in healthy subjects and patients with irritable bowel syndrome. *Scand J Gastroenterol* 2001; 36: 1259-1266 [PMID: 11761014 DOI: 10.1080/003

#### ■应用要点

经颅磁刺激运动诱发电位可反映皮层至肛门直肠的运动通路,经腰磁刺激运动诱发电位反映的是腰脊神经根至肛门直肠的运动通路.通过诱发电位可记录神经刺激和反应之间的潜伏期和波幅,来检测相应的神经传导通路是否存在异常,确定神经损伤在哪一环节,可进一步证明了脑肠轴在功能性肠病诊治中的重要作用.

## ■名词解释

功能性肠病: 表现为肠道运动与分泌功能失调而无器质性改变的综合征, 临床表现为腹痛、腹部不适、排便习惯及大便秘结异常持续存在或间歇发作的非器质性、非感染性肠道病。在罗马Ⅲ标准中被分为肠易激综合征、功能性腹胀、功能性便秘、功能性腹泻和非特异性功能性肠病5类;

脑肠轴: 将认知和情感中枢与神经内分泌、肠神经系统、免疫系统相联系的双向交通通路, 他是人体一个巨大的神经内分泌免疫网络系统, 并且是双向通路, 一方面刺激和将内在信息通过肠神经链与高级神经中枢相连接影响胃肠感觉、动力和分泌等; 另一方面内脏作用又反过来作用于中枢的痛感、情绪和行为。

- 655201317097092]
- 12 Drewes AM, Rössel P, Le Pera D, Arendt-Nielsen L, Valeriani M. Cortical neuroplastic changes to painful colon stimulation in patients with irritable bowel syndrome. *Neurosci Lett* 2005; 375: 157-161 [PMID: 15694251 DOI: 10.1016/j.neulet.2004.11.011]
- 13 Loening-Baucke V, Yamada T. Is the afferent pathway from the rectum impaired in children with chronic constipation and encopresis? *Gastroenterology* 1995; 109: 397-403 [PMID: 7615188 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90326-7]
- 14 林峰. 功能性胃肠病研究新进展. 中国医药指南 2013; 11: 76-79
- 15 Remes-Troche JM, Tantiphlachiva K, Attaluri A, Valestin J, Yamada T, Hamdy S, Rao SS. A bi-directional assessment of the human brain-anorectal axis. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 240-248, e117-e118 [PMID: 20964791 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01619.x]
- 16 Yang JH, Suh SW, Modi HN, Ramani ET, Hong JY, Hwang JH, Jung WY. Effects of vertebral column distraction on transcranial electrical stimulation-motor evoked potential and histology of the spinal cord in a porcine model. *J Bone Joint Surg Am* 2013; 95: 835-842, S1-2 [PMID: 23636191 DOI: 10.2106/JBJS.K.00575]
- 17 Lim KB, Kim JA. Activity of daily living and motor evoked potentials in the subacute stroke patients. *Ann Rehabil Med* 2013; 37: 82-87 [PMID: 23525518 DOI: 10.5535/arm.2013.37.1.82]
- 18 Akgün H, Yücel M, Öz O, Demirkaya Ş. Usefulness of somatosensory and motor evoked potentials for lesion localization. *Clin Neurol Neurosurg* 2013; 115: 1917-1918 [PMID: 23481898 DOI: 10.1016/j.clineuro.2013.02.011]
- 19 孙申, 黄绍强, 梁伟民. 电刺激运动诱发电位(MEP)临床研究进展. 复旦学报(医学版) 2013; 40: 112-115
- 20 伍芳, 龚标, 李学智, 黄思琴, 王力, 方毅, 李凤, 吕凯. 电针对局灶性脑梗死大鼠Nogo-A及其受体NgR和运动诱发电位的影响. 第三军医大学学报 2013; 35: 228-232
- 21 Barker AT, Jalinous R, Freeston IL. Non-invasive magnetic stimulation of human motor cortex. *Lancet* 1985; 1: 1106-1107 [PMID: 2860322 DOI: 10.1016/S0140-6736(85)92413-4]
- 22 MacDonald DB. Safety of intraoperative transcranial electrical stimulation motor evoked potential monitoring. *J Clin Neurophysiol* 2002; 19: 416-429 [PMID: 12477987 DOI: 10.1097/00004691-200210000-00005]
- 23 Turnbull GK, Hamdy S, Aziz Q, Singh KD, Thompson DG. The cortical topography of human anorectal musculature. *Gastroenterology* 1999; 117: 32-39 [PMID: 10381907 DOI: 10.1016/S0016-5085(99)70547-0]
- 24 Di Lazzaro V, Oliviero A, Tonali PA, Marra C, Daniele A, Profice P, Saturno E, Pilato F, Masullo C, Rothwell JC. Noninvasive in vivo assessment of cholinergic cortical circuits in AD using transcranial magnetic stimulation. *Neurology* 2002; 59: 392-397 [PMID: 12177373 DOI: 10.1212/WNL.59.3.392]
- 25 Pennisi G, Ferri R, Lanza G, Cantone M, Pennisi M, Puglisi V, Malaguarnera G, Bella R. Transcranial magnetic stimulation in Alzheimer's disease: a neurophysiological marker of cortical hyperexcitability. *J Neural Transm* 2011; 118: 587-598 [PMID: 21207079 DOI: 10.1007/s00702-010-0554-9]
- 26 Salinas FS, Narayana S, Zhang W, Fox PT, Szabó C. Repetitive transcranial magnetic stimulation elicits rate-dependent brain network responses in non-human primates. *Brain Stimul* 2013; 6: 777-787 [PMID: 23540281 DOI: 10.1016/j.brs.2013.03.002]
- 27 Salinas FS, Szabó C, Zhang W, Jones L, Leland MM, Wey HY, Duong TQ, Fox PT, Narayana S. Functional neuroimaging of the baboon during concurrent image-guided transcranial magnetic stimulation. *Neuroimage* 2011; 57: 1393-1401 [PMID: 21664276 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2011.05.065]
- 28 Tassinari CA, Cincotta M, Zaccara G, Michelucci R. Transcranial magnetic stimulation and epilepsy. *Clin Neurophysiol* 2003; 114: 777-798 [PMID: 12738425]
- 29 Mönnikes H, Tebbe JJ, Hildebrandt M, Arck P, Osmanoglou E, Rose M, Klapp B, Wiedenmann B, Heymann-Mönnikes I. Role of stress in functional gastrointestinal disorders. Evidence for stress-induced alterations in gastrointestinal motility and sensitivity. *Dig Dis* 2001; 19: 201-211 [PMID: 11752838 DOI: 10.1159/000050681]
- 30 Infantino A, Melega E, Negrin P, Masin A, Carnio S, Lise M. Striated anal sphincter electromyography in idiopathic fecal incontinence. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 27-31 [PMID: 7813340 DOI: 10.1007/BF02053853]
- 31 Tetzschner T, Sørensen M, Lose G, Christiansen J. Anal and urinary incontinence in women with obstetric anal sphincter rupture. *Br J Obstet Gynaecol* 1996; 103: 1034-1040 [PMID: 8863705 DOI: 10.1111/j.1471-0528.1996.tb09557.x]
- 32 Bakas P, Liapis A, Karandreas A, Creatsas G. Pudendal nerve terminal motor latency in women with genuine stress incontinence and prolapse. *Gynecol Obstet Invest* 2001; 51: 187-190 [PMID: 11306907 DOI: 10.1159/000052922]
- 33 Agrawal G, Iyer S, All AH. A comparative study of recording procedures for motor evoked potential signals. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2009; 2009: 2086-2089 [PMID: 19964577 DOI: 10.1109/IEMBS.2009.5333953]
- 34 倪敏, 丁义江, 丁曙晴, 金洵, 王静. 功能性便秘患者经颅磁刺激运动诱发电位的研究. 南京医科大学学报(自然科学版) 2011; 31: 1674-1678
- 35 Herdmann J, Bielefeldt K, Enck P. Quantification of motor pathways to the pelvic floor in humans. *Am J Physiol* 1991; 260: G720-G723 [PMID: 2035641]
- 36 Pelliccioni G, Scarpino O, Piloni V. Motor evoked potentials recorded from external anal sphincter by cortical and lumbo-sacral magnetic stimulation: normative data. *J Neurol Sci* 1997; 149: 69-72 [PMID: 9168168 DOI: 10.1016/S0022-510X(97)05388-4]
- 37 Hamdy S, Enck P, Aziz Q, Rothwell JC, Uengoergil S, Hobson A, Thompson DG. Spinal and pudendal nerve modulation of human corticoanal motor pathways. *Am J Physiol* 1998; 274: G419-G423 [PMID: 9486198]
- 38 Rao SS. Advances in diagnostic assessment of fecal incontinence and dyssynergic defecation. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 910-919 [PMID: 20601142 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.06.004]
- 39 Remes-Troche JM, Rao SS. Neurophysiological testing in anorectal disorders. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2008; 2: 323-335 [PMID: 19072383 DOI: 10.1586/17474124.2.3.323]
- 40 Mikuni N, Okada T, Enatsu R, Miki Y, Hanakawa T, Urayama S, Kikuta K, Takahashi JA, Nozaki K,



- Fukuyama H, Hashimoto N. Clinical impact of integrated functional neuronavigation and subcortical electrical stimulation to preserve motor function during resection of brain tumors. *J Neurosurg* 2007; 106: 593-598 [PMID: 17432708 DOI: 10.3171/jns.2007.106.4.593]
- 41 Kamada K, Todo T, Masutani Y, Aoki S, Ino K, Takano T, Kirino T, Kawahara N, Morita A. Combined use of tractography-integrated functional neuronavigation and direct fiber stimulation. *J Neurosurg* 2005; 102: 664-672 [PMID: 15871509 DOI: 10.3171/jns.2005.102.4.0664]
- 42 Bello L, Gambini A, Castellano A, Carrabba G, Acerbi F, Fava E, Giussani C, Cadioli M, Blasi V, Casarotti A, Papagno C, Gupta AK, Gaini S, Scotti G, Falini A. Motor and language DTI Fiber Tracking combined with intraoperative subcortical mapping for surgical removal of gliomas. *Neuroimage* 2008; 39: 369-382 [PMID: 17911032 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2007.08.031]
- 43 尉国勤. 针刺穴位配合心理暗示治疗肠易激综合征25例. *光明中医* 2007; 22: 40-41
- 44 段建华, 赵洪川. 功能性便秘发病机制的研究现状. *国外医学·消化系疾病分册* 2005; 25: 310-313
- 45 张晓敏, 林志辉. 功能性肠病患者的心理评价. *福建医药杂志* 2006; 28: 10-12
- 46 Neal KR, Barker L, Spiller RC. Prognosis in post-infective irritable bowel syndrome: a six year follow up study. *Gut* 2002; 51: 410-413 [PMID: 12171965 DOI: 10.1136/gut.51.3.410]
- 47 杨帅. 电针对IBS模型大鼠内脏敏感性 with 情绪心理调节的机制研究. 北京中医药大学, 2013
- 48 颜君, 朱高莉, 周国华. 肠易激综合征发病机制的研究进展. *医学综述* 2013 19: 1272-1274
- 49 Dykes S, Smilgin-Humphreys S, Bass C. Chronic idiopathic constipation: a psychological enquiry. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 39-44 [PMID: 11204807 DOI: 10.1097/00042737-200101000-00007]
- 50 Chattat R, Bazzocchi G, Balloni M, Conti E, Ercolani M, Zaccaroni S, Grilli T, Trombini G. Illness behavior, affective disturbance and intestinal transit time in idiopathic constipation. *J Psychosom Res* 1997; 42: 95-100 [PMID: 9055217 DOI: 10.1016/S0022-3999(96)00217-6]

#### ■同行评价

目前诱发电位的研究主要用于盆底实验室, 但以后这些检查将得到更广泛的临床应用, 为功能性肠病患者诊断提供帮助. 随着国内外学者对功能性肠病研究的不断深入, 诱发电位技术将日趋完善, 并广泛应用于临床. 该文章有一定的学术价值.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

# 溃疡性结肠炎组织病理学诊断的研究进展

郭倩, 唐志鹏, 王立娟

## ■背景资料

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的发病率呈逐年增高趋势, 严重影响了人们的健康和生活。针对 UC 的研究历史已过百年, 但其诊断仍缺乏特异性的指标。UC 的诊断是在排除其他疾病的前提下, 结合临床症状、内镜以及组织活检为依据的, 因此其临床诊断非常困难。

郭倩, 唐志鹏, 王立娟, 上海中医药大学附属龙华医院消化科上海市 200032

郭倩, 硕士, 主要从事中医药防治胃肠疾病的研究。

2012年上海市科学技术委员会科研计划基金资助项目, No. 12401902100

2011年上海市卫生局科研课题计划基金资助项目, No. 20114033

作者贡献分布: 本文由唐志鹏指导完成; 资料搜集和分析由郭倩完成; 资料筛选由王立娟与郭倩完成; 综述由郭倩完成。

通讯作者: 唐志鹏, 主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路 725号, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科。

zhipengtang@sohu.com

电话: 18917763091

收稿日期: 2013-10-24 修回日期: 2013-11-15

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2014-01-18

## Progress in histopathological diagnosis of ulcerative colitis

Qian Guo, Zhi-Peng Tang, Li-Juan Wang

Qian Guo, Zhi-Peng Tang, Li-Juan Wang, Digestive Disease Institute Affiliated to Shanghai University of TCM, Shanghai 200032, China

Supported by: the Foundation of Shanghai Municipal Science and Technology Commission, No. 12401902100; the Scientific Research Program of Shanghai City Health Bureau, No. 20114033

Correspondence to: Zhi-Peng Tang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of TCM, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. zhipengtang@sohu.com

Received: 2013-10-24 Revised: 2013-11-15

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2014-01-18

## Abstract

In recent years, the incidence of ulcerative colitis (UC) has been increasing year by year, which affect people's health and life seriously. Although UC is known as a clinical disease for more than a century, there is still a lack of specific diagnostic index for this disease. UC diagnosis is mainly based on clinical features, endoscopic findings and biopsy pathology as well as the exclusion of other diseases. Currently, histopathological diagnosis has become a research hot spot. Scholars around the world have attached great importance to the role of biopsy in the diagnosis of UC. This article will review recent progress in histopathological diagnosis of UC.

## ■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

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

Key Words: Ulcerative colitis; Histopathology; Diagnosis

Guo Q, Tang ZP, Wang LJ. Progress in histopathological diagnosis of ulcerative colitis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(2): 190-196 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/190.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.190>

## 摘要

近年来, 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的发病率呈逐年增高趋势, 严重影响了人们的健康和生活。针对 UC 的研究历史已过百年, 但其诊断仍缺乏特异性的指标。UC 的诊断是在排除其他疾病的前提下, 结合临床症状、内镜以及组织活检为依据的, 因此其临床诊断非常困难。目前, UC 的病理学诊断标准成为研究热点, 国内外学者非常重视组织活检对诊断 UC 的作用, 并在 UC 的病理诊断方面作了许多研究。现根据相关文献报道对 UC 的病理诊断作一综述。

© 2014 年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 溃疡性结肠炎; 组织病理学; 诊断

**核心提示:** 溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 的诊断多以排除其他肠道疾病基础上结合临床症状、镜下及组织活检特点为诊断依据综合分析进行诊断, 其诊断十分困难。组织病理学诊断的精确性和权威性虽然尚未十分肯定, 但仍是现阶段 UC 诊断的重要手段。

郭倩, 唐志鹏, 王立娟. 溃疡性结肠炎组织病理学诊断的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 190-196 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/190.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.190>

## 0 引言

溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis, UC) 是一种以侵犯直肠和结肠黏膜与黏膜下层为主的病因尚

不明确的肠道慢性非特异性炎症, 属于炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的一种。其以腹痛、腹泻、黏液脓血便, 里急后重等为主要临床表现。近年来, 由于结肠镜的普遍应用及对其认识的深入, UC的发病率呈现逐年升高的趋势<sup>[1]</sup>。而UC自1859年被临床医生所认识, 其诊断多依赖患者的症状、镜下及组织学特点综合分析进行诊断, 迄今为止仍缺乏特异性的诊断标准, 而其组织病理学诊断一直以来都是研究的热点及难点, 也是其诊断中尤为重要的依据。

## 1 组织病理的意义

依赖活检而得到的组织病理学诊断的精确性和权威性虽然目前仍不十分肯定, 但据最新的指南镜下观察结合病理诊断仍是现阶段诊断UC的重要手段<sup>[2]</sup>。

内镜下的诊断是以专业的内镜医师的肉眼观察以及主观经验为依据的, 因此内镜下“正常”的肠黏膜仍然可能存在隐藏的炎症, 此时依赖活检而出的组织病理诊断就显得尤为重要, 否则可误诊为功能性疾病<sup>[3]</sup>。

此外, UC活动度的判断不单单是依据镜下表现, 而是结合病史、症状以及组织学黏膜的计分来判断的<sup>[4,5]</sup>, 且据研究病理诊断较镜下表现对UC的诊断有更好的预见性<sup>[6]</sup>。通过组织活检可帮助医师看到一些不易察觉的微小病变, 同时通过病理诊断可与其他原因导致的结肠炎症相鉴别<sup>[6,7]</sup>, 从而还可进一步提高相关性不典型增生检出率。

## 2 UC病理组织取材

**2.1 活检组织与外科手术组织** 外科手术组织的病理标本和肠镜黏膜活检均是诊断IBD的有效依据。但两者并不相同, 外科手术所得的标本较后者具有良好的完整性, 可以了解到结肠各层的炎症以及组织结构情况。而黏膜活检所取得的组织表浅, 对深层病变的评价有限<sup>[8]</sup>。但是其操作步骤繁琐复杂且患者需要承受很大的痛苦; 黏膜活检大多是取自黏膜和黏膜下层的组织, 肌层组织很少可以取到, 虽其对“全壁炎”或“黏膜下淋巴聚集”等克罗恩病(Crohn's disease, CD)所特有的组织学特征及肠黏膜深部的组织病变的诊断尚不能提供明确帮助, 但因其检查手段操作简便, 且大大降低了患者的损伤和痛苦<sup>[9]</sup>。因此, 目前临床UC

的组织病理学诊断仍主要来源于镜下的活检组织。

**2.2 活检取材的数目** 在全球范围内关于活检取材的数目在实践中有很大的差异, 有些国家和地区使用多重样本活检<sup>[10]</sup>, 有的则进行单一样本的活检<sup>[11]</sup>。而研究表明单一样本的活检在诊断全结肠或广泛结肠的UC中是不够的, 多重样本的活检比单纯直乙结肠活检对UC的组织病理学诊断更有价值<sup>[3,12]</sup>。然而, 目前仍缺乏关于多重样本活检与单一活检的精确性、标准性及重复性的研究。据Bentley等<sup>[13]</sup>对判断单一活检和多重活检的诊断效果的研究显示: 单一样本和多重活检对UC的确诊率分别为64%和74%, 可见多重活检的诊断更为精确, 且可以帮助减少漏诊的发生。

**2.3 活检取材的部位** UC的活检取材主要在直肠及其他存在病变的部位进行多重活检, 有目的的靶向活检可以提供有诊断价值的信息, 活检部位多包括炎症与非炎症区域, 以明确其是否有弥漫性改变; 针对可疑病变部位进行靶向活检, 不仅可以提高不典型增生的检出率同时还可以提高鉴别黏膜炎症和散发性腺瘤的准确率<sup>[14]</sup>。

## 3 UC的病理学特征

UC的主要原因为炎症所致的肠黏膜上皮的破坏<sup>[15]</sup>, 其多呈缓解与复发交替出现。黏膜炎症的弥漫性分布多被认为是诊断UC的特征性表现。弥漫性即指从同一患者的结肠所取得的活检组织都存在炎症细胞的浸润。但有报道发现被确诊为UC的患者中存在非弥漫性的炎症和无直肠受累, 因此炎症是否为弥漫性分布并不能作为鉴别诊断UC的必要条件<sup>[3]</sup>。UC的显微镜下特征可以概括为: 隐窝结构异常, 上皮细胞异常, 炎症浸润。隐窝异常包括: 隐窝分支增多, 肠隐窝扭曲, 隐窝萎缩以及表面不规则。上皮异常主要包括黏蛋白耗损和潘氏细胞化生。炎症浸润主要指基底层浆细胞和淋巴细胞数目的增多, 固有层中性粒细胞以及嗜酸性粒细胞数量的增多<sup>[1]</sup>。活动期和缓解期的UC组织表现不尽相同, 具体如下。

**3.1 UC活动期组织改变** UC活动期的组织学征象以炎症细胞浸润, 血管及上皮变化为主要特征。活动期的基本病变表现为固有膜内中性粒细胞、慢性炎症细胞和嗜酸性粒细胞的弥漫性浸润; 隐窝内尤其是上皮细胞间出现急性炎症

**■ 研发前沿**  
炎症性肠病的鉴别诊断依赖于组织病理学的诊断, 明确UC的组织病理学诊断标准对于指导临床治疗具有重要意义。



### ■相关报道

炎症的弥漫性目前被认为是溃疡性结肠的诊断的重要依据,但Kleer等报道发现被确诊为UC的患者中存在非弥漫性的炎症和无直肠受累,因此炎症是否为弥漫性分布并不能作为鉴别诊断UC的必要条件。

细胞,形成隐窝炎,严重者可见隐窝脓肿,脓肿可溃破入固有膜内,隐窝脓肿被视为活动期的主要标志;上皮细胞的损伤和中性粒细胞、基底层浆细胞增多已经被部分学者建议作为疾病活动期的标志<sup>[16-18]</sup>。若隐窝脓肿出现融合溃破,肠黏膜可见广泛的小溃疡分布,日久细小溃疡可融合为大片溃疡,肉眼观察可见黏膜表层出现糜烂、溃疡和肉芽组织增生,肌层很少出现糜烂和溃疡的形成。研究显示,活动期还会出现隐窝上皮增生,杯状细胞减少<sup>[19-21]</sup>。固有膜内慢性炎症细胞数目增多,并且可以穿入黏膜下层的表浅部分。黏液层厚度和杯状细胞密度明显降低<sup>[22]</sup>。血管的变化主要表现为血管扩张,增生,可见微小血栓的形成<sup>[23]</sup>。

**3.2 UC缓解期组织改变** UC缓解期(静止型UC)的主要特征是黏膜萎缩和结构的异常<sup>[19]</sup>。主要特征包括隐窝形态大小变的不规则,排列没有规律;急性炎症细胞浸润消失,慢性炎症细胞数量减少;潘氏细胞化生;腺腔面不规则,肠腺数目减少,腺上皮与黏膜肌层的间隙增宽,剩余的肠腺变短(即他们不与黏膜肌层接触),失去了平行排列,并出现分支。基底部浆细胞通常得以保留;肠黏膜肌层趋于肥大。这些表现虽然符合慢性UC的诊断,但必须结合临床症状和内镜所见进行判断。因为其他慢性结肠炎的愈合区域也可见相同的表现,诸如CD、缺血性肠病(包括慢性放射性损伤)、肠结核及血吸虫性肠病,在临床中需加以鉴别。

**3.3 UC的病理分级** 目前,国内主要以结肠黏膜的组织病理学变化来评估活动期UC的临床和内镜表现,进而评估UC患者的整体病情。因此,在诊断UC和对其近期疗效的评估时除外临床症状和内镜下观察,还应当结合组织病理学检查,从而更加准确地评估病情、指导治疗、防治疾病的复发<sup>[16]</sup>。

研究显示,在对UC进行疗效评价时,组织学分级优于肠镜分级,肠镜分级优于临床症状分级<sup>[24]</sup>。如何评价UC的活动度和严重程度,目前国内尚无统一标准。

UC组织学严重程度的评估是根据细胞浸润情况和组织结构改变来评价的,Truelove等<sup>[25]</sup>制定的简单分级法将结肠炎症程度分级为:0级正常组织;1级慢性炎症;2、3、4级分别为轻、中、重度活动期炎症。此种分类方法过于粗略笼统,没有客观的评价指数,不利于临床

使用。部分病理学家则将炎症程度分为5级:0级正常;1级慢性炎症细胞浸润轻度增加,没有组织破坏;2级慢性炎症细胞浸润中度增加,没有组织破坏;3级慢性炎症细胞浸润显著增加,轻度组织破坏;4级慢性炎症细胞浸润显著增加,存在明显组织破坏<sup>[26]</sup>。此分类法较前进一步细化,但仍缺乏特异性。根据黏膜固有层内中性粒细胞浸润程度和隐窝破坏程度Pullan将UC分为6级,0级:黏膜固有层无中性粒细胞浸润;I级:黏膜固有层有少量中性粒细胞<10个/最高可用频率(highest possible frequency, HPF)浸润,累及少量隐窝;II级:黏膜固有层有明显中性粒细胞10-50个/HPF浸润,累及50%以上隐窝;III级:黏膜固有层有大量中性粒细胞>50个/HPF浸润,伴隐窝脓肿;IV级:固有层存在明显急性炎症伴溃疡形成<sup>[27]</sup>。而目前使用较多的是Geboes指数,根据组织病理学评分方法将UC分为6级,即:0:仅有结构的改变;1:慢性炎症细胞浸润;2:固有层中性和酸性粒细胞浸润;3:上皮中性粒细胞浸润;4:隐窝破坏;5:糜烂或溃疡形成<sup>[28]</sup>。根据HE染色,Berg在组织学严重程度表现的基础上分为0-4级,0级:正常组织;1级:黏膜轻度炎症,以单核细胞为主,上皮破坏少;2级:比1级严重的多发性炎症,包括单核细胞和少量中性粒细胞,隐窝腺体远离基底膜,杯状细胞黏蛋白减少;3级:比2级更严重的多发性炎症,包括黏膜下层单核细胞和中性粒细胞浸润,隐窝脓肿和黏蛋白消耗,上皮破坏和一些溃疡的形成;4级:隐窝消失,以中性粒细胞为主的严重的黏膜炎症。此类分类方法更为详细,能更好地指导临床治疗,评价疾病活动度和疗效<sup>[29]</sup>。

## 4 UC的病理鉴别诊断

IBD包括UC、克罗恩病和未定型结肠炎(indeterminate colitis, IC)。内镜下活检区别IBD和正常组织灵敏度和特异性均较高,但区分UC和CD的特异性欠佳<sup>[30]</sup>。研究表明,多样本活检结合内镜检查和临床表现,最终对IBD的诊断率可达90%以上<sup>[31]</sup>。如前所述,炎症是否呈弥漫性分布不能作为区别UC和CD的必要表现。有学者<sup>[32]</sup>推出鉴别UC和CD时采用系统化标准化的诊断步骤,主要依靠结构的改变、上皮细胞的改变及黏膜固有层的变化为评价参数。若在组织标本中查见上皮样肉芽肿,多强烈提示CD,但仅有

15%-36%的活检组织可查见典型上皮样肉芽肿<sup>[33]</sup>, 黏膜上皮肉芽肿在炎症性肠病和急性自限性结肠炎中都可发现, 因此黏膜上皮肉芽肿不是CD所特有的特征. 非干酪样上皮样肉芽肿对于CD相对较特异, 但检出率较低, Pierik等<sup>[34]</sup>研究发现CD组的肉芽肿检出率仅为55.1%. UC和CD都可出现淋巴细胞增多, 上皮内淋巴细胞浸润和基底组织细胞增多<sup>[30]</sup>, 因此鉴别需多方面综合判断.

总之, UC和CD的组织学鉴别要分析肠黏膜不同部位的多个活检标本. 活检标本特征性分布和异常的严重程度对鉴别诊断具有重要意义. 同样其他特征, 如是否有黏蛋白缺失、潘氏细胞化生和裂隙状溃疡也是重要的鉴别要点. 其中裂隙状溃疡多被认为是支持CD诊断成立的重要特征, 但也有学者认为其只是炎症较为严重的一类病变<sup>[35]</sup>.

IC是一种原因不明的结肠炎, IBD患者中约有5%的患者被诊断为IC<sup>[36]</sup>, 其可能是IBD一个亚型, 尚无特征性表现, 是一个临时诊断<sup>[37]</sup>. 1979年, Lee等<sup>[38]</sup>强调IC是一个组织病理学诊断, 1985年, Whitehead<sup>[39]</sup>提出IC可能是一种独立病变. 1997年“英国胃肠病学会”提出了可疑IBD初步活检诊断指南, 不能明确分为UC还是CD者可划分为IC<sup>[40]</sup>. 以黏膜固有层内单核粒细胞(包括淋巴细胞)为主的炎症细胞浸润为其要组织学表现, 伴或不伴隐窝上皮受累, 现普遍认为IC多无隐窝脓肿的形成<sup>[41]</sup>.

## 5 组织病理检查在监测UC相关癌中的作用

1928年Crohn等首次报道了UC相关结直肠癌, UC背景下发生的大肠癌被称为溃疡性结肠炎相关癌(ulcerative colitis-associated cancer, CAC). 炎症是机体修复创伤和解决感染的必要过程. 然而, 如果机体的免疫反应失控或者异常将会出现持续或过度的炎症反应, 并进而促发肿瘤形成. CAC即为“从炎症到癌症”的典型范例<sup>[42]</sup>. IBD都有癌变的可能, 一般90%以上伴有癌变的IBD患者存在异型增生<sup>[43]</sup>. 内镜下活检是检测异型增生的主要方法<sup>[44]</sup>.

在最近的一项临床对照研究中发现, 炎症在疾病过程中侵犯的严重程度也是危险因素之一<sup>[45]</sup>. 有报道认为CAC的发生率随IBD病程的延长而增加, 病程10、20、30年的CAC分别为2%、8%、18%<sup>[46]</sup>. 但是, 由于UC再生黏膜的腺

体开口形态在慢性炎症的影响下呈现出多样性, 使得与肿瘤黏膜的鉴别比较困难<sup>[47]</sup>.

5.1 监测UC异型增生的意义 异型增生是UC重要的癌前病变. 不典型增生和肠癌的发生率与有UC病史的患者的发生率非常接近<sup>[48]</sup>. 因此, 监测中关键的步骤是活检组织中是否存在不典型增生. 在色素内镜和放大内镜的指导下采取的靶向活检, 使得异型增生的检出率和炎性黏膜和散发性腺瘤鉴别的准确率均有提高, 从而有助于CAC的早期诊断.

5.2 活检取材 广泛性UC患者每年进行一次全结肠镜检查, 多处双重活检检测不典型增生和恶变率. 欧美目前实施的监测指南要求每1-3年进行一次全结肠镜检查, 每间隔10 cm取2-4处随机活检. 2002年的炎症性肠病相关无症状结直肠癌筛查和监测指南中: 为提高异型增生检出率, 针对可疑的结肠病变区域采取每10 cm随机取2-4块活检组织; 此外, 怀疑存在肿瘤性病变的区域追加活检数目.

5.3 异型增生分类 异型增生主要表现为细胞异型、结构紊乱和分化异常3个方面. 目前多根据黏膜结构和上皮细胞的异型性分轻、中、重度3级. 1983年“IBD异型增生形态学研究组”曾将之分为3种独特类型: 异型增生阴性型(指正常黏膜或黏膜伴再生改变)、异型增生不确定型和异型增生阳性型(低或高度)<sup>[49]</sup>. 1988年欧洲、美国和日本病理学家共同制定了“维也纳分类系统”<sup>[50]</sup>, 大多数西方病理学家仅在有细胞侵至固有层的确凿证据时才诊断为癌, 而许多日本学者仅仅凭核异型程度则诊断为癌, 不一定需要形态学证据<sup>[49]</sup>的支持. UC相关异型增生又分为两型: 平坦型异型增生和异型增生相关性病变(或)肿块.

5.3.1 平坦型异型增生组织病理特征: 存在于平坦炎症黏膜中, 无肿块形成, 其高度异型增生者42%-67%手术发现存在大肠癌, 内镜所见特征多呈平坦病变或边界不明了的病变, 病理组织学上则多属低分化腺癌和黏液癌且以生物学恶性程度高为特点. 结构特征<sup>[49]</sup>方面包括是否存在上皮绒毛结构的改变以及腺窝芽生、分枝与拥挤及其程度. 此外, 腺窝的轮廓, 规则程度以及腺腔桥(“筛网”)是否存在, 均是用于评价IBD异型增生的重要结构特征.

5.3.2 异型增生相关性病变或肿块组织病理特征: 隆起型异型增生是指“异型增生相关的病

## ■创新盘点

本文重点阐述了UC的组织病理学诊断特点, 并对其在临床治疗及监测UC相关癌方面的重要指导意义进行了阐述, 全面反映了UC组织病理学诊断的研究现状, 这类综述报告极少.

## ■应用要点

UC的诊断一直以来都是研究的热点及难点,如果能在组织病理学的角度为明确UC的诊断提供依据,将会对临床治疗具有重大意义。

变或肿块”(dysplasia associated lesion or mass, DALM)。最近的研究提示, DALMs也许可大致分为两类-“腺瘤样”与“非腺瘤样”,两者在自然史、恶变风险及治疗方法方面均存在不同。其中腺瘤样DALMs与IBD非相关性散发性腺瘤很难鉴别,因二者在镜下特征极其类似。尤为重要的一点是,需在靠近或者远离隆起性病变的平坦黏膜处取活检,因此处多存在有平坦型异型增生。

## 6 结论

UC的病理组织学改变是诊断的关键依据。随着研究的进一步深入, UC的病理诊断逐步明确。国际上胃肠病方面的专家提出了内镜活检的标准,显微镜下病理表现、特点及分级和异型增生的相关概念表现。目前,我国对于UC的诊断也应该以国际上的标准为基础,提高诊断率。深化对UC病理诊断的认识和理解,结合我国病例特点进行研究,可能是一个新的探索途径。

## 7 参考文献

- Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004; 126: 1504-1517 [PMID: 15168363 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.063]
- Dignass A, Lindsay JO, Sturm A, Windsor A, Colombel JF, Allez M, D'Haens G, D'Hoore A, Mantzaris G, Novacek G, Oresland T, Reinisch W, Sans M, Stange E, Vermeire S, Travis S, Van Assche G. Second European evidence-based consensus on the diagnosis and management of ulcerative colitis part 2: current management. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 991-1030 [PMID: 23040451 DOI: 10.1016/j.crohns.2012.09.002]
- Kleer CG, Appelman HD. Ulcerative colitis: patterns of involvement in colorectal biopsies and changes with time. *Am J Surg Pathol* 1998; 22: 983-989 [PMID: 9706978 DOI: 10.1097/00000478-199808000-00008]
- Walmsley RS, Ayres RC, Pounder RE, Allan RN. A simple clinical colitis activity index. *Gut* 1998; 43: 29-32 [PMID: 9771402 DOI: 10.1136/gut.43.1.29]
- Rutegård L, Ahlgren L, Stenling R, Nilsson T. A simple index for assessment of disease activity in patients with ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 1990; 37 Suppl 2: 110-112 [PMID: 2083921]
- Moum B, Ekbom A, Vatn MH, Elgjo K. Change in the extent of colonoscopic and histological involvement in ulcerative colitis over time. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1564-1569 [PMID: 10364026 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01145.x]
- Jenkins D, Goodall A, Drew K, Scott BB. What is colitis? Statistical approach to distinguishing clinically important inflammatory change in rectal biopsy specimens. *J Clin Pathol* 1988; 41: 72-79 [PMID: 3343381 DOI: 10.1136/jcp.41.1.72]
- Zhang YL, Zhang ZS, Wu BP, Zhou DY. Early diagnosis for colorectal cancer in China. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 21-25 [PMID: 11833064]
- Geboes K. What histologic features best differentiate Crohn's disease from ulcerative colitis? *Inflamm Bowel Dis* 2008; 14 Suppl 2: S168-S169 [PMID: 18816725 DOI: 10.1002/ibd.20598]
- Geboes K, Ectors N, D'Haens G, Rutgeerts P. Is ileoscopy with biopsy worthwhile in patients presenting with symptoms of inflammatory bowel disease? *Am J Gastroenterol* 1998; 93: 201-206 [PMID: 9468242 DOI: 10.1111/j.1527-0241.1998.00201.X]
- Dundas SA, Dutton J, Skipworth P. Reliability of rectal biopsy in distinguishing between chronic inflammatory bowel disease and acute self-limiting colitis. *Histopathology* 1997; 31: 60-66 [PMID: 9253626 DOI: 10.1046/j.1365-2559.1997.5810818.x]
- Escher JC, ten KF, Lichtenbelt K, Schornagel I, Büller H, Derkx B, Taminiau J. Value of rectosigmoidoscopy with biopsies for diagnosis of inflammatory bowel disease in children. *Inflamm Bowel Dis* 2002; 8: 16-22 [PMID: 11837934 DOI: 10.1097/00054725-200201000-00003]
- Bentley E, Jenkins D, Campbell F, Warren B. How could pathologists improve the initial diagnosis of colitis? Evidence from an international workshop. *J Clin Pathol* 2002; 55: 955-960 [PMID: 12461067 DOI: 10.1136/jcp.55.12.955]
- 汪芳裕, 平田一郎. 日本大肠疾病诊断技术研究进展. *东南国防医药* 2008; 10: 200-203
- Risques RA, Lai LA, Brentnall TA, Li L, Feng Z, Gallaher J, Mandelson MT, Potter JD, Bronner MP, Rabinovitch PS. Ulcerative colitis is a disease of accelerated colon aging: evidence from telomere attrition and DNA damage. *Gastroenterology* 2008; 135: 410-418 [PMID: 18519043 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.04.008]
- Bitton A, Peppercorn MA, Antonioli DA, Niles JL, Shah S, Bousvaros A, Ransil B, Wild G, Cohen A, Edwardes MD, Stevens AC. Clinical, biological, and histologic parameters as predictors of relapse in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2001; 120: 13-20 [PMID: 11208709 DOI: 10.1053/gast.2001.20912]
- Yantiss RK, Sapp HL, Farraye FA, El-Zammar O, O'Brien MJ, Fruin AB, Stucchi AF, Brien TP, Becker JM, Odze RD. Histologic predictors of pouchitis in patients with chronic ulcerative colitis. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 999-1006 [PMID: 15252305 DOI: 10.1097/01.pas.0000126758.35603.8d]
- Langholz E, Munkholm P, Davidsen M, Binder V. Course of ulcerative colitis: analysis of changes in disease activity over years. *Gastroenterology* 1994; 107: 3-11 [PMID: 8020674]
- Seldenrijk CA, Morson BC, Meuwissen SG, Schipper NW, Lindeman J, Meijer CJ. Histopathological evaluation of colonic mucosal biopsy specimens in chronic inflammatory bowel disease: diagnostic implications. *Gut* 1991; 32: 1514-1520 [PMID: 1773958 DOI: 10.1136/gut.32.12.1514]
- Schumacher G. First attack of inflammatory bowel disease and infectious colitis. A clinical, histological and microbiological study with special reference to early diagnosis. *Scand J Gastroenterol Suppl* 1993; 198: 1-24 [PMID: 8115839]
- Le Berre N, Heresbach D, Kerbaol M, Caulet S, Bretagne JF, Chaperon J, Gosselin M, Ramée MP. Histological discrimination of idiopathic inflammatory bowel disease from other types of colitis. *J*



- Clin Pathol* 1995; 48: 749-753 [PMID: 7560203 DOI: 10.1136/jcp.48.8.749]
- 22 Strugala V, Dettmar PW, Pearson JP. Thickness and continuity of the adherent colonic mucus barrier in active and quiescent ulcerative colitis and Crohn's disease. *Int J Clin Pract* 2008; 62: 762-769 [PMID: 18194279 DOI: 10.1111/j.1742-1241]
  - 23 He G, Ouyang Q, Chen D, Li F, Zhou J. The micro-vascular thrombi of colonic tissue in ulcerative colitis. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2236-2240 [PMID: 17429731 DOI: 10.1007/s10620-006-9158-5]
  - 24 黄红丽, 聂玉强, 李瑜元. 溃疡性结肠炎临床严重程度分型与内镜、病理分级的关系. *现代消化及介入诊疗* 2008; 13: 79-81
  - 25 Truelove SC, Richards WC. Biopsy studies in ulcerative colitis. *Br Med J* 1956; 1: 1315-1318 [PMID: 13316140 DOI: 10.1136/bmj.1.4979.1315]
  - 26 Kusugami K, Fukatsu A, Tanimoto M, Shinoda M, Haruta J, Kuroiwa A, Ina K, Kanayama K, Ando T, Matsuura T. Elevation of interleukin-6 in inflammatory bowel disease is macrophage- and epithelial cell-dependent. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 949-959 [PMID: 7729284 DOI: 10.1007/BF02064182]
  - 27 Pullan RD, Rhodes J, Ganesh S, Mani V, Morris JS, Williams GT, Newcombe RG, Russell MA, Feyerabend C, Thomas GA. Transdermal nicotine for active ulcerative colitis. *N Engl J Med* 1994; 330: 811-815 [PMID: 8114833 DOI: 10.1056/NEJM199403243301202]
  - 28 Geboes K, Riddell R, Ost A, Jensfelt B, Persson T, Löfberg R. A reproducible grading scale for histological assessment of inflammation in ulcerative colitis. *Gut* 2000; 47: 404-409 [PMID: 10940279 DOI: 10.1136/gut.47.3.404]
  - 29 Berg DJ, Davidson N, Kühn R, Müller W, Menon S, Holland G, Thompson-Snipes L, Leach MW, Rennick D. Enterocolitis and colon cancer in interleukin-10-deficient mice are associated with aberrant cytokine production and CD4(+) TH1-like responses. *J Clin Invest* 1996; 98: 1010-1020 [PMID: 8770874 DOI: 10.1172/JCI118861]
  - 30 Cross SS, Harrison RF. Discriminant histological features in the diagnosis of chronic idiopathic inflammatory bowel disease: analysis of a large dataset by a novel data visualisation technique. *J Clin Pathol* 2002; 55: 51-57 [PMID: 11825925 DOI: 10.1136/jcp.55.1.51]
  - 31 Geboes K, Van Eyken P. Inflammatory bowel disease unclassified and indeterminate colitis: the role of the pathologist. *J Clin Pathol* 2009; 62: 201-205 [PMID: 18952692 DOI: 10.1136/jcp.2008.059311]
  - 32 Cecilia M, Amy E, Crant N. 胃肠病理学. 回允中, 主译. 第3版. 北京: 北京大学医学出版社, 2010: 650-651
  - 33 Loddenkemper C. Diagnostic standards in the pathology of inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2009; 27: 576-583 [PMID: 19897978 DOI: 10.1159/000233301]
  - 34 Pierik M, De Hertogh G, Vermeire S, Van Assche G, Van Eyken P, Joossens S, Claessens G, Vlietinck R, Rutgeerts P, Geboes K. Epithelioid granulomas, pattern recognition receptors, and phenotypes of Crohn's disease. *Gut* 2005; 54: 223-227 [PMID: 15647186 DOI: 10.1136/gut.2004.042572]
  - 35 Odze R. Diagnostic problems and advances in inflammatory bowel disease. *Mod Pathol* 2003; 16: 347-358 [PMID: 12692200 DOI: 10.1097/01.MP.0000064746.82024.D1]
  - 36 Farmer M, Petras RE, Hunt LE, Janosky JE, Galandiuk S. The importance of diagnostic accuracy in colonic inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 3184-3188 [PMID: 11095339 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.03199.x]
  - 37 Guindi M, Riddell RH. Indeterminate colitis. *J Clin Pathol* 2004; 57: 1233-1244 [PMID: 15563659 DOI: 10.1136/jcp.2003.015214]
  - 38 Lee KS, Medline A, Shockey S. Indeterminate colitis in the spectrum of inflammatory bowel disease. *Arch Pathol Lab Med* 1979; 103: 173-176 [PMID: 581845]
  - 39 Whitehead R. Forms of colitis--a review of recent developments. *Pathology* 1985; 17: 204-208 [PMID: 4047724 DOI: 10.3109/00313028509063756]
  - 40 Jenkins D, Balsitis M, Gallivan S, Dixon MF, Gilmour HM, Shepherd NA, Theodossi A, Williams GT. Guidelines for the initial biopsy diagnosis of suspected chronic idiopathic inflammatory bowel disease. The British Society of Gastroenterology Initiative. *J Clin Pathol* 1997; 50: 93-105 [PMID: 9155688 DOI: 10.1136/jcp.50.2.93]
  - 41 江学良. 未确定型结肠炎的诊断与治疗. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 114-115
  - 42 Moss SF, Blaser MJ. Mechanisms of disease: Inflammation and the origins of cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 2005; 2: 90-97; quiz 1 p following 113 [PMID: 16264881]
  - 43 Cola B. Inflammatory bowel disease and cancer. *Int J Colorectal Dis* 1989; 4: 128-133 [PMID: 2664058 DOI: 10.1007/BF01646873]
  - 44 Lindberg B, Persson B, Veress B, Ingelman-Sundberg H, Granqvist S. Twenty years' colonoscopic surveillance of patients with ulcerative colitis. Detection of dysplastic and malignant transformation. *Scand J Gastroenterol* 1996; 31: 1195-1204 [PMID: 8976012 DOI: 10.3109/00365529609036910]
  - 45 Rutter M, Saunders B, Wilkinson K, Rumbles S, Schofield G, Kamm M, Williams C, Price A, Talbot I, Forbes A. Severity of inflammation is a risk factor for colorectal neoplasia in ulcerative colitis. *Gastroenterology* 2004; 126: 451-459 [PMID: 14762782 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.010]
  - 46 Eaden JA, Mayberry JF. Guidelines for screening and surveillance of asymptomatic colorectal cancer in patients with inflammatory bowel disease. *Gut* 2002; 51 Suppl 5: V10-V12 [PMID: 12221032 DOI: 10.1136/gut.51.suppl\_5.v10]
  - 47 Rutter MD, Saunders BP, Schofield G, Forbes A, Price AB, Talbot IC. Pancolonic indigo carmine dye spraying for the detection of dysplasia in ulcerative colitis. *Gut* 2004; 53: 256-260 [PMID: 14724160 DOI: 10.1136/gut.2003.016386]
  - 48 Friedman S, Rubin PH, Bodian C, Goldstein E, Harpaz N, Present DH. Screening and surveillance colonoscopy in chronic Crohn's colitis. *Gastroenterology* 2001; 120: 820-826 [PMID: 11231935 DOI: 10.1053/gast.2001.22449]
  - 49 Odze RD. Pathology of dysplasia and cancer in inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2006; 35: 533-552 [PMID: 16952739 DOI: 10.1016/j.gtc.2006.07.007]
  - 50 Schlemper RJ, Riddell RH, Kato Y, Borchard F, Cooper HS, Dawsey SM, Dixon MF, Fenoglio-Preiser CM, Fléjou JF, Geboes K, Hattori T, Hirota

# 名词解释

轻度异型增生: 黏膜结构和上皮细胞的异型性呈轻微异型增生; 中度异型增生是结构异型和细胞的异型性较明显; 重度异型增生是指结构异型及细胞异型非常明显或判定良性与恶性困难者。

## ■同行评价

UC的病理组织学改变是临床诊断的关键。该学者综述目前国内外UC病理组织学诊断进展,对于临床UC的诊断有指导作用。并提出通过深化对UC病理诊断的认识和理解,结合我国病例特点进行研究,是一个值得探索的新途径。

T, Itabashi M, Iwafuchi M, Iwashita A, Kim YI, Kirchner T, Klimpfinger M, Koike M, Lauwers GY, Lewin KJ, Oberhuber G, Offner F, Price AB, Rubio CA, Shimizu M, Shimoda T, Sipponen P, Solcia

E, Stolte M, Watanabe H, Yamabe H. The Vienna classification of gastrointestinal epithelial neoplasia. *Gut* 2000; 47: 251-255 [PMID: 10896917 DOI: 10.1136/gut.47.2.251]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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

# 幽门螺杆菌对左氧氟沙星耐药的研究进展

吴李培, 宣世海

吴李培, 宣世海, 南通大学附属东台医院检验科 江苏省东台市 224200

吴李培, 在读研究生, 主要从事细菌耐药基因分子检测的研究.

作者贡献分布: 本文由吴李培综述; 宣世海审校.

通讯作者: 宣世海, 副主任检验师, 224200, 江苏省东台市康复西路2号, 南通大学附属东台医院检验科. xsh.jyk@163.com

电话: 0515-85253948

收稿日期: 2013-09-12 修回日期: 2013-10-24

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-18

## Advances in research of *Helicobacter pylori* resistance to levofloxacin

Li-Pei Wu, Shi-Hai Xuan

Li-Pei Wu, Shi-Hai Xuan, Department of Detection Laboratory, Affiliated Dongtai Hospital of Nantong University, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Shi-Hai Xuan, Associate Chief Technician, Department of Detection Laboratory, Affiliated Dongtai Hospital of Nantong University, 2 Kangfu Road, Dongtai 224200, Jiangsu Province, China. xsh.jyk@163.com

Received: 2013-09-12 Revised: 2013-10-24

Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-18

## Abstract

*Helicobacter pylori* (*H. pylori*) has been identified as the most important risk factor for chronic active gastritis and peptic ulcer disease. Resistance to antibiotics is increasing in *H. pylori* and is the main reason for failure of *H. pylori* eradication therapy. It is now widely accepted that resistance to fluoroquinolones (levofloxacin) is related with mutations of *H. pylori gyrA* gene. Molecular mechanisms of and detection methods for *H. pylori* resistance to levofloxacin have become the focus of current research. Therefore, study on *H. pylori* resistance to antibiotics is of great significance for eradication therapy of *H. pylori* infection.

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

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; Resistance; Levofloxacin; Genetic mutations

Wu LP, Xuan SH. Advances in research of *Helicobacter pylori* resistance to levofloxacin. *Shijie Huaren Xiaohua*

Zazhi 2014; 22(2): 197-202 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/197.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.197>

## 摘要

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病因子. 随着抗生素广泛使用, *H. pylori*对抗生素耐药日渐严重, 而耐药是导致其根治和清除失败的主要原因. 现已证实*H. pylori*耐氟喹诺酮类药物(左氧氟沙星)的机制与*gyrA*基因的点突变有关. 随着*H. pylori*耐药率的逐年升高, 有关*H. pylori*的耐药分子机制和检测技术成为研究热点. 因此, 开展*H. pylori*耐药的相关研究对*H. pylori*的治疗有重大意义.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 幽门螺杆菌; 耐药; 左氧氟沙星; 基因突变

**核心提示:** 高分辨率溶解曲线(high-resolution melting, HRM)分析幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)耐药基因, 无需特殊仪器, 可快速、准确分析*H. pylori gyrA*基因突变, 有着较高的应用价值及推广前景.

吴李培, 宣世海. 幽门螺杆菌对左氧氟沙星耐药的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 197-202 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/197.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.197>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是慢性胃炎、消化性溃疡的主要致病因子, 与胃癌、胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤(mucosa associated lymphoid tissue, MALT)及一些胃外疾病关系密切, 已被世界卫生组织列入 I 类致癌原<sup>[1-6]</sup>. 近年来国内外学者推荐左氧氟沙星(levofloxacin)作为根除*H. pylori*的一线或序贯治疗药物<sup>[7-10]</sup>, 然而随着左氧氟沙星广泛使用, *H. pylori*的耐药菌株也日益增加<sup>[11]</sup>. 因此, 研究*H. pylori*对左氧氟沙星耐药情况、耐药机制和检测方法对指导临

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)*gyrA*基因突变是*H. pylori*对左氧氟沙星耐药的重要机制. 基因突变可导致氨基酸替代造成*gyrA*蛋白空间构象改变, 使左氧氟沙星不能与*gyrA*基因结合, 进而不能抑制*H. pylori*基因组复制, 最终导致左氧氟沙星耐药.

## ■同行评议者

王蔚虹, 教授, 主任医师, 北京大学第一医院消化内科



## ■ 研发前沿

细菌的耐药基因的检测已成为研究热点,如何通过快速、准确的分子生物学技术检测耐药基因是研究关键。

床用药显得尤为重要。本文就*H. pylori*对左氧氟沙星耐药情况作一综述。

## 1 *H. pylori*对左氧氟沙星耐药的流行病学调查

左氧氟沙星是一种新型的氟喹诺酮类抗生素,其抗菌谱广、疗效高、不良反应少<sup>[9]</sup>。有研究结果<sup>[12]</sup>显示标准三联方案[质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)+克拉霉素+阿莫西林/甲硝唑]对*H. pylori*的根除率接近80%,而含有左氧氟沙星的新三联疗法(PPI+左氧氟沙星+克拉霉素)对*H. pylori*根除率高达90.6%,且新三联疗法具有不良发生率低、费用相对便宜等优势<sup>[13-16]</sup>。*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率在不同的国家和地区不尽一致。在欧美地区,法国学者Cattoir等<sup>[17]</sup>报道2004-2005年巴黎128株*H. pylori*菌株对左氧氟沙星的耐药率为17.2%。Bogaerts等<sup>[18]</sup>2006年调查了比利时地区*H. pylori*对氟喹诺酮药物的耐药率,488株分离菌株对左氧氟沙星的耐药率为16.8%。爱尔兰学者O'Connor等<sup>[19]</sup>采用E-test分析了2008-2009年85例*H. pylori*分离株对左氧氟沙星的耐药率,其结果显示45岁以下年龄组的左氧氟沙星耐药率为2.6%,而45岁以上年龄组则为19.1%。意大利Marzio等<sup>[20]</sup>2006年研究结果显示83株*H. pylori*菌株中,对左氧氟沙星的原发性耐药率为9.7%,而继发性耐药率为12.2%。2012年,意大利另一学者<sup>[21]</sup>报道左氧氟沙星为22.1%,女性成为耐药的高风险群体。美国学者Carothers等<sup>[22]</sup>研究结果显示125例*H. pylori*感染者中对左氧氟沙星的耐药率为8.8%,左氧氟沙星耐药和患者在过去的10年超量使用氟喹诺酮药物有关。在亚洲地区,Binh等<sup>[23]</sup>在2008年对越南Vietnam地区103株*H. pylori*菌株对左氧氟沙星耐药情况进行了分析,左氧氟沙星的耐药率为18.4%,菌株耐药和*H. pylori*感染者的性别、年龄并无关联。伊朗学者<sup>[24]</sup>报道伊朗2009-2010年*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率为5.3%。然而,在马来西亚,有文献<sup>[25]</sup>报道*H. pylori*菌株对左氧氟沙星的耐药率为0。香港学者<sup>[26]</sup>报道香港地区2004-2005年*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率为11.5%。Hung等<sup>[27]</sup>分析了台湾南部地区1998-2007年*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率及耐药趋势,结果显示耐药率从2.8%(1998年-2003年)上升至11.8%(2004年-2007年)。Su等<sup>[28]</sup>对中国东部沿海两省八个地区的7731例*H. pylori*分离株进行抗生素敏感性试验,结果表明左氧氟沙星的耐药率为20.6%。施莉等<sup>[29]</sup>报道浙

江金华地区*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率高达31.58%。Gao等<sup>[30]</sup>分析了2000-2009年北京地区374株*H. pylori*菌株对左氧氟沙星的耐药趋势,发现*H. pylori*分离株平均耐药率高达50.3%,其耐药呈逐年上升趋势(27.1%-63.5%),继发性耐药率明显高于原发性。

总之,(1)各国家或地区的*H. pylori*菌株对左氧氟沙星耐药率差别较大,耐药率为0%-50.3%,存在明显的地域差异,中国属于耐药率较高的国家,且耐药呈上升态势;(2)尽管有报道高年龄组、女性耐药率显著高于低年龄组及男性,但年龄、性别和耐药的关联还有待进一步确证;(3)左氧氟沙星继发耐药率明显高于原发耐药率,氟喹诺酮的用药史与*H. pylori*继发性耐药率的上升有一定的相关性。

## 2 *H. pylori*对左氧氟沙星的耐药分子机制

氟喹诺酮类药物的抗菌机制是通过抑制细菌DNA旋转酶和拓扑异构酶,从而干扰细菌DNA复制。就普通细菌而言,氟喹诺酮类药物的耐药主要是由其DNA旋转酶上的*gyrA*基因或拓扑异构酶IV上的*parC*基因的喹诺酮类药物耐药决定区(quinolone resistance determining region, QRDR)发生突变所致,然而,*H. pylori*缺乏拓扑异构酶IV,所以*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药主要是由DNA旋转酶上*gyrA*基因的QRDR发生点突变引起<sup>[31-33]</sup>。*gyrA*基因位于细菌染色体第38分位,编码DNA解旋酶A亚基,该基因核苷酸存在一定的保守区,尤其是编码122位氨基酸周围的区域。*gyrA*基因耐药突变区域主要集中在67-106位氨基酸,该区域的核苷酸变化在细菌对氟喹诺酮类药物方面具有十分重要的作用。Wang等<sup>[34]</sup>研究显示:在45株*H. pylori*菌株中,27株耐药菌株发生*gyrA*基因突变,其中16株发生Asn-87突变,11株发生Asp-91突变。Miyachi等<sup>[35]</sup>也报道在原发性耐药菌株中,*gyrA*基因Asn-87突变几率高于Asp-91突变,且Asp-91突变菌株呈低浓度耐药趋势,仅有4.4%的耐药菌株发生*gyrB*基因突变。香港学者<sup>[26]</sup>则报道耐药菌株*gyrA*基因在87、91及130发生氨基酸改变,而突变频率最高的为91,日本学者Murakami等<sup>[36]</sup>也发现在105株*H. pylori*菌株中,44株发生*gyrA*基因突变,其中14株Asn-87突变,25株Asp-91突变,剩余5株在其他基因区突变。施莉等<sup>[29]</sup>研究结果显示:在10例耐药菌株中,2例C261A突变,1例C261G突变,2例G271A突变,2例A272G突变,C261A与G271A、

A272G双突变2例, G271A与A272G双突变1例而在26株敏感菌株中未发现突变. Fujimura等<sup>[37]</sup>对左氧氟沙星耐药菌株的*gyrA*基因进行序列分析发现了G271A、G271T和A272G突变, 证实了DNA旋转酶上A亚基Asn-91密码子发生了突变. Rimbara等<sup>[38]</sup>则报道高浓度左氧氟沙星耐药菌株*gyrA*出现Asn-87突变, 并发现*gyrB*氨基酸361位置突变可视为一个和氟喹诺酮类药物耐药相关的新位点.

总之, *H. pylori*的*gyrA*基因发生点突变是耐左氧氟沙星的主要机制, 点突变主要以Asn87、Asp91为主, 突变形式存在地区差异, *gyrB*基因突变及一些新的点突变需进一步研究证实.

### 3 *H. pylori*对左氧氟沙星耐药生物学的检测方法

*H. pylori*耐药的生物学检测方法是取胃黏膜或组织, 细菌增殖培养后, 进行E-test、琼脂稀释法、纸片扩散法等体外药敏试验. E-test操作简便, 但试纸价格昂贵; 琼脂稀释法技术要求较高; 纸片扩散法简便易行, 但结果受诸多因素的影响, 不够准确<sup>[39]</sup>. 随着分子生物学技术的发展, 越来越多基于PCR技术的分子诊断技术被应用于检测*H. pylori*的耐药性, 这些技术都是建立在检测和*H. pylori*耐药相关的基因突变的基础上. Hung等<sup>[27]</sup>、Wang等<sup>[34]</sup>、Fujimura等<sup>[37]</sup>、Garcia<sup>[40]</sup>采用PCR技术扩增出*gyrA*和*gyrB*基因的特定片段, 随后对扩增产物进行测序, 该法能准确检测*gyrA*和*gyrB*基因QRDR发生的突变. Nishizawa等<sup>[41]</sup>建立了等位基因特异性PCR快速准确检测*H. pylori*左氧氟沙星耐药基因, 该法将突变碱基设计于突变引物的3'端, 利用Taq酶缺乏3'→5'外切酶活性, 延伸反应因磷酸酯键形成困难而受阻, 扩增反应后, 根据电泳谱即可确定样品的基因型. Rajper等<sup>[42]</sup>应用PCR结合反向线性探针杂交技术快速、准确检测耐左氧氟沙星*H. pylori*菌株*gyrA*基因发生的突变. 施莉等<sup>[31]</sup>根据*H. pylori gyrA*出现的和左氧氟沙星耐药相关的点突变, 设计特异性探针构建了荧光基因芯片, 该芯片检测体系可以对临床分离的*H. pylori*菌株进行准确耐药性分型.

总之, 大多数学者采用PCR结合DNA测序分析*H. pylori*的耐药基因, 但DNA测序一般实验室不能开展. 基因芯片技术以其快速、准确、高通量等优点广泛应用与分子检测领域<sup>[43-48]</sup>, 但其需要特殊设备如: 芯片点样仪、荧光扫描仪等, 其普及条件尚不成熟. 高分辨率溶解曲线分

析技术是近几年来在国外兴起的一种用于突变和基因分型的最新遗传学分析方法. 他不受突变碱基位点与类型局限, 无需序列特异性探针, 在PCR结束后直接运行高分辨熔解, 实现了真正的闭管操作, 可完成对样品突变、单核苷酸多态性-SNP、甲基化、配型等的分析. 因操作简便快速, 使用成本低、结果准确, 而受到学者普遍关注<sup>[49-53]</sup>.

### 4 结论

随着喹诺酮类抗生素广泛使用, *H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率有逐年上升的趋势. 因此, 建立一种快速、准确、方便及实用的检测手段对分析左氧氟沙星的耐药率, 以及指导临床规范用药都有着重要的临床意义. 高分辨率溶解曲线是近年来发展起来的一种突变和基因分型的最新遗传学分型方法, 操作简便、成本低廉、结果准确, 有着较高的应用价值及推广前景.

### 5 参考文献

- 1 Zhou L, Sung JJ, Lin S, Jin Z, Ding S, Huang X, Xia Z, Guo H, Liu J, Chao W. A five-year follow-up study on the pathological changes of gastric mucosa after *H. pylori* eradication. *Chin Med J (Engl)* 2003; 116: 11-14 [PMID: 12667379]
- 2 Miwa H, Sakaki N, Sugano K, Sekine H, Higuchi K, Uemura N, Kato M, Murakami K, Kato C, Shiotani A, Ohkusa T, Takagi A, Aoyama N, Haruma K, Okazaki K, Kusugami K, Suzuki M, Joh T, Azuma T, Yanaka A, Suzuki H, Hashimoto H, Kawai T, Sugiyama T. Recurrent peptic ulcers in patients following successful *Helicobacter pylori* eradication: a multicenter study of 4940 patients. *Helicobacter* 2004; 9: 9-16 [PMID: 15156899 DOI: 10.1111/j.1083-4389.2004.00194.x]
- 3 Fischbach W, Goebeler-Kolve ME, Dragosics B, Greiner A, Stolte M. Long term outcome of patients with gastric marginal zone B cell lymphoma of mucosa associated lymphoid tissue (MALT) following exclusive *Helicobacter pylori* eradication therapy: experience from a large prospective series. *Gut* 2004; 53: 34-37 [PMID: 14684573 DOI: 10.1136/gut.53.1.34]
- 4 Wong BC, Lam SK, Wong WM, Chen JS, Zheng TT, Feng RE, Lai KC, Hu WH, Yuen ST, Leung SY, Fong DY, Ho J, Ching CK, Chen JS. *Helicobacter pylori* eradication to prevent gastric cancer in a high-risk region of China: a randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291: 187-194 [PMID: 14722144 DOI: 10.1001/jama.291.2.187]
- 5 Nervi G, Liatopoulou S, Cavallaro LG, Gnocchi A, Dal-Bo N, Rugge M, Iori V, Cavestro GM, Maino M, Colla G, Franze A, Di Mario F. Does *Helicobacter pylori* infection eradication modify peptic ulcer prevalence? A 10 years' endoscopic survey. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2398-2401 [PMID: 16688832]
- 6 Chey WD, Wong BC. American College of Gastroenterology guideline on the management of *Helicobacter pylori* infection. *Am J Gastroenterol* 2007;

### ■ 相关报道

目前, 已有许多基于PCR技术的分子检测手段应用于检测*H. pylori-gyrA*基因突变. 施莉等在《芯片检测幽门螺杆菌左氧氟沙星耐药*gyrA*基因突变的应用》报道了荧光基因芯片可以快速检测*gyrA*基因突变, 具有高灵敏度及高特异性.

## ■创新盘点

本文分析了近年来国内外*H. pylori*对左氧氟沙星的耐药率、耐药机制及分子检测手段,可供科研及临床工作者参考。

- 102: 1808-1825 [PMID: 17608775 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01393.x]
- 7 Molina-Infante J, Gisbert JP. Levofloxacin in first-line eradication regimens for *Helicobacter pylori*: better test antibiotic susceptibility before treating. *Gut* 2011; 60: 1605; author reply 1605-1606 [PMID: 21193443 DOI: 10.1136/gut.2010.233015]
- 8 Qian J, Ye F, Zhang J, Yang YM, Tu HM, Jiang Q, Shang L, Pan XL, Shi RH, Zhang GX. Levofloxacin-containing triple and sequential therapy or standard sequential therapy as the first line treatment for *Helicobacter pylori* eradication in China. *Helicobacter* 2012; 17: 478-485 [PMID: 23067317 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2012.00993.x]
- 9 Shah A, Javid G, Zargar SA, Teli F, Khan BA, Yattoo GN, Gulzar GM, Sodhi JS, Khan MA, Shoukat A, Saif R. Safety and efficacy of 1-week levofloxacin-based triple therapy in first-line treatment for *Helicobacter pylori*-related peptic ulcer disease in Kashmir, India. *Indian J Gastroenterol* 2013; 32: 32-36 [PMID: 23224792 DOI: 10.1007/s12664-012-0285-y]
- 10 成虹, 胡伏莲, 张国新, 施瑞华, 杜奕奇, 李兆申, 韩伟, 李延青, 吴勤动, 钱可大. 含左氧氟沙星三联疗法一线治疗幽门螺杆菌感染: 多中心随机对照临床研究. *中华医学杂志* 2010; 90: 79-82
- 11 Yoon H, Kim N, Lee BH, Hwang TJ, Lee DH, Park YS, Nam RH, Jung HC, Song IS. Moxifloxacin-containing triple therapy as second-line treatment for *Helicobacter pylori* infection: effect of treatment duration and antibiotic resistance on the eradication rate. *Helicobacter* 2009; 14: 77-85 [PMID: 19751431 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00709.x]
- 12 Nista EC, Candelli M, Zocco MA, Cremonini F, Ojetti V, Finizio R, Spada C, Cammarota G, Gasbarrini G, Gasbarrini A. Levofloxacin-based triple therapy in first-line treatment for *Helicobacter pylori* eradication. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1985-1990 [PMID: 16968503 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00716.x]
- 13 Giannini EG, Bilardi C, Dulbecco P, Mamone M, Santi ML, Testa R, Mansi C, Savarino V. Can *Helicobacter pylori* eradication regimens be shortened in clinical practice? An open-label, randomized, pilot study of 4 and 7-day triple therapy with rabeprazole, high-dose levofloxacin, and tinidazole. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 515-520 [PMID: 16825934 DOI: 10.1097/00004836-200607000-00010]
- 14 Gopal R, Elamurugan TP, Kate V, Jagdish S, Basu D. Standard triple versus levofloxacin based regimen for eradication of *Helicobacter pylori*. *World J Gastrointest Pharmacol Ther* 2013; 4: 23-27 [PMID: 23667770 DOI: 10.4292/wjgpt.v4.i2.23.PubMed]
- 15 邹健, 董洁, 于晓峰. 左氧氟沙星三联方案与常规四联补救方案治疗幽门螺杆菌感染的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1160-1165
- 16 张喜梅, 张振玉. 左氧氟沙星联合雷贝拉唑及果胶铋治疗幽门螺杆菌的疗效. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1951-1953
- 17 Cattoir V, Nectoux J, Lascols C, Deforges L, Delchier JC, Megraud F, Soussy CJ, Cambau E. Update on fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: new mutations leading to resistance and first description of a *gyrA* polymorphism associated with hypersusceptibility. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 389-396 [PMID: 17303392 DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2006.11.007]
- 18 Bogaerts P, Berhin C, Nizet H, Glupczynski Y. Prevalence and mechanisms of resistance to fluoroquinolones in *Helicobacter pylori* strains from patients living in Belgium. *Helicobacter* 2006; 11: 441-445 [PMID: 16961806 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2006.00436.x]
- 19 O'Connor A, Taneike I, Nami A, Fitzgerald N, Ryan B, Breslin N, O'Connor H, McNamara D, Murphy P, O'Morain C. *Helicobacter pylori* resistance rates for levofloxacin, tetracycline and rifabutin among Irish isolates at a reference centre. *Ir J Med Sci* 2013; 182: 693-695 [PMID: 23625165 DOI: 10.1007/s11845-013-0957-3]
- 20 Marzio L, Coraggio D, Capodicasa S, Grossi L, Cappello G. Role of the preliminary susceptibility testing for initial and after failed therapy of *Helicobacter pylori* infection with levofloxacin, amoxicillin, and esomeprazole. *Helicobacter* 2006; 11: 237-242 [PMID: 16882326 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2006.00407.x]
- 21 Saracino IM, Zullo A, Holton J, Castelli V, Fiorini G, Zaccaro C, Ridola L, Ricci C, Gatta L, Vaira D. High prevalence of primary antibiotic resistance in *Helicobacter pylori* isolates in Italy. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21: 363-365 [PMID: 23256118]
- 22 Carothers JJ, Bruce MG, Hennessy TW, Bensler M, Morris JM, Reasonover AL, Hurlburt DA, Parkinson AJ, Coleman JM, McMahon BJ. The relationship between previous fluoroquinolone use and levofloxacin resistance in *Helicobacter pylori* infection. *Clin Infect Dis* 2007; 44: e5-e8 [PMID: 17173210 DOI: 10.1086/510074]
- 23 Binh TT, Shiota S, Nguyen LT, Ho DD, Hoang HH, Ta L, Trinh DT, Fujioka T, Yamaoka Y. The incidence of primary antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* in Vietnam. *J Clin Gastroenterol* 2013; 47: 233-238 [PMID: 23090037 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318267e2b]
- 24 Talebi Bezin Abadi A, Ghasemzadeh A, Taghvaei T, Mobarez AM. Primary resistance of *Helicobacter pylori* to levofloxacin and moxifloxacin in Iran. *Intern Emerg Med* 2012; 7: 447-452 [PMID: 21437583 DOI: 10.1007/s11739-011-0563-1]
- 25 Goh KL, Navaratnam P. High *Helicobacter pylori* resistance to metronidazole but zero or low resistance to clarithromycin, levofloxacin, and other antibiotics in Malaysia. *Helicobacter* 2011; 16: 241-245 [PMID: 21585611 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00841.x]
- 26 Lee CC, Lee VW, Chan FK, Ling TK. Levofloxacin-resistant *Helicobacter pylori* in Hong Kong. *Chemotherapy* 2008; 54: 50-53 [PMID: 18073471 DOI: 10.1159/000112416]
- 27 Hung KH, Sheu BS, Chang WL, Wu HM, Liu CC, Wu JJ. Prevalence of primary fluoroquinolone resistance among clinical isolates of *Helicobacter pylori* at a University Hospital in Southern Taiwan. *Helicobacter* 2009; 14: 61-65 [PMID: 19191898 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2009.00655.x]
- 28 Su P, Li Y, Li H, Zhang J, Lin L, Wang Q, Guo F, Ji Z, Mao J, Tang W, Shi Z, Shao W, Mao J, Zhu X, Zhang X, Tong Y, Tu H, Jiang M, Wang Z, Jin F, Yang N, Zhang J. Antibiotic resistance of *Helicobacter pylori* isolated in the Southeast Coastal Region of China. *Helicobacter* 2013; 18: 274-279 [PMID: 23418857 DOI: 10.1111/hel.12046]
- 29 施莉, 陈燕萍, 黄伟, 杨宁敏. 浙江地区幽门螺杆菌左



- 氧氟沙星耐药与gyrA基因突变研究. 中华消化杂志 2010; 11: 832-835
- 30 Gao W, Cheng H, Hu F, Li J, Wang L, Yang G, Xu L, Zheng X. The evolution of *Helicobacter pylori* antibiotics resistance over 10 years in Beijing, China. *Helicobacter* 2010; 15: 460-466 [PMID: 21083752 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2010.00788.x]
- 31 施莉, 陈燕萍, 黄伟. 芯片检测幽门螺杆菌左氧氟沙星耐药gyrA基因突变的应用. 中华医学检验杂志 2011; 34: 1100-1102
- 32 Von Groll A, Martin A, Jureen P, Hoffner S, Vandamme P, Portaels F, Palomino JC, da Silva PA. Fluoroquinolone resistance in *Mycobacterium tuberculosis* and mutations in gyrA and gyrB. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 4498-4500 [PMID: 19687244 DOI: 10.1128/AAC.00287-09]
- 33 Shah SQ, Nilsen H, Bottolfson K, Colquhoun DJ, Sørum H. DNA gyrase and topoisomerase IV mutations in quinolone-resistant *Flavobacterium psychrophilum* isolated from diseased salmonids in Norway. *Microb Drug Resist* 2012; 18: 207-214 [PMID: 22283604 DOI: 10.1089/mdr.2011.0142]
- 34 Wang LH, Cheng H, Hu FL, Li J. Distribution of gyrA mutations in fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* strains. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2272-2277 [PMID: 20458765 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2272]
- 35 Miyachi H, Miki I, Aoyama N, Shirasaka D, Matsumoto Y, Toyoda M, Mitani T, Morita Y, Tamura T, Kinoshita S, Okano Y, Kumagai S, Kasuga M. Primary levofloxacin resistance and gyrA/B mutations among *Helicobacter pylori* in Japan. *Helicobacter* 2006; 11: 243-249 [PMID: 16882327 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2006.00415.x]
- 36 Murakami K, Okimoto T, Kodama M, Tanahashi J, Fujioka T, Ikeda F, Muraoka H, Takigawa M, Saika T, Hasegawa M, Kobayashi I. Sitafloxacin activity against *Helicobacter pylori* isolates, including those with gyrA mutations. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 3097-3099 [PMID: 19380599 DOI: 10.1128/AAC.01552-08]
- 37 Fujimura S, Kato S, Iinuma K, Watanabe A. In vitro activity of fluoroquinolone and the gyrA gene mutation in *Helicobacter pylori* strains isolated from children. *J Med Microbiol* 2004; 53: 1019-1022 [PMID: 15358825 DOI: 10.1099/jmm.0.45642-0]
- 38 Rimbara E, Noguchi N, Kawai T, Sasatsu M. Fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori*: role of mutations at position 87 and 91 of GyrA on the level of resistance and identification of a resistance conferring mutation in GyrB. *Helicobacter* 2012; 17: 36-42 [PMID: 2221614 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00912.x]
- 39 宣世海, 周玉贵, 王惠明. 幽门螺杆菌对克拉霉素耐药的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3060-3064
- 40 Garcia M, Raymond J, Garnier M, Cremniter J, Buruco C. Distribution of spontaneous gyrA mutations in 97 fluoroquinolone-resistant *Helicobacter pylori* isolates collected in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 550-551 [PMID: 22064536 DOI: 10.1128/AAC.05243-11]
- 41 Nishizawa T, Suzuki H, Umezawa A, Muraoka H, Iwasaki E, Masaoka T, Kobayashi I, Hibi T. Rapid detection of point mutations conferring resistance to fluoroquinolone in gyrA of *Helicobacter pylori* by allele-specific PCR. *J Clin Microbiol* 2007; 45: 303-305 [PMID: 17122023 DOI: 10.1128/JCM.01997-06]
- 42 Rajper S, Khan E, Ahmad Z, Alam SM, Akbar A, Hasan R. Macrolide and fluoroquinolone resistance in *Helicobacter pylori* isolates: an experience at a tertiary care centre in Pakistan. *J Pak Med Assoc* 2012; 62: 1140-1144 [PMID: 23866399]
- 43 Xuan SH, Zhou YG, Shao B, Cui YL, Li J, Yin HB, Song XP, Cong H, Jing FX, Jin QH, Wang HM, Zhou J. Enzymic colorimetry-based DNA chip: a rapid and accurate assay for detecting mutations for clarithromycin resistance in the 23S rRNA gene of *Helicobacter pylori*. *J Med Microbiol* 2009; 58: 1443-1448 [PMID: 19628643 DOI: 10.1099/jmm.0.010785-0. Epub]
- 44 Koizumi G, Kumai T, Egawa S, Yatomi K, Hayashi T, Oda G, Ohba K, Iwai S, Watanabe M, Matsumoto N, Oguchi K. Gene expression in the vascular wall of the aortic arch in spontaneously hypertensive hyperlipidemic model rats using DNA microarray analysis. *Life Sci* 2013; 93: 495-502 [PMID: 23994198 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.08.010]
- 45 Loeser RF, Olex AL, McNulty MA, Carlson CS, Callahan MF, Ferguson CM, Chou J, Leng X, Fretow JS. Microarray analysis reveals age-related differences in gene expression during the development of osteoarthritis in mice. *Arthritis Rheum* 2012; 64: 705-717 [PMID: 21972019 DOI: 10.1002/art.33388]
- 46 Balow JE, Ryan JG, Chae JJ, Booty MG, Bulua A, Stone D, Sun HW, Greene J, Barham B, Goldbach-Mansky R, Kastner DL, Aksentijevich I. Microarray-based gene expression profiling in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes defines a disease-related signature and IL-1-responsive transcripts. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1064-1070 [PMID: 23223423 DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-202082]
- 47 Grubaugh ND, McMenamy SS, Turell MJ, Lee JS. Multi-gene detection and identification of mosquito-borne RNA viruses using an oligonucleotide microarray. *PLoS Negl Trop Dis* 2013; 7: e2349 [PMID: 23967358 DOI: 10.1371/journal.pntd.0002349]
- 48 Qin J, Li MJ, Wang P, Zhang MQ, Wang J. ChIP-Array: combinatory analysis of ChIP-seq/chip and microarray gene expression data to discover direct/indirect targets of a transcription factor. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: W430-W436 [PMID: 21586587 DOI: 10.1093/nar/gkr332]
- 49 Yin X, Zheng L, Liu Q, Lin L, Hu X, Hu Y, Wang Q. High-resolution melting curve analysis for rapid detection of rifampin resistance in *Mycobacterium tuberculosis*: a meta-analysis. *J Clin Microbiol* 2013; 51: 3294-3299 [PMID: 23885006 DOI: 10.1128/JCM.01264-13]
- 50 Nagai Y, Iwade Y, Hayakawa E, Nakano M, Sakai T, Mitarai S, Katayama M, Nosaka T, Yamaguchi T. High resolution melting curve assay for rapid detection of drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Chemother* 2013 Jun 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23793795 DOI: 10.1007/s10156-013-0636-3]
- 51 Reed GH, Kent JO, Wittwer CT. High-resolution DNA melting analysis for simple and efficient molecular diagnostics. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 597-608 [PMID: 17559349 DOI: 10.2217/14622416.8.6.597]
- 52 Guillard T, de Champs C, Moret H, Bertrand X, Schefel JM, Cambau E. High-resolution melting analysis for rapid characterization of qnr alleles in clinical

## ■同行评价

本文较全面地综述了喹诺酮类药物对*H. pylori*的耐药机制, 有一定参考价值。

- isolates and detection of two novel alleles, qnrB25 and qnrB42. *J Antimicrob Chemother* 2012; 67: 2635-2639 [PMID: 22850691 DOI: 10.1093/jac/dks292]
- 53 Salim B, Bakheit MA, Sugimoto C. Rapid detection

and identification of *Theileria equi* and *Babesia caballi* by high-resolution melting (HRM) analysis. *Parasitol Res* 2013; 112: 3883-3886 [PMID: 23990047 DOI: 10.1007/s00436-013-3581-2]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

# PTEN/PI3K在小鼠肝缺血再灌注损伤中的调控作用及机制

白丽, 任锋, 郑素军, 张晶, 陈煜, 段钟平

白丽, 郑素军, 张晶, 陈煜, 段钟平, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心 北京市 100069

任锋, 北京市肝病研究所 北京市 100069

白丽, 主要从事肝病相关的临床和基础研究.

国家“十二五”科技重大专项基金资助项目, Nos.

2012ZX10002004-006, 2012ZX10004904-003-001,

2013ZX10002002-006-001

北京市卫生系统高层次卫生技术人才基金资助项目, No.

2011-3-083

作者贡献分布: 此课题由白丽、任锋及段钟平设计; 研究过程由白丽、任锋及郑素军完成; 数据分析由张晶与陈煜完成; 本文由白丽完成写作.

通讯作者: 段钟平, 教授, 主任医师, 100069, 北京市丰台区右外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院.

duan2517@163.com

电话: 010-63291621

收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2013-11-27

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Regulatory role of PTEN/PI3K in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice

Li Bai, Feng Ren, Su-Jun Zheng, Jing Zhang, Yu Chen, Zhong-Ping Duan

Li Bai, Su-Jun Zheng, Jing Zhang, Yu Chen, Zhong-Ping Duan, Beijing YouAn Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing 100069, China

Feng Ren, Beijing Municipal Institute of Liver Disease, Beijing 100069, China

Supported by: the National Major Science and Technology Project during the “Twelfth Five-year Plan” Period, Nos. 2012ZX10002004-006, 2012ZX10004904-003-001, and 2013ZX10002002-006-001; the Beijing Municipal Health System High-level Health Technical Personnel Program, No. 2011-3-083

Correspondence to: Zhong-Ping Duan, Professor, Chief Physician, Artificial Liver Center, Beijing YouAn Hospital Affiliated to Capital Medical University, 8 Youwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. duan2517@163.com

Received: 2013-11-07 Revised: 2013-11-27

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the regulatory role of phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten (PTEN)/phosphoinositide 3-kinase (PI3K) in hepatic ischemia-reperfusion injury (IRI) and the possible mechanism involved.

**METHODS:** C57BL6/J mice were subjected to 90 minutes of ischemia in the left/middle liver

lobe followed by 6 hours of reperfusion. To investigate the role of PTEN/PI3K in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice, specific PTEN inhibitor BPV (HOPIc) and PI3K inhibitor wortmannin (WM) were injected intraperitoneally prior to the ischemia insult. Serum alanine aminotransferase (sALT) levels and histological changes of the liver were used to assess the liver damage. To explore the regulatory mechanism of PTEN/PI3K, we analyzed the phosphorylation of AKT and GSK3 $\beta$ , the key downstream effector molecules of PTEN/PI3K, by Western blot. In light of the importance of TLR4-triggered inflammatory response in IRI, we compared the gene expression of inflammatory cytokines IL-12p40, TNF- $\alpha$  and IL-10 before and after pretreatment.

**RESULTS:** Inhibition of PTEN protected the liver against ischemia-reperfusion injury, whereas liver damage was aggravated markedly by the administration of PI3K inhibitor, which were evidenced by sALT and liver histology [Salt IR: 7673 U/L  $\pm$  738.2 U/L, BPV+IR: 2682 U/L  $\pm$  367.0 U/L, WM+IR: 12670 U/L  $\pm$  1027.0 U/L,  $P < 0.01$ ]. The dephosphorylated AKT/GSK3 $\beta$  by ischemia itself restored their phosphorylation activity during the reperfusion phase. Loss of PTEN enhanced the phosphorylation of AKT/GSK3 $\beta$  triggered by reperfusion, which was quite opposite to the effects induced by PI3K inhibition (p-AKT/Actin: IR, 0.52  $\pm$  0.02; BPV+IR, 0.89  $\pm$  0.05; WM+IR, 0.19  $\pm$  0.01; p-GSK3 $\beta$ /GSK3 $\beta$ : IR, 0.61  $\pm$  0.01; BPV+IR, 0.90  $\pm$  0.03; WM+IR, 0.32  $\pm$  0.03). PTEN blockade suppressed the gene expression of pro-inflammatory cytokines IL-12p40 and TNF- $\alpha$ , and the IL-12 p40/IL-10 ratio was reduced significantly. Conversely, PI3K inhibition boosted pro-inflammatory response strikingly.

**CONCLUSION:** PTEN inhibition and/or PI3K activation protect the liver against IRI via the up-regulation of AKT/GSK3 $\beta$  phosphorylation and the inhibition of the inflammatory response, which provides a new strategy for the treatment of liver IRI.

## ■背景资料

磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)/AKT是细胞内重要的生存信号转导通路,第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN)为该通路的关键负反馈调节子.近年来的研究表明,PTEN/PI3K与肝缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI)的发生密切相关.然而,PTEN/PI3K在肝脏IRI中的调控作用及其可能的机制尚未明确.

## ■同行评议者

门秀丽,教授,河北联合大学(原华北煤炭医学院)病理生理学教研室



## ■研究前沿

肝缺血再灌注损伤包括缺血和再灌注两个时相,发病机制非常复杂,且缺乏特异、有效的治疗手段。因此,深入探讨肝脏IRI发生的细胞和分子机制,以期寻求有效治疗策略成为该领域研究的重心及热点。

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

**Key Words:** Phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten; Phosphoinositide 3-kinase; Ischemia-reperfusion injury; Liver; Regulatory mechanism

Bai L, Ren F, Zheng SJ, Zhang J, Chen Y, Duan ZP. Regulatory role of PTEN/PI3K in hepatic ischemia-reperfusion injury in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 203-209 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/203.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.203>

## 摘要

**目的:** 研究第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN)/磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)在肝缺血再灌注损伤中的调控作用及可能的机制。

**方法:** 夹闭C57BL/6J小鼠的肝动脉和门静脉以阻断肝脏向头侧肝叶血供90 min,随后取下血管夹恢复血供,建立肝缺血再灌注损伤模型。实验分为四组:正常对照组(sham)、缺血再灌注模型组(IR)、PTEN抑制剂bpv(HOpic)干预组(BPV+IR)、PI3K抑制剂wortmannin干预组(WM+IR)。检测小鼠血清ALT水平,行肝组织病理检查,以评估抑制PTEN/PI3K对肝脏IRI的影响。采用Western blot法检测p-AKT、p-GSK3 $\beta$ 的表达,分析抑制PTEN/PI3K对其下游关键效应分子AKT/GSK3 $\beta$ 磷酸化的调控。采用定量PCR法检测炎症因子IL-12p40、IL-10及TNF- $\alpha$ 的基因表达,分析抑制PTEN/PI3K对TLR4介导的炎症反应的影响。

**结果:** 血清ALT及肝组织学改变均提示,抑制PTEN使IR诱导的肝损害明显减轻,相反,抑制PI3K则使IRI加剧。随着再灌注的发生,缺血期去磷酸化的AKT/GSK3 $\beta$ 逐渐恢复其磷酸化活性。抑制PTEN增强了再灌注触发的AKT/GSK3 $\beta$ 磷酸化,而阻断PI3K则使其明显削弱。阻断PTEN抑制了促炎基因IL-12p40、TNF- $\alpha$ 的表达,并使IL-12/IL-10比值下调,该结果与抑制PI3K产生的效应完全相反。

**结论:** PTEN/PI3K在肝缺血再灌注损伤中发挥重要的调控作用,PTEN抑制和/或PI3K活化可能通过上调p-AKT/p-GSK3 $\beta$ 以及抑制炎症反应明显减轻肝缺血再灌注损伤。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因; 磷脂酰肌醇-3激酶; 肝缺血再灌注损伤; 调控机制

**核心提示:** 第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN)/磷脂酰肌醇3-激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)通过对再灌注触发的保护性自我调节的削弱或加强在肝缺血再灌注损伤中发挥关键的调控作用。抑制PTEN和/或上调PI3K活性可显著增强AKT/GSK3生存信号,抑制炎症反应,减轻肝缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury)。

白丽, 任锋, 郑素军, 张晶, 陈煜, 段钟平. PTEN/PI3K在小鼠肝缺血再灌注损伤中的调控作用及机制. *世界华人消化杂志* 2014; 22(2): 203-209 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/203.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.203>

## 0 引言

肝缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI)多见于休克、需要阻断肝脏血流的外科手术以及肝移植术等过程中,是肝脏外科手术中常见的病理生理过程。肝脏IRI包括缺血和再灌注两个时相,涉及到肝实质细胞的凋亡/坏死、枯否细胞和中性粒细胞的活化、细胞因子和趋化因子的产生、活性氧(reactive oxygen species, ROS)的生成等,其发生机制复杂,迄今尚无明确认识<sup>[1-4]</sup>。第10号染色体缺失的磷酸酶张力蛋白同源物基因(phosphatase and tensin homologue deleted on chromosome ten, PTEN)是迄今发现的第一个具有双重磷酸酶活性的抑癌基因,是磷脂酰肌醇3激酶(phosphoinositide 3-kinase, PI3K)介导的信号转导通路的关键负反馈调节子。PTEN与PI3K协调作用,影响着细胞的生长、分化、增殖、凋亡<sup>[5-10]</sup>。近年来的研究表明,PTEN/PI3K与心、脑、肺等多种器官缺血再灌注损伤的发生有着广泛而密切的关系<sup>[11-15]</sup>。然而,PTEN/PI3K在肝脏IRI中是否发挥关键作用及其可能通过何种途径调节着IRI还尚未明确。本研究分别应用特异性PTEN抑制剂bpv(HOpic)和PI3K抑制剂wortmannin进行干预,观察抑制PTEN/PI3K对IR诱导的肝损害的影响;并分析了抑制PTEN/PI3K对其下游关键信号分子AKT、糖原合成酶3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ )的磷酸化以及对Toll样

受体-4(Toll-like receptor-4, TLR- 4)介导的炎症反应的调节作用。

## 1 材料和方法

1.1 材料 健康♂ C57BL/6J小鼠, 8-12周龄, 购自军事医学科学院实验动物中心。普通饲养, 实验前12 h和实验期间禁食, 自由饮水。PTEN抑制剂bpv(HOpic)购自美国EMD Chemicals公司; PI3K抑制剂wortmannin购自Sigma公司; LPS购自Sigma公司; p-AKT、p-GSK3 $\beta$ 、GSK3 $\beta$ 、 $\beta$ -actin等兔抗鼠单克隆抗体以及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HPR)偶联的羊抗兔多克隆抗体均购自美国Cell Signaling公司; ECL发光试剂盒购自美国Thermo Fisher Scientific公司; TRIzol、SuperScript™ III First-Strand Synthesis System、SYBR Green qPCR试剂盒均购自美国Invitrogen公司, 蛋白定量试剂盒购自美国Bio-Rad公司。

### 1.2 方法

1.2.1 小鼠肝缺血再灌注损伤模型的建立: 参照文献[16]建立小鼠肝脏缺血再灌注损伤模型。C57BL/6J小鼠经异氟烷麻醉后, 注射肝素。打开腹腔, 用无创性微血管夹夹闭肝动脉和门静脉以阻断肝脏左/中肝叶的血供。缺血90 min后, 取下血管夹恢复血供。于再灌注不同时间点处死小鼠, 收集肝组织标本以供分析。

1.2.2 实验分组: C57BL/6J小鼠随机分为假手术组(Sham)(6只)、IRI模型组(IR)(8只)、PTEN抑制剂bpv(HOpic)干预组(BPV+IR)(10只)以及PI3K抑制剂wortmannin干预组(WM+IR)(10只)。PTEN抑制剂bpv(HOpic)溶于生理盐水中, 给药剂量为1 mg/kg, 于缺血前2 h腹腔注射。Wortmannin溶于DMSO/PBS中, 给药剂量为1 mg/kg, 于缺血前1 h腹腔注射。于再灌注6 h处死小鼠, 收集血液和肝组织标本以供分析。

1.2.3 Western blot检测: 将约100 mg肝组织置于1 mL预冷的组织裂解液中, 立即利用电动组织匀浆器彻底匀浆, 然后于冰上静置30 min, 4℃、12000 r/min离心20 min, 收集上清液。采用Bio-Rad Dc蛋白定量试剂盒测定上清液中的蛋白浓度, 按说明书进行操作。取20  $\mu$ g蛋白裂解液上样, 于12%的SDS-PAGE胶中分离蛋白。转PVDF膜, 于一抗稀释液(1:1000稀释)中4℃孵育过夜。TBST洗膜3次, 每次10 min, 然后于二抗稀释液(1:2000稀释)中室温孵育1 h。TBST洗膜3次, ECL显影, 压片曝光。利用Image J软件对Western blot条带进行量化处理。

表 1 用于实时荧光定量PCR检测的炎症基因引物序列

基因	方向	引物序列
HPRT	正向	5'-TCAACGGGGGACATAAAAGT-3'
	反向	5'-TGCATTGTTTTACCAGTGTCAG-3'
IL-12p40	正向	5'-CAGCTTCTTCATCAGGGACAT-3'
	反向	5'-CTTGAGGGAGAAGTAGGAATGG-3'
IL-10	正向	5'-ACTGCACCCACTTCCCAGT-3'
	反向	5'-TGTCCAGCTGGTCCTTTGTT-3'
TNF- $\alpha$	正向	5'-GCCTCTTCTCATTCTGCTTGT-3'
	反向	5'-TTGAGATCCATGCCGTTG-3'

1.2.4 实时荧光定量PCR检测: 采用TRIzol试剂提取肝组织总RNA, 利用分光光度计测定其浓度并定量。利用SuperScript™ III First-Strand Synthesis System将2.5  $\mu$ g总RNA逆转录为cDNA, 随后进行SYBR Green实时荧光定量PCR检测。具体操作步骤按照试剂说明书进行。所应用的引物序列见表1。

1.2.5 肝细胞损害检测: 采用全自动生化分析仪检测反映肝细胞损害程度的指标血清转氨酶水平。

**统计学处理** 所有数据以mean $\pm$ SD表示, 采用One-way ANOVA或者Student *t*检验进行分析, 利用Graphpad Prism5.0软件包处理数据。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 抑制PTEN/PI3K对肝缺血再灌注损伤的影响 缺血再灌注可引起明显的肝损害, 使IR模型组小鼠的血清转氨酶水平升高至7673 U/L $\pm$ 738.2 U/L; 采用PTEN抑制剂bpv(HOpic)进行干预后, 小鼠的sALT水平较模型组出现明显回落, 可降至2682 U/L $\pm$ 367.0 U/L; 而PI3K抑制剂的应用则使小鼠的sALT水平较IR模型组显著升高, 达12670 U/L $\pm$ 1027.0 U/L; 各组差异均具有统计学意义(P<0.01)(表2)。从肝组织学改变也可以看出, 抑制PTEN后缺血再灌注诱导的肝损害明显减轻, 而抑制PI3K则使肝损害明显加剧(图1)。

2.2 PTEN/PI3K对AKT/GSK3 $\beta$ 信号的调控作用 为探讨PTEN/PI3K调控肝缺血再灌注损伤的机制, 我们对其下游的关键效应分子AKT/GSK3 $\beta$ 的磷酸化进行了分析。将IRI模型组小鼠按照再灌注时间点分为0(即缺血期)、1、4、6、12、24 h六个亚组。如图2中Western blot结果所示, 与假手术组相比, 缺血本身可致p-AKT表达显著降低, 但随着再灌注的发生, p-AKT表达逐渐增强, 至再灌注24 h时, p-AKT表达水平基本恢复

### ■ 相关报道

Kamo等报道, 利用小干扰RNA抑制PTEN可上调AKT介导的生存信号, 减轻肝脏IRI。而PI3K抑制剂LY294002与PTEN siRNA联合应用则废除了后者引发的肝脏保护作用。

## ■创新盘点

本文从维持细胞生理平衡的角度研究PTEN/PI3K在肝缺血再灌注损伤中的调控作用及可能的机制. 研究结果为肝脏IRI发病机制和治疗研究提供了新的方向.

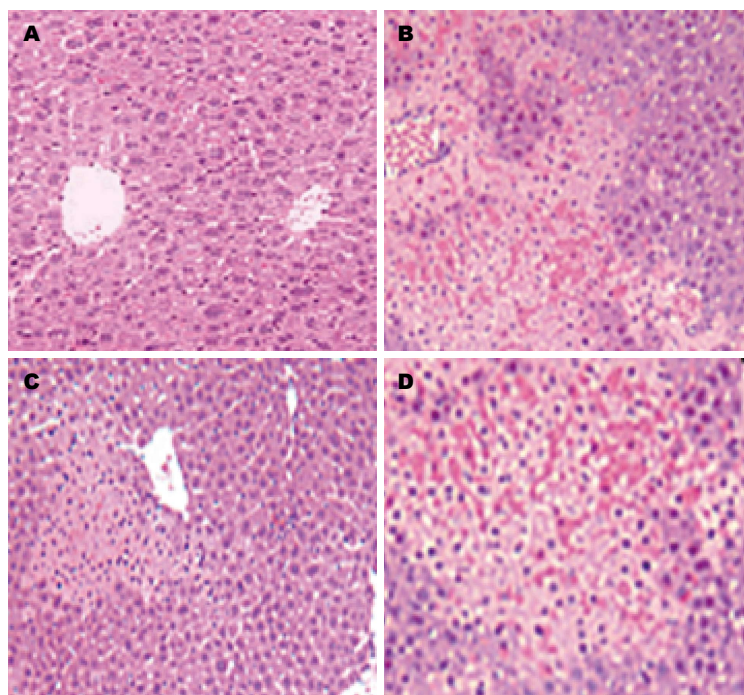


图 1 抑制PTEN/PI3K对IR诱导的肝损害的影响(H&E × 100). A: Sham; B: IR; C: BPV+IR; D: WM+IR.

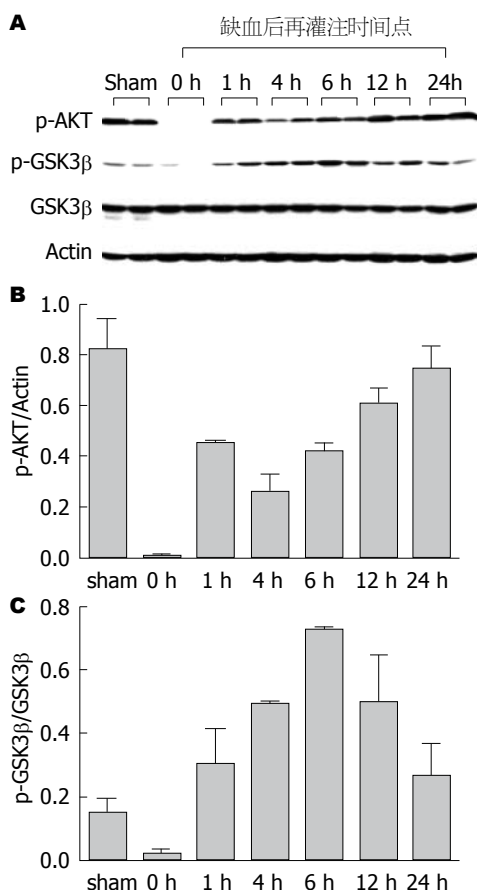


图 2 肝缺血再灌注损伤过程中AKT/GSK3β磷酸化活性的动态变化. A: Western blot检测肝组织中p-AKT、p-GSK3β的表达; B, C: 利用Image J软件半定量p-AKT、p-GSK3β的表达.

到正常. 与p-AKT的表达类似, p-GSK3β水平也于缺血期降低, 于再灌注期逐渐升高, 其表达

表 2 各组小鼠血清转氨酶水平的比较(mean ± SD, U/L)

分组	n	ALT
假手术组	6	32.8 ± 6.5
IR	8	7673 ± 738.2
WM+IR	10	12670 ± 1027.0 <sup>b</sup>
BPV+IR	10	2682 ± 367.0 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>P < 0.01 vs IR. ALT: 丙氨酸氨基转移酶.

高峰在再灌注后6 h, 之后略有降低. 该结果表明, 肝缺血损伤可致AKT失活, GSK3β去磷酸化活化, 而在再灌注期, AKT活性呈逐渐恢复趋势, 而GSK3β则维持磷酸化失活状态. 分别应用PTEN抑制剂bpv(Hopic)以及PI3K抑制剂wortmannin进行体内干预后, 我们发现, BPV+IR干预组p-AKT和p-GSK3β的蛋白表达水平明显高于IR模型组, 与之相反, WM+IR干预组的p-AKT和p-GSK3β表达则明显低于IR模型组 (IR、BPV+IR、WM+IR三组的p-AKT/Actin分别为:  $0.52 \pm 0.02$ 、 $0.89 \pm 0.05$ 、 $0.19 \pm 0.01$ ; p-GSK3β/GSK3β:  $0.61 \pm 0.01$ 、 $0.90 \pm 0.03$ 、 $0.32 \pm 0.03$ )(图3). 这就表明, 抑制PTEN后AKT及其下游的GSK3β磷酸化均明显增强, 而抑制PI3K则对两个信号分子的磷酸化产生相反的影响. 因此, PTEN和PI3K很可能通过对磷酸化的控制对其下游关键信号分子AKT/GSK3β的活性产生相反的调控作用.

### 2.3 PTEN/PI3K对TLR4介导的炎症反应的调控



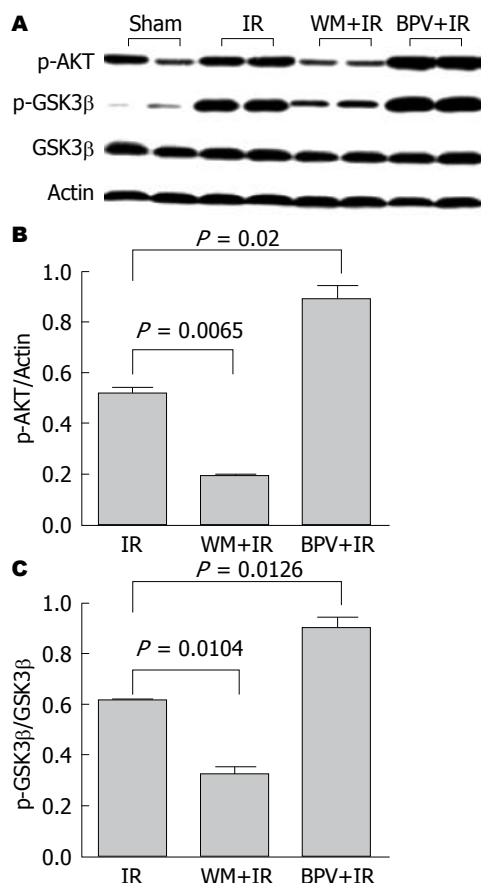


图3 抑制PTEN/PI3K对AKT/GSK3 $\beta$ 信号的调控. A: Western blot检测肝组织中p-AKT、p-GSK3 $\beta$ 的表达; B, C: 利用Image J软件半定量p-AKT、p-GSK3 $\beta$ 的表达.

鉴于TLR4介导的炎症信号在肝缺血再灌注损伤中的重要作用, 我们还分析了PTEN/PI3K对肝组织炎症反应的影响. 定量PCR结果显示, 与IR组相比, 抑制PTEN可使肝组织中促炎基因IL-12p40、TNF- $\alpha$ 的表达明显下调, IL-12p40/IL-10比值显著降低, 说明抑制PTEN后肝组织中的炎症反应向抗炎方向倾斜. 与之相反, 给予PI3K抑制剂wortmannin后, IL-12p40和TNF- $\alpha$ 表达较干预前急剧升高, IL-12p40/IL-10比值明显上升, 说明抑制PI3K加强了炎症反应. 以上各组差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )(图4).

### 3 讨论

肝脏IRI属于一个动态的发展进程, 主要包括两个阶段, 即局部缺血性攻击以及炎症介导的再灌注损伤. IRI的两个不同阶段具有独特的肝损害机制: 缺血性损伤是由糖原消耗、氧供缺乏及ATP耗竭引起的一种局灶性细胞代谢障碍过程, 可致实质细胞死亡; 而再灌注损伤中不仅存在代谢障碍, 还存在显著的炎症免疫反应, 涉及到直接及间接细胞毒性损伤<sup>[1,2]</sup>. 无论是缺血引

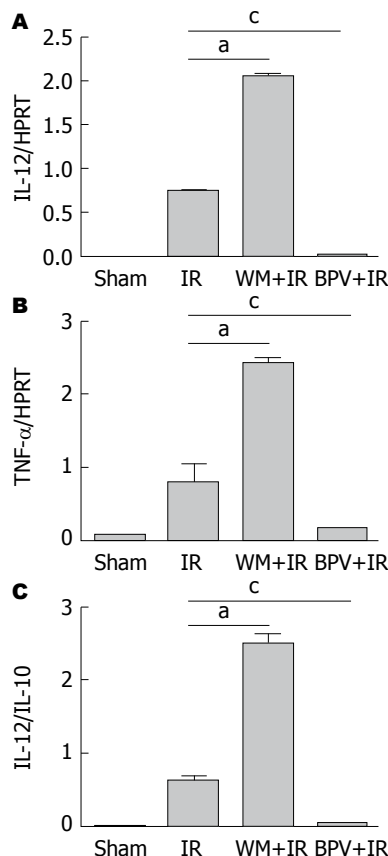


图4 抑制PTEN/PI3K对TLR4介导的炎症反应的调控. A: IL-12p40; B: TNF- $\alpha$ ; C: IL-12p40/IL-10. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$ . IL: 白介素; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ .

起的细胞死亡还是再灌注诱导的细胞损伤均涉及到细胞生理平衡的破坏及功能的紊乱, 致使细胞的生长、增殖功能受抑, 而凋亡/坏死急剧增加. 因此, 促使功能失衡的细胞尽可能恢复生理平衡对于延缓或阻止肝脏IRI的发生具有重要的意义及临床应用价值.

磷酸化和脱磷酸化是调节细胞生长和增殖的主要机制, 保持这一过程正常的关键是维持激酶的平衡. PI3K是一种进化上保守的脂质磷酸激酶, 活化的PI3K可催化PIP2磷酸化为PIP3, 进而激活AKT. 磷酸化活化的p-AKT通过激活或抑制其下游多种靶蛋白, 如GSK3、NF- $\kappa$ B、mTOR等促进细胞生存、增殖, 因此, PI3K/AKT介导的信号通路被认为是重要的生存信号转导通路<sup>[8-10,17,18]</sup>. PI3K/AKT/GSK3信号转导通路受多种因子的调节, 其中PTEN为一个至关重要的负性调节因子<sup>[5-7]</sup>. PTEN的脂质磷酸酶活性可使PIP3去磷酸化转变为PIP2而失活, 继而降低AKT的磷酸化, 从而逆转并拮抗PI3K的作用. 因此, PTEN/PI3K之间的平衡在很大程度上决定着PIP3的水平以及对细胞生长、增殖的调控走向. PTEN抑制和/或PI3K活化使细胞内PIP3积聚, AKT持续活化, 从而促进

### 应用要点

除肝移植外, 目前尚无针对肝缺血再灌注损伤的确切有效的干预措施. 通过干预PTEN/PI3K信号(抑制PTEN和/或上调PI3K活性)可促进细胞生存、增殖, 抑制炎症反应, 减轻肝缺血再灌注损伤. 重新使失衡的PTEN/PI3K恢复平衡为肝脏IRI的治疗开辟了新的方向.

### ■同行评价

本文内容较新颖, 实验证据较充足, 结论准确, 可为临床防治肝脏缺血再灌注损伤提供一定的实验依据。

细胞生存、增殖, 反之亦然<sup>[5-10,19-21]</sup>。

鉴于PTEN/PI3K在维持细胞功能稳态方面的重要作用, 本研究分别采用PTEN抑制剂bpv(HOPic)和PI3K抑制剂wortmannin进行干预, 观察阻断PTEN/PI3K对肝缺血再灌注损伤的影响。血清ALT和肝组织病理改变均提示, 抑制PTEN可使IR诱导的肝损伤明显缓解, 而抑制PI3K则产生与之截然相反的效应。目前国内外关于PTEN在肝脏IRI中的作用及机制的报道还很少见。我们的研究结果与国外Kamo等<sup>[22]</sup>的报道类似。该研究发现, 利用小干扰RNA抑制PTEN可增强AKT/ $\beta$ -catenin/Foxo1信号, 促进细胞生存, 减轻肝脏IRI。而PI3K抑制剂LY294002与PTEN siRNA联合应用则废除了后者引发的肝脏保护效应。因此, 抑制PTEN和/或激活PI3K对于减轻或防止缺血再灌注诱导的肝损伤具有重要的意义。

为进一步分析PTEN/PI3K在肝脏IRI中的调控作用以及可能的机制, 我们对PTEN/PI3K的关键下游信号分子AKT及GSK3 $\beta$ 的磷酸化活性变化进行了分析。在我们的缺血再灌注肝损伤小鼠模型中, 缺血期去磷酸化的AKT于再灌注过程中逐渐恢复其磷酸化活性, 这就说明, 再灌注触发了一种“自我调控”机制, 这种保护性自身反应的功能是尽可能维持细胞的生理平衡, 从而缓解或抑制肝损伤。近年来的研究已经证实了抑制GSK3 $\beta$ (使其磷酸化失活)所具有的肝脏保护效应<sup>[16,23,24]</sup>。本研究中, AKT下游的关键效应分子GSK3 $\beta$ 的磷酸化水平于再灌注过程中显著增强, 进一步证明了PI3K/AKT介导的生存信号所具有的肝脏保护作用。

应用PTEN抑制剂bpv(HOPic)后, AKT及其下游的GSK3 $\beta$ 的磷酸化较IR组显著增强, 而给予PI3K抑制剂wortmannin后, AKT/GSK3 $\beta$ 的磷酸化活性则明显减弱, 表明抑制PTEN可通过促使下游关键效应分子AKT及GSK3 $\beta$ 磷酸化而大大加强再灌注触发的保护性自我调控机制。与之相反, 抑制PI3K后阻断了AKT/GSK3 $\beta$ 的磷酸化, 进而破坏了肝脏的自我调控功能, 加重了缺血再灌注诱导的肝损伤。该结果对于肝脏IRI的预防及治疗具有重要的价值, 因为虽然IR过程中可以触发保护性的自我调控机制, 但这种代偿性的PI3K/AKT/GSK3信号较弱, 当损伤程度超过其可以代偿的范围时, 则无法抵御再灌注所引起的肝损害。

肝脏IRI, 尤其是再灌注损伤过程与炎症免

疫反应密切相关。TLR4活化是触发肝脏IR免疫反应的关键事件<sup>[1,2,25,26]</sup>。而抑制PTEN活性, 从而促使PI3K/AKT信号上调, 可提供一种负性TLR4调节反馈, 以抑制NF- $\kappa$ B/IRF3活性, 最终抑制肝脏促炎基因表达<sup>[27,28]</sup>。本研究中, 我们发现, 抑制PTEN后, 促炎基因IL-12p40、TNF- $\alpha$ 的表达较IR组明显降低, 并且IL-12p40/IL-10的平衡向抗炎方向倾斜; 反之, 抑制PI3K则使促炎基因的表达急剧升高, IL-12p40/IL-10的平衡明显倾向于促炎方向。因此, 利用药物或者其他干预措施下调PTEN或者上调PI3K/AKT活性, 可致TLR4/NF- $\kappa$ B的表达受阻、巨噬细胞介导的促炎反应减轻。

总之, PTEN/PI3K在肝缺血再灌注损伤中发挥关键的调控作用, 抑制PTEN可能通过上调促生存信号PI3K/AKT/GSK3的活性以及抑制炎症反应而减轻缺血再灌注损伤。虽然再灌注可触发挽救性生存信号PI3K/AKT/GSK3的活化, 然而如无药物调控, 较弱的保护性自我调控功能并不足以抵抗再灌注损伤。因此, 通过抑制PTEN和/或上调PI3K活性使失衡的PTEN/PI3K重新恢复平衡为肝脏IRI的治疗开辟了新的方向。随着对PTEN/PI3K上游调控信号和下游底物分子的进一步阐明, PTEN/PI3K信号转导通路与肝脏IRI的关系也将更加明朗化, 将有助于我们更深入地理解肝脏IRI发生发展的本质, 为其治疗提供新的策略。

### 4 参考文献

- 1 Zhai Y, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Liver ischemia and reperfusion injury: new insights into mechanisms of innate-adaptive immune-mediated tissue inflammation. *Am J Transplant* 2011; 11: 1563-1569 [PMID: 21668640 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03579.x]
- 2 Zhai Y, Petrowsky H, Hong JC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. Ischaemia-reperfusion injury in liver transplantation--from bench to bedside. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 79-89 [PMID: 23229329 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.225]
- 3 Tsung A, Klune JR, Zhang X, Jeyabalan G, Cao Z, Peng X, Stolz DB, Geller DA, Rosengart MR, Billiar TR. HMGB1 release induced by liver ischemia involves Toll-like receptor 4 dependent reactive oxygen species production and calcium-mediated signaling. *J Exp Med* 2007; 204: 2913-2923 [PMID: 17984303]
- 4 Lentsch AB, Kato A, Yoshidome H, McMasters KM, Edwards MJ. Inflammatory mechanisms and therapeutic strategies for warm hepatic ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2000; 32: 169-173 [PMID: 10915720]
- 5 Chung JH, Eng C. Nuclear-cytoplasmic partitioning of phosphatase and tensin homologue deleted

- on chromosome 10 (PTEN) differentially regulates the cell cycle and apoptosis. *Cancer Res* 2005; 65: 8096-8100 [PMID: 16166282]
- 6 Mocanu MM, Yellon DM. PTEN, the Achilles' heel of myocardial ischaemia/reperfusion injury? *Br J Pharmacol* 2007; 150: 833-838 [PMID: 17293884]
  - 7 Piguet AC, Dufour JF. PI(3)K/PTEN/AKT pathway. *J Hepatol* 2011; 54: 1317-1319 [PMID: 21168457 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.12.013]
  - 8 Vivanco L, Sawyers CL. The phosphatidylinositol 3-Kinase AKT pathway in human cancer. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 489-501 [PMID: 12094235]
  - 9 Song G, Ouyang G, Bao S. The activation of Akt/PKB signaling pathway and cell survival. *J Cell Mol Med* 2005; 9: 59-71 [PMID: 15784165]
  - 10 Carracedo A, Pandolfi PP. The PTEN-PI3K pathway: of feedbacks and cross-talks. *Oncogene* 2008; 27: 5527-5541 [PMID: 18794886 DOI: 10.1038/onc.2008.247]
  - 11 Keyes KT, Xu J, Long B, Zhang C, Hu Z, Ye Y. Pharmacological inhibition of PTEN limits myocardial infarct size and improves left ventricular function postinfarction. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2010; 298: H1198-H1208 [PMID: 20097771 DOI: 10.1152/ajpheart.00915.2009]
  - 12 Ruan H, Li J, Ren S, Gao J, Li G, Kim R, Wu H, Wang Y. Inducible and cardiac specific PTEN inactivation protects ischemia/reperfusion injury. *J Mol Cell Cardiol* 2009; 46: 193-200 [PMID: 19038262 DOI: 10.1016/j.yjmcc.2008.10.021]
  - 13 Shi GD, OuYang YP, Shi JG, Liu Y, Yuan W, Jia LS. PTEN deletion prevents ischemic brain injury by activating the mTOR signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 404: 941-945 [PMID: 21185267 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.12.085]
  - 14 Lai JP, Bao S, Davis IC, Knoell DL. Inhibition of the phosphatase PTEN protects mice against oleic acid-induced acute lung injury. *Br J Pharmacol* 2009; 156: 189-200 [PMID: 19134000 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2008.00020.x]
  - 15 Tu Y, Wan L, Fan Y, Wang K, Bu L, Huang T, Cheng Z, Shen B. Ischemic postconditioning-mediated miRNA-21 protects against cardiac ischemia/reperfusion injury via PTEN/Akt pathway. *PLoS One* 2013; 8: e75872 [PMID: 24098402 DOI: 10.1371/journal.pone.0075872]
  - 16 Ren F, Duan Z, Cheng Q, Shen X, Gao F, Bai L, Liu J, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW, Zhai Y. Inhibition of glycogen synthase kinase 3 beta ameliorates liver ischemia reperfusion injury by way of an interleukin-10-mediated immune regulatory mechanism. *Hepatology* 2011; 54: 687-696 [PMID: 21567437 DOI: 10.1002/hep.24419]
  - 17 Li B, Desai SA, MacCorkle-Chosnek RA, Fan L, Spencer DM. A novel conditional Akt 'survival switch' reversibly protects cells from apoptosis. *Gene Ther* 2002; 9: 233-244 [PMID: 11896462]
  - 18 François S, El Benna J, Dang PM, Pedruzzi E, Gougérot-Pocidalo MA, Elbim C. Inhibition of neutrophil apoptosis by TLR agonists in whole blood: involvement of the phosphoinositide 3-kinase/Akt and NF-kappaB signaling pathways, leading to increased levels of Mcl-1, A1, and phosphorylated Bad. *J Immunol* 2005; 174: 3633-3642 [PMID: 15749901]
  - 19 Günzl P, Schabbauer G. Recent advances in the genetic analysis of PTEN and PI3K innate immune properties. *Immunobiology* 2008; 213: 759-765 [PMID: 18926291 DOI: 10.1016/j.imbio.2008.07.028]
  - 20 Stocker H, Andjelkovic M, Oldham S, Laffargue M, Wymann MP, Hemmings BA, Hafen E. Living with lethal PIP3 levels: viability of flies lacking PTEN restored by a PH domain mutation in Akt/PKB. *Science* 2002; 295: 2088-2091 [PMID: 11872800]
  - 21 陈培, 张钦宪. PTEN-PI3K/AKT细胞信号转导通路与肿瘤. *癌变畸变突变* 2010; 6: 484-487
  - 22 Kamo N, Ke B, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. PTEN-mediated Akt/ $\beta$ -catenin/Foxo1 signaling regulates innate immune responses in mouse liver ischemia/reperfusion injury. *Hepatology* 2013; 57: 289-298 [PMID: 22807038 DOI: 10.1002/hep.25958]
  - 23 任锋, 张海燕, 朴正福, 郑素军, 陈煜, 武志明, 段钟平. 糖原合成酶激酶-3 $\beta$ 在肝脏热缺血再灌注损伤中的作用及其干预. *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 547-551
  - 24 任锋, 张海燕, 朴正福, 郑素军, 陈煜, 陈德喜, 段钟平. 抑制糖原合成酶激酶3活性对Toll样受体4介导肝脏炎症反应的调节作用. *中华肝脏病杂志* 2012; 20: 693-697
  - 25 Zhai Y, Shen XD, O'Connell R, Gao F, Lassman C, Busuttil RW, Cheng G, Kupiec-Weglinski JW. Cutting edge: TLR4 activation mediates liver ischemia/reperfusion inflammatory response via IFN regulatory factor 3-dependent MyD88-independent pathway. *J Immunol* 2004; 173: 7115-7119 [PMID: 15585830]
  - 26 Tsung A, Sahai R, Tanaka H, Nakao A, Fink MP, Lotze MT, Yang H, Li J, Tracey KJ, Geller DA, Billiar TR. The nuclear factor HMGB1 mediates hepatic injury after murine liver ischemia-reperfusion. *J Exp Med* 2005; 201: 1135-1143 [PMID: 15795240]
  - 27 Fukao T, Koyasu S. PI3K and negative regulation of TLR signaling. *Trends Immunol* 2003; 24: 358-363 [PMID: 12860525]
  - 28 Ke B, Shen XD, Ji H, Kamo N, Gao F, Freitas MC, Busuttil RW, Kupiec-Weglinski JW. HO-1-STAT3 axis in mouse liver ischemia/reperfusion injury: regulation of TLR4 innate responses through PI3K/PTEN signaling. *J Hepatol* 2012; 56: 359-366 [PMID: 21756853 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.05.023]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型

王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫

## ■背景资料

功能性消化不良 (functional dyspepsia, FD) 是最常见的功能性胃肠病之一。在快节奏、高压力的现代社会中, FD 的发病率呈现逐年增长的趋势, 且具有反复发作、迁延不愈的特点, 不仅严重影响了患者的生活质量而且增加了社会的医疗卫生负担。

王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫, 广西医科大学第一附属医院中医科 广西壮族自治区南宁市 530021  
梁纲, 广西医科大学病理生理学教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

王煜姣, 主要从事中西医结合消化的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2013GXNSFAA019139

广西中医药民族医药继承创新工程攻关课题基金资助项目, No. GZGG13-04

广西高校科学技术研究重点项目基金资助项目, No. 2013ZD013

作者贡献分布: 此课题由凌江红设计; 实验研究过程由梁纲指导; 王煜姣、张钰琴、农云凤、刘培凤及李东鑫共同操作完成; 研究所用试剂由凌江红提供; 论文写作由王煜姣与凌江红完成。

通讯作者: 凌江红, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院中医科。

ling\_jianghong@sina.com

电话: 0771-5356515

收稿日期: 2013-10-28 修回日期: 2013-11-16

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-18

## Establishment of a rat model of functional dyspepsia by a compound method

Yu-Jiao Wang, Jiang-Hong Ling, Yu-Qin Zhang, Gang Liang, Yun-Feng Nong, Pei-Feng Liu, Dong-Xin Li

Yu-Jiao Wang, Jiang-Hong Ling, Yu-Qin Zhang, Yun-Feng Nong, Pei-Feng Liu, Dong-Xin Li, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Gang Liang, Department of Pathophysiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation Program, No. 2013GXNSFAA019139; the Guangxi Research Fund for Inheritance and Innovation Projects of Chinese National Minority Medicine, No. GZGG13-04; the Guangxi Science and Technology Research Project Funding for Colleges and Universities, No. 2013ZD013

Correspondence to: Jiang-Hong Ling, Chief Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. ling\_jianghong@sina.com

Received: 2013-10-28 Revised: 2013-11-16

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To establish the rat model of functional dyspepsia (FD) by a method combining constantly squeezing the tail with hunger or overeating.

**METHODS:** Twenty-four rats were randomly divided into a control group and two model groups ( $n = 8$  for each group). In one model group, FD was induced by constantly squeezing rat tails. In the other model group, FD was induced by constantly squeezing rat tails plus hunger or overeating. Open-field test was performed weekly. After four weeks, gastric emptying and intestinal transit function were detected.

**RESULTS:** Rats in the two model groups all showed pad batch, margination, less movement, reduced aggressiveness, easy to rag, withered hair, and loose stools. The rats were sacrificed and laparotomized four weeks later, and gastric mucosa in the control group had no significant flushing, swelling, erosions or other changes, while the model groups had much gastric contents and flushing. The sugar consumption, the scores for horizontal motion in the open-field test, and the rates of gastric emptying and intestinal transit function were all decreased in the model groups compared to the control group (all  $P < 0.05$ ), and the decreases were more significance in the compound model group (all  $P < 0.05$ ). The scores for vertical motion in the open-field test showed no significance difference between the two model groups.

**CONCLUSION:** FD induced by constantly squeezing rat tails plus hunger or overeating can better reflect disease features of FD such as depression and decreased gastrointestinal motility than that induced by constantly squeezing the tails alone.

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

**Key Words:** Functional dyspepsia; Rat model; Compound method

Wang YJ, Ling JH, Zhang YQ, Liang G, Nong YF, Liu PF, Li DX. Establishment of a rat model of functional dyspepsia by a compound method. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 210-214 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.210>

## ■同行评议者

马欣, 主任医师, 甘肃省人民医院消化科

## 摘要

**目的:** 采用夹尾刺激+不规则喂养复合法复制功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)大鼠模型。

**方法:** 24只大鼠随机分为正常组、模型1组、模型2组, 每组8只。模型1组进行夹尾刺激, 对后2组大鼠进行夹尾刺激及不规则喂养干预。每周进行敞箱实验(open-field法)、糖水消耗实验的测定, 4 wk后测定胃排空率及小肠推进率。

**结果:** 4 wk后, 模型1组、模型2组大鼠均出现扎堆、靠边, 不喜活动, 攻击性减少, 易受惊吓, 毛发干枯不顺, 粪便变软等表现。4 wk后剖腹取胃, 正常组胃黏膜无明显潮红、肿胀、糜烂等病变, 模型1组及模型2组胃内残留物较多, 胃黏膜稍潮红。模型1组、模型2组大鼠糖水消耗、敞箱实验水平运动次数、胃排空率及小肠推进率均较正常组显著减低( $P<0.05$ ), 而模型2组大鼠糖水消耗、敞箱实验水平运动次数、胃排空率及小肠推进率均显著低于模型1组( $P<0.05$ ), 模型2组大鼠敞箱实验垂直运动次数低于模型1组, 但无显著性差别。

**结论:** 用夹尾刺激+不规则喂养复合方法建立FD大鼠模型较单纯夹尾刺激法更能理想的体现出FD患者抑郁、胃肠动力减慢的疾病特点。

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 功能性消化不良; 大鼠模型; 复合病因造模

**核心提示:** 夹尾刺激+不规则喂养复合法制备FD大鼠模型, 不仅充分体现了FD患者发病中精神心理因素的重要性, 而且复制了其饮食不节的致病因素, 即较真实地反映了FD的自然发病过程, 对深入研究FD有重大意义。

王煜姣, 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 农云凤, 刘培凤, 李东鑫. 复合病因造模法制备功能性消化不良大鼠模型. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 210-214 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/210.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.210>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是常见的功能性胃肠病之一。国外研究显示, 全球FD的患病率约为10%-30%<sup>[1]</sup>; 国内报道称, 在随机抽取的1016名健康人中, 有23.5%存在FD, 9.1%存在不同程度的抑郁或焦虑<sup>[2]</sup>。目前关于FD的病

因及发病机制尚无定论, 治疗效果欠佳, 病情易反复, 因此建立较理想的动物模型对FD的深入研究具有重要意义。目前制备FD大鼠模型有夹尾刺激法、不规则喂养+饮用酸化水法、甘草颗粒剂混悬液灌胃法、0.1%碘乙酰胺蔗糖溶液喂养法等, 上述方法均有不同程度的局限性, 尤其是不能理想地模拟临床FD发病的病因及发病过程。我们前期采用夹尾刺激大鼠<sup>[3]</sup>, 发现部分大鼠胃黏膜出现不同程度的糜烂和溃疡与FD临床诊断不符, 考虑与刺激强度有关, 为此, 我们通过改良夹尾刺激结合不规则喂养的方法复制FD大鼠模型, 以期研究FD提供一种更好的动物模型。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 清洁级Wistar大鼠50只, 雌雄各半, 体重200-220 g(广西医科大学实验动物中心提供)。用open-field法做行为学评分选择得分相近的24只大鼠, 将其随机分为正常组、模型1组、模型2组, 每组8只。

### 1.2 方法

**1.2.1 造模:** 除正常组外, 模型1组按照参考文献<sup>[3]</sup>稍加改良, 即用纱布包裹止血钳轻度钳夹鼠尾后1/3处, 立即放开, 每次30 min, 2次/d; 模型2组采用夹尾刺激+不规则喂养法, 即除采用模型1组的夹尾刺激外, 予每周二、四、六禁食, 余日给足量饲料, 持续4 wk。

**1.2.2 行为学观察:** (1)一般情况: 通过动物的皮毛、情绪反应、行为状态、活跃状况等进行一般情况的观察; (2)糖水消耗实验: 大鼠禁食禁水24 h后, 给予每组大鼠一瓶1%糖水(已称质量), 1 h后取走水瓶再次称量质量, 两次称质量的差值即为1%糖水摄入量, 于实验第7、14、21、28天各称量1次; (3)敞箱实验(open-field法): 参考文献<sup>[4]</sup>加以修改, 本实验使用的敞箱为自制70 cm×70 cm×40 cm的纸箱, 敞箱的四壁及底面均涂成黑色, 底面用粉笔划分成等面积的25个方块。实验时将大鼠置于敞箱底面正中的方格内, 以大鼠穿越底面的格数(三爪均踏入方格内可计数)为水平运动的次数; 以前肢离地次数(前肢腾空或攀附箱壁)为垂直运动次数, 每只大鼠在实验第7、14、21、28天各测定1次, 3 min/次。每只大鼠测定完成后需清洁敞箱, 将上次动物余留的信息(如动物的大、小便、毛发)清除后再测定下只大鼠。

**1.2.3 胃肠动力测定:** (1)胃排空率测定: 实验前

## ■研究前沿

目前认为FD的发病机制并非单一因素可以完全解释, 而是多种因素相互作用的结果。可能与胃肠动力障碍、内脏敏感性增高、幽门螺旋杆菌感染、脑肠肽含量异常、黏膜炎症免疫及精神心理因素等相关。由于FD的病因及发病机制尚无定论, 治疗效果欠佳, 病情易反复, 因此建立较理想的动物模型对FD的深入研究具有重要意义。

## ■相关报道

目前制备FD大鼠模型有夹尾刺激法、不规则喂养+饮用酸化水法、甘草颗粒剂混悬液灌胃法、0.1%碘乙酰胺蔗糖溶液喂养法等, 上述方法均有不同程度的局限性。夹尾刺激法是目前较常采用FD模型的方法之一。我们课题组研究该模型发现, 经过短期高强度夹尾刺激的大鼠部分胃黏膜存在糜烂或溃疡等改变, 这与FD非器质性改变是不相符合的。本文通过慢性夹尾刺激使大鼠恼怒、肝气郁结诱发其抑郁, 不规则喂养模拟饮食不节致大鼠脾虚, 使该模型发病过程及特征与患者的临床过程更符合。

### ■创新盘点

本研究以精神心理障碍和饮食不节是FD的明显促发因素为切入点,利用慢性夹尾刺激使大鼠恼怒,诱发其抑郁,不规则喂养模拟饮食不节的致病因素,即以夹尾刺激复合不规则喂养制备FD大鼠模型。

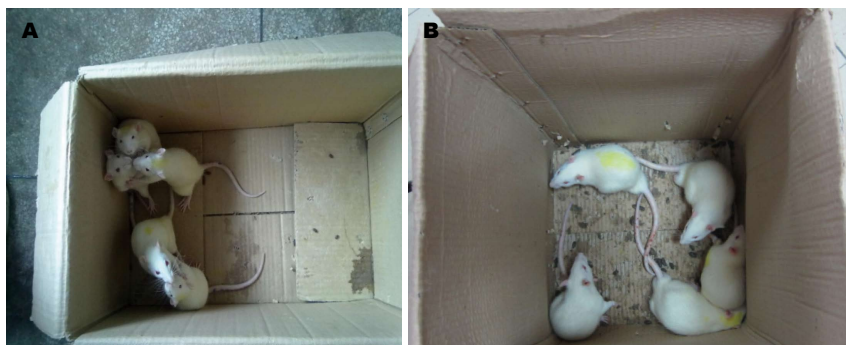


图1 用夹尾+饥饱失常复合法制备FD大鼠的情况。

A: 造模约2.5 wk时大鼠相互打斗; B: 造模约3.5 wk时大鼠靠边、扎堆。FD: 功能性消化不良。

表1 各组大鼠糖水消耗实验比较( $n=8$ , mean  $\pm$  SD, g)

分组	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	8.0 $\pm$ 1.5	9.3 $\pm$ 1.6	10.3 $\pm$ 2.9	11.7 $\pm$ 3.5
模型1组	7.3 $\pm$ 1.4	7.4 $\pm$ 1.2 <sup>a</sup>	8.2 $\pm$ 1.8	8.6 $\pm$ 2.1 <sup>a</sup>
模型2组	7.0 $\pm$ 1.3	6.5 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>	7.3 $\pm$ 2.2 <sup>a</sup>	6.6 $\pm$ 2.3 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 正常对照组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 模型1组。

大鼠禁食不禁水12 h,用碳素墨水灌胃(1 mL/100 g),30 min后用10%水合氯醛麻醉大鼠,剖腹取胃,称取质量为全胃质量,沿胃小弯侧剪开胃壁,冲净胃内容物,滤纸吸干,称取质量为空胃质量,计算胃排空率。胃排空率(%) = (全胃质量-空胃质量)/全胃质量 $\times$ 100%; (2)小肠推进率的测定:分离肠系膜,剪取幽门至回盲部的肠管,置于白纸上,轻轻拉成直线,测量肠管长度为小肠总长度,从幽门至碳墨前沿的距离为碳墨在小肠内推进的距离。小肠推进率(%) = 碳墨在小肠推进的距离/小肠总长度 $\times$ 100%。

**统计学处理** 实验所有数据用mean $\pm$ SD表示,均用SPSS16.0软件处理,采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠一般情况** 实验初期,模型2组大鼠打斗明显,在0.5 h内始终保持打斗及恼怒状态,2.5 wk的时候打斗最为激烈,轻度刺激即可引起大鼠站立对峙打斗,第3周后大鼠出现扎堆,靠边,对刺激不敏感,打斗减弱,攻击性减少,易受惊吓,毛发干枯不顺,粪便变软等表现,模型1组打斗激烈及减弱的周数较模型2组减慢0.5 wk左右(图1)。

**2.2 糖水消耗** 从造模的第2周起,模型1组、模型2组大鼠糖水消耗显著低于正常组( $P<0.05$ );第4周模型2组大鼠糖水消耗显著低于模型1组( $P<0.05$ )(表1)。

## 2.3 敞箱实验

**2.3.1 敞箱实验水平运动次数:**从造模的第1周起,模型1组、模型2组大鼠敞箱实验水平运动次数均显著低于正常组( $P<0.05$ ),第3周模型2组大鼠敞箱实验水平运动次数显著低于模型1组( $P<0.05$ )(表2)。

**2.3.2 敞箱实验垂直运动次数:**从造模的第1周起,模型2组大鼠敞箱实验垂直运动次数显著低于正常组( $P<0.05$ ),模型2组大鼠敞箱实验垂直运动次数显著低于模型1组,但无显著性差别(表3)。

**2.4 胃肠动力测定** 模型1组、模型2组大鼠胃排空率、小肠推进率显著低于正常组( $P<0.05$ ),模型2组大鼠胃排空率、小肠推进率显著低于模型1组( $P<0.05$ )(表4)。

## 3 讨论

夹尾刺激法<sup>[5]</sup>是目前学者较常采用的复制FD模型的方法之一。我们课题组从2007年开始研究夹尾刺激大鼠模型,观察发现,经过短期高强度夹尾刺激的大鼠部分胃黏膜存在针尖样糜烂或溃疡等肉眼改变,这与FD非器质性改变是不相符合的。为此我们课题组<sup>[3]</sup>通过降低每日刺激频率、延长造模周期来降低刺激强度,并采用纱布包裹止血钳减少大鼠尾部机械性损伤等来改良该模型,使其符合FD慢性应激病因及病程较长的临床过程,结果发现模型大鼠出现活动性、兴奋性及食量下降,体质量增长缓慢等改变,其更符合FD的临床发病过程,但该模型未充



表 2 各组大鼠敞箱实验水平运动情况的比较( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD, 格数)

分组	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	59.8 $\pm$ 5.7	58.6 $\pm$ 7.1	56.3 $\pm$ 7.7	55.0 $\pm$ 7.9
模型1组	42.6 $\pm$ 5.3 <sup>a</sup>	40.5 $\pm$ 5.9 <sup>a</sup>	37.4 $\pm$ 6.8 <sup>a</sup>	35.1 $\pm$ 7.2 <sup>a</sup>
模型2组	38.0 $\pm$ 6.1 <sup>a</sup>	34.1 $\pm$ 7.4 <sup>a</sup>	29.8 $\pm$ 8.1 <sup>ac</sup>	27.9 $\pm$ 7.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型1组。表 3 各组大鼠敞箱实验垂直运动情况的比较( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD, 格数)

分组	7 d	14 d	21 d	28 d
正常对照组	17.7 $\pm$ 2.3	16.6 $\pm$ 2.0	15.9 $\pm$ 2.3	14.8 $\pm$ 3.6
模型1组	16.5 $\pm$ 3.3	15.1 $\pm$ 4.1	13.3 $\pm$ 4.8	12.3 $\pm$ 4.9
模型2组	14.1 $\pm$ 3.1 <sup>a</sup>	11.9 $\pm$ 2.3 <sup>a</sup>	9.7 $\pm$ 3.0 <sup>a</sup>	8.9 $\pm$ 2.5 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组。表 4 各组大鼠胃排空率、小肠推进率的比较( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD, %)

分组	胃排空率	小肠推进率
正常对照组	60.7 $\pm$ 1.9	71.5 $\pm$ 1.8
模型1组	54.9 $\pm$ 2.6 <sup>a</sup>	66.5 $\pm$ 1.7 <sup>a</sup>
模型2组	47.0 $\pm$ 2.5 <sup>ac</sup>	63.5 $\pm$ 1.8 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 模型1组。

分考虑FD的病因, 仅复制了单一病因, 未能很好地体现其复杂的致病因素。

近年来研究发现, 精神心理障碍和饮食不节是FD的明显促发因素<sup>[6,7]</sup>。焦虑和抑郁是FD精神心理障碍的主要表现形式, 而应激可以引起人类及动物的下丘脑-垂体-肾上腺皮质轴功能亢进, 且出现抑郁状态<sup>[8]</sup>。祖国医学认为: “怒伤肝、久则郁”; “饮食自倍, 肠胃乃伤”, 而肝郁脾虚是FD的核心病机<sup>[9,10]</sup>。当前模型的建立思路正是基于以上理论。实验中, 我们通过夹尾应激使大鼠恼怒, 肝气郁结诱发其抑郁, 不规则喂养模拟饮食不节致大鼠脾虚, 使该模型发病过程及特征与患者的临床过程类似。

FD患者较正常人更多的伴有焦虑、抑郁或疑病质<sup>[11]</sup>。而研究抑郁症模型最常用的两个行为指标分别是糖水消耗实验和敞箱实验<sup>[12,13]</sup>。快感缺失是抑郁症的核心症状, 其中糖水消耗量是评价快感缺乏的主要指标; 敞箱实验被用于检测大鼠在陌生空间里的探究行为, 其中水平运动得分与大鼠活动度的相关; 垂直运动得分与大

鼠对环境的好奇程度相关<sup>[14]</sup>。而我们实验表明: 夹尾刺激+不规则喂养法复制的FD大鼠较正常对照组大鼠对摄食的愉悦感、运动及探索行为能力下降, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。且胃肠解剖肉眼未见明显溃疡及其他器质性病变, 符合FD的动物模型。从胃肠动力检测的结果来看, 复合造模法组胃排空率及小肠推进率降低与正常对照组有显著差异( $P < 0.05$ )。这与目前胃肠动力障碍被认为是FD主要的病理生理学基础<sup>[15]</sup>是一致的。并且, 本实验结果还表明复合造模法复制的FD大鼠无论在抑郁状态还是胃肠动力降低均较单纯夹尾刺激法更理想( $P < 0.05$ )。

总之, 夹尾刺激+不规则喂养复合法制备FD大鼠模型较真实地反映了FD的自然发病过程, 遵守了“动物模型是自然疾病的映射”的原则, 可广泛应用于FD的实验研究。

#### 4 参考文献

- Voiosu TA, Giurcan R, Voiosu AM, Voiosu MR. Functional dyspepsia today. *Maedica (Buchar)* 2013; 8: 68-74 [PMID: 24023602]
- Li Y, Nie Y, Sha W, Su H. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia: an epidemiological study. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 1082-1084 [PMID: 12173597]
- 凌江红, 张钰琴, 梁纲, 韦连明, 陈业强, 刘耀利, 李勇杰. 疏肝理气法对夹尾应激大鼠行为学及胃组织学的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 299-302
- 徐博佳, 郑祖艳, 蒋鹏, 张海芳. 头穴丛刺对慢性抑郁模型大鼠行为学改变的影响. *针灸临床杂志* 2012; 28: 47-49
- 郭海军, 林洁, 李国成, 李亦武, 陶秀良, 罗树星. 功能性消化不良的动物模型研究. *中国中西医结合消化杂志* 2001; 9: 141-142

#### ■应用要点

夹尾刺激+不规则喂养复合法制备FD大鼠模型较真实的反映了FD的自然发病过程, 遵守了“动物模型是自然疾病的映射”的原则, 可广泛应用于FD的实验研究。

## ■同行评价

本文立意新颖、方法科学,文章结合了国内外许多的最新研究,为临床FD的进一步科学研究提供了较好的模型制造方法。

- 6 Van Oudenhove L, Aziz Q. The role of psychosocial factors and psychiatric disorders in functional dyspepsia. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 158-167 [PMID: 23358396 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.10]
- 7 李霞, 张翼宙, 董颖. 基于内容分析法的功能性消化不良中医病因病机探讨. *浙江中医杂志* 2013; 48: 115-116
- 8 王哲, 胡随瑜, 宋炜熙, 张春虎, 陈昌华. 白松片对慢性应激抑郁模型大鼠行为学及血浆CORT、ACTH的影响. *中国临床心理学杂志* 2004; 12: 185-187
- 9 李丰衣, 孙劲晖. 田德禄治疗功能性消化不良的经验. *湖北中医杂志* 2006; 28: 23-25
- 10 徐敏, 卜平, 时乐, 李瑶瑶, 张瑜. 功能性消化不良222例证候病机分析. *实用中医药杂志* 2006; 22: 246-247
- 11 陈荣健, 王垂杰. 功能性消化不良研究进展. *实用中医内科杂志* 2013; 27: 150-152
- 12 董海影, 兴桂华, 张晓杰. 不同年龄组大鼠抑郁症模型评价. *中国老年学杂志* 2011; 31: 1796-1797
- 13 谢正, 李恒芬, 代娟, 刘纪猛. 抑郁症动物模型的建立及评价. *国际精神病学杂志* 2007; 34: 212-215
- 14 崔杰, 郑兴宇, 高晓霞, 秦雪梅. 逍遥散抗抑郁作用最佳剂量筛选. *中国实验方剂学杂志* 2010; 16: 194-198
- 15 张军. 功能性消化不良研究的新进展. *临床消化病杂志* 2009; 21: 107-109

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# MK-886与塞来昔布小剂量联合对小鼠结肠癌的抑制作用

何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏

何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏, 辽宁省大连市大连大学附属中山医院消化内科 辽宁省大连市 116001

何龙英, 硕士, 医师, 主要从事花生四烯酸对结肠癌相关影响的研究。

辽宁省科技计划基金资助项目, No. 2010225036

作者贡献分布: 此课题由何龙英与刘春英设计; 细胞培养及动物模型建立及后期RT-PCR操作、蛋白Western blot操作及统计分析由何龙英、高杉及舒敏完成; 论文写作由何龙英与刘春英完成。通讯作者: 刘春英, 主任医师, 116001, 辽宁省大连市中山区解放街6号, 大连大学附属中山医院消化内科。

chunying@yahoo.com.cn

电话: 0411-62893080

收稿日期: 2013-10-19 修回日期: 2013-11-12

接受日期: 2013-11-27 在线出版日期: 2014-01-18

## MK-886 combined with celecoxib inhibits colon cancer in mice

Long-Ying He, Chun-Ying Liu, Shan Gao, Min Shu

Long-Ying He, Chun-Ying Liu, Shan Gao, Min Shu, Zhongshan Hospital, School of Medicine, Dalian University, Dalian 116001, Liaoning Province, China

Supported by: the Scientific and Technological Program of Liaoning Province, No. 2010225036

Correspondence to: Chun-Ying Liu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Zhongshan Hospital, School of Medicine, Dalian University, 6 Jiefang Street, Zhongshan District, Dalian 116001, Liaoning Province, China. chunying56@yahoo.com.cn

Received: 2013-10-19 Revised: 2013-11-12

Accepted: 2013-11-27 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To study whether selective 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) inhibitor MK-886 combined with selective cyclooxygenase 2 inhibitor celecoxib has an inhibitory effect on colon cancer in mice and to determine the optimal ratio.

**METHODS:** Different concentrations of MK-886 combined with different doses of celecoxib were used to treat Balb/c mice with colon cancer. RT-PCR and Western blot were used to detect the mRNA and protein expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1). The effects of the two drugs on colon cancer growth and metastasis were also assessed.

**RESULTS:** MK-886 combined with celecoxib

effectively inhibited the growth and metastasis of murine colon carcinoma. MK-886 and celecoxib at the optimal ratio significantly decreased VEGF and ICAM-1 mRNA and protein expression compared to the control group (mRNA:  $F = 25.826$ ,  $54.540$ ,  $P = 0.01$ ,  $0.00$ ; protein:  $F = 0.699$ ,  $22.761$ ,  $P = 0.007$ ,  $0.000$ ).

**CONCLUSION:** MK-886 and celecoxib at the optimal ratio can effectively inhibit colon cancer growth and metastasis possibly by inhibition of VEGF and ICAM-1 gene and protein expression.

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

**Key Words:** MK-886; Celecoxib; Colon carcinoma; VEGF; ICAM-1

He LY, Liu CY, Gao S, Shu M. MK-886 combined with celecoxib inhibits colon cancer in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 215-220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/215.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.215>

## 摘要

**目的:** 研究选择性5-脂氧合酶活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂MK-886与选择性环氧合酶-2(cyclooxygenase-2)抑制剂塞来昔布联合及最佳配比剂量对Balb/c小鼠结肠癌基因、蛋白抑制作用的影响。

**方法:** 分别用不同浓度的MK-886、塞来昔布配比联合对患结肠癌的Balb/c小鼠进行处理, 运用RT-PCR方法、Western blot方法, 观察血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、细胞间黏附因子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)的RNA、DNA、蛋白表达强弱, 进一步研究两种药物联合对Balb/c小鼠结肠癌组织的抑制生长、转移的作用。

**结果:** MK-886与塞来昔布联合能有效的抑制小鼠结肠癌的生长及转移, 其中MK-886与塞来昔布联合应用的最佳配比组(第5组)变化最明显; RT-PCR结果提示两种药物联合最佳配比剂量组VEGF、ICAM-1的mRNA表达最

## ■背景资料

花生四烯酸(arachidonic acid, AA)是多不饱和脂肪酸的主要成分, 其中主要的代谢途径是两种关键酶类环氧合酶(cyclooxygenase, COX)和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX), 代谢产物在胃肠道肿瘤细胞转移过程中起重要作用。AA的上述两个代谢途径可能存在动态交叉平衡, 共同调节肿瘤的生长。

## ■同行评议者

肖秀英, 副主任医师, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科



## ■研究前沿

应用选择性COX-2抑制剂或5-LOX抑制剂都可降低下游活性产物,抑制肿瘤细胞增殖,并诱导凋亡。但是关于联合抑制两条通路是否对结肠癌的转移有双重的抑制作用以及两者联合的最佳配比剂量有待进一步研究。

低(第5组 vs 对照组 $F = 25.826, 54.540, P = 0.01, 0.00 < 0.05$ ); Western blot实验观察到小鼠结肠癌组织内VEGF、ICAM-1蛋白表达减少,两种药物联合的最佳配比剂量应用组VEGF、ICAM-1表达量最低(第5组较其他各组 $F = 9.699, 22.761, P = 0.007, 0.000 < 0.05$ )。

**结论:** MK-886与塞来昔布联合中最佳配比剂量比其他联合应用组更能有效抑制结肠癌。可能与抑制VEGF、ICAM-1基因及蛋白表达有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** MK-88; 塞来昔布; Balb/c小鼠结肠癌组织; VEGF; ICAM-1

**核心提示:** 联合抑制5-脂氧合酶(lipoxygenase)和环氧合酶-2(cyclooxygenase)途径: 在每种药物不增加剂量的前提下,且机体能耐受的不良反应范围内,探讨其作用机制对小鼠结肠癌的预防,治疗以及控制转移提供了新的实验依据。

何龙英, 刘春英, 高杉, 舒敏. MK-886与塞来昔布小剂量联合应用对小鼠结肠癌的抑制作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 215-220 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/215.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.215>

## 0 引言

随着人们生活饮食结构的改变,结肠癌的发生率在我国呈上升趋势;其中高脂肪类膳食,尤其不饱和脂肪酸代谢会促进肠道肿瘤发生。花生四烯酸(arachidonic acid, AA)的环氧合酶(cyclooxygenase, COX)途径和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)途径在人类结肠癌增值及转移中起着重要的生物学效应<sup>[1]</sup>。相关文献报道:5-LOX在结肠癌组织中表达率占71.4%,高表达为主;COX-2在结肠癌组织中表达率占69.7%,中等或过度表达为主<sup>[2]</sup>。特异性COX-2抑制剂塞来昔布能够抑制结肠癌的增生并促进凋亡<sup>[3]</sup>;本实验是以Balb/c小鼠为载体,选用小鼠结肠癌细胞皮下种植造模,观察5-LOX活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂(MK-886)与塞来昔布最小剂量联合作用于小鼠移植瘤,对其血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、细胞间黏附因子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)基因及蛋白的抑制作用;从动物实验水平来进一步探讨两者可能产生的协同作用和最佳配比剂量关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 小鼠结肠癌CT-26细胞由清华大学细胞中心惠赠。Balb/c小鼠,♀,4-5周龄,体质量20-24 g,52只,购自大连医科大学动物实验研究所,实验动物合格证编号:SCXK(辽)2008-0002,于大连大学附属中山医院无特定病原体(SPF)环境中饲养。胰蛋白酶购自美国Gibico公司;RPMI 1640培养基、胎牛血清分别购自美国Hy-Clone公司;塞来昔布(Celecoxib)购自美国辉瑞制药有限公司;MK-886购自Cayman Chemical公司;二甲基亚砜(DMSO)为Sigma公司产品;TRIzol试剂盒、RT-PCR试剂盒,大连宝生物技术有限公司;引物序列合成由生工生物工程(上海)股份有限公司合成;兔抗鼠VEGF、ICAM-1单克隆抗体购自Santa Cruz公司;FITC标记山羊抗兔IgG购自生工生物工程(上海)股份有限公司;Western blot相关化学试剂均购自武汉碧云天生物技术有限公司;ECL发光试剂盒购自Pierce公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及传代:** 在无菌细胞培养室的超净工作台中完成各项操作步骤;小鼠结肠癌CT-26细胞接种于含100 mL/L的胎牛血清及抗生素的1640培养基中,置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>、95%湿度孵箱中培养传代。取生长状态良好的指数生长期细胞作为实验组。

**1.2.2 收集细胞及小鼠造模:** 将处于指数生长期的细胞以胰酶消化后用无血清McCoy, 5A培养液反复洗涤、离心,弃上清,稀释细胞并调整细胞数为 $3.0 \times 10^7$ /mL,每只Balb/c小鼠右上肢腋下皮肤消毒后,将该细胞悬液0.1 mL注射于皮下。皮下移植瘤模型造模采用文献和以往的方法-组织块套针法<sup>[4-6]</sup>。

**1.2.3 分组及治疗:** 52只Balb/c小鼠,均饲养在SPF条件的层流架中,待移植瘤平均生长出5 mm后,去除瘤体最小的2只,余50只按随机区组设计分5组,每组10只。空白对照组(二甲亚砜0.5 μL/g)、MK-886联合塞来昔布[0 mg/(kg·d)+100 mg/(kg·d)、10 mg/(kg·d)+50 mg/(kg·d)、5 mg/(kg·d)+100 mg/(kg·d)、5 mg/(kg·d)+50 mg/(kg·d)]。每日给一次灌胃,连续治疗28 d后处死动物留取完整肿瘤组织。各组肿瘤组织分别采用RT-PCR、Western blot检测VEGF、ICAM-1的mRNA及蛋白浓度表达。多余部分标记冻存于-80℃冰箱中备用。

**1.2.4 逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)法检测肿瘤**

## ■相关报道

有文献报道,COX-2以及5-LOX抑制剂能减少血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达从而减少血管生长和胃腺瘤形成。报道显示MK-866对干扰髓细胞性白血病HL-60细胞和HT-29结肠腺癌细胞有抑制其DNA的合成,而发挥抗增殖的作用。在我们前期基础细胞学实验应用5-LOX抑制剂AA-861(多西苯醌)与塞来昔布对结肠癌HT-29细胞的增殖有较显著的抑制作用的基础上,进一步通过进行动物体内实验应用MK-866与塞来昔布联合对结肠癌的抑制作用。

表 1 RT-PCR法检测小鼠结肠癌裸鼠移植瘤组织中ICAM-1/actin、VEGF/actin  $r$ 值 (mean  $\pm$  SD)

分组	ICAM-1 mRNA表达(ICAM-1/actin)	VEGF-1 mRNA表达(VEGF/actin)
1 对照组	0.90 $\pm$ 0.049	0.92 $\pm$ 0.083
2 [10 mg/(kg $\cdot$ d)+100 mg/(kg $\cdot$ d)]	0.33 $\pm$ 0.201 <sup>a</sup>	0.48 $\pm$ 0.167 <sup>a</sup>
3 [10 mg/(kg $\cdot$ d)+50 mg/(kg $\cdot$ d)]	0.40 $\pm$ 0.118 <sup>a</sup>	0.54 $\pm$ 0.109 <sup>a</sup>
4 [5 mg/(kg $\cdot$ d)+100 mg/(kg $\cdot$ d)]	0.36 $\pm$ 0.132 <sup>a</sup>	0.43 $\pm$ 0.061 <sup>a</sup>
5 [5 mg/(kg $\cdot$ d)+50 mg/(kg $\cdot$ d)]	0.23 $\pm$ 0.104 <sup>b</sup>	0.34 $\pm$ 0.353 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

组织中VEGF、ICAM-1 mRNA表达: TRIzol法提取移植瘤总RNA, 紫外线分光光度计定量RNA纯度(紫外分光光度法测定 $A_{260}$ 及 $A_{280}$ 值, 通过 $A_{260/280}$ 评价)。将5  $\mu$ g RNA逆转录为cDNA后行PCR。引物序列如下: ICAM-1: 上游5'-ACTTTCGATCTTC-CAGCTACCAT-3', 下游5'-GAACTCCT-CAGTCACCTCTACCA-3'; VEGF: 上游5'-GTCCAACTTCTGGGCTCTTCT-3', 下游5'-ACTTCTGCTCTCTTCTGTCGT-3'; actin: 上游5'-GAGACCTTCAACACCCCAGC-3', 下游5'-ATGTCACGCACGATTTCCC-3'; PCR反应条件: 初始变性95  $^{\circ}$ C, 3 min; 变性94  $^{\circ}$ C, 30 s; 低温退火30 s; 延伸72  $^{\circ}$ C, 30 s, 共35个循环; 最终延伸72, 10 min其中actin退火温度为54  $^{\circ}$ C, VEGF退火温度为54  $^{\circ}$ C, ICAM-1退火温度为53.4  $^{\circ}$ C。电泳分析: 取扩增产物进行凝胶琼脂糖(凝胶浓度为1%)电泳, 将凝胶置于凝胶成像分析系统下拍照及计算分析实验结果。

1.2.5 Western blot法检测VEGF、ICAM-1及actin蛋白表达: (1)收集组织总蛋白: 取小鼠移植瘤组织, 加入裂解液裂解, 12000 r/min离心, 5 min, 取上清液至新的离心管中, -20  $^{\circ}$ C或-80  $^{\circ}$ C冰箱中保存; (2)以BCA法蛋白定量, 调整样品质量浓度; (3)SDS-PAGE电泳分离后, 电转模到PVDF膜; (4)5%脱脂奶粉封闭2 h, 用含一抗封闭液置于4  $^{\circ}$ C孵育过夜; TPS-T洗膜; (5)置辣根过氧化物酶标记的羊抗兔二抗封闭液, 37  $^{\circ}$ C孵育1 h, TPS-T洗膜; (6)ECL显色, X光片曝光。

**统计学处理** 所有数据使用SPSS19.0统计软件进行分析检验, 数据用mean  $\pm$  SD表示, 采用单因素方差分析, 方差具有齐性时用SNK检验, 方差不齐用Tamhane's T2检验各组间数据的比较,  $P < 0.05$ 为差异具有统计意义。

## 2 结果

### 2.1 RT-PCR检测小鼠结肠癌瘤组织中VEGF、

ICAM-1 mRNA的表达 RT-PCR检测中对照组及各个实验组中基因的表达经电泳分析, 可见216、263、478 bp的扩增条带分别为ICAM-1、actin、VEGF, 并且小鼠结肠癌组织中随着药物浓度的不断增加及配比剂量的变化, 各药组VEGF、ICAM-1基因表达条带亮弱, 灰暗程度存在差异; 根据VEGF、ICAM-1和actin mRNA的表达程度计算条带 $r$ 值, 以相对ICAM-1/actin条带 $r$ 比值、VEGF/actin条带 $r$ 比值来比较mRNA表达强弱, 并行统计学分析(表1, 图1)。

联合用药组较对照组ICAM-1、VEGF mRNA表达减弱, 联合用药各配比组间第5组[MK-886 5 mg/(kg  $\cdot$  d)+塞来昔布50 mg/(kg  $\cdot$  d)]组比其他3个组VEGF、ICAM-1 mRNA表达率明显降低弱, 有统计学意义( $F = 25.826$ 、54.540,  $P = 0.01$ 、0.00 < 0.05)。第5组[MK-886 5 mg/(kg  $\cdot$  d)+塞来昔布50 mg/(kg  $\cdot$  d)]为最佳配比剂量组。

2.2 Western blot检测VEGF、ICAM-1和actin的蛋白表达水平 ICAM-1、VEGF蛋白分子量分别为60、27 kDa, 经SDS-PAGE电泳、Western杂交、曝光后在60、27 kDa位置上出现了颜色较深的相应条带; 对杂交条带进行半定量分析(Lab Works4.5凝胶成像软件), 以积分光密度值(integrated optical density, I4)表示蛋白含量, 各组之间运用相对I4进行数据分析(actin为内参对照, 相对I4值 = 分别VEGF、ICAM-1的I4值/actin的I4值); 并进行统计学分析(表2, 图2)。

联合用药组较对照组ICAM-1、VEGF蛋白表达减弱, 联合用药各配比组间第5组[MK-886 5 mg/(kg  $\cdot$  d)+塞来昔布50 mg/(kg  $\cdot$  d)]组比其他3个组VEGF、ICAM-1蛋白表达率明显降低弱, 有统计学意义( $F = 9.699$ 、22.761,  $P = 0.007$ 、0.000 < 0.05)。第5组[MK-886 5 mg/(kg  $\cdot$  d)+塞来昔布50 mg/(kg  $\cdot$  d)]为最佳配比剂量组。

## ■创新盘点

联合抑制5-LOX和COX-2途径: 在每种药物不增加剂量的前提下, 且机体能耐受的不良反应范围内, 探讨其作用机制对小鼠结肠癌的预防, 治疗以及控制转移提供了新的实验依据。通过实验观察5-LOX及COX-2双通路对结肠癌的生长与转移抑制的影响; 观察5-LOX及COX-2联合的最佳配比对抑制结肠癌的生长与转移的影响。

## ■应用要点

5-LOX活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂与COX-2抑制剂联合应用对结肠癌组织的抑制作用可能与抑制VEGF、细胞间黏附因子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)有关,也可能作用于一系列信号通路及凋亡因子诱导肿瘤细胞凋亡,进一步阻断5-LOX或COX-2的促癌作用有关,亦可能存在其他抗癌作用,其具体机制有待进一步研究,为临床应用MK-886及塞来昔布二级防治结肠癌提供了理论基础及实验依据。

表 2 Western blot法检测小鼠结肠癌裸鼠移植瘤组织中ICAM-1/actin、VEGF/actin I4值 (mean ± SD)

分组	ICAM-1蛋白表达 ICAM-1/actin I4平均值	VEGF蛋白表达 VEGF/actin I4平均值
1 对照组	0.97 ± 0.147	1.17 ± 0.351
2 [10 mg/(kg · d)+100 mg/(kg · d)]	0.50 ± 0.116 <sup>a</sup>	0.45 ± 0.228 <sup>a</sup>
3 [10 mg/(kg · d)+50 mg/(kg · d)]	0.54 ± 0.181 <sup>a</sup>	0.34 ± 0.451 <sup>a</sup>
4 [5 mg/(kg · d)+100 mg/(kg · d)]	0.59 ± 0.158 <sup>a</sup>	0.49 ± 0.439 <sup>a</sup>
5 [5 mg/(kg · d)+50 mg/(kg · d)]	0.34 ± 0.196 <sup>b</sup>	0.14 ± 0.118 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组; ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

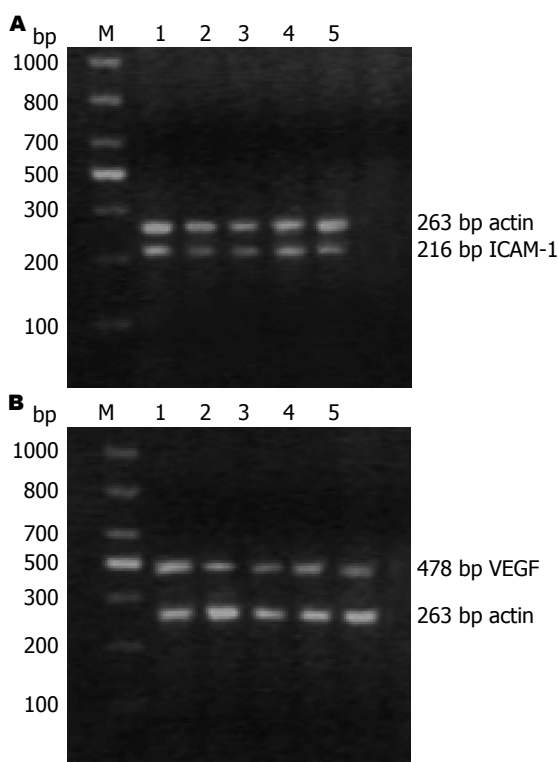


图 1 RT-PCR检测MK-866与塞来昔布单独及联合应用小鼠结肠癌组织内ICAM-1和VEGF的mRNA表达变化趋势情况。A: ICAM-actin; B: VEGF-actin。M: 相对分子质量标准(Marker); 1: 对照组; 2: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 3: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d); 4: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 5: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d)。ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

## 3 讨论

本实验各组是建立在Balb/c小鼠皮下种植小鼠结肠癌细胞造模的基础上分别应用选择性5-LOX活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂MK-886、选择性COX-2抑制剂塞来昔布其两者联合用药进行干预; 证明在小鼠体内应用MK-886与塞来昔布联合治疗明显抑制小鼠CT-26结肠癌细胞增值及移植瘤的生长、并明显抑制肿瘤细胞扩散。

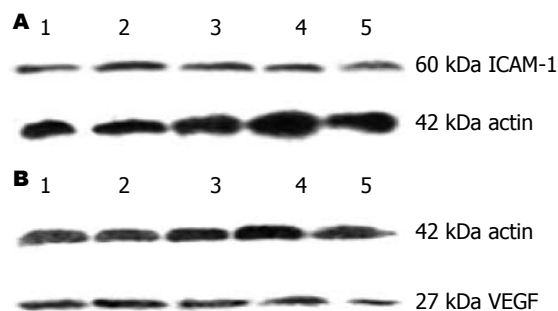


图 2 Western blot法检测MK-866与塞来昔布单独及联合应用小鼠结肠癌组织内ICAM-1和VEGF的蛋白表达变化趋势情况。A: ICAM-actin; B: VEGF-actin。1: 对照组; 2: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 3: MK-866 5 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d); 4: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布50 mg/(kg · d); 5: MK-866 10 mg/(kg · d)+塞来昔布100 mg/(kg · d)。ICAM-1: 细胞间黏附分子-1; VEGF: 血管内皮生长因子。

肿瘤的生长、侵袭和转移与血管的生成关系密切, 而血管的建立依赖于各种促血管生成因子的作用, 而VEGF是最为关键的血管生成因子。当肿瘤细胞分泌的VEGF因子暴露于静止的血管内皮细胞表面时, 该部分的血管内皮细胞就会以生芽儿的方式, 形成新的血管<sup>[7,8]</sup>。任晋军等<sup>[9]</sup>研究表明COX-2、E-钙黏素、VEGF在甲状腺癌的生长、扩散中起着重要作用, 三者联合检测可对甲状腺恶性程度及预后的判断提供有效证据; 夏光涛等<sup>[10]</sup>发现应用5-LOX抑制剂作用于结肠癌HT-29细胞后, 随着药物浓度逐步升高, VEGF mRNA表达逐渐下降, 表明癌细胞血管生成能力下降, 肿瘤细胞转移能力下降; 张家乐等<sup>[2]</sup>5-LOX和VEGF表达与结肠癌的转移关系密切。

在恶性肿瘤的发生发展中, 细胞间黏附分子-1(intercellular adhesion molecule, ICAM-1)与其配体LFA-1结合有抑制NK细胞和细胞毒T细胞的细胞杀伤作用, 使肿瘤细胞逃避机体的免



疫监视和攻击, 进一步促进肿瘤细胞的浸润和远处转移, 使机体产生不良影响<sup>[11]</sup>. ICAM-1通过介导白细胞与肿瘤细胞黏附, 致原发肿瘤坏死和细胞分离, 增加浸润和转移; 在血液循环中肿瘤细胞/白细胞形成结合体, 而易于在毛细血管床滞留着床. 近年研究发现其黏附因子的异常表达与肿瘤侵袭和转移密切相关. Simianionaki等<sup>[12]</sup>的研究中用LPS、TNF- $\alpha$ 和IL-6刺激大肠癌细胞(HT29、HRT18、SW620), 乳腺癌细胞(MCF-7)和黑色素瘤细胞(ST-ML-12)使他们发生炎症反应后6-48 h, ICAM-1基因表达上调. 另外他们认为ICAM-1通过炎症反应参与的肿瘤转移<sup>[13,14]</sup>.

本实验分别采用RT-PCR法、Western blot法检测MK-886、塞来昔布联合在小鼠CT-26结肠癌裸鼠皮下移植瘤中VEGF、ICAM-1的基因和蛋白表达, 结果MK-886及塞来昔布联合药物组比对照组小鼠移植瘤内VEGF、ICAM-1 mRNA及蛋白表达均显著下调, 其中配比最小剂量联合组呈最显著下调, 有统计学意义( $P<0.05$ ); 李金凤等<sup>[15]</sup>研究表明AA-861联合塞来昔布对体外结肠癌细胞株HT-29具有抑制生长及诱导凋亡等协同抗肿瘤作用, 这与本实验研究结果相符, 但ICAM-1通路如何参与MK-886和塞来昔布单独用药及联合用药抑制肿瘤作用机制尚需进一步研究.

总之, AA代谢途径中两条主要通路的关键酶分别是COX和LOX, 有关COX在恶性肿瘤中的研究已经十分深入, 相应的药物现已经进入临床并取得应用, 近几年国内外科技人员致力于5-LOX促癌机制的研究, 已取得一定成果, 相关实验证实了单独应用5-LOX活化蛋白(FLAP)抑制剂MK-866<sup>[16]</sup>以及单独应用COX-2抑制剂塞来昔布对小鼠结肠癌均有抑制作用, 本实验对两种药物联合对小鼠结肠癌的抑制作用比单独任何一种药其最大剂量的抑制作用更加明显; 其中联合剂量的配比不同对结肠癌的抑制作用不同, 两者联合最小剂量对结肠癌抑制作用明显强于其他配比剂量; 存在最佳配比剂量关系. 超大剂量的应用单一药物的不良反应是无法避免的, 从多个不同环节考虑发挥抗癌作用, 已是近几年研究抑制肿瘤发生及转移的热点. 结肠癌的药物治疗应采用多种药物的联合治疗, 这样可以在机体耐受每一种药物的不良反应范围内及不增加剂量的前提下, 产生最大的抑制肿瘤的作用. FLAP抑制剂与COX-2抑制剂

联合应用对结肠癌组织的抑制作用可能与抑制VEGF、ICAM-1有关, 也可能作用于一系列信号通路及凋亡因子诱导肿瘤细胞凋亡, 进一步阻断5-LOX或COX-2的促癌作用有关, 亦可能存在于其他抗癌作用, 其具体机制有待进一步研究, 为临床应用MK-886及塞来昔布二级防治结肠癌提供了提论基础及实验依据.

#### 4 参考文献

- 1 Ghosh J. Inhibition of arachidonate 5-lipoxygenase triggers prostate cancer cell death through rapid activation of c-Jun N-terminal kinase. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 307: 342-349 [PMID: 12859962 DOI: 10.1016/S0006-291X(03)01201-4]
- 2 王家乐, 许建明, 梅 俏, 鲍峻峻. 结肠癌组织中5-LOX和COX-2的表达. *安徽医科大学学报* 2006; 41: 58-60
- 3 Patsos HA, Hicks DJ, Dobson RR, Greenhough A, Woodman N, Lane JD, Williams AC, Paraskeva C. The endogenous cannabinoid, anandamide, induces cell death in colorectal carcinoma cells: a possible role for cyclooxygenase 2. *Gut* 2005; 54: 1741-1750 [PMID: 16099783 DOI: 10.1136/gut.2005.073403]
- 4 董青, 李春, 马成杰, 陈信义. 新加良附方对移植性人胃癌抑制效应研究. *北京中医药大学学报(中医临床版)* 2008; 15: 14-16
- 5 董青, 田邵丹, 侯丽, 陈信义. 新加良附方对移植性人胃癌细胞F/FL表达影响. 第三届国际中医、中药结合肿瘤学术交流大会暨第十二届全国中西医结合肿瘤学术大会论文汇编, 2010
- 6 苑伟, 陈彬, 赵爱光, 徐燕, 曹雯, 慕晓艳. 健脾复方对人胃癌细胞株MKN-45裸鼠皮下移植瘤模型非特异性免疫功能的影响. *中华中医药杂志(原中国医药学报)* 2013; 9: 2766-2770
- 7 Sato Y, Abe M, Tanaka K, Iwasaka C, Oda N, Kanno S, Oikawa M, Nakano T, Igarashi T. Signal transduction and transcriptional regulation of angiogenesis. *Adv Exp Med Biol* 2000; 476: 109-115 [PMID: 10949659 DOI: 10.1007/978-1-4615-4221-6\_9]
- 8 Wang X, Wang G, Kunte M, Shinde V, Gorbatyuk M. Modulation of angiogenesis by genetic manipulation of ATF4 in a mouse modulation of angiogenesis by genetic manipulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2013; 54: 5995-6002 [PMID: 23942974 DOI: 10.1167/iovs.13-12117]
- 9 任晋军, 米语录, 孙瑞芳. 环氧化酶-2、血管内皮生长因子及上皮钙黏素在甲状腺癌中的表达及临床意义. *肿瘤研究与临床* 2010; 22: 400-403
- 10 夏光涛, 张源潮, 武森森, 阴丽霞, 张尚忠. 脂氧合酶抑制剂NDGA对HT-29结肠癌细胞诱导凋亡机制研究. *中国现代普通外科进展* 2006; 9: 208-214
- 11 Nasu R, Mizuno M, Kiso T, Shimo K, Uesu T, Nasu J, Tomoda J, Okada H, Tsuji T. Immunohistochemical analysis of intercellular adhesion molecule-1 expression in human gastric adenoma and adenocarcinoma. *Virchows Arch* 1997; 430: 279-283 [PMID: 9134038 DOI: 10.1007/BF01092750]
- 12 Simianionaki N, Jayasinghe C, Kirkpatrick CJ. Effect of pro-inflammatory stimuli on tumor cell-mediated induction of endothelial cell adhesion molecules in vitro. *Exp Mol Pathol* 2002; 73: 46-53 [PMID: 12127053 DOI: 10.1006/exmp.2002.2440]
- 13 Epperly MW, Sikora CA, DeFilippi SJ, Grettton JE, Bar-Sagi D, Archer H, Carlos T, Guo H, Greenberger JS. Pulmonary irradiation-induced expression of

#### ■名词解释

MK-886: 从吡嗪美辛和舒林酸等一系列COX抑制药优化衍生出来的吡嗪化合物, 像钝化剂一样与FLAP结合, 阻止LOX的活化他是第一个被广泛应用于临床研究的FLAP抑制剂; FLAP: 定位于核膜上的膜结合蛋白, 介导LOX转移锚定到核膜上; 同时具有结合底物AA, 并递呈给核膜上LOX的作用.

## ■同行评价

项目设计合理, 技术路线正确, 具有一定的研究基础, 达到了预期目的.

- VCAM-I and ICAM-I is decreased by manganese superoxide dismutase-plasmid/liposome (MnSOD-PL) gene therapy. *Biol Blood Marrow Transplant* 2002; 8: 175-187 [PMID: 12014807 DOI: 10.1053/bbmt.2002.v8.pm12014807]
- 14 李春辉, 潘理会, 李春雨, 谢红娟. 细胞粘附分子与肿

- 瘤侵袭转移的关系. *承德医学院报* 2002; 19: 64-66
- 15 李金凤, 刘春英, 邓卫巍, 刘春晖, 多西苯醌联合塞来昔布对结肠癌细胞转移作用的研究. *肿瘤研究与临床* 2011; 7: 433-437
- 16 朱小朝, 时坤, 周广军. MK-866在人结肠癌裸鼠模型中的抗血管生成作用. *肿瘤防治研究* 2010; 37: 23-25

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 一种光纤压力传感器测量食管曲张静脉压力的方法

余芳芳, 王进广, 何兵兵, 吴艾久, 孙斌, 庄小金, 许建明, 孔德润

余芳芳, 王进广, 孙斌, 许建明, 孔德润, 安徽医科大学第一附属医院消化内科 安徽省合肥市 230022  
何兵兵, 吴艾久, 合肥优尔电子科技有限公司 安徽省合肥市 230000  
庄小金, 江苏常州市久宏医疗器械有限公司 江苏省常州市 213162  
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070337, 81271736  
安徽省教育厅自然科学基金重点研究基金资助项目, No. KJ2012Z189  
安徽省卫生厅医学科研课题基金资助项目, No. 2010B018  
作者贡献分布: 余芳芳与王进广对此文所作贡献均等; 此课题由孔德润、许建明及何兵兵设计; 研究过程由余芳芳、王进广、何兵兵、吴艾久、孙斌、庄小金及孔德润操作完成; 研究工具由何兵兵、吴艾久及庄小金提供; 数据分析由余芳芳与王进广完成; 本文写作由余芳芳、王进广及孔德润完成。  
通讯作者: 孔德润, 教授, 主任医师, 230022, 安徽省合肥市绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院消化内科。  
kdr168@sohu.com  
电话: 0551-62922039  
收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2013-11-27  
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-18

## A fiber-optic pressure sensor for measuring esophageal variceal pressure

Fang-Fang Yu, Jin-Guang Wang, Bing-Bing He, Ai-Jiu Wu, Bin Sun, Xiao-Jin Zhuang, Jian-Ming Xu, De-Run Kong

Fang-Fang Yu, Jin-Guang Wang, Bin Sun, Jian-Ming Xu, De-Run Kong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 232202, Anhui Province, China  
Bing-Bing He, Ai-Jiu Wu, Youo Electronic Technology Co., Ltd, Hefei 230088, Anhui Province, China  
Xiao-Jin Zhuang, Changzhou JiuHong Medical Instrument Co., Ltd, Changzhou 213162, Jiangsu Province, China  
Supported by: the Natural Science Research Foundation of Education Department of Anhui Province, No. KJ2012Z189; the Medical Research Project of Anhui Provincial Health Department, No. 2010B018; and the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070337 and 81271736  
Correspondence to: De-Run Kong, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Hefei 232202, Anhui Province, China. kdr168@sohu.com  
Received: 2013-11-22 Revised: 2013-11-27  
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To test the feasibility and validity of a fiber-optic pressure sensor for measuring esophageal variceal pressure.

**METHODS:** A fiber-optic pressure sensor was used to measure the pressure of artificial variceal model (5 mm in diameter) with different intraluminal pressures (ranging from 6 to 42 cmH<sub>2</sub>O). Pressure measurements were performed by two independent operators, and the results were compared with actual intraluminal pressures. In clinical tests, the technique was used to measure variceal pressure in 25 patients with esophageal varices, and the correlation between variceal pressure and the risk factors for esophageal variceal bleeding was analyzed.

**RESULTS:** *In vitro* studies demonstrated a good correlation between the pressure measured with the fiber-optic pressure sensor and the actual intravariceal pressure ( $r \geq 0.99$ ,  $P < 0.01$ ), and there were good correlations between the pressures measured by two operators ( $r \geq 0.99$ ). The determination of variceal pressure by this method was technically successful in all 25 patients. The variceal pressure measurements correlated with previous variceal bleeding history, the size of varices, the presence of red colour signs and the Child-Pugh classification ( $t = 4.42$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Our preliminary results indicate that the fiber-optic pressure sensor is feasible and accurate in measurement of esophageal variceal pressure *in vivo* and *in vitro*, and warrants further investigation.

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

**Key Words:** Esophageal varices; Pressure; Fiber-optic pressure sensor

Yu FF, Wang JG, He BB, Wu AJ, Sun B, Zhuang XJ, Xu JM, Kong DR. A fiber-optic pressure sensor for measuring esophageal variceal pressure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 221-226 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/221.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.221>

## 摘要

**目的:** 探讨一种光纤压力传感器测量食管曲张静脉压力的可行性及临床应用价值。

## ■背景资料

食管静脉曲张出血是肝硬化门脉高压症最为致命的并发症。食管曲张静脉压力是直接导致血管破裂出血的关键因素, 测量食管曲张静脉压力, 对于评价出血风险及其防治效果具有重要的临床意义。

## ■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科



## ■研发前沿

如何建立更为准确、可操作性好的食管曲张静脉压力测量技术,一直是研究新型无创性测压技术的关键问题。基于光纤压力传感器食管曲张静脉测压系统的建立,可望解决曲张静脉压力检测的难题,为出血风险预测及药物疗效评价提供有直接的依据。

**方法:**采用光纤传感器食道曲张静脉压力检测技术,对体外模拟血管(直径5 mm)进行压力测量(压力范围6-42 cmH<sub>2</sub>O)测量。测压由两名独立操作者完成,比较测压值与模拟血管内实际压力值。临床试验则利用相同技术对25例门脉高压食道曲张静脉进行压力检测,并与曲张静脉出血风险因素进行相关性分析。

**结果:**体外实验发现,模拟曲张静脉的测压值与实际压力值具有良好相关性( $r \geq 0.99$ ,  $P < 0.01$ ),两名操作者之间测得压力值相关性高( $r \geq 0.99$ )。临床研究25例患者食管曲张静脉压力检测均获得成功,可重复性好,变异系数小( $r \geq 0.99$ )。食管曲张静脉压力与既往出血史、血管直径、红色征、Child-Pugh分级有相关性( $t = 4.42$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:**初步发现光纤压力传感器体内外验证的可靠性、可行性,值得进一步研究。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**食管静脉曲张; 压力; 光纤压力传感器

**核心提示:**本文介绍了一种无创的食道曲张静脉压检测装置,在体内外实验中验证其可靠性、可行性,尤其是技术的可操作性,光纤测压探头可通过胃镜的活检孔进行快速、准确的测压。

余芳芳,王进广,何兵兵,吴艾久,孙斌,庄小金,许建明,孔德润.一种光纤压力传感器测量食管曲张静脉压力的方法.世界华人消化杂志 2014; 22(2): 221-226 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/221.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.221>

## 0 引言

食管静脉曲张是肝硬化患者出血的最常见原因之一。肝硬化患者一旦形成了食管曲张静脉,其破裂出血的风险达到25%-35%,而30%以上的首次出血是致命性的,存活者中70%以上的患者会再次发生出血<sup>[1]</sup>。决定曲张静脉是否破裂出血的直接因素是血管壁张力。根据流体学Laplace定律<sup>[2]</sup>: 血管壁张力 = (血管内压-血管外压) × 血管口径/血管厚度,血管内压力是根本因素,血管内压高,血管扩张而直径增大,管壁厚度随之变薄,于是血管壁张力增大,当张力越过管壁弹性极限时,血管破裂而发生大出血<sup>[3]</sup>。研究发现,曲张静脉压力较肝静脉压力梯度(hepatic venous pressure gradient, HVPG)能更直接预测出血风险并判断防治出血效果,因此测量食道曲张静脉

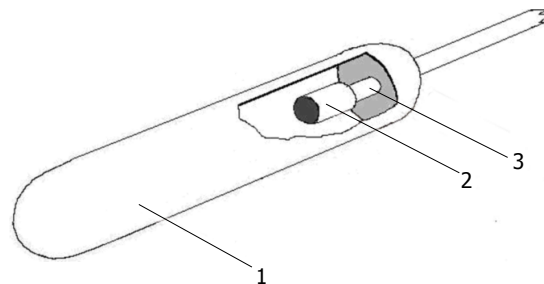


图1 光纤压力敏感探头示意图。1: 弹性膜; 2: 光纤传感器; 3: 光纤。

压显得尤为重要<sup>[4,5]</sup>。

血管穿刺测压是检测食道曲张静脉压“金标准”,但因为穿刺测压可引起大出血,穿刺测压已基本弃用<sup>[6]</sup>。无创性测压方法是检测技术发展的方向,但由于压力传感器受食管蠕动等影响其稳定性,因此测压结果存在主观误差<sup>[7]</sup>。

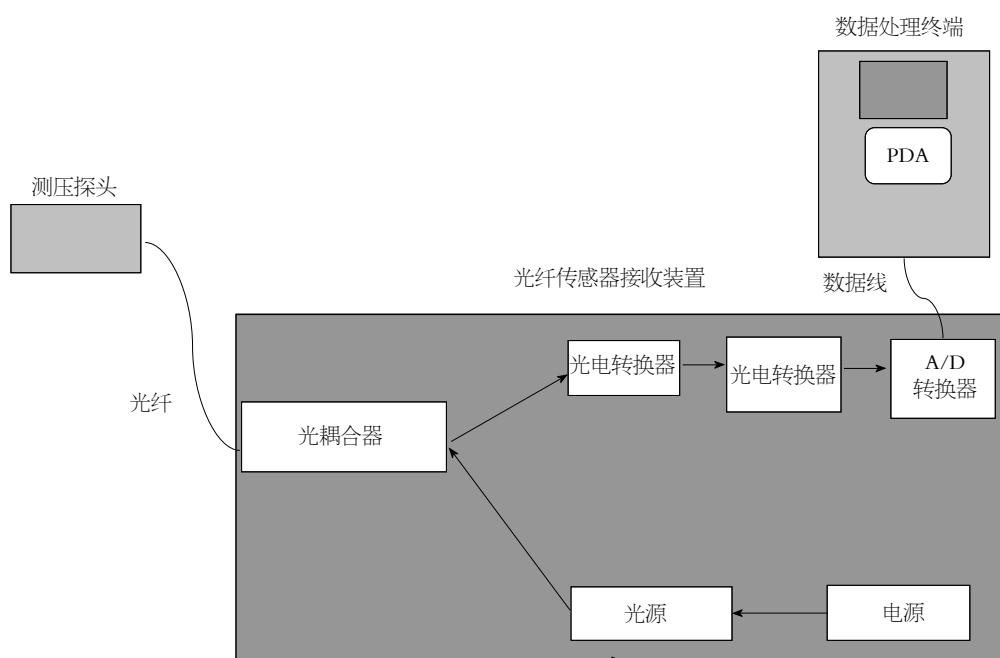
近年来研究发现,光纤压力传感器具有传统压力传感器所不可比的优点:灵敏度高、动态范围大、响应速度快、稳定性高<sup>[8]</sup>,并已成功应用于许多领域,如血管内血压、颅内压、心内压、膀胱和尿道压力等检测已替代传统方法<sup>[9-12]</sup>。基于此,我们开发“光纤压力传感器的食管曲张静脉测压系统”,初步结果报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 光纤压力传感器由光接收器、光电转换、数模转换光源和电源管理等5个模块组成,设计一个包括压力敏感探头(由加拿大opsens solutions研制,图1)、接收装置和数据处理终端为一体的测量系统,将压力敏感探头过内窥镜的活检通道置于探测部位,再将探头获取的压力应变光信号通过光纤传导至接收装置(图2),在接收装置中设置光电转换模块和模/数(A/D)转换模块,依次将测量数据调并转换为模拟电信号再转换为数字信号。选择一款合适的掌上电脑(personal digital assistant, PDA)作为采样信号的处理终端,通过数据接口与接收装置链接,分析报告并记录存储测量数据。

### 1.2 方法

**1.2.1 体外仿真测压实验:**曲张静脉模型用乳胶片卷制而成,接缝处以胶粘粘牢,长均为5 cm,用游标千分卡尺测得其厚度为0.2 mm,直径为5 mm的曲张静脉,将该仿真曲张静脉连接到玻璃水柱式测压仪,该测压仪充满水(由中国科学技术大学实验仪器厂提供,玻璃管高度50 cm,内径5 cm,玻璃管充水高度即为水的压强,以



## ■ 相关报道

近年来,光纤压力传感器对血管内血压、颅内压、心内压、膀胱和尿道压力等检测方面已取得了重大进展。最近,传感器空腔式探头的设计已成功应用于管壁外测压, Myllylä等报道光纤传感器用于血压非侵入性监测, Arkwright、Dinning等将其应用于胃肠腔内压力及肠壁运动的无创性测量。

图 2 光纤测压系统示意图.

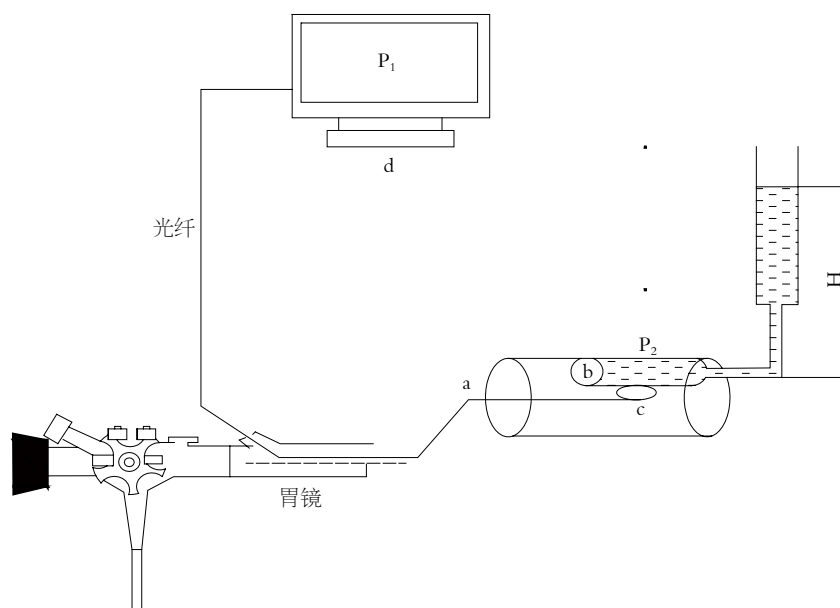


图 3 体外模拟测压示意图。a: 食管模型; b: 模拟曲张静脉, 充满水并与水柱相连(H); c: 光纤传感器, 从内镜活检通道伸出, 并贴模拟血管壁测压, 传感器再通过光纤连接测压工作站; d: 测压工作站。光纤传感器检测血管压力( $P_1$ 、 $P_2$ )被测压工作站记录, 模拟曲张静脉内压力( $P_3$ )通过水柱(H)测量。

cmH<sub>2</sub>O表示)。水柱的零点置于模拟血管的中部,通过改变水柱高度(6-42 cmH<sub>2</sub>O)调节模拟血管内的压力(P<sub>0</sub>)。采用光纤测压仪系统,两操作者采用光纤传感器探头紧贴模拟血管后读取器显示的壓力分别为食道曲张静脉压P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>(图3)。P<sub>0</sub>取值在6-42 cmH<sub>2</sub>O范围内,每次调整2 cmH<sub>2</sub>O,共测19个压力点的模拟曲张静脉压,每个压力点反复测量5次,并与P<sub>1</sub>、P<sub>2</sub>对比分析。同时将两操作者测得的食道曲张静脉压对比分析,即P<sub>1</sub>

与P<sub>0</sub>对比分析.

1.2.2 临床研究: 选择2013-3/2013-07我院消化科与普外科住院的门脉高压患者25例, 经内镜证实食管静脉曲张, 签署知情同意书, 并得到医院伦理委员会批准。男18例, 女7例, 平均年龄55.08岁 $\pm$ 11.73岁, 既往出血患者11例, 未出血患者14例, 8例患者曾行内镜下治疗。食道曲张静脉压力检测: 测压操作在患者禁食12 h后进行。术前肌注杜冷丁50 mg、山莨菪碱10 mg、地

## ■创新盘点

本文探讨一种光纤压力传感器测量食道曲张静脉压力的可行性和临床应用价值,课题结合临床实际,解决曲张静脉压力检测的难题。

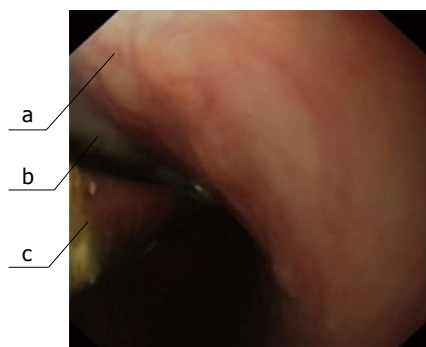


图4 光纤传感器食管曲张静脉贴壁测压图。压力探头通过内镜活检孔直视下放置食道曲张静脉壁进行测压。a: 食管壁; b: 曲张静脉; c: 光纤压力传感器。

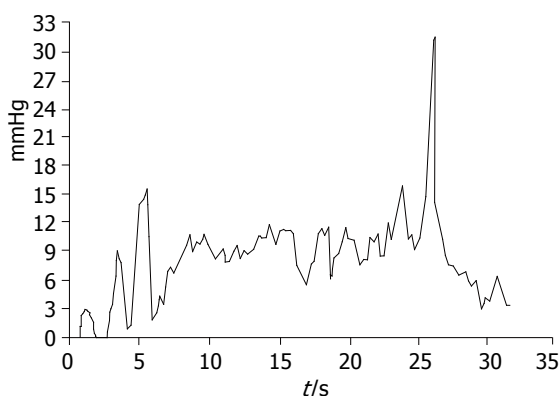


图5 光纤传感器测试压力曲线。横坐标代表时间(s), 纵坐标代表压力(mmHg), 中间较平稳的曲线代表食道曲张静脉压, 前面及后面的曲线波动分别为传感器进入食道及离开曲张静脉所致。

西洋5 mg, 以减少食管蠕动的影响, 患者左侧卧位, 插镜, 检查胃底、体、窦、十二指肠后, 将光纤传感器探头通过活检孔进入食管中, 传感器进入食道前和食道后均进行调零, 在距贲门3-5 cm处调整位置后选择一根最粗的食管曲张静脉进行贴壁测压(图4), 测压值以出现稳定的波形为准(图5)。

**统计学处理** 采用SPSS17.0进行数据管理与分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组间计量资料比较, 满足正态分布和方差齐性时采用 $t$ 检验, 否则采用Mann-Whitney秩和检验。两变量间相关性考察采用Pearson相关分析。以 $\alpha = 0.05$ 为检测标准,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 体外验证** 直径5 mm仿真测压血管共190次均成功。  $P_0$ 与 $P_1$ 、 $P_2$ 间具有良好相关性( $r \geq 0.99$ ,  $P < 0.01$ ;  $r \geq 0.99$ ,  $P < 0.01$ )(表1, 图6)。  $P_1$ 与 $P_2$ 之间的变异性小( $r \geq 0.99$ ,  $P < 0.01$ )。  $P_0$ 与 $P_1$ 、 $P_2$ 差值结果如表1, 两操作者之间测压结果变异性为5.68%

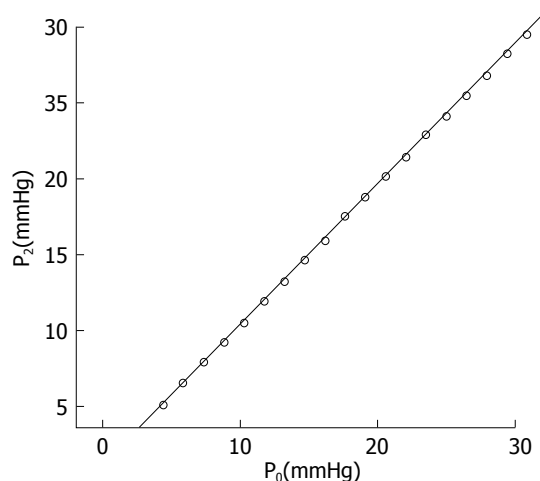


图6 光纤传感器体外测压实验结果(模拟血管直径5 mm)。

表1 不同操作者相同模拟血管内实际压力与光纤传感器测压值相关性分析

操作者	直径回归方程	$r$	$r^2$	偏差(mmHg)	95%CI	
					上限	下限
1	$y_1 = 1.04x - 1.32$	1	1	$-0.66 \pm 0.35$	-0.48	-0.83
2	$y_2 = 0.92x - 1.07$	1	1	$-0.64 \pm 0.30$	-0.41	-0.83

$\pm 5.56\%$ (两操作者之间变异系数 $V_r = \text{SD}/\text{mean}$ )。

### 2.2 临床验证

**2.2.1 可行性分析:** 所有患者在检测食道曲张静脉压力时, 均顺利插镜进入胃腔, 除轻微恶心, 未发现任何不良反应。每名患者在测压时的状况均不相同。平均每名患者5次测压所需的时间为 $6 \text{ min} \pm 1 \text{ min}$ 。两位操作者对曲张静脉压力波形读数的确定基本一致( $r \geq 0.99$ )。

**2.2.2 曲张静脉测压值与出血风险因素相关性分析:** 全部25例患者, 其中11例有静脉曲张出血史(出血组), 曲张静脉均为粗大血管; 而无静脉曲张出血史(非出血组)14例患者中, 既有细小血管也有粗大血管(细小血管7例, 粗大血管7例), 出血组较非出血组食管曲张静脉压力明显升高( $13.72 \text{ mmHg} \pm 4.08 \text{ mmHg}$  vs  $8.14 \text{ mmHg} \pm 3.57 \text{ mmHg}$ ,  $P < 0.01$ )。有红色征较无红色征食管曲张静脉压力高( $13.85 \text{ mmHg} \pm 3.53 \text{ mmHg}$  vs  $7.08 \text{ mmHg} \pm 2.84 \text{ mmHg}$ ,  $P < 0.01$ )。曲张静脉压力与血管直径呈正相关, 细小曲张静脉较粗大曲张静脉压力低( $5.29 \text{ mmHg} \pm 2.14 \text{ mmHg}$  vs  $12.67 \text{ mmHg} \pm 3.61 \text{ mmHg}$ ,  $P < 0.01$ )。Child-Pugh分级与食道曲张静脉压力呈正相关性( $t = 4.42$ ,  $P < 0.01$ )。Child A级(7例)患者平均食管曲张静脉压力为 $8.07 \text{ mmHg} \pm 3.30 \text{ mmHg}$ , Child B和C级(18例)



患者平均食管曲张静脉压力为 $14.40 \text{ mmHg} \pm 3.95 \text{ mmHg}$ 。

### 3 讨论

食管曲张静脉压力是曲张静脉出血最主要影响因素。Kleber等<sup>[13]</sup>与Hou等<sup>[14]</sup>研究表明, 曲张静脉压力在评价食管曲张静脉出血中具有重要价值。Nevens等<sup>[5]</sup>指出, 曲张静脉压力是预测出血风险最重要指标。血管穿刺测压是检测食管曲张静脉压“金标准”, 但因为穿刺测压可引起大出血, 穿刺测压已基本弃用<sup>[6]</sup>。无创性测压方法是检测技术发展的方向, 但由于压力传感器受食管蠕动影响其稳定性, 因此测压结果存在主观误差<sup>[7]</sup>。

本研究采用精度高、性能稳定且应变线性较好的频率调制型光纤压力传感器作为压力敏感探头(由加拿大opsens solutions研制)。这种传感器的显著特点是需要两组辅助光源, 一组是红外激励光源, 另一组是可见光检测光源, 经光耦射向谐振腔, 激励光作用于谐振腔后产生Fabry-perot效应, 即当有外力(压力)作用牵制传压膜时, 谐振频率发生变化, 改变腔的反射系数, 检测光自谐振腔反射到光接收器的信号将根据压力变化被同步调制, 最终可以根据压力与频率的关系模型解析压力的大小。与其他测压方法相比, 该传感器准确性高、体积小(可通过内镜活检通道)、安全性好、稳定性好, 测压技术适用于普通内镜医师掌握。

体外研究显示, 光纤压力传感器测得的模拟曲张静脉压力与实际的压力相关性良好, 操作者之间测压结果变异性小。说明该传感器测量食管曲张静脉压力具有可行性及可靠性。

临床研究发现, 有红色征、粗大血管患者曲张静脉压力高于无红色征及细小血管患者曲张静脉压力, 其病理发展过程可以用流体学Laplace定律解释, 血管壁张力 = (血管内压-血管外压) × 血管口径/血管厚度, 血管内压力是根本因素, 血管内压高, 血管扩张而直径增大, 管壁厚度随之变薄<sup>[2]</sup>。本研究发现过去有曲张静脉出血史的患者, 所测得食管曲张静脉压力明显升高, 这一结果反映光纤压力传感器测压具有可行性。本研究还发现曲张静脉压力与肝功能分级有相关性。而Hou等<sup>[14]</sup>认为食管曲张静脉压力与肝功能分级无相关性。产生这种不一致的原因, 可能为肝功能分级与出血风险相关, 这与El Atti等<sup>[15]</sup>报道的肝功能分级与出血风险相关一致。另

外, 可能肝功能恶化与门静脉压力增高相平行从而导致食道曲张静脉压力增高, 这与Zoli等<sup>[16]</sup>报道肝功能分级恶化可以预测曲张静脉直径的增加相一致。为了获得稳定的压力曲线, 操作时应必须注意以下几点: (1)检查前肌注杜冷丁、山莨菪碱、地西洋, 以减少食管蠕动的影 响; (2)操作时要固定好传感器, 使传感器膜与食道曲张静脉壁贴紧, 待压力曲线稳定后记录压力值; (3)在食管蠕动期间, 传感器膜可能脱离曲张静脉, 此时应该重新调零将传感器膜与曲张静脉血管壁贴紧后再进行压力测定。

总之, 光纤压力传感器测量食道曲张静脉压力初步研究表明, 光纤压力传感器测压方法具有可行性及可靠性, 可能应用于临床, 食道曲张静脉压与其他出血因素密切相关, 可能为门脉高压症患者检测食道曲张静脉压力提供一种新的更准确的无创测压方法, 值得进一步研究。

志谢: 感谢江苏久宏医疗器械有限公司提供测压仪样机, 谨此感谢!

### 4 参考文献

- 1 Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey W. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Hepatology* 2007; 46: 922-938 [PMID: 17879356 DOI: 10.1002/hep.21907]
- 2 Polio J, Groszmann RJ. Hemodynamic factors involved in the development and rupture of esophageal varices: a pathophysiologic approach to treatment. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 318-331 [PMID: 3544225 DOI: 10.1055/s-2008-1040614]
- 3 Lebrec D, Vinel JP, Dupas JL. Complications of portal hypertension in adults: a French consensus. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 403-410 [PMID: 15756092]
- 4 Bosch J, Bordas JM, Rigau J, Viola C, Mastai R, Krazvetz D, Navasa M, Rodés J. Noninvasive measurement of the pressure of esophageal varices using an endoscopic gauge: comparison with measurements by variceal puncture in patients undergoing endoscopic sclerotherapy. *Hepatology* 1986; 6: 667-672 [PMID: 3733001 DOI: 10.1002/hep.1840060421]
- 5 Nevens F, Bustami R, Scheys I, Lesaffre E, Fevery J. Variceal pressure is a factor predicting the risk of a first variceal bleeding: a prospective cohort study in cirrhotic patients. *Hepatology* 1998; 27: 15-19 [PMID: 9425911 DOI: 10.1002/hep.510270104]
- 6 Tandon RK, Saikia N. Measuring intravariceal pressure. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 414-416 [PMID: 19699976 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.038]
- 7 Escorsell A, Bosch J. Endoscopic Assessment of portal hypertension including variceal pressure measurements. In: AJ. Sanyal, VH. Shah (eds). *Clinical gastroenterology: Portal hypertension*. 3rd ed. Humana Press Inc., 2005: 155-164
- 8 蒲晓允, 左世友. 光纤生物传感器技术及其应用. *重庆医学* 2006; 17: 1537-1538

### ■应用要点

光纤压力传感器测压系统为一种无创测压, 可以解决曲张静脉压力检测的难题, 为出血风险预测及药物治疗评价提供有直接的依据。

### ■名词解释

传感器: 按照国家标准GB7665-87中对传感器的定义是: 能感受或响应规定的被测量并按照一定规律转换成可用信号输出的器件或装置, 通常由直接响应于被测量的敏感元件和产生可用信号输出的转换元件所组成。

### ■同行评价

文章探讨一种光纤压力传感器测量食道曲张静脉压力的可行性和临床应用价值,课题结合临床实际,是一种有意义的探索和尝试。在引起肝硬化静脉曲张出血的原因中,血管内压力的高低与血管破裂密切相关。在临床实际中,结合病史,往往通过内镜检查也能预判出血风险。所以,如何用光纤压力传感器测量技术更好地判断出血风险,还有很多工作要做。

- 9 Nesson S, Yu M, Zhang X, Hsieh AH. Miniature fiber optic pressure sensor with composite polymer-metal diaphragm for intradiscal pressure measurements. *J Biomed Opt* 2008; 13: 044040 [PMID: 19021367 DOI: 10.1117/1.2967908]
- 10 Bolander R, Mathie B, Bir C, Ritzel D, VandeVord P. Skull flexure as a contributing factor in the mechanism of injury in the rat when exposed to a shock wave. *Ann Biomed Eng* 2011; 39: 2550-2559 [PMID: 21735320 DOI: 10.1007/s10439-011-0343-0]
- 11 孙素梅, 陈洪耀, 尹国盛. 光纤传感器的基本原理及在医学上的应用. *中国医学物理学杂志* 2008; 5: 846-850
- 12 Nishiyama M, Miyamoto M, Watanabe K. Respiration and body movement analysis during sleep in bed using hetero-core fiber optic pressure sensors without constraint to human activity. *J Biomed Opt* 2011; 16: 017002 [PMID: 21280923 DOI: 10.1117/1.3528008]
- 13 Kleber G, Sauerbruch T, Fischer G, Paumgartner G. Pressure of intraoesophageal varices assessed by fine needle puncture: its relation to endoscopic signs and severity of liver disease in patients with cirrhosis. *Gut* 1989; 30: 228-232 [PMID: 2703144 DOI: 10.1136/gut.30.2.228]
- 14 Hou MC, Lin HC, Kuo BI, Liao TM, Lee FY, Chang FY, Lee SD. Sequential variceal pressure measurement by endoscopic needle puncture during maintenance sclerotherapy: the correlation between variceal pressure and variceal rebleeding. *J Hepatol* 1998; 29: 772-778 [PMID: 9833915 DOI: org/10.1016/S0168-8278(98)80258-4]
- 15 El Atti EA, Nevens F, Bogaerts K, Verbeke G, Fevery J. Variceal pressure is a strong predictor of variceal haemorrhage in patients with cirrhosis as well as in patients with non-cirrhotic portal hypertension. *Gut* 1999; 45: 618-621 [PMID: 10486375 DOI: 10.1136/gut.45.4.618]
- 16 Zoli M, Merkel C, Magalotti D, Gueli C, Grimaldi M, Gatta A, Bernardi M. Natural history of cirrhotic patients with small esophageal varices: a prospective study. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 503-508 [PMID: 10685758 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01775.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

### • 消息 •

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

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

# PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B p50/p65在哈萨克族食管癌中的表达及意义

庞雪莲, 崔晓宾, 李肃, 金静, 梁伟华, 李锋, 陈云昭

庞雪莲, 崔晓宾, 李肃, 金静, 梁伟华, 李锋, 陈云昭, 新疆石河子大学医学院病理系/一附院病理科 新疆地方与民族高发疾病教育部重点实验室 新疆维吾尔自治区石河子市 832002  
庞雪莲, 在读硕士, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81160301, 81360358

迈新病理基金资助项目, No. m1108

国家高技术研究发展计划(863计划)基金资助项目, No.

2012AA02A503

国际合作基金资助项目, No. 2010DFB34100

作者贡献分布: 此课题由陈云昭、崔晓宾及庞雪莲共同设计完成; 研究过程由庞雪莲、李肃、金静及梁伟华操作完成; 研究所用试剂及分析工具由陈云昭与李锋提供; 数据分析由崔晓宾与庞雪莲完成; 论文写作由庞雪莲完成。

通讯作者: 陈云昭, 副教授, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北四路, 石河子大学医学院病理系/一附院病理科, 新疆地方与民族高发疾病教育部重点实验室. cyz0515@sina.com

收稿日期: 2013-10-18 修回日期: 2013-11-24

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Clinical significance of expression of PKC $\alpha$ and NF- $\kappa$ B p50/p65 in esophageal squamous cell carcinoma in Kazakh patients

Xue-Lian Pang, Xiao-Bin Cui, Su Li, Jing Jin, Wei-Hua Liang, Feng Li, Yun-Zhao Chen

Xue-Lian Pang, Xiao-Bin Cui, Su Li, Jing Jin, Wei-Hua Liang, Feng Li, Yun-Zhao Chen, Department of Pathology and Key Laboratory for Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81160301 and 81360358; the Maixin Pathology Fund, No. m1108; the National High Technology Research and Development Program of China (863 Program), No. 2012AA02A503; the Foundation of Ministry of Science and Technology, No. 2010DFB34100

Correspondence to: Yun-Zhao Chen, Associate Professor, Department of Pathology and Key Laboratory for Xinjiang Endemic and Ethnic Diseases, Shihezi University School of Medicine, Beisi Road, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. cyz0515@sina.com

Received: 2013-10-18 Revised: 2013-11-24

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To analyze the expression of protein kinase C $\alpha$  (PKC $\alpha$ ) and nuclear factor-kappa B (NF- $\kappa$ B) p50/p65 proteins in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC) in Kazakh patients and to analyze their clinical significance.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of PKC $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p50/p65 in 50 ESCC specimens and matched tumor-adjacent normal tissues.

**RESULTS:** The positive rates of PKC $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p50/p65 proteins in ESCC were significantly higher than those in adjacent normal tissues (PKC $\alpha$ : 46.0% vs 8.0%; p50: 82.0% vs 48.0%; p65: 56.0% vs 36.0%,  $P = 1.9 \times 10^{-5}$ ,  $3.7 \times 10^{-4}$  and 0.045, respectively). The expression of PKC $\alpha$  protein was closely correlated with ESCC differentiation ( $P = 0.030$ ), p50 expression was correlated with metastasis ( $P = 0.042$ ), and p65 expression was significantly correlated with differentiation and invasion ( $P = 0.015$  and 0.042, respectively). PKC $\alpha$  expression had a positive correlation with p50 and p65 expression in ESCC (p50:  $r = 0.435$ ,  $P = 4.5 \times 10^{-6}$ ; p65:  $r = 0.626$ ,  $P = 1 \times 10^{-6}$ ).

**CONCLUSION:** The interaction of PKC $\alpha$  with NF- $\kappa$ B signal pathway may be involved in the invasion and metastasis of ESCC in Kazakh patients.

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

**Key Words:** Esophageal squamous cell carcinoma; Kazakh; Protein kinase C $\alpha$ ; Nuclear factor  $\kappa$ B; Immunohistochemistry

Pang XL, Cui XB, Li S, Jin J, Liang WH, Li F, Chen YZ. Clinical significance of expression of PKC $\alpha$  and NF- $\kappa$ B p50/p65 in esophageal squamous cell carcinoma in Kazakh patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 227-232  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/227.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.227>

## 摘要

**目的:** 探讨蛋白激酶C $\alpha$ (protein kinase C $\alpha$ , PKC $\alpha$ )与核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor-kappaB, NF- $\kappa$ B)相关蛋白p50、p65在食管鳞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)组织中的表达、临床意义以及两者之间的相关性。

**方法:** 应用组织芯片免疫组织化学检测50例食管鳞癌及配对的癌旁正常组织中PKC $\alpha$ 、p50、p65蛋白的表达情况。

## ■背景资料

新疆哈萨克族是食管癌的高发民族,食管癌的发生与炎症密切相关。核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)是炎症相关肿瘤的重要调节因子,通常以非活性形式存在细胞中,在T淋巴细胞中蛋白激酶C $\alpha$ (protein kinase C, PKC $\alpha$ )能使NF- $\kappa$ B激活,随之调节细胞的增殖、转移及血管生成并参与炎症相关肿瘤的发生。

## ■同行评议者

程英升,教授,上海交通大学附属第六人民医院放射科



## ■ 研发前沿

食管癌的发生机制及其参与的信号通路是近几年的研究热点。NF- $\kappa$ B是炎症相关肿瘤的重要调节因子, PKC与包括NF- $\kappa$ B在内的多个信号通路相关, 那么食管癌中是否存在PKC-NF- $\kappa$ B通路激活促进食管癌的发生发展亟待研究。

**结果:** 在新疆哈萨克族食管鳞癌组织中PKC $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p50/p65的高表达率高于癌旁正常组织[PKC $\alpha$ : 23(46.0%) vs 4(8.0%); p50: 41(82.0%) vs 24(48.0%); p65: 28(56.0%) vs 18(36.0%),  $P = 1.9 \times 10^{-5}$ ,  $3.7 \times 10^{-4}$ , 0.045], PKC $\alpha$ 的表达与分化有关( $P = 0.030$ ), p50与淋巴结转移有关( $P = 0.042$ ), p65的表达与食管癌的分化及浸润深度有关( $P = 0.015$ , 0.042)。进一步分析发现PKC $\alpha$ 与p50、p65在食管鳞癌中的表达呈正相关(p50:  $r = 0.435$ ,  $P = 4.5 \times 10^{-6}$ ; p65:  $r = 0.626$ ,  $P = 1 \times 10^{-6}$ )。

**结论:** 在新疆哈萨克族食管癌中PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B的激活及其相互作用并可能通过炎症促进食管癌的浸润和转移。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管鳞状上皮细胞癌; 哈萨克族; 蛋白激酶C $\alpha$ ; 核转录因子- $\kappa$ B; 免疫组织化学

**核心提示:** 本研究发现蛋白激酶C $\alpha$ (protein kinase C $\alpha$ , PKC $\alpha$ )、核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)相关蛋白p50、p65在新疆哈萨克族食管癌组织中的表达均明显高于癌旁正常组织。PKC $\alpha$ 蛋白的高表达与中低分化食管癌组织有关; p50蛋白的高表达与食管癌组织淋巴结转移有关; p65与食管癌组织中低分化及深层浸润有关。PKC $\alpha$ 蛋白表达与p50及p65蛋白表达为正相关系。

庞雪莲, 崔晓宾, 李肃, 金静, 梁伟华, 李锋, 陈云昭. PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B p50/p65在哈萨克族食管癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 227-232 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/227.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.227>

## 0 引言

食管癌是一种世界范围内常见的消化系统恶性肿瘤, 我国是食管癌高发国家, 也是死亡率最高的国家。食管癌的发病率及死亡率具有明显的民族差异, 哈萨克族食管癌的检出率明显高于同地区的汉族、维族等其他民族, 食管癌的发生与吸烟、饮酒、饮食习惯及基因多态性密切相关<sup>[1]</sup>。因此, 研究哈萨克族食管癌患者的基因表达, 对其发病机制阐明具有重要意义。蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)是存在于哺乳动物细胞胞浆内的脂质依赖性丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶, 至少包括12种亚型, PKC $\alpha$ 是经典PKC家族成员, PKC与多个细胞信号通路相关, 对细胞的增殖、分化和生存具有重要调控作用<sup>[2]</sup>, 并且能被食管癌的易感基因PLCE1<sup>[3]</sup>间接激活<sup>[4,5]</sup>。另

外, 核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)是一类关键性的核转录因子, 通常以二聚体非活性形式存在于几乎所有类型的细胞中, p50和p65是组成NF- $\kappa$ B重要的二聚体成员, 当刺激IKK磷酸化之后, 使I $\kappa$ B降解导致NF- $\kappa$ B激活, 从而调节细胞的增殖、转移及血管生成<sup>[6,7]</sup>。在经过CD3和CD28刺激的T淋巴细胞中PKC $\alpha$ 通过调节PKC $\theta$ 使IKK活化, 随之激活NF- $\kappa$ B<sup>[8]</sup>。又有研究报道, 在293T细胞和Hela细胞中抑制PKC $\delta$ 表达可抑制NF- $\kappa$ B的激活<sup>[9]</sup>。基于以上的研究, 我们提出: 在新疆哈萨克族食管癌的发生发展中, 是否也存在PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B的相互作用并通过炎症促进食管癌的浸润和转移。因此我们检测PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B相关蛋白p50、p65在新疆哈萨克族食管癌中的表达情况, 并分析三者蛋白表达与食管癌临床病理特征间的关系, 以及PKC $\alpha$ 、p50和p65蛋白表达之间的相关性, 为深入研究食管癌的发生、发展机制提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择石河子大学医学院第一附属医院、伊犁友谊医院、自治区人民医院1984-2010年50例术前未经任何治疗的食管癌手术标本, 选取距离癌组织边缘 $\geq 5$  cm处食管组织切缘标本作为“正常”对照, 由两名资深病理医生确诊。按TNM标准对肿瘤进行病理分型。50例全部为食管鳞癌组织, 其中病理分型高分化14例, 中低分化36例, 有淋巴结转移29例, 肿瘤浸润深度超过深肌层24例(表1)。免疫组织化学SP试剂盒及Envision试剂盒均购自北京中杉金桥公司; DAB显色剂购自Dako公司; PKC $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B p65/p50抗体分别为: 鼠抗人PKC $\alpha$ 单抗(1:50稀释, Santa Cruz公司); 兔抗人p50多抗(1:50稀释, 福州迈新公司); 鼠抗人p65单抗(1:50稀释, Santa Cruz公司)。

**1.2 方法** 应用免疫组织化学SP法及Envision法进行染色。Minicore组织芯片仪(法国Alphelys公司)制作组织芯片, 4-5  $\mu$ m连续切片, 60  $^{\circ}$ C烤箱烤片3 h。切片常规二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化, 3%甲醛H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>溶液消除内源性过氧化物酶活性, Tris-EDTA微波抗原修复, 滴加150  $\mu$ L一抗(空白对照组滴加PBS), 放入4  $^{\circ}$ C冰箱过夜。p50实验组滴加Envision工作液, PKC $\alpha$ 及p65实验组滴加SP工作液(各步间隔PBS缓冲液震洗2次 $\times$ 5 min)。DAB(二氨基联苯胺)显色, 苏木素复染, 酸乙醇分化, 脱水、透明、中性树胶封片。阳性细胞为明显可辨的黄色或棕黄色。由两位资深

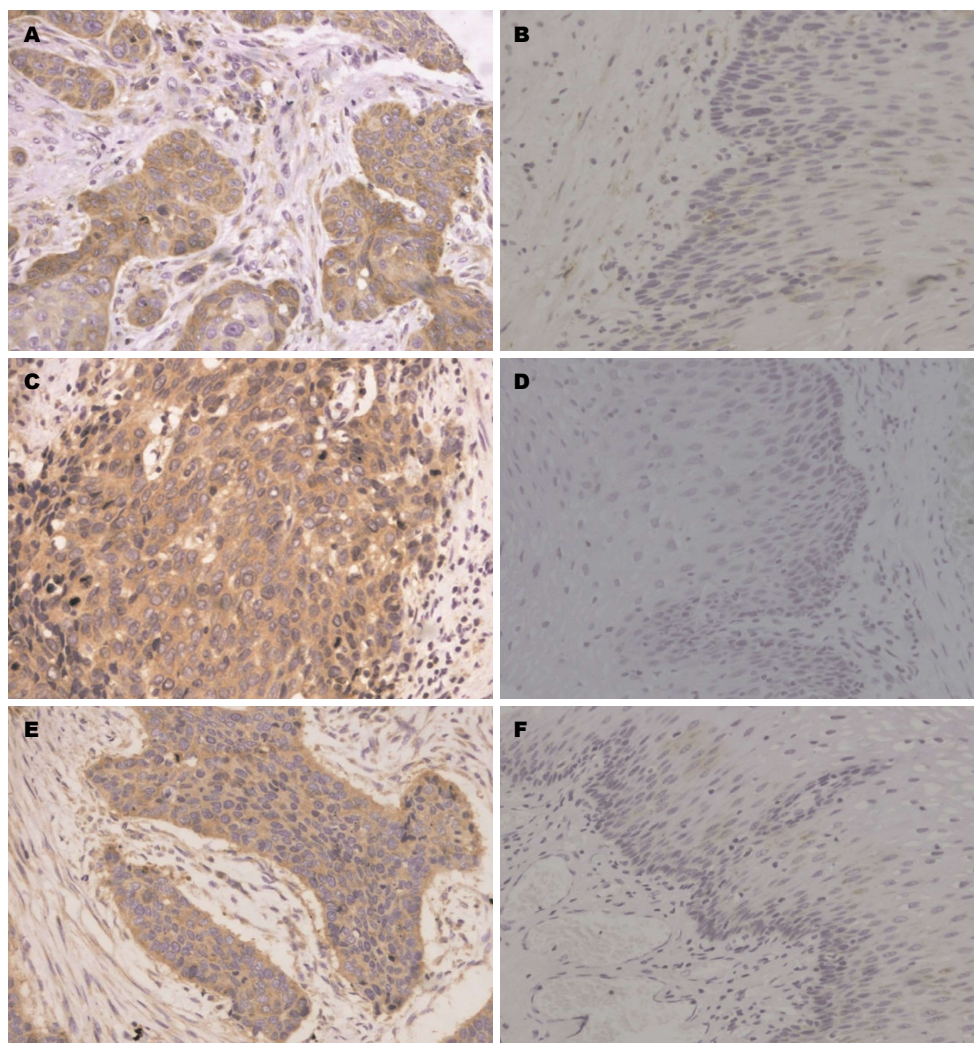


图1 PKC $\alpha$ 、p50和p65蛋白在新疆哈萨克族食管鳞癌及癌旁正常组织中的表达( $\times 200$ ). p50蛋白: Envision法; PKC $\alpha$ 、p65蛋白: SP法. A, C, E: PKC $\alpha$ 、p50和p65在食管鳞癌组织中呈阳性表达; B, D, F: PKC $\alpha$ 、p50和p65在癌旁正常组织中呈阴性表达. PKC $\alpha$ : 蛋白激酶C $\alpha$ .

#### ■ 相关报道

刘曙光等证实,在食管癌细胞中PKC1能够促进食管癌细胞的增殖、侵袭及转移.食管癌的易感基因PLCE1能够间接激活PKC.在经过CD3和CD28刺激的T淋巴细胞中PKC $\alpha$ 通过调节PKC $\theta$ 使IKK活化,随之激活NF- $\kappa$ B.但是在哈萨克族食管癌中尚未见报道PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B信号通路分子相关性的报道.

病理医师采用双盲法分别观察着色范围和染色强度.光学显微镜下全视野观察,按阳性细胞范围在肿瘤细胞内所占比例分为4个分值,染色比例 $<5\%$ 视为0分,5%-25%为1分,26%-50%为2分;50%-75%为3分, $>75\%$ 者为4分.染色强度判定:不显色或显色不清为0分,浅黄色为1分,棕黄色为2分,深棕色为3分.综合积分按公式计算:综合积分 = 染色面积分数 $\times$ 染色强度分数.评分 $<4$ 分为低表达, $\geq 4$ 分为高表达<sup>[10]</sup>.

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件对全部数据进行统计处理,阳性率的比较采用 $\chi^2$ 检验,相关性分析采用Spearman相关分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 PKC $\alpha$ 、p50和p65蛋白在食管癌及癌旁正常组织中的表达** PKC $\alpha$ 和p65阳性主要位于胞浆,

p50阳性位于胞浆和/或胞核(图1).PKC $\alpha$ 在癌组织中的高表达率为46.0%,而在癌旁正常组织仅为8%, $P = 1.9 \times 10^{-5}$ ;同样的,p50在癌组织中高表达率的82.0%,而在癌旁正常组织仅为48.0%, $P = 3.7 \times 10^{-4}$ ;另外,p65在癌组织的高表达率为56.0%,在癌旁正常组织仅为36.0%, $P = 0.045$ .结果表明PKC $\alpha$ 、p65和p50在食管癌组织中高表达率均高于癌旁正常组织(表1).

**2.2 PKC $\alpha$ 、p50和p65蛋白表达与食管癌临床病理学特征的关系** 利用SPSS13.0软件分析PKC $\alpha$ 、p50和p65的蛋白表达与食管癌临床病理参数之间的关系,结果表明PKC $\alpha$ 高表达与食管癌组织中低分化有关 $P = 0.030$ ;p50的高表达与食管癌组织淋巴结转移有关 $P = 0.042$ ;p65的高表达与食管癌组织中低分化及深层浸润有关 $P = 0.015$ 和 $0.042$ ;提示PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B p50/p65与食管癌的分化转移有密切关系(表2).



## ■创新盘点

已有研究证明NF- $\kappa$ B除了能被TNF- $\alpha$ 、白介素1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )及IL-8等炎症相关因子激活,在T细胞中还能被PKC激活。目前关于PKC-NF- $\kappa$ B在食管癌中的激活机制研究中的尚未见报道。我们的研究首次证明了PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B在新疆哈萨克族食管癌中同时被激活,并且两者蛋白表达存在显著的正相关关系。

表 1 50例新疆哈萨克族食管癌患者的临床资料

临床特征	患者
<i>n</i>	50
性别 <i>n</i> (%)	
男	33(66.0)
女	17(34.0)
年龄(岁) <i>n</i> (%)	
<65	31(62.0)
≥65	19(38.0)
中位年龄(岁)	59
年龄范围(岁)	36-75
分化 <i>n</i> (%)	
高分化	14(28.0)
中低分化	36(72.0)
浸润深度 <i>n</i> (%)	
T1-T2	26(52.0)
T3-T4	24(48.0)
淋巴结转移 <i>n</i> (%)	
无	21(42.0)
有	29(58.0)
TNM分期 <i>n</i> (%)	
I/II	32(64.0)
III/IV	18(36.0)

2.3 食管癌组织中PKC $\alpha$ 、p50和p65蛋白表达的相关性 PKC $\alpha$ 、p50和p65蛋白表达的相关性结果显示,高表达PKC $\alpha$ 的病例中存在p50高表达( $r = 0.435, P = 4.5 \times 10^{-6}$ )同时p65也高表达( $r = 0.626, P = 1 \times 10^{-6}$ ), PKC $\alpha$ 蛋白表达与p50及p65蛋白表达呈正相关关系,提示食管癌组织中PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B信号通路的激活具有协同作用(表3)。

## 3 讨论

食管癌的发生涉及多因素、多阶段、多基因变异积累及相互作用的复杂过程。有研究报道,食管接受刺激后首先发生炎症反应,紧接着炎症增生,进一步炎症非典型增生,最终发展为食管癌<sup>[11-13]</sup>。NF- $\kappa$ B是炎症相关肿瘤的重要调节因子,其激活后参与炎症肿瘤的发生;NF- $\kappa$ B除了能被TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 及IL-8等炎症相关因子激活<sup>[14]</sup>,还能被PKC激活<sup>[15,16]</sup>,PKC是佛波酯(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate, TPA)发挥炎症作用的重要靶标之一,从而导致TPA诱导的炎症相关肿瘤<sup>[17]</sup>;可见PKC与NF- $\kappa$ B都是参与炎症肿瘤的重要因子,但是目前关于PKC-NF- $\kappa$ B在食管癌中的激活机制研究中的尚未见报道。我们的实验首次证明了PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B在新疆哈萨克族食管癌中同时被激活,并且PKC $\alpha$ 蛋白表达与

NF- $\kappa$ B相关蛋白表达存在显著的正相关关系,我们推测食管癌发生中存在PKC $\alpha$ -NF- $\kappa$ B通路的激活。

我们的实验结果表明PKC $\alpha$ 在食管癌组织中高表达率高于癌旁正常组织,与此蛋白在肺癌细胞中的表达一致<sup>[18]</sup>。此外,PKC $\alpha$ 高表达与食管癌组织中、低分化有关,证明PKC $\alpha$ 参与调控食管癌细胞的增殖,与Liu等<sup>[2]</sup>的研究结果一致,他们研究发现敲除食管癌细胞PKC表达后促进了细胞凋亡,并抑制了细胞的侵袭和转移能力。在Barrett食管中PKC能激活Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>(NHE)交换,促进细胞的过度增殖反应<sup>[19]</sup>。在膀胱平滑肌细胞中PKC通过缓慢上调c-Jun NH2-terminal kinase(JNK),促进细胞增殖<sup>[20]</sup>。表明在食管癌组织及其他组织细胞中PKC对增殖和转移具有促进作用。

本实验中p50和p65蛋白在食管癌组织中的高表达率明显高于癌旁正常组织,并且p50的高表达与有淋巴结转移有关,p65的高表达与中低分化及浸润深度较深的组织有关。Kang等<sup>[21]</sup>的研究也表明NF- $\kappa$ B p50/p150在食管组织中的阳性率高于癌旁正常组织。同样的,在食管癌细胞系Ec109和Ec9706也存在p50及p65在胞质的表达<sup>[22]</sup>。这些研究均证明NF- $\kappa$ B在食管癌中是被激活的。Su等<sup>[10]</sup>的研究结果显示NF- $\kappa$ B在食管癌组织中的高表达与淋巴结转移有关,并且与Notch1的表达呈负相关。在食管癌细胞中下调p65和I $\kappa$ B的磷酸化水平,会导致Bcl2、MMP9的下调并伴随Bax和Caspase3蛋白的活化,最终导致细胞侵袭能力减弱、增殖受抑制<sup>[23]</sup>。NF- $\kappa$ B p50/65在基底细胞增生、间变、原位癌和鳞状细胞癌均出现不同程度的阳性表达,并随病变进展,阳性表达率明显升高<sup>[24]</sup>。以上研究证明NF- $\kappa$ B在食管癌组织中被激活的并促进食管癌的发展。

我们课题组先前的实验已经证明了PLCE1在哈萨克族食管癌组织中高表达<sup>[25]</sup>,并且PLCE1是哈萨克族食管癌的易感基因<sup>[3]</sup>,PLCE1是PLC家族成员之一,其能够水解生成肌醇1,4,5-三磷酸(inositol 1,4,5-trisphosphate, IP3)和甘油二酯(diacylglycerol, DAG)他们共同作用并通过IP3R可以激活PKC<sup>[4,5]</sup>。然而,PLCE1也能够促进皮肤及结直肠癌肿瘤中炎症相关因子CXCL1/KC、CXCL1/2、COX-2的激活进一步促进肿瘤的发生<sup>[26,27]</sup>。在血管平滑肌细胞中通过激活PKC $\alpha$ -TRAF6(tumor necrosis factor receptor-associated factor-6)-TAK1(tumor growth factor



表 2 食管癌组织中PKC $\alpha$ 、p50和p65的蛋白高表达与临床病理学特征的关系n(%)

	n	高表达		
		PKC $\alpha$	p50	p65
食管癌组织	50	23(46.0)	41(82.0)	28(56.0)
癌旁正常组织	50	4(8.0) <sup>b</sup>	24(48.0) <sup>b</sup>	18(36.0) <sup>a</sup>
临床病理特征				
性别				
男	33	15(45.5)	28(84.8)	18(54.5)
女	17	8(47.1)	13(76.5)	10(58.8)
年龄(岁)				
< 65	31	12(38.7)	26(83.9)	15(48.4)
≥65	19	11(57.9)	15(78.9)	13(68.4)
分化				
高分化	14	3(21.4)	10(71.4)	4(28.6)
中低分化	36	20(55.6) <sup>c</sup>	31(86.1)	24(66.7) <sup>c</sup>
浸润深度				
浅层	26	13(50.0)	20(76.9)	11(42.3)
深层	24	10(41.7)	21(87.5)	17(70.8) <sup>a</sup>
淋巴结转移				
无	21	8(38.1)	14(66.7)	10(47.6)
有	29	15(51.7)	27(93.1) <sup>e</sup>	18(62.1)
TNM分期				
TNMI/II	32	17(53.1)	27(84.4)	18(56.3)
TNMIII/IV	18	6(33.3)	14(77.8)	10(55.6)

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 食管癌组织; <sup>c</sup>P<0.05 vs 高分化; <sup>d</sup>P<0.05 vs 无淋巴结转移; <sup>e</sup>P<0.05 vs 浅层浸润. PKC $\alpha$ : 蛋白激酶C $\alpha$ .

表 3 食管癌组织中PKC $\alpha$ 、p50和p65的蛋白表达之间的关系

	PKC $\alpha$	p50	P65
PKC $\alpha$	1		
p50	0.435 <sup>b</sup>	1	
P65	0.626 <sup>d</sup>	0.406 <sup>f</sup>	1

<sup>b</sup>P<0.01, <sup>d</sup>P<0.01 vs PKC $\alpha$ ; <sup>f</sup>P<0.01 vs p50. PKC $\alpha$ : 蛋白激酶C $\alpha$ .

$\beta$ -activating kinase-1)能促进IKK $\beta$ 快速磷酸化进一步使NF- $\kappa$ B激活, 促进血管炎症发生<sup>[28]</sup>. 然而, NF- $\kappa$ B是调节炎症及先天性免疫一个关键因子, 已经在许多癌症中观察到存在异常的NF- $\kappa$ B调节<sup>[29]</sup>. 我们推测在食管癌组织中PLCE1通过PKC间接激活了NF- $\kappa$ B, PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B相互作用并过炎症促进食管癌的浸润和转移.

总之, 在新疆哈萨克族食管癌中存在PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B的激活及相互作用并可能通过炎症促进食管癌的浸润和转移. 在食管癌发生发展过程中可能存PLCE1-PKC $\alpha$ -NF- $\kappa$ B的激活, 共同促进食管癌的进展. PKC $\alpha$ 、NF- $\kappa$ B可能成为食管癌预防和治疗的一个靶点.

## 应用要点

在新疆哈萨克族食管癌中可能存在PKC $\alpha$ 与NF- $\kappa$ B的共同激活及相互作用并可能通过炎症作用促进食管癌的浸润和转移. 依据本实验的研究结果, 通过多中心大样本验证, PKC、NF- $\kappa$ B可作为诊断及判断食管癌预后的标志物.

## 参考文献

- 刘晓燕, 陈卫刚, 郑勇, 齐翠花, 赵强, 韩玉胜, 窦玉勤. 新疆伊犁哈萨克族自治州10年食管癌内镜诊断476例. 世界华人消化杂志 2013; 21: 899-903
- Liu SG, Wang BS, Jiang YY, Zhang TT, Shi ZZ, Yang Y, Yang YL, Wang XC, Lin DC, Zhang Y, Yang H, Cai Y, Zhan QM, Wang MR. Atypical protein kinase C $\alpha$  (PKC $\alpha$ ) promotes metastasis of esophageal squamous cell carcinoma by enhancing resistance to Anoikis via PKC $\alpha$ -SKP2-AKT pathway. *Mol Cancer Res* 2011; 9: 390-402 [PMID: 21310827 DOI: 10.1158/1541-7786.mcr-10-0359]
- Cui XB, Chen YZ, Pang XL, Liu W, Hu JM, Li SG, Yang L, Zhang WJ, Liu CX, Cao SY, Jiang JF, Gu WY, Pang J, Yang L, Yuan XL, Yu SW, Li F. Multiple polymorphisms within the PLCE1 are associated with esophageal cancer via promoting the gene expression in a Chinese Kazakh population. *Gene* 2013; 530: 315-322 [PMID: 23981775]
- Kelm MK, Weinberg RJ, Criswell HE, Breese GR. The PLC/IP 3 R/PKC pathway is required for ethanol-enhanced GABA release. *Neuropharmacology* 2010; 58: 1179-1186 [PMID: 20206640 DOI: 10.1016/j.neuropharm.2010.02.018]
- 崔晓宾, 陈云昭, 李锋. 磷脂酶C $\epsilon$ 1基因与肿瘤关系研究进展. 中华病理学杂志 2012; 41: 213-216
- Mercurio F, Zhu H, Murray BW, Shevchenko A, Bennett BL, Li J, Young DB, Barbosa M, Mann M, Manning A, Rao A. IKK-1 and IKK-2: cytokine-activated I $\kappa$ B kinases essential for NF- $\kappa$ B activation. *Science* 1997; 278: 860-866 [PMID: 9346484]
- Guo JL, Zheng SJ, Li YN, Jie W, Hao XB, Li TF, Xia

## ■同行评价

本文选题新颖, 统计合理, 方法科学, 结论可靠, 具有一定指导意义。

- LP, Mei WL, Huang FY, Kong YQ, He QY, Yang K, Tan GH, Dai HF. Toxicaricoid A inhibits SGC-7901 proliferation, migration and invasion via NF- $\kappa$ B/bFGF signaling. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1602-1609 [PMID: 22529688]
- 8 Trushin SA, Pennington KN, Carmona EM, Asin S, Savoy DN, Billadeau DD, Paya CV. Protein kinase Calpha (PKCalpha) acts upstream of PKCtheta to activate IkappaB kinase and NF-kappaB in T lymphocytes. *Mol Cell Biol* 2003; 23: 7068-7081 [PMID: 12972622 DOI: 10.1128/MCB.23.19.7068-7081.2003]
- 9 Ashida H, Nakano H, Sasakawa C. Shigella IpaH0722 E3 ubiquitin ligase effector targets TRAF2 to inhibit PKC-NF-kB activity in invaded epithelial cells. *PLoS Pathog* 2013; 9: e1003409 [PMID: 23754945 DOI: 10.1371/journal.ppat.1003409]
- 10 Su C, Chen Z, Luo H, Su Y, Liu W, Cai L, Wang T, Lei Y, Zhong B. Different patterns of NF-kB and Notch1 signaling contribute to tumor-induced lymphangiogenesis of esophageal squamous cell carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 85 [PMID: 21939555 DOI: 10.1186/1756-9966-30-85]
- 11 Wang LD, Yang HH, Fan ZM, Lü XD, Wang JK, Liu XL, Sun Z, Jiang YN, He X, Zhou Q. Cytological screening and 15 years' follow-up (1986-2001) for early esophageal squamous cell carcinoma and precancerous lesions in a high-risk population in Anyang County, Henan Province, Northern China. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 317-322 [PMID: 16118042]
- 12 Cui X, Chen Y, Liu L, Li L, Hu J, Yang L, Liang W, Li F. Heterozygote of PLCE1 rs2274223 increases susceptibility to human papillomavirus infection in patients with esophageal carcinoma among the Kazakh populations. *J Med Virol* 2013 Oct 11. [Epub ahead of print] [PMID: 24127316 DOI: 10.1002/jmv.23775]
- 13 Wen DG, Wang SJ, Zhang LW, Zhou W, Yu WF, Wang XL. Natural history of esophageal and gastric cardia precursor by repetitive endoscope screening with 425 adults in a high-risk area in China. *Cancer Epidemiol* 2009; 33: 108-112 [PMID: 19679056 DOI: 10.1016/j.canep.2009.06.002]
- 14 Kuno K, Sukegawa K, Ishikawa Y, Orii T, Matsushima K. Acid sphingomyelinase is not essential for the IL-1 and tumor necrosis factor receptor signaling pathway leading to NFkB activation. *Int Immunol* 1994; 6: 1269-1272 [PMID: 7981153]
- 15 Park KA, Byun HS, Won M, Yang KJ, Shin S, Piao L, Kim JM, Yoon WH, Junn E, Park J, Seok JH, Hur GM. Sustained activation of protein kinase C down-regulates nuclear factor-kappaB signaling by dissociation of IKK-gamma and Hsp90 complex in human colonic epithelial cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 71-80 [PMID: 16774932 DOI: 10.1093/carcin/bgl094]
- 16 Karin M. Signal transduction from cell surface to nucleus in development and disease. *FASEB J* 1992; 6: 2581-2590 [PMID: 1317309]
- 17 Ikuta S, Edamatsu H, Li M, Hu L, Kataoka T. Crucial role of phospholipase C epsilon in skin inflammation induced by tumor-promoting phorbol ester. *Cancer Res* 2008; 68: 64-72 [PMID: 18172297]
- 18 何朗, 侯梅, 李光明, 文世民, 杨红, 陈萍, 徐聂. ERCC1和PKCalpha在非小细胞肺癌中的表达及其临床意义. *中国肺癌杂志* 2010; 13: 270-273
- 19 Fitzgerald RC, Omary MB, Triadafilopoulos G. Altered sodium-hydrogen exchange activity is a mechanism for acid-induced hyperproliferation in Barrett's esophagus. *Am J Physiol* 1998; 275: G47-G55 [PMID: 9655683]
- 20 Wazir R, Luo DY, Dai Y, Yue X, Tian Y, Wang KJ. Expression and proliferation profiles of PKC, JNK and p38MAPK in physiologically stretched human bladder smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 438: 479-482 [PMID: 23916702]
- 21 Kang MR, Kim MS, Kim SS, Ahn CH, Yoo NJ, Lee SH. NF-kappaB signalling proteins p50/p105, p52/p100, RelA, and IKKepsilon are over-expressed in oesophageal squamous cell carcinomas. *Pathology* 2009; 41: 622-625 [PMID: 20001340 DOI: 10.3109/00313020903257756]
- 22 Tian F, Zang WD, Hou WH, Liu HT, Xue LX. Nuclear factor-kB signaling pathway constitutively activated in esophageal squamous cell carcinoma cell lines and inhibition of growth of cells by small interfering RNA. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)* 2006; 38: 318-326 [PMID: 16680372]
- 23 Han Y, Guo XH, Zheng QF, Zhu YL, Fan YY, Zhang XY. Down-regulation of platelet-derived growth factor-D expression blockades NF-kB pathway to inhibit cell proliferation and invasion as well as induce apoptosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Mol Biol Rep* 2013; 40: 2473-2483 [PMID: 23187740 DOI: 10.1007/s11033-012-2328-y]
- 24 李健, 杜芳, 齐义军, 郭涛, 冯常伟, 秦豫培, 何欣, 范宗民, 高珊珊, 郭花芹, 刘宾, 张延瑞, 李吉林, 焦新英, 王立东. 食管癌及癌前病变中NF-kBp65/p50蛋白的表达. *临床与实验病理学杂志* 2006; 5: 560-562
- 25 Chen YZ, Cui XB, Hu JM, Zhang WJ, Li SG, Yang L, Shen XH, Liu CX, Pan QF, Yu SY, Yuan XL, Yang L, Gu WY, Chen JZ, Wang LD, Li F. Overexpression of PLCE1 in Kazakh esophageal squamous cell carcinoma: implications in cancer metastasis and aggressiveness. *APMIS* 2013; 121: 908-918 [PMID: 23659763 DOI: 10.1111/apm.12095]
- 26 Li M, Edamatsu H, Kitazawa R, Kitazawa S, Kataoka T. Phospholipase Cepsilon promotes intestinal tumorigenesis of Apc(Min/+) mice through augmentation of inflammation and angiogenesis. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1424-1432 [PMID: 19458037 DOI: 10.1093/carcin/bgp125]
- 27 Oka M, Edamatsu H, Kunisada M, Hu L, Takenaka N, Sakaguchi M, Kataoka T, Nishigori C. Phospholipase Cε has a crucial role in ultraviolet B-induced neutrophil-associated skin inflammation by regulating the expression of CXCL1/KC. *Lab Invest* 2011; 91: 711-718 [PMID: 21321537]
- 28 Doyon P, Servant MJ. Tumor necrosis factor receptor-associated factor-6 and ribosomal S6 kinase intracellular pathways link the angiotensin II AT1 receptor to the phosphorylation and activation of the IkappaB kinase complex in vascular smooth muscle cells. *J Biol Chem* 2010; 285: 30708-30718 [PMID: 20659889 DOI: 10.1074/jbc.M110.126433]
- 29 Pikarsky E, Porat RM, Stein I, Abramovitch R, Amit S, Kasem S, Gutkovich-Pyest E, Urieli-Shoval S, Galun E, Ben-Neriah Y. NF-kappaB functions as a tumour promoter in inflammation-associated cancer. *Nature* 2004; 431: 461-466 [PMID: 15329734 DOI: 10.1038/nature02924]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 针灸治疗慢性萎缩性胃炎的Meta分析

廖伟琳, 陈国忠, 胡辉, 夏李明

廖伟琳, 广西中医药大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530001

陈国忠, 广西中医药大学第一附属医院脾胃病科 广西壮族自治区南宁市 530023

胡辉, 广西南宁市三塘镇卫生院 广西壮族自治区南宁市 530024

夏李明, 广西来宾市中医医院 广西壮族自治区来宾市 546100

廖伟琳, 在读硕士, 主要从事中医药防治脾胃病的研究。

国家自然科学基金资助项目, No.81260529

广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 重201157

作者贡献分布: 廖伟琳与陈国忠对此文所作贡献均等; 陈国忠为课题总负责人; 本课题由廖伟琳、陈国忠、胡辉及夏李明设计; 研究过程、数据分析由廖伟琳、胡辉及夏李明完成; 研究所用的新试剂及分析工具由陈国忠提供; 论文由廖伟琳完成。

通讯作者: 陈国忠, 教授, 主任医师, 530023, 广西壮族自治区南宁市东葛89-9号, 广西中医药大学第一附属医院脾胃病科。

cheninjp@163.com

电话: 0771-5848505

收稿日期: 2013-08-16 修回日期: 2013-12-12

接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-01-18

## Acupuncture and moxibustion for treatment of chronic atrophic gastritis: A Meta-analysis

Wei-Lin Liao, Guo-Zhong Chen, Hui Hu, Li-Ming Xia

Wei-Lin Liao, Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Guo-Zhong Chen, the First Affiliated Hospital of Guangxi University of Chinese Medicine, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Hui Hu, Health Clinics of Santang Town, Nanning 530024, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Li-Ming Xia, TCM Hospital of Laibin City, Laibin 546100, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260529; the Key Research Project Foundation of Guangxi Health Department, No. 201157

Correspondence to: Guo-Zhong Chen, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Chinese Medical University, 89-9 Dongge Road, Nanning 530023, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. cheninjp@163.com

Received: 2013-08-16 Revised: 2013-12-12

Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of acupuncture and moxibustion in the treatment of chronic atrophic gastritis (CAG).

**METHODS:** Electronic searches of relevant randomized controlled trials (RCTs) on acupuncture and moxibustion for chronic atrophic gastritis in PubMed, WanFang Data, WeiPu Data and CNKI were performed. Studies were selected based on strict inclusive and exclusive criteria. All reviewed articles were assessed using Cochrane quality scale. Statistical analyses were performed with RevMan5.0 software.

**RESULTS:** A total of 11 trials involving 772 patients were included. Meta-analysis showed that compared with the medicine group, the acupuncture and moxibustion group had superiority in many aspects such as the total effective rate as well as improvements in gastroscopic findings, pathological changes, symptoms, hemoglobin and serum gastrin.

**CONCLUSION:** Acupuncture and moxibustion have advantages over conventional drug treatment in the management of CAG. More high-quality studies are needed to prove our finding.

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

**Key Words:** Acupuncture and moxibustion; Chronic atrophic gastritis; Meta-analysis

Liao WL, Chen GZ, Hu H, Xia LM. Acupuncture and moxibustion for treatment of chronic atrophic gastritis: A Meta-analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 233-238 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/233.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.233>

## 摘要

**目的:** 评价针灸治疗慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)的临床疗效。

**方法:** 计算机检索PubMed、万方数据库、维普网、中国期刊全文数据库中发表的针灸治疗慢性萎缩性胃炎的临床随机对照试验, 按照Cochrane Handbook5.0.2版推荐使用的偏倚风险评估工具结合《循证针灸临床实践指南》

## ■背景资料

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)属于中医学的“胃脘痛”、“痞满”等范畴, 是慢性胃炎的一种类型, 以胃黏膜萎缩变薄、腺体减少或消失为特征, 其发病率高, 病程长, 且易癌变, 1978年, 世界卫生组织将其列为胃癌的癌前疾病或癌前状态。因此, 阻断、逆转其癌变成为中西医结合研究的重点课题。

## ■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室; 郑培永, 副教授, 上海中医药大学脾胃病研究所, 上海中医药大学附属龙华医院消化内科



## ■ 研发前沿

西医治疗本病多为对症处理,虽有一定疗效但尚不理想,且存在不良反应问题。大量临床研究显示,针灸疗法在治疗CAG的临床研究中取得了丰硕的成果,显示出针灸治疗CAG的独特优势,成为近年来的热点。

中描述的RCT质量评价说明对纳入文献进行质量评价,使用Revman5.0统计软件进行Meta分析统计学处理,评价针灸治疗慢性萎缩性胃炎的临床疗效和安全性。

**结果:**共纳入11个研究,包括772例患者。Meta分析结果显示:针灸与药物比较在临床总有效率、胃镜检查改善情况、降低胃黏膜组织病理评分、症状改善情况、改善血清胃泌素含量方面有优势。

**结论:**研究表明,针灸治疗慢性萎缩性胃炎与药物比较有一定优势,但还需高质量的随机对照试验进一步验证支持。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**慢性萎缩性胃炎; 针灸治疗; Meta分析

**核心提示:** Meta分析作为循证医学的科研工具发展至今已经较为成熟,通过对大量文献的筛选、整合及分析能够得出较单个小样本临床试验更为可靠的临床依据。本文正是通过这一科学手段,严格遵守规范的报告标准对针灸治疗慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis)的疗效进行评估,为临床有效合理治疗本病提供循证学证据。

廖纬琳, 陈国忠, 胡辉, 夏李明. 针灸治疗慢性萎缩性胃炎的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 233-238 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/233.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.233>

## 0 引言

慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是慢性胃炎的一种类型,其发病率高,病程长,且易癌变,现代医学目前尚无理想的治疗方法。很多临床研究报道针灸治疗CAG的疗效显著、安全系数高。但尚没有出现针灸治疗CAG的系统评价或Meta分析,从而给临床治疗的循证决策带来一定的困难。因此,有必要对针灸治疗CAG的临床研究作一个系统评价。本文拟利用Meta分析对于国内外现有的随机对照试验证据进行检索、筛选、结果合并,通过循证医学的科学研究方法总结分析得出比单独的研究结果更有说服力的综合性证据<sup>[1-3]</sup>,旨在为临床有效合理治疗本病提供循证学证据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 以国内外医学期刊发表的有关针灸治疗CAG的临床研究文献为研究对象。以胃炎,慢

性胃炎、慢性萎缩性胃炎、针灸、针刺、电针、灸法、穴位为关键词和主题词,检索清华同方中国期刊全文数据库(1985-2013年)、万方数据库(1985-2013年)、重庆维普中文科技期刊全文数据库(1989-2013年)。以gastritis、chronic gastritis、chronic atrophic gastritis、Acupuncture and Moxibustion、needling、acupoint作为关键词和主题词,检索PubMed(1985-2013年)。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:** (1)文献类型: 主要干预措施为针灸治疗,采用随机、半随机或仅提随机字样的临床对照试验,包括采用盲法和非盲法; (2)研究对象: CAG患者年龄、性别、病例来源不限,第一诊断为CAG,有明确诊断标准; (3)研究类型: 目的为比较针灸治疗和中药、西药、安慰剂或空白对照治疗CAG的临床研究; (4)报告两组总例数,并采用痊愈、显效、有效、无效等疗效指标。

**1.2.2 排除标准:** (1)虽然使用针灸治疗进行临床研究,但同时合并使用其他西药或中药而影响治疗效果判断的; (2)虽为随机对照试验但采用自身对照; (3)单纯描述性研究,无对照组; (4)综述、动物实验等非临床研究文献; (5)穴位注射与药物治疗对照研究的比较。

**1.2.3 文献提取及质量的评估:** (1)由3名研究员共同对查阅所得的文献的质量进行评估,包括科研设计方法、盲法的采用及质量、是否随机及随机质量等; (2)质量评价: 按照Cochrane Handbook 5.0.2版推荐使用的偏倚风险评估工具结合《循证针灸临床实践指南》中描述的RCT质量评价说明进行评价: 不恰当实施及描述随机方法或双盲法计0分; 描述了应用随机方法或双盲法计1分; 正确实施及恰当描述了应用的随机方法或双盲法计2分; 描述了撤除或中止的受试人群的数目和理由计1分,未描述计0分; 结合针灸疗法的特殊性,对正确实施单盲法(数据统计者及疗效评价者盲)的临床研究文献在盲法项目中计2分。总分为5分。A级,评分 $\geq 3$ 分; B级,评分=2分; C级,评分 $\leq 1$ 分。

**统计学处理** 采用Review Manager 5.0软件进行Meta分析。各研究间进行异质性检验,以 $P < 0.1$ 为检验水准,当 $P > 0.1$ ,表明各研究间无异质性,选择固定效应模型分析,反之则用随机效应模型进行合并分析。计量资料采用权重均数差(weight mean difference, WMD)和标准化均数差(standardized mean difference, SMD)表示,计数资

表 1 纳入文献研究的特点

纳入研究	n	干预措施		结局指标	疗程	方法学特点	评分	失访/退出
		实验组	对照组					
1谷巍	40/40	(6)	(1)+(2)+(4)	A+B+C	8 wk	随机对照	2	未描述
2葛平丽	36/36	(6)	(1)+(2)+(4)	A	6 wk	随机对照	1	未描述
3孙玉霞	30/28	(6)	(2)+(4)	A	8 wk	随机对照	1	未描述
4袁静	30/30	(6)	(5)	A+C+D+E	8 wk	随机对照	1	未描述
5高希言	30/28	(6)	(1)+(3)	A+C+D+E	8 wk	随机对照	2	未描述
6吴耀持	38/38	(6)	(5)	A+B+C	8 wk	随机对照	1	未描述
7张跃	35/30	(6)	(2)+(4)	A	8 wk	随机对照	1	未描述
8金晓飞	40/40	(6)	(2)+(3)	A+B+C	4 wk	随机对照	1	未描述
9陈素华	40/40	(6)	(2)+(4)	A	12 wk	随机对照	1	未描述
10宁晓军	45/45	(6)	(3)+(4)	A	4 wk	随机对照	1	未描述
11赵彤彤	28/25	(6)	(1)+(2)+(3)+(4)	A+B+D	4 wk	随机对照盲法	4	未描述

干预措施: (1)PPI(PPI: 质子泵抑制剂, 包括奥美拉唑、埃索美拉唑、雷贝拉唑、兰索拉唑; PPI可用H2受体拮抗剂替代, 如西咪替丁、雷尼替丁、法莫替丁); (2)抗生素(包括阿莫西林、甲硝唑、呋喃唑酮、四环素等); (3)黏膜剂, 包括枸橼酸铋钾、果胶铋等; (4)对症药物治疗: 促胃动力药、黏膜保护剂、抗酸剂、止吐药、止痛药、维生素类等; (5)中成药(胃复春、胃苏冲剂等); (6)针灸疗法: 针刺(毫针、三棱针、皮内针、火针、芒针等); 灸法(艾炷灸、艾条灸、温针灸、温灸器灸、灯火灸、药线灸等). 结局指标: A: 总有效率; B: 胃镜检查; C: 胃黏膜病理组织变化; D: 症状改善; E: 血清胃泌素含量.

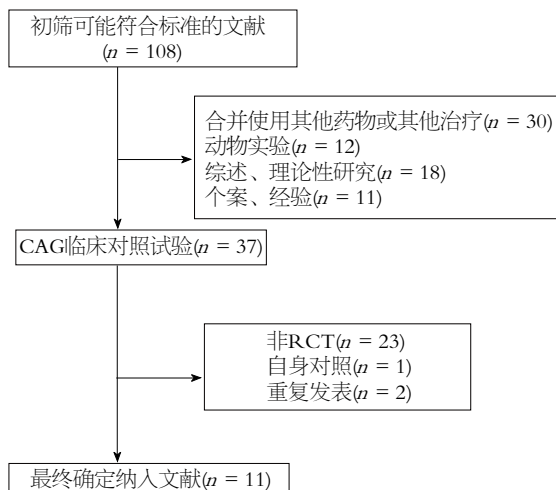


图 1 文献检索流程图. CAG: 慢性萎缩性胃炎.

料采用比值比(odds ratio, OR), 95%CI(confidence interval, CI)表示其可信区间. 检验结果在森林图中列出. 潜在的发表偏倚采用倒漏斗图分析, 以Meta分析结果中的试验组与对照组疗效的OR为横坐标, 以logOR为纵坐标绘出漏斗图, 分析所收集的临床研究资料的分布形态, 判断是否存在发表性偏倚.

## 2 结果

2.1 检索结果 初检得到108篇相关文献, 排除重复文献、综述、非研究药物对照试验、非随机对照试验、动物试验、非对照研究等, 最终纳

## ■ 相关报道

王丹等在《Meta分析中的异质性及其处理方法》为如何识别和处理好资料的异质性提出了很指导性意见. 文进和李幼平的《Meta分析中效应尺度指标的选择》对于Meta分析中效应尺度指标的选择及其结果的解释和应用有着极大的指导价值. 杨克虎的《系统评价指导手册》则更为详实地介绍了整个系统评价的过程以及Meta分析的具体实施方法.

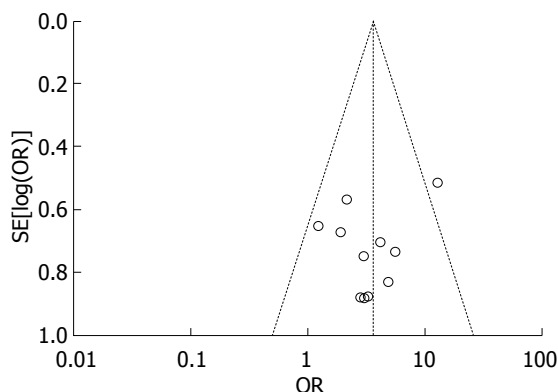


图 2 针灸组 vs 药物治疗CAG总有效率漏斗图.

入11个随机对照试验, 其中中文文献10篇(学位论文1篇、期刊论文9篇)、英文文献1篇(其中A级文献1篇, B级文献2篇, C级文献8篇). 共纳入受试者772例. 各纳入文献基本信息如表1, 检索流程如图1.

## 2.2 Meta分析结果

2.2.1 总有效率: 由于Meta分析在方法学上对于计数资料仅能进行二值变量分析(如有效、无效), 故本次研究以临床治愈、显效、有效率作为总体临床疗效的指标, 无效率看做无效治疗率(图2, 3). (1)如图3所示, 将11个研究<sup>[4-14]</sup>合并进行异质性检验( $P = 0.35$ ,  $I^2 = 10\%$ ), 表明所纳入研究具有临床及统计学上的同质性( $OR = 3.60$ , 95%CI: 2.41-5.39), 整体效果检验 $Z = 6.23(P < 0.00001)$ . 即针灸与药物比较在治疗CAG

## ■ 创新盘点

近年来,关于针灸治疗CAG的临床试验增多,但由于试验设计存在样本量小和方法学质量偏低等缺陷,常常使研究结果的准确性受到质疑,故本文希望通过循证医学的Meta分析来获得更为可靠地证据,为临床实践提供有价值的参考。

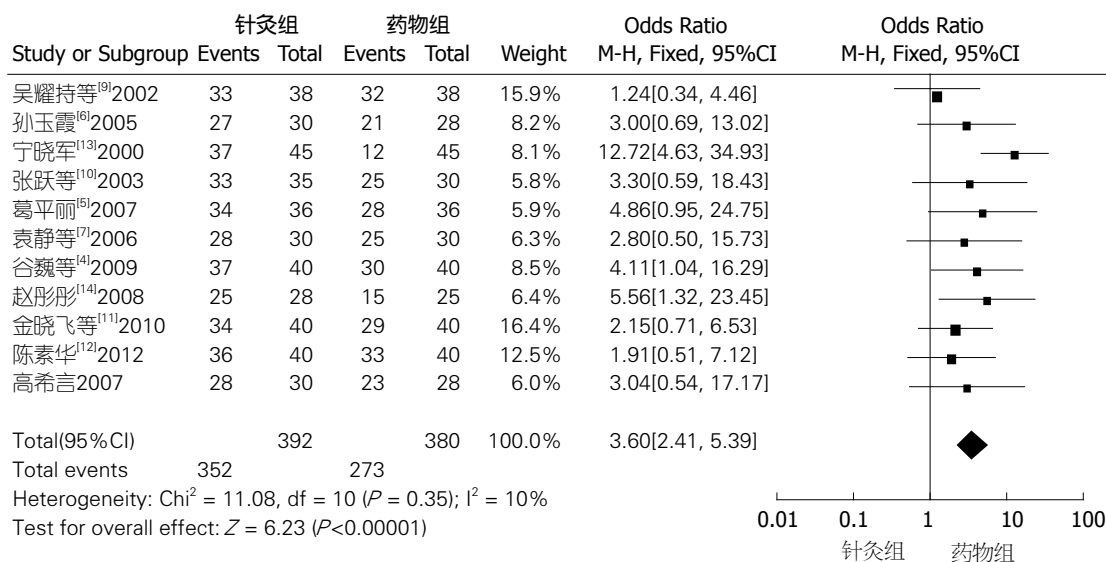


图3 针灸与药物治疗CAG总有效率的比较。

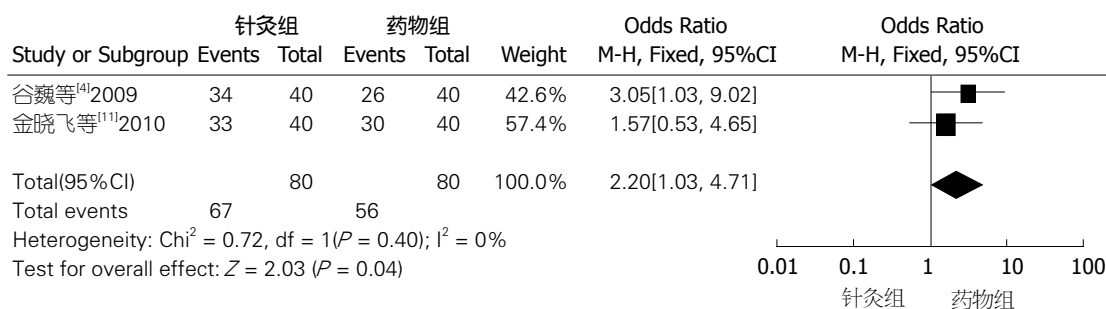


图4 针灸与药物比较治疗CAG在胃镜检查改善情况方面的比较。

临床总有效率方面有优势;(2)漏斗图以及结果分析:对纳入的11篇研究以OR为横坐标,以标准误logOR为纵坐标,绘制漏斗图(图2)。结果显示,以真值为中心,该评价指标倒漏斗图形显示左右不对称,纳入的研究呈偏态分布,考虑纳入的文献可能存在一定的发表偏倚。

**2.2.2 胃镜检查改善情况:**由于赵彤彤、吴耀持的研究未交代具体的样本例数,故不纳入研究。纳入2个研究<sup>[4,11]</sup>,异质性检验( $P = 0.40$ ,  $I^2 = 0\%$ ),表明所纳入研究具有临床及统计学上的同质性( $OR = 2.20$ , 95%CI: 1.03-4.71),整体效果检验 $Z = 2.03$ ( $P = 0.04$ ),治疗前后两组差异有统计学意义(图4)。结果显示,针灸治疗CAG与药物在胃镜检查改善情况方面比较有一定治疗优势。

**2.2.3 胃黏膜组织病理评分:**由于吴耀持、袁静、高希言的研究未交代具体的样本例数,故不纳入研究。另外有金晓飞虽然报告了针灸治疗前后病理检查胃黏膜萎缩、肠上皮化生和异型增生的具体例数,证实治疗后针灸组较药物组明显改善胃黏膜萎缩、肠上皮化生和异型

增生情况,但缺乏同类数据比较,无法用Meta分析评价及绘制森林图。纳入1个研究<sup>[4]</sup>,治疗后胃黏膜组织病理评分的WMD = 4.50, 95%CI: 3.72-5.28,  $P < 0.00001$ ;结果显示治疗前后胃黏膜组织病理评分比较有统计学意义,表明针灸治疗CAG在降低胃黏膜组织病理评分上有优势。

**2.2.4 症状改善情况:**4个研究描述了治疗前后症状改善情况,其中谷巍虽然以图表形式描述了针灸组患者治疗前后胃脘痛、胃胀、反酸和嗳气等症状改善的情况,但缺乏同类数据比较,无法用Meta分析评价及绘制森林图。3个研究<sup>[7,8,14]</sup>为症状积分比较,由于三项研究所采用的症状评分量表未统一,故采用SMD效应指标进行分析。结果显示:三项研究治疗后血清胃泌素下降指数的SMD = 2.10, 95%CI: 1.72-2.47,  $P < 0.00001$ ;结果显示治疗前后症状积分变化有统计学意义(图5),证明在改善萎缩性胃炎主要临床症状方面针灸疗效优于药物。

**2.2.5 治疗前后血清胃泌素含量改变情况:**纳入2个研究<sup>[7,8]</sup>,如图6所示:两项研究治疗后血



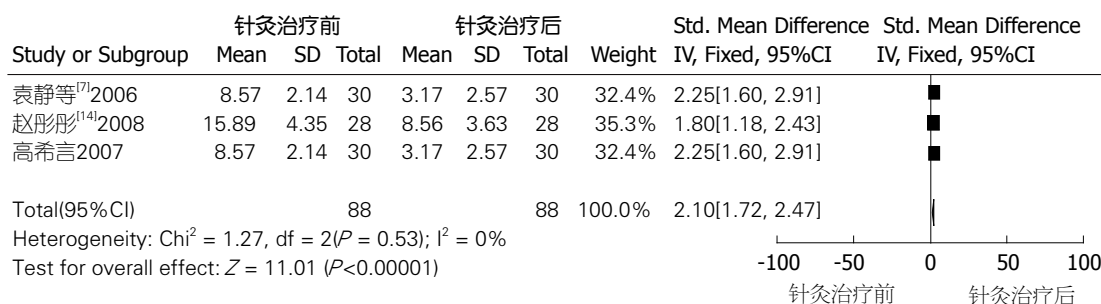


图 5 针灸治疗前后在症状积分变化方面的比较.

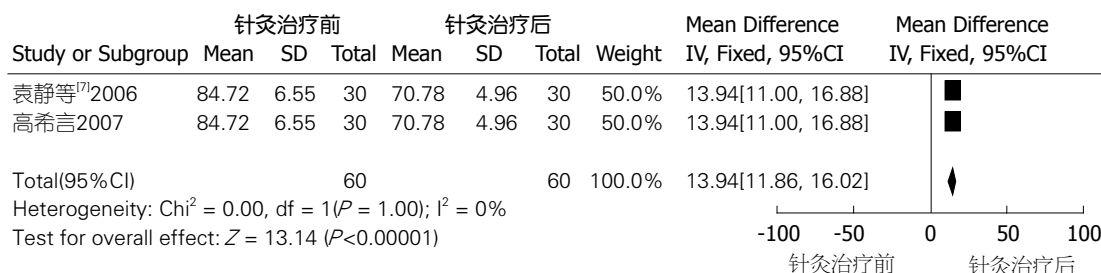


图 6 针灸治疗前后在血清胃泌素含量方面的比较.

清胃泌素下降指数的WMD = 13.94, 95%CI: 11.00-16.88,  $P < 0.00001$ ; 结果显示治疗前后血清胃泌素含量有统计学意义, 表明针灸治疗CAG 8 wk在改善血清胃泌素含量的指标上有优势.

### 3 讨论

CAG是一种以胃黏膜萎缩变薄、腺体减少或消失为特征的消化系统疾病, 属中医“胃脘痛”、“痞满”、“嘈杂”等范畴. 近年来中医界对针灸治疗慢性萎缩性胃炎的疗效进行了广泛而卓有成效的研究. 针灸治疗CAG具有简便易行、疗效显著等优点, 因此, 积极研究针灸治疗CAG具有十分重要的意义. 针灸治疗CAG方法有许多种, 包括单纯针刺、灸法, 也包括针灸并用等, 每种方法都有其独特的疗效, 其中以针刺较为常用<sup>[15]</sup>. 针灸治疗CAG的作用是多方面的, 机制也较复杂, 与免疫、植物神经、胃液分泌、胃功能、胃黏膜等多种因素有关, 但其具体作用途径和方式尚不清楚. 本次系统评价提示, 针灸改善CAG较单纯药物治疗有优势.

本文对针灸治疗慢性萎缩性胃炎的临床疗效进行了系统评价. 本研究共纳入11个研究(772例患者). 纳入文献的方法学质量普遍偏低, 仅有一篇文献使用单盲法, 绝大多数在随机方法的描述上均过于简单, 研究中疗程不一致, 基线可比性、失访/退出、不良反应等也没有完全报道, 所以存在一定的偏倚风险. 对纳入文献的Meta的

分析显示, 针灸与药物比较在临床总有效率、胃镜检查改善情况、降低胃黏膜组织病理评分、症状改善情况、改善血清胃泌素含量方面有优势. 纳入的RCT研究均未报道了不良反应情况, 因此对于针灸治疗CAG的安全性评价尚不能得出肯定的结论. 对纳入研究的倒漏斗图分析显示: 漏斗图呈现偏态分布, 提示本研究可能存在发表性偏倚. 漏斗图不对称除发表偏倚外还有其他原因, 如方法学质量低下等, 故应进一步收集高质量的和未发表的研究资料, 作进一步分析.

总之, 针灸治疗慢性萎缩性胃炎临床有效且疗效明显优于药物治疗. 但这些结论还需要更多设计严格、高质量、大样本、规范化的随机双盲对照试验做进一步验证支持, 呼吁今后临床研究开展遵循CONSORT规程, 提高研究质量, 减小偏倚.

### 4 参考文献

- 王丹, 翟俊霞, 牟振云, 宗红侠, 赵晓东, 王学义, 顾平. Meta分析中的异质性及其处理方法. 中国循证医学杂志 2009; 9: 1115-1118
- 文进, 李幼平. Meta分析中效应尺度指标的选择. 中国循证医学杂志 2007; 7: 606-613
- 杨克虎. 系统评价指导手册. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 6-9
- 谷巍, 胡起超. 针灸治疗慢性萎缩性胃炎疗效对比观察. 中国针灸 2009; 29: 361-364
- 葛平丽. 慢性萎缩性胃炎的针灸治疗与分析. 中医中药 2007; 4: 93
- 孙玉霞. 针灸治疗慢性萎缩性胃炎30例. 陕西中医 2005; 26: 955-956

### ■应用要点

本文通过循证医学的科学研究方法总结分析得出比单独的研究结果更有说服力的综合性证据, 为拓宽临床诊疗思维及临床CAG的治疗提供了一定的参考价值; 针灸治疗CAG或许会成为未来的一种趋势及热点.

## ■同行评价

本文做了大量收集和总结工作,结果可信,有一定的临床指导意义。

- 7 袁静, 高希言. 针灸治疗慢性萎缩性胃炎的临床研究. 浙江中医杂志 2006; 41: 263-264
- 8 Gao X, Yuan J, Li H, Ren S. Clinical research on acupuncture and moxibustion treatment of chronic atrophic gastritis. *J Tradit Chin Med* 2007; 27: 87-91 [PMID: 17710798]
- 9 吴耀持, 汪崇淼, 费根伟. 阳中隐阴法用于萎缩性胃炎治疗的临床研究. 上海针灸杂志 2002; 21: 6-7
- 10 张跃, 龚峰. 针刺清胃阴法治疗萎缩性胃炎35例. 南京中医药大学学报 2003; 19: 175
- 11 金晓飞, 刘金福. 针刺治疗慢性萎缩性胃炎40例. 中国民间疗 2010; 18: 14-15
- 12 陈素华. 针灸治疗萎缩性胃炎的临床分析. 中国慢性病预防与控制 2012; 20: 598
- 13 宁晓军. 针挑治疗慢性萎缩性胃炎的临床观察. 针灸临床杂志 2000; 16: 35-37
- 14 赵彤彤. 针刺治疗慢性萎缩性胃炎的临床研究. 湖北中医学院, 2008
- 15 胡向林, 查炜. 针灸治疗慢性萎缩性胃炎的临床研究进展. 针灸临床杂志 2009; 5: 51-52

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

# DNA修复蛋白RAD52在胃癌中的表达及意义

刘坤, 杨小丽, 窦东伟, 吕文鑫, 李萍, 吴华, 吕小平, 何敏

刘坤, 吕小平, 广西医科大学第一附属医院西院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

杨小丽, 吴华, 何敏, 广西医科大学医学科学实验中心 广西壮族自治区南宁市 530021

窦东伟, 华中科技大学同济医学院附属协和医院急诊外科 湖北省武汉市 430022

吕文鑫, 广西医科大学第四附属医院柳州工人医院泌尿外科 广西壮族自治区柳州市 545005

李萍, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021

刘坤, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

广西地方性高发疾病防治研究重点实验室开放基金资助项目, No. 0842009-Z6

广西医科大学医学科学实验中心开放基金资助项目, No. KFJJ2010-35

**作者贡献分布:** 此课题由杨小丽设计主持; 研究过程由刘坤、杨小丽、窦东伟、吕文鑫、李萍、吴华、吕小平及何敏操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由杨小丽提供; 数据分析由刘坤完成; 本论文写作由刘坤与杨小丽完成。

**通讯作者:** 杨小丽, 副研究员, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学医学科学实验中心。

cncsyxl@126.com

电话: 0771-5334339

收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-11-11

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-18

## Clinical significance of expression of RAD52 in gastric cancer

Kun Liu, Xiao-Li Yang, Dong-Wei Dou, Wen-Xin Lv, Ping Li, Hua Wu, Xiao-Ping Lv, Min He

Kun Liu, Xiao-Ping Lv, Department of Gastroenterology, the Western Branch of First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xiao-Li Yang, Hua Wu, Min He, Medical Scientific Research Center, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Dong-Wei Dou, Department of Emergency Surgery, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Wen-Xin Lv, Department of Urology Ward, Liuzhou Workers Hospital, the Fourth Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Liuzhou 545005, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Ping Li, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

**Supported by:** the Research Fund of Guangxi Key Laboratory for Prevention & Treatment of Regional High Incidence Diseases, No. 0842009-Z6; and the Open Foundation of Medical Scientific Research Center of Guangxi Medical University, No. KFJJ2010-35

**Correspondence to:** Xiao-Li Yang, Associate Researcher, Medical Scientific Research Center, Guangxi Medical Uni-

versity, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. cncsyxl@126.com

Received: 2013-10-14 Revised: 2013-11-11

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of RAD52 in human gastric cancer (GC) and adjacent gastric tissues, and to explore the correlation between expression of RAD52 and clinicopathological characteristics of GC.

**METHODS:** Immunohistochemistry and Western blot were employed to examine the expression of RAD52 in GC and adjacent non-cancerous tissues obtained from surgical specimens of GC patients who underwent gastric resections at our hospital. The correlation between expression of RAD52 and clinicopathologic features of GC was analyzed.

**RESULTS:** RAD52 was mainly located in the nucleus, and the positive rate of RAD52 expression was significantly higher in GC tissues than in adjacent non-cancerous tissues (76.67% vs 6.67%,  $P < 0.01$ ). Similar results were obtained in Western blot analysis. RAD52 expression was significantly correlated with clinical stage, but not with gender, age, lymph node metastasis or tumor size ( $P > 0.05$  for all). The positive rate of RAD52 expression in stage I-II GC was significantly lower than that in stage III-IV GC (50% vs 85%,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** RAD52 may play a critical role in tumor genesis of GC. RAD52 may be a potential marker for clinical diagnosis and treatment of GC.

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

**Key Words:** Gastric cancer; RAD52; DNA repair; Immunohistochemistry; Western blot

Liu K, Yang XL, Dou DW, Lv WX, Li P, Wu H, Lv XP, He M. Clinical significance of expression of RAD52 in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 239-243  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/239.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.239>

## ■背景资料

RAD52蛋白是DNA双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)修复的一个重要因子, 在维持基因组稳定性、抑制肿瘤发生等方面具有重要作用。RAD52蛋白在人类的许多肿瘤中异常表达, 而在胃癌中的研究, 国内外尚未见文献报道。

## ■同行评议者

陈洪, 医学博士, 主任医师, 副教授, 硕士研究生导师, 东南大学附属中大医院消化科



## ■研发前沿

本文通过研究RAD52在胃癌及其对应癌旁组织中的表达水平,寻找RAD52与胃癌发生、发展的关系,为早期胃癌的诊疗提供新思路。

## 摘要

**目的:** 探讨DNA修复蛋白RAD52在胃癌及癌旁组织中的表达,以及其表达水平与胃癌临床病理特征的关系。

**方法:** 应用免疫组织化学法和蛋白免疫印迹法分别检测RAD52蛋白在胃癌组织及其癌旁组织的表达情况,并分析RAD52蛋白的表达与胃癌患者临床资料之间的相关性。

**结果:** 免疫组织化学结果显示RAD52主要表达于细胞核,胃癌组织中RAD52的表达阳性率明显高于癌旁组织,分别为76.67%(46/60)和6.67%(4/60),差异有显著性( $P < 0.01$ ),蛋白免疫印迹的结果与免疫组织化学的结果一致。此外, RAD52表达与患者的年龄、性别、淋巴结转移及肿瘤大小无关( $P > 0.05$ );但其表达与临床分期相关,Ⅲ、Ⅳ期患者的阳性率高于Ⅰ、Ⅱ期患者( $P < 0.05$ )。

**结论:** RAD52在胃癌的发生、发展中可能起重要作用,他可能成为临床诊断和治疗胃癌的一个潜在靶点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌; RAD52; DNA修复; 免疫组织化学; 免疫印迹

**核心提示:** RAD52蛋白在维持基因组稳定性、抑制肿瘤发生等方面具有重要作用。本研究从组织水平观察了RAD52在胃癌及其对应癌旁组织中的表达情况,分析其与临床病理特征的关系,初步探讨其临床意义,为胃癌的临床诊断提供新思路。

刘坤, 杨小丽, 冀东伟, 吕文鑫, 李萍, 吴华, 吕小平, 何敏. DNA修复蛋白RAD52在胃癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 239-243 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/239.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.239>

## 0 引言

DNA双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)是真核生物最严重的DNA损伤之一<sup>[1]</sup>。如果DSBs不能及时准确地修复,将导致细胞凋亡、死亡及肿瘤的发生<sup>[2]</sup>。RAD52蛋白是DSBs修复的一个重要因子,其在维持基因组稳定性、抑制肿瘤发生等方面具有重要作用<sup>[3]</sup>。已有研究表明RAD52在多种肿瘤中异常表达,但胃癌中未见相关报道。本研究从组织水平观察了RAD52在胃癌的表达情况,并初步探讨其临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2008-01/2011-03于广西医科大学胃肠腺体外科进行手术切除的胃癌组织标本60例,所取得标本均通过了广西医科大学第一附属医院伦理委员会的批准,全部患者均知情同意。其中男34例,女26例;年龄45-76岁,平均年龄为55.85岁±7.24岁。所有患者术前未接受化疗、放疗、免疫治疗以及其他针对肿瘤的治疗。按照国际抗癌联盟2002年TNM分期标准进行肿瘤分期。

### 1.2 方法

**1.2.1 HE染色:** 同一个体标本分别于癌及距癌组织边缘5 cm取材,经40 g/L甲醛固定,石蜡包埋,5 μm连续切片,常规HE染色。

**1.2.2 免疫组织化学染色:** 采用SP法检测RAD52的表达。鼠RAD52单克隆抗体购自美国Genetex公司(工作浓度1:500),SP即用型试剂盒购自北京中杉生物公司,检测方法按试剂盒说明书进行。每批染色均设已知阳性切片作阳性对照,用磷酸盐缓冲液(phosphatic buffered saline, PBS)代替一抗作阴性对照。

**1.2.3 蛋白免疫印迹分析:** 分别提取胃癌组织及其对应癌旁组织的总蛋白,定量,聚丙烯酰胺凝胶电泳。蛋白分离后,电转到PVDF膜。5%脱脂奶粉的TBS室温封闭1 h,一抗(1:1000)4℃摇床孵育过夜;TBS洗膜后二抗(1:5000)室温1 h;再次洗膜,化学发光,显影,定影。

**1.2.4 结果判定:** 每张切片由2名病理医师双盲随机观察。100倍镜头下随意选取10个视野,400倍镜头下在每一视野中连续计数100个癌细胞,记录其中阳性细胞数,计算阳性细胞百分数,取平均数。根据样本阳性细胞百分比和染色强度综合评分,10个随机高倍镜视野下,无阳性细胞计0分, <25%计1分, 25%-50%计2分, 51%-75%计3分, >75%计4分。染色强度计分: 未着色0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分。根据样本阳性细胞百分比和染色强度计分之之和的结果分为: 0-3分为阴性, ≥4分为阳性。

**统计学处理** 采用SPSS19.0统计软件对实验数据进行统计分析。比较组间差异的显著性采用Wilcoxon秩和检验及配对 $t$ 检验;免疫组织化学结果与临床病理特征比较采用四格表 $\chi^2$ 检验。统计分析检验水准为 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## ■相关报道

有研究报道RAD52在乳腺癌、卵巢癌、白血病及肺癌中异常表达。

表 1 免疫组织化学法检测RAD52在胃癌及其癌旁组织的表达( $n=60$ ,  $n(\%)$ )

组织类型	阳性	阴性
胃癌组织	46(76.67)	14 (23.33)
胃癌旁组织	4(6.67) <sup>a</sup>	56 (93.33)

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 胃癌组织。表 2 免疫组织化学结果分析胃癌RAD52蛋白表达与临床病理特征的关系  $n(\%)$ 

临床病理特征	RAD52表达		
	$n$	阳性	$P$ 值
性别			$>0.05$
男	34	24(70.9)	
女	26	22(84.6)	
年龄(岁)			$>0.05$
≤60	35	28(80.0)	
>60	25	19 (76.0)	
肿瘤大小(cm)			$>0.05$
≤5	40	30(75.0)	
>5	20	17(85.0)	
淋巴结转移			$>0.05$
无	36	20 (55.6)	
有	24	14 (58.3)	
TNM			$<0.05^a$
I、II期	20	10(50.0)	
III、IV期	40	34(85.0)	

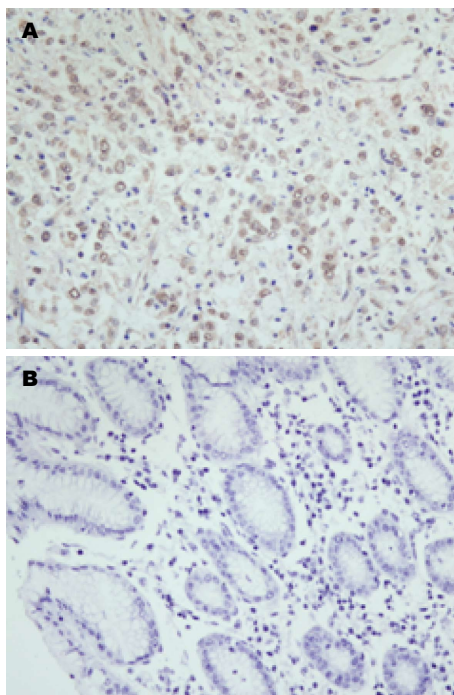
<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 胃癌 III、IV 患者阳性率。

## 2 结果

2.1 HE染色 胃癌 I 期2例, II 期18例, II-III期3例, III期37例, 均符合原病理诊断。

2.2 胃癌及癌旁组织中RAD52蛋白的表达 RAD52蛋白主要在胞核中表达, 在60例胃癌中的阳性率为76.67%(46/60), 在其对应的癌旁组织中的阳性率为6.67%(4/60), 表达具有显著差异( $P<0.01$ )(表1, 图1)。蛋白免疫印迹(图2)的灰度值分析显示, RAD52与 $\beta$ -actin的比值在胃癌及其癌旁细胞分别为 $0.37 \pm 0.11$ 、 $0.28 \pm 0.06$  ( $P<0.01$ )(图3)。

2.3 RAD52蛋白的表达与胃癌临床病理特征的关系 RAD52表达与患者的年龄、性别、淋巴结转移及肿瘤大小无关( $P>0.05$ ); I、II 期胃癌组织中RAD52蛋白的阳性表达率和表达水平明显低于III、IV期, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表2)。

图 1 免疫组织化学法分析RAD52在胃癌及其对应癌旁组织的表达(SP法 $\times 400$ )。A: 胃癌组织; B: 胃癌对应的癌旁组织。

## 3 讨论

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 严重危害人们生命健康。其发生发展是一个多因素、多阶段和多基因变异累及的复杂过程, 发病机制尚不清楚。深入研究胃癌的发生机制, 探索新的药物治疗靶点对胃癌治疗具有重要意义。

DSBs损伤修复失败被认为是发生肿瘤的一个重要原因, 哺乳动物中主要通过同源重组(homologous recombination, HR)和非同源末端连接(non-homologous end joining, NHEJ)修复DSBs<sup>[4,5]</sup>。RAD52是同源重组修复途径中的一个关键蛋白, 最初是从对放射线极度敏感的突变酵母菌株分离鉴定的, 包含471个氨基酸<sup>[6]</sup>。他在真核细胞中基因序列差别不大; 但在原核细胞中基因序列差别较大<sup>[7]</sup>。RAD52在体内通过形成多聚体的环, 既可以连接DNA链末端又可以促进互补链的退火<sup>[8]</sup>。酵母的RAD52蛋白形成寡聚体, 结合到ssDNA, 通过RAD51介导的链入侵反应DSBs发挥作用<sup>[9,10]</sup>。在这些过程中, 多种蛋白涉及了这一调节过程, 如RAD51、RAD54、RAD55、53BP1和KU70等, 协助其功能的完成<sup>[11,12]</sup>。人的RAD52同源物也已经被鉴定, 与酵母的RAD52有30%相同, 58%的同源性; 功能基本与酵母中的相同<sup>[13]</sup>。RAD52在多细胞的真核生物中高度保守。目前发现RAD52表达异常与肿瘤相关, 在乳腺癌、卵巢癌、白血病、肺癌等肿瘤中检测

### ■创新盘点

本研究采用免疫组织化学法及蛋白免疫印迹法检测RAD52在胃癌及其对应癌旁组织中的表达, 分析其与临床病理特征的关系, 以为胃癌的诊断提供参考依据。

### ■应用要点

通过理解RAD52与胃癌的关系, 未来临床可采用检测RAD52的水平来筛查是否有胃癌的发生。了解其动态水平的变化, 可采取相应的辅助检查手段, 协助疾病的诊断。

## ■同行评价

本文研究DNA修复蛋白RAD52在胃癌及癌旁组织中的表达,并分析其表达水平与胃癌临床病理特征之间的关系,对胃癌临床诊断和治疗具有一定价值。

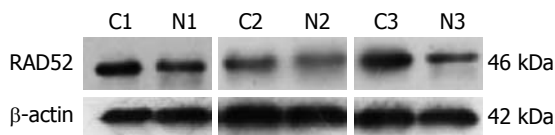


图2 Western blot印迹分析RAD52在胃癌及其对应的癌旁组织中的表达。C: 胃癌组织; N: 胃癌对应的癌旁组织。

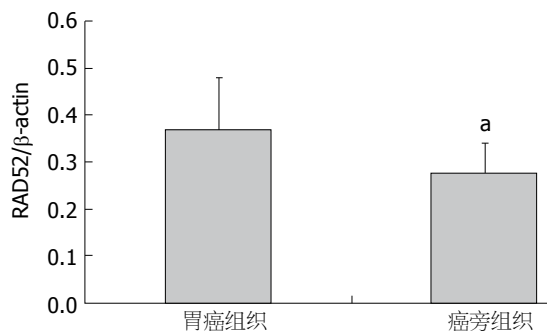


图3 胃癌及其对应的癌旁组织RAD52/β-actin的灰度值比较。\* $P < 0.05$  vs 胃癌组织。

到RAD52表达异常<sup>[14-16]</sup>。RAD52已成为某些肿瘤潜在的治疗靶点<sup>[3,14]</sup>。

本实验结果显示, RAD52在胃癌组织中异常表达, 其阳性表达率高于对应的癌旁组织; 提示胃癌组织中DSBs增加, 与RAD52相关的DNA修复机制活跃。增加的RAD52帮助癌细胞修复更多的DNA损伤, 使本应在正常生理状态下出现的凋亡或者坏死的癌细胞得以保存; 同时, NA修复能力增强后, 使因DNA损伤造成的癌细胞凋亡减少; 同时由于保真性较差的DNA修复方式活跃, 而促使DNA突变产生及保留下来的概率增加。强大的DNA修复能力无疑是癌细胞难以消灭的原因之一。进一步的实验发现, RAD52的阳性率与胃癌的分期成正相关, 即随着癌的进展, RAD52在细胞中的阳性表达率增加。此结果表明, RAD52的高表达与胃癌的发生、发展密切相关, 通过检测胃癌组织中RAD52的表达情况, 可能对肿瘤发生作出预警, 也可能对肿瘤的进展进行判断和预测。

总之, 本研究显示RAD52在胃癌中高表达, 并与胃癌的进展密切相关, 提示RAD52与胃癌发生有关, 可能是胃癌的一个早期诊断的参考指标。但肿瘤的发生、发展过程受多种因素的影响, 是多种蛋白相互协调、相互作用的结果。对于RAD52的具体作用机制, 仍有待于深入研究。

## 4 参考文献

1 Davis AJ, Chen DJ. DNA double strand break re-

pair via non-homologous end-joining. *Transl Cancer Res* 2013; 2: 130-143 [PMID: 24000320 DOI: 10.3978/j.issn.2218-676X.2013.04.02]

- 2 Goodarzi AA, Jeggo PA. The repair and signaling responses to DNA double-strand breaks. *Adv Genet* 2013; 82: 1-45 [PMID: 23721719 DOI: 10.1016/B978-0-12-407676-1.00001-9]
- 3 Allen C, Ashley AK, Hromas R, Nickoloff JA. More forks on the road to replication stress recovery. *J Mol Cell Biol* 2011; 3: 4-12 [PMID: 21278446 DOI: 10.1093/jmcb/mjq049]
- 4 Metzger MJ, Stoddard BL, Monnat RJ. PARP-mediated repair, homologous recombination, and back-up non-homologous end joining-like repair of single-strand nicks. *DNA Repair (Amst)* 2013; 12: 529-534 [PMID: 23684799 DOI: 10.1016/j.dnarep.2013.04.004]
- 5 Yang X, Zou P, Yao J, Yun D, Bao H, Du R, Long J, Chen X. Proteomic dissection of cell type-specific H2AX-interacting protein complex associated with hepatocellular carcinoma. *J Proteome Res* 2010; 9: 1402-1415 [PMID: 20000738 DOI: 10.1021/pr900932y]
- 6 Mortensen UH, Erdeniz N, Feng Q, Rothstein R. A molecular genetic dissection of the evolutionarily conserved N terminus of yeast Rad52. *Genetics* 2002; 161: 549-562 [PMID: 12072453]
- 7 Spies M. There and back again: new single-molecule insights in the motion of DNA repair proteins. *Curr Opin Struct Biol* 2013; 23: 154-160 [PMID: 23260129 DOI: 10.1016/j.sbi.2012.11.008]
- 8 Eckert-Boulet N, Lisby M. Regulation of rDNA stability by sumoylation. *DNA Repair (Amst)* 2009; 8: 507-516 [PMID: 19261548 DOI: 10.1016/j.dnarep.2009.01.015]
- 9 Lok BH, Powell SN. Molecular pathways: understanding the role of Rad52 in homologous recombination for therapeutic advancement. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 6400-6406 [PMID: 23071261 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-3150]
- 10 Lok BH, Carley AC, Tchang B, Powell SN. RAD52 inactivation is synthetically lethal with deficiencies in BRCA1 and PALB2 in addition to BRCA2 through RAD51-mediated homologous recombination. *Oncogene* 2013; 32: 3552-3558 [PMID: 22964643 DOI: 10.1038/onc.2012.391]
- 11 Krogh BO, Symington LS. Recombination proteins in yeast. *Annu Rev Genet* 2004; 38: 233-271 [PMID: 15568977 DOI: 10.1146/annurev.genet.38.072902.091500]
- 12 Henrique Barreta M, Garziera Gasperin B, Braga Rissi V, de Cesaro MP, Ferreira R, de Oliveira JF, Gonçalves PB, Bordignon V. Homologous recombination and non-homologous end-joining repair pathways in bovine embryos with different developmental competence. *Exp Cell Res* 2012; 318: 2049-2058 [PMID: 22691445 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.06.003]
- 13 Mortensen UH, Lisby M, Rothstein R. Rad52. *Curr Biol* 2009; 19: R676-R677 [PMID: 19706272 DOI: 10.1016/j.cub.2009.06.001]
- 14 Powell SN, Kachnic LA. Therapeutic exploitation of tumor cell defects in homologous recombination. *Anticancer Agents Med Chem* 2008; 8: 448-460 [PMID: 18473729 DOI: 10.2174/187152008784220267]
- 15 Cramer-Morales K, Nieborowska-Skorska M, Scheibner K, Padgett M, Irvine DA, Sliwinski T, Haas K, Lee J, Geng H, Roy D, Slupianek A, Rassoul



FV, Wasik MA, Childers W, Copland M, Müschen M, Civin CI, Skorski T. Personalized synthetic lethality induced by targeting RAD52 in leukemias identified by gene mutation and expression profile. *Blood* 2013; 122: 1293-1304 [PMID: 23836560 DOI:

10.1182/blood-2013-05-501072]  
16 Ghosh S, Krishna M. Role of Rad52 in fractionated irradiation induced signaling in A549 lung adenocarcinoma cells. *Mutat Res* 2012; 729: 61-72 [PMID: 22001234 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2011.09.007]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

# 假性动脉瘤破裂导致胃癌术后上消化道大出血

汪雷, 万圣云, 周连帮, 吴春利, 钱波, 侯辉

## ■背景资料

胃癌根治术后腹腔干分支假性动脉瘤破裂入消化系统形成假性动脉瘤消化系瘘引起上消化道大出血是一种发病凶险, 诊治困难, 预后较差的严重并发症。由于术后失访等各种原因, 文献罕见报道。而实际临床工作中可能并不少见。往往因为认识不足而导致治疗效果较差。

汪雷, 万圣云, 周连帮, 吴春利, 钱波, 侯辉, 安徽医科大学第二附属医院普外科 安徽省合肥市 230601

汪雷, 主治医师, 主要从事肝胆外科、微创外科的研究。

作者贡献分布: 本研究由汪雷与万圣云设计; 研究过程由汪雷、万圣云、周连帮、吴春利、钱波及侯辉完成; 本论文写作由汪雷完成。

通讯作者: 汪雷, 主治医师, 230601, 安徽省合肥市芙蓉路678号, 安徽医科大学第二附属医院普外科。wl9252@126.com

收稿日期: 2013-10-17 修回日期: 2013-11-13

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-01-18

## Diagnosis and treatment of upper gastrointestinal bleeding caused by pseudoaneurysm rupture following radical gastrectomy

Lei Wang, Sheng-Yun Wan, Lian-Bang Zhou, Chun-Li Wu, Bo Qian, Hui Hou

Lei Wang, Sheng-Yun Wan, Lian-Bang Zhou, Chun-Li Wu, Bo Qian, Hui Hou, Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230601, Anhui Province, China

Correspondence to: Lei Wang, Attending Physician, Department of General Surgery, Second Affiliated Hospital, Anhui Medical University, 678 Furong Road, Hefei 230601, Anhui Province, China. wl9252@126.com

Received: 2013-10-17 Revised: 2013-11-13

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To explore the clinical features of upper gastrointestinal bleeding caused by rupture of pseudoaneurysms involving celiac axis branches following radical gastrectomy and to discuss its diagnosis, treatment and prognosis.

**METHODS:** Two cases of upper gastrointestinal bleeding caused by rupture of pseudoaneurysms involving celiac axis branches following radical gastrectomy were treated at our hospital. The clinical features and treatment of this postoperative complication were investigated. A literature review of six such cases was performed to summarize the characteristics of the disease.

**RESULTS:** All 6 patients were male, and the mean time from surgery to bleeding was 30 d. Main symptoms include upper gastrointestinal

bleeding and abdominal pain. Selective angiography could provide comprehensive diagnostic information. Interventional treatment and/or surgery were performed in all 6 cases, and the mortality rate was 66.7%.

**CONCLUSION:** The formation of an aortoenteric fistula between a pseudoaneurysm and the gastrointestinal tract may be the etiology of gastrointestinal bleeding. Total prognosis is poor. Selective angiography is the main diagnostic method. Prompt aggressive interventional treatment and surgical intervention are mandatory for survival. Postoperative treatments including reinforced anti-inflammatory and nutritional support are important for improving the cure rate.

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

**Key Words:** Postoperative aneurysmal rupture; Upper gastrointestinal bleeding; Gastrectomy; Gastric cancer; Postoperative complications

Wang L, Wan SY, Zhou LB, Wu CL, Qian B, Hou H. Diagnosis and treatment of upper gastrointestinal bleeding caused by pseudoaneurysm rupture following radical gastrectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 244-248 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/244.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.244>

## 摘要

**目的:** 探讨胃癌根治术后一种罕见的术后并发症(腹腔干分支假性动脉瘤破裂入消化系统形成假性动脉瘤消化系瘘引起上消化道大出血)的临床特征、病因、诊断、治疗方法和预后。

**方法:** 对我院收治的2例胃癌术后腹腔干分支假性动脉瘤破裂导致上消化道大出血患者为对象, 分析其临床表现及诊疗经过, 并进行随访, 结合文献报道综合所有6例患者的临床资料进行分析, 对其诊治要点进行探讨。

**结果:** 综合所有6例患者临床病史资料, 6例均为男性, 术后上消化道大出血中位时间30 d本

## ■同行评议者

黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科

病主要临床表现为上消化道大出血、腹痛等。所有病例均通过选择性血管造影明确诊断。6例患者均经历了栓塞治疗和/或手术治疗, 死亡率为66.7%。

**结论:** 上消化道出血病因是假性动脉瘤消化系瘘, 总体预后较差, 此并发症重在预防, 胃癌规范化手术的要求及对老年、动脉硬化患者术中注意损伤控制原则是重要的预防措施。选择性血管造影为主要诊断方法, 内镜不适合作为其诊疗手段。迅速积极的手术治疗及介入栓塞治疗是提高存活率的关键。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 假性动脉瘤破裂; 上消化道出血; 胃癌根治术; 术后并发症

**核心提示:** 本文探讨了一种罕见文献报道, 而实际临床工作中可能并不少见的胃癌术后以上消化道大出血为主要表现的严重并发症。综合目前所有资料, 认为其实质系一种假性动脉瘤消化系瘘, 临床需加以重视。

汪雷, 万圣云, 周连帮, 吴春利, 钱波, 侯辉. 假性动脉瘤破裂导致胃癌术后上消化道大出血. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 244-248 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/244.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.244>

## 0 引言

胃癌根治术后腹腔干分支假性动脉瘤破裂穿入消化道导致上消化道大出血是一种罕见报道但致死率极高的并发症, 确切发病率和发病机制等尚不完全清楚, 尚未有成熟的诊治经验, 需引起临床重视。我院近年来共收治两例胃癌手术术后发生上消化道出血并经数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)证实为假性动脉瘤破裂出血病例, 结合文献复习, 探讨其病因、临床表现、诊断、治疗和预后。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2010-12/2013-01安徽医科大学第二附属医院普外科共收治胃癌术后共收治两例胃癌手术术后腹腔干分支假性动脉瘤破裂入消化系形成假性动脉瘤消化道瘘引起上消化道大出血病例, 1例患者死亡, 1例患者介入栓塞治疗后治愈, 第2例患者随访11 mo病情稳定, 未再出现出血, 饮食二便基本正常。总结两例患者临床资料, 并做文献复习, 以求提高对此种并发症的认识及诊疗水平。

**1.2 方法** 用关键词“胃癌”、“假性动脉瘤”和“上消化道出血”搜索CNKI及PubMed数据库, 胃癌术后发生腹腔干分支动脉假性动脉瘤破裂出血并以上消化道大出血为主要表现, 资料完整的有4例, 加上我院2例, 共6例。6例均为男性, 均行远端胃癌根治术。残胃空肠吻合方式: Billroth(B II)4例, Roux-en-Y1例, 1例文献中未明确说明。术后上消化道大出血中位时间30 d(平均32.3 d, 其中假性动脉瘤位置在胃十二指肠动脉2例, 肝总动脉瘤3例, 肝固有动脉瘤1例。所有病例均经过DSA确诊。最终治疗手段: 栓塞3例, 先栓塞后手术1例, 直接手术2例。死亡率: 66.7%(4/6)(表1)。

## 2 结果

**2.1 典型病例** 病例1, 35岁, 男, 主诉剑突下疼痛不适3 mo入院, 既往有慢性乙肝病史10余年。入院后胃镜病理诊断为胃窦部低分化腺癌, 术前常规检查正常。行根治性远端胃切除术+残胃空肠B II吻合术, D2站淋巴结清扫。术后病理提示: 胃窦小弯侧溃疡型黏液细胞癌, 大小5 cm×4 cm×1 cm, 侵及浆膜外。胃周淋巴结均未见癌转移。患者术后恢复顺利。术后45 d因突发呕血3 h急诊入院, 入院后予以止血、输血、扩容等治疗患者症状无缓解, 迅速出现低血容量休克, 呕血量累计约2500 mL, 遂急诊行选择性腹腔动脉造影+肝总动脉假性动脉瘤栓塞术, 术中造影见肝总动脉一假性动脉瘤形成, 并可见造影剂经瘤腔进入十二指肠及胃腔内。术中栓塞胃十二指肠动脉、肝固有动脉及肝总动脉后假性动脉瘤未显示, 未见造影剂进入十二指肠及胃腔内。术后予常规止血、抗炎补液处理, 患者病情迅速好转, 介入术后12 d出院。出院时血红蛋白及白蛋白水平接近正常, 进食半流饮食无不适。第2次出院后16 d患者因腹胀5 d、恶心不适1 d再次入院。入院后第3天开始再次出现频繁呕血症状, 患者及家属要求保守治疗, 予以冰盐水+肾上腺洗胃止血、多巴胺升压、输血补液抗休克治疗等治疗, 病情短暂好转后再次加重, 患者最终出现失血性休克, 自动出院后死亡。

病例2, 75岁, 男, 主诉反复上腹部疼痛7 mo余入院, 既往有房颤、高血压、糖尿病病史。入院后胃镜病理提示: (胃窦)中-低分化腺癌。术前检查未发现肿瘤转移, 经过围手术期治疗后行根治性远端胃切除术+残胃空肠Roux-en-Y吻合术,

## ■ 研究前沿

随着胃癌根治性手术的广泛开展, 胃癌术后假性动脉瘤的发生越来越受到外科医师关注, 然而由于术后失访等各种原因, 报道较少, 假性动脉瘤破裂入消化系更罕有研究关注, 需进一步加强对此种术后并发症认识及诊疗水平。



## ■应用要点

胃癌根治术后腹腔干分支假性动脉瘤破裂穿入消化道导致上消化道大出血病因系一种假性动脉瘤消化系瘘。术后上消化道大出血中位时间30 d。此并发症重在预防,胃癌规范化手术的要求及对老年、动脉硬化患者术中注意损伤控制原则是重要的预防措施。选择性血管造影为主要诊断方法,内镜不适合作为其诊疗手段。迅速积极的手术治疗及介入栓塞治疗是提高存活率的关键。

表 1 6例胃癌术后假性动脉瘤破裂所致上消化道出血临床资料

病例	年龄(岁)/性别	胃癌手术方式	临床表现	术后出血时间(d)	假性动脉瘤位置	确诊方式	治疗方式	预后
1 <sup>1</sup>	35/男	DG/B II	呕血、腹胀、休克	46	肝总动脉	DSA	栓塞	死亡
2 <sup>1</sup>	76/男	DG/Roux-en-Y	呕血、休克	37	胃十二指肠动脉	DSA	栓塞	治愈
3 <sup>3</sup>	62/男	DG/B II	呕血、腹胀	25	肝总动脉	DSA	栓塞、手术、结扎	死亡
4 <sup>3</sup>	56/男	DG/B II	呕血、腹痛	30	肝固有动脉	DSA	手术、结扎	治愈
5 <sup>3</sup>	70/男	DG/B II	呕血、腹胀	26	胃十二指肠动脉	DSA	手术、结扎	死亡
6 <sup>2</sup>	64/男	DG/?	腹痛、呕血、休克	30	肝总动脉	DSA	栓塞	死亡

<sup>1</sup>本文报道2例; <sup>2</sup>文献1资料; <sup>3</sup>文献2资料; ? : 文献1资料未明确说明吻合术式。DG: 远端胃切除术; B II: II 吻合术。

D2站淋巴结清扫。术后病理: 胃小弯侧溃疡型中分化腺癌, 大小6.0 cm×4.5 cm×1.0 cm, 侵及浅肌层, 胃周检及淋巴结20枚, 其中9枚见癌转移, 另检及肝总动脉周围癌结节3枚。术后恢复情况可, 术后35 d为求术后化疗入院。术后37 d患者突然出现呕血, 有血凝块, 量约1500 mL, 并解褐色大便200 mL。给予急诊置胃管、冰盐水胃管注入、抑酸、扩容、止血、输血5U等抢救处理后患者生命体征暂时稳定。行选择性腹腔血管造影术, 术中分别行腹腔干动脉、肝总动脉、肠系膜上动脉造影, 造影见肝总动脉与胃十二指肠动脉交叉处, 胃十二指肠动脉开口处一假性动脉瘤形成, 并可见少量造影剂经瘤腔外溢入消化系。造影诊断: 胃十二指肠动脉假性动脉瘤伴出血。术中同时行胃十二指肠动脉及肝总动脉栓塞, 复造影假性动脉瘤未显示。患者介入治疗后出现高热, 血培养提示大肠埃希氏菌, 肝功能一过性升高, 并出现双侧胸腔积液、脾梗死等症状, 予以加强抗炎、护肝、营养支持、胸腔积液穿刺引流等对症处理后患者未再出现上消化道出血症状, 复查血常规、肝肾功能逐渐恢复正常。介入后30 d患者要求出院, 出院时胸腔积液明显吸收, 脾梗死液化区域缩小。随访11 mo患者恢复情况可, 未再次出现腹痛、消化系出血等特殊不适。

### 3 讨论

3.1 概况及病因 结合文献复习, 目前认为胃癌术后腹腔干分支动脉假性动脉瘤主要原因是动脉直接或间接的全层损伤所致。例如: 由于淋巴结清扫对血管骨骼化的过分追求, 导致损伤了脉管系统及血管周围神经丛; 电刀血管外膜外操作损伤外膜导致血管外膜或全层的慢性电灼损

伤穿孔; 局部脓毒症感染、如十二指肠残端漏等消化液侵蚀临近血管壁; 不合适的丝线结扎血管导致血管内膜断裂损伤等<sup>[1-4]</sup>。

假性动脉瘤形成与以上诸因素有关, 多数患者表现为假性动脉瘤破裂引起腹腔内大出血<sup>[3]</sup>, 但表现为上消化道大出血者罕见报道。上述病例均为远端胃手术患者。本统计未发现Billroth I (B I) 术式术后发生假性动脉瘤破裂引起上消化道出血病例, 可能与B I 术式无十二指肠残端或与胃肠道相对远离动脉血管有关。

由于假性动脉瘤形成, 动脉壁的糜烂、破裂、穿破临近消化系, 穿孔后消化液腐蚀瘤壁可能为破裂出血诱因。如果假性动脉瘤与患者临近胃肠壁形成瘘管(图1), 可能仅仅出现上消化道出血而无腹腔出血(本文2例)。本文例1患者血管造影显示了瘘管。因此, 胃癌根治术后腹腔干分支假性动脉瘤破裂穿入消化道导致上消化道大出血病因系一种假性动脉瘤消化道瘘。

3.2 诊断 比较主动脉肠瘘的临床表现, 腹痛、腹部搏动性包块和消化系出血三联征(triad)是主动脉消化道瘘的典型症状。主动脉肠瘘有一种较为特征性的消化系出血(“herald”出血)<sup>[5,6,7]</sup>, 即在出现灾难性大出血前间歇性出现的多次、较少量出血。由于早期瘘口往往比较小, 瘤体内充满血栓或血块, 肠收缩及血压下降时, 出血会暂时停止。当血栓移动、溶解或被消化液所消融以及主动脉内压力增高时, 出血会再次出现。随着瘘口越来越大, 终可发生难以救治的大出血。这个时间窗可成为迅速手术以挽救生命的重要时机。可能由于持久的腹腔局部感染, 患者可主诉持续的腹痛及触痛<sup>[5,6,8]</sup>。本文我院两例患者的消化系出血亦观察到此种“herald”特征。上述5/6例患者发生上消化道大出血前或发生时

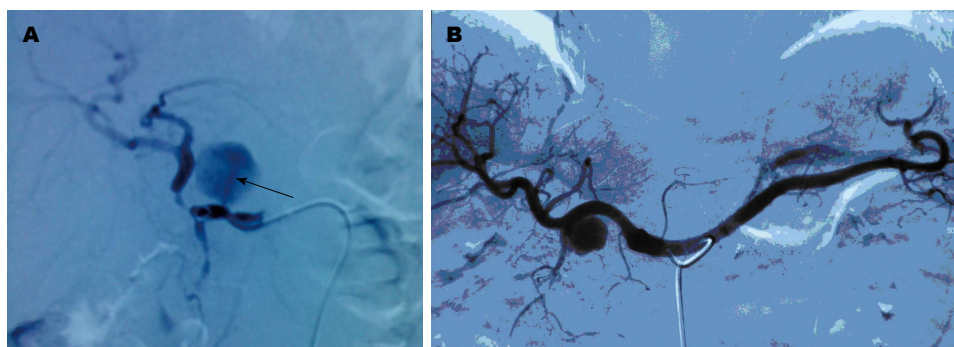


图1 DSA显示假性动脉瘤及可疑假性动脉瘤消化道瘘管. A: 病例1患者肝总动脉假性动脉瘤形成, 箭头所指为瘘管; B: 病例2患者胃十二指肠动脉瘤形成.

#### 同行评价

本文为少见病例报告, 对临床工作有一定参考价值.

有腹痛、腹胀症状, 例2患者仅有恶心不适症状. 腹部搏动性肿块上述病例均未见.

彩色多普勒超声及增强CT检查对于假性动脉瘤的诊断可能有益, 对提示进一步需行DSA检查有帮助<sup>[9]</sup>, 但此2种方法无法确诊及行必要的处理. 因此对于上消化道大出血的患者, 医生常忙于止血、输血或抗休克治疗同时往往首先考虑内镜或DSA检查. 内镜在胃肠道内大量积血状态下存在视野不清的局限, 即使能定位亦难以处理, 甚至会误认为是溃疡样病灶<sup>[10]</sup>, 结果必然延误血流动力学不稳定的治疗, 加重假性动脉瘤出血甚至诱发假性动脉瘤破裂. 因此, 对高度怀疑假性动脉瘤破裂入消化系引起的上消化道出血患者, 内镜检查需谨慎考虑.

DSA可以直接显示、定位假性动脉瘤并可进行进一步的栓塞治疗. 上述病例均经过DSA明确诊断. 栓塞治疗有助于使患者病情稳定, 使急诊状态转为一个择期状态<sup>[11]</sup>. 因此, 对于胃癌术后1 mo左右的患者出现类似“herald”出血, 或出血前有持续腹痛症状, 需考虑有假性动脉瘤破裂入消化系可能性. 彩超及增强CT检查对疾病诊断有提示意义, 尽早行DSA检查为正确的选择. 并有助于制定手术方案.

**3.3 治疗** 胃癌术后假性动脉瘤破裂死亡率文献报道在50%以上<sup>[3]</sup>, 形成消化系瘘, 以上消化道大出血为主要表现者可能死亡率更高(本文统计为66.7%). 无论是介入治疗或手术治疗, 总体效果均较差. 现实的问题是, 患者多为晚期肿瘤患者, 老年患者居多, 上消化道大出血导致全身状态极差, 再次手术、后续的花费及预后的不肯定, 患者及家属的态度, 医生本身心理上的压力均为影响患者最终治疗及预后的重要因素.

对于上消化道大出血患者行DSA确诊后往往即时行动脉栓塞治疗. 本组栓塞近期抢救成

功率1/4, 例2随访11 mo, 远期效果仍待进一步随访. DSA同时行栓塞治疗有助于使患者病情稳定, 使急诊状态转为一个择期状态<sup>[11]</sup>. 但如果栓塞治疗不成功, 长时间的低血压可能影响手术治疗效果. 病例3因为栓塞不成功然后施行紧急手术, 但由于低血压时间长, 抢救失败. 部分DSA栓塞远期效果可能并不理想, 本例1患者栓塞病情稳定后1 mo再次出现上消化道大出血导致患者死亡. 例6患者由于同时有胆道的感染, 介入栓塞后第2天死于肝衰竭.

基于主动脉肠瘘的研究结果, 理论上行假性动脉瘤的切除, 动脉结扎, 并于术中封闭瘘口, 清除病灶为最彻底治疗方式<sup>[12]</sup>. 术中尽可能清除局部感染和坏死组织, 用健康组织如网膜隔开血管与肠管破口以防止继发瘘的形成. 取术中污染物常规细菌培养和药敏试验<sup>[12-15]</sup>. 另外, 由于患者术前、术中多发生休克, 各器官功能受损, 术后可能出现各种器官功能衰竭, 以及水电解质、酸碱平衡紊乱, 术后需加强监护, 针对各种并发症的积极治疗, 保持内环境的稳定, 术后加强抗炎(足量、足疗程. 早期可经验性使用肠道菌群敏感抗生素, 及时根据细菌培养结果调整抗生素使用)、营养支持. 对于提高总体存活率是非常重要的. 病例5经过手术治疗仍于术后16 d死于肺部感染. 病例3患者术后住院105 d出院. 病例2术后经历了严重全身感染, 血培养出大肠埃希氏菌, 术后发生大量胸腔积液, 脾梗死等, 通过加强抗炎、营养支持对症处理后好转出院.

总之, 对于年轻患者, 积极的手术, 或栓塞后再次择期手术治疗是最佳选择, 对于老年患者, 介入治疗亦不失为一种有效治疗手段. 但无论何种处理方法, 术后均需严密监护, 辅以强有力的抗炎、营养支持对症治疗, 以提高总体抢救

成功率。胃癌规范化手术的要求, 注意损伤控制原则, 避免盲目过大手术以及对于血管脉络化而不是过分骨骼化的提倡可能是预防该类型并发病的重要因素<sup>[16]</sup>。

#### 4 参考文献

- 1 Satoh H, Morisaki T, Kishikawa H. A case of a post-operative aneurysm of the common hepatic artery which ruptured into the remnant stomach after a radical gastrectomy. *Jpn J Surg* 1989; 19: 241-245 [PMID: 2724725 DOI: 10.1007/BF02471594]
- 2 Li Z, Jie Z, Liu Y, Xie X. Management of delayed hemorrhage following radical gastrectomy for gastric carcinoma patients. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 2016-2019 [PMID: 22282039]
- 3 Kim DY, Joo JK, Ryu SY, Kim YJ, Kim SK, Jung YY. Pseudoaneurysm of gastroduodenal artery following radical gastrectomy for gastric carcinoma patients. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2878-2879 [PMID: 14669359]
- 4 Sugimoto H, Kaneko T, Ishiguchi T, Takai K, Ohta T, Yagi Y, Inoue S, Takeda S, Nakao A. Delayed rupture of a pseudoaneurysm following pancreatoduodenectomy: report of a case. *Surg Today* 2001; 31: 932-935 [PMID: 11759894 DOI: 10.1007/s005950170039]
- 5 James AN, Clark DA, Colman PD. Primary aortoduodenal fistulas with nine 'herald' bleeds. *Aust N Z J Surg* 1998; 68: 245-246 [PMID: 9563462 DOI: 10.1111/j.1445-2197.1998.tb04758.x]
- 6 Sweeney MS, Gadacz TR. Primary aortoduodenal fistula: manifestation, diagnosis, and treatment. *Surgery* 1984; 96: 492-497 [PMID: 6236571]
- 7 Napoli PJ, Meade PC, Adams CW. Primary aortoenteric fistula from a posttraumatic pseudoaneurysm. *J Trauma* 1996; 41: 149-152 [PMID: 8676410]
- 8 Lawlor DK, DeRose G, Harris KA, Forbes TL. Primary aorto/iliac-enteric fistula-report of 6 new cases. *Vasc Endovascular Surg* 2004; 38: 281-286 [PMID: 15181513 DOI: 10.1177/153857440403800315]
- 9 Hügél HE, Oser W, Bodner E. Aneurysm of the proper hepatic artery as a rare source of upper gastrointestinal bleeding. *Gastrointest Radiol* 1986; 11: 158-160 [PMID: 3514356 DOI: 10.1007/BF02035059]
- 10 Takeda K, Tanaka K, Endo I, Togo S, Shimada H. Two-stage treatment of an unusual haemobilia caused by intrahepatic pseudoaneurysm. *World J Hepatol* 2010; 2: 52-54 [PMID: 21160957 DOI: 10.4254/wjh.v2.i1.52]
- 11 王深明, 陈国锐, 林勇杰. 原发性主动脉消化道瘘九例临床分析. *中华普通外科杂志* 1999; 14: 411-414
- 12 Voorhoeve R, Moll FL, de Letter JA, Bast TJ, Wester JP, Slee PH. Primary aortoenteric fistula: report of eight new cases and review of the literature. *Ann Vasc Surg* 1996; 10: 40-48 [PMID: 8688296 DOI: 10.1007/BF02002340]
- 13 Madan K, Aggarwal AK, Tyagi P, Nayeem MA, Gupta M, Soni R, Sarin SK. Endoscopically diagnosed fistula between hepatic artery and first part of duodenum as a cause of massive upper gastrointestinal hemorrhage. *Trop Gastroenterol* 2012; 33: 150-151 [PMID: 23025066 DOI: 10.7869/tg.2012.36]
- 14 Guner A, Mentese U, Kece C, Kucuktulu U. A rare and forgotten diagnosis of gastrointestinal bleeding: primary aortoduodenal fistula. *BMJ Case Rep* 2013; 2013: pii: bcr2013008712 [PMID: 23492879 DOI: 10.1136/bcr-2013-008712]
- 15 Genovés-Gascó B, Torres-Blanco Á, Plaza-Martínez Á, Olmos-Sánchez D, Gómez-Palónés F, Ortiz-Monzón E. Primary aortoduodenal fistula in a patient with pararenal abdominal aortic aneurysm. *Ann Vasc Surg* 2012; 26: 730.e1-730.e5 [PMID: 22503432 DOI: 10.1016/j.avsg.2011.11.030]
- 16 何裕隆. 胃癌规范化淋巴清扫治疗的价值. *中华普外科手术学杂志(电子版)* 2008; 2: 24-28

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 进展期胃癌应用SOX方案新辅助化疗对肿瘤TNM分期的影响

李涛, 冯道夫, 梁美霞, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凛

李涛, 冯道夫, 梁美霞, 李婷, 陈凛, 中国人民解放军总医院普通外科 北京市 100853

袁静, 中国人民解放军总医院病理科 北京市 100853

郭旭, 中国人民解放军总医院消化内科 北京市 100853

李涛, 主治医师, 主要从事胃癌的临床与基础研究。

作者贡献分布: 课题设计由李涛完成; 课题执行由梁美霞完成; 数据分析由冯道夫与李婷完成; 病理学分析由袁静完成; 郭旭参与内镜评估; 本课题由陈凛指导。

通讯作者: 陈凛, 教授, 主任医师, 100853, 北京市复兴路28号, 中国人民解放军总医院普通外科, chenlinbj@vip.sina.com

收稿日期: 2013-10-24 修回日期: 2013-11-23

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## TNM downstaging after SOX neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer

Tao Li, Dao-Fu Feng, Mei-Xia Liang, Jing Yuan, Xu Guo, Ting Li, Lin Chen

Tao Li, Dao-Fu Feng, Mei-Xia Liang, Ting Li, Lin Chen, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Jing Yuan, Department of Pathology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Xu Guo, Department of Gastroenterology, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Correspondence to: Lin Chen, Department of General Surgery, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Beijing 100853, China. chenlinbj@vip.sina.com

Received: 2013-10-24 Revised: 2013-11-23

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy of S-1 combined with oxaliplatin (SOX regimen) as neoadjuvant chemotherapy in the treatment of advanced gastric cancer.

**METHODS:** We retrospectively analyzed 80 patients with advanced gastric cancer who underwent neoadjuvant chemotherapy from February 2012 to September 2013. These patients received 2-4 cycles of SOX chemotherapy and then underwent gastrectomy with D1/D2 lymphadenectomy. Clinical and histological tumor downstaging was statistically analyzed.

**RESULTS:** Fifty-six patients (70%) had tumor

downstaging and ten patients (12.5%) had pathological complete response (pCR) after neoadjuvant chemotherapy.

**CONCLUSION:** SOX regimen as neoadjuvant chemotherapy has high efficacy for advanced gastric cancer.

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

**Key Words:** Gastric cancer; Neoadjuvant chemotherapy; Tumor staging

Li T, Feng DF, Liang MX, Yuan J, Guo X, Li T, Chen L. TNM downstaging after SOX neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 249-252 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/249.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.249>

## 摘要

**目的:** 探讨替吉奥胶囊联合奥沙利铂注射液(SOX方案)新辅助化疗对进展期胃癌患者肿瘤TNM分期的影响。

**方法:** 回顾性分析2012-02/2013-09解放军总医院普通外科收治入组的80例进展期胃癌新辅助化疗患者临床病例资料。所有患者术前化疗行2-4个周期SOX方案化疗后行外科手术,并对术前和术后肿瘤TNM分期进行比较和统计分析。

**结果:** 入组80例患者中, 56例患者经新辅助化疗后出现明显TNM降期, 降期比例为70%, 其中10例患者为病理学完全缓解, 比例为12.5%。分组进行临床和病理学TNM比较, 发现肿瘤降期具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**结论:** 进展期胃癌经SOX方案新辅助化疗后有效率高, 肿瘤降期明显, 值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌; 新辅助化疗; 分期

## ■背景资料

胃癌新辅助化疗是较新的综合治疗模式, 其临床应用尚在探索之中, 但可以预测其前景较好。本研究选用较新的化疗方案(SOX)应用于我国进展期胃癌患者, 有效率高, 肿瘤降期明显, 值得临床推广。

## ■同行评议者

邹小明, 教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院普外科

## ■研究前沿

本文研究的重点是针对II-III期胃癌患者应用SOX方案新辅助化疗,观察其有效性,重点是病理学疗效。待研究的问题是生存时间。

**核心提示:** 本文采用新的化疗方案,入组患者为可手术切除的胃癌患者,通过较为准确的肿瘤TNM分期进行疗效评价。

李涛, 冯道夫, 梁美霞, 袁静, 郭旭, 李婷, 陈凛. 进展期胃癌应用SOX方案新辅助化疗对肿瘤TNM分期的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 249-252 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/249.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.249>

## 0 引言

胃癌是全世界最严重的消化系恶性肿瘤之一。据统计,诊断出新发胃癌的比例占有所有新发癌症的9.9%,患胃癌致死数占有因癌症死亡人数的12.1%<sup>[1]</sup>。尽管全球的胃癌发病率呈下降趋势,但其病死率仍高居世界第2位<sup>[2]</sup>。对于进展期胃癌而言,D2根治术在国际上被认为是标准术式<sup>[3,4]</sup>。尽管肿瘤能够完整切除,但胃癌术后复发的可能性很高<sup>[5]</sup>。因此,术前和术后化疗成为清除胃癌根治术后微小癌灶的主要方法,从而提高患者的生存率。可是,大量III期临床试验表明:术后辅助化疗仅能在一定程度提高生存率<sup>[6]</sup>。2006年,英国MAGIC III期临床试验进行了新辅助化疗的效果评估<sup>[7]</sup>,其结果表明:新辅助组患者5年生存率得以显著提高,并且术后复发率明显下降。同时,美国国家综合癌症网(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南将其列为A类证据。许多新辅助化疗方案可以诱导肿瘤缩小<sup>[8]</sup>,但联合应用哪类化疗药物对进展期胃癌的有效性最高备受外科医师重视。本研究针对进展期胃癌患者予以替吉奥胶囊联合奥沙利铂注射液(SOX方案)进行新辅助化疗,观察新辅助化疗对患者肿瘤TNM分期的影响,以评估SOX方案化疗的有效性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究对象为按照第7版分期评估为AJCC II-III期胃腺癌患者。所有患者入组条件为:(1)胃镜活检穿刺病理学证实为胃癌;(2)超声胃镜(ultrasonography, EUS)、腹部增强CT扫描及腹腔镜探查术与脱落细胞学检查综合评估为AJCC II-III期;(3)年龄20-75岁;(4)评估可行外科切除手术;(5)既往未曾行化疗;(6)血液检测和身体状况能够耐受化疗药物;(7)签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 SOX新辅助化疗方案:** 替吉奥胶囊(S-1)80 mg/m<sup>2</sup>, d1-14, 口服;奥沙利铂130 mg/m<sup>2</sup>, d1, 静

滴,每3 wk重复。同时常规口服保肝药物和升白药物,以减少化疗药物所致的不良反应。若出现较明显不良反应,则需减少化疗药物剂量<sup>[9]</sup>。2个周期后,行胃镜、CT检查并依据RECIST 1.1标准判断肿瘤疗效,如评估结果为有效或稳定,应继续行此化疗方案,一般可进行4个周期;若出现肿瘤进展,则立即终止化疗并行手术治疗。化疗后至少4 wk再行外科手术。D2淋巴结清扫术是以日本胃癌研究学会指南作为标准<sup>[10]</sup>。

**1.2.2 新辅助化疗有效性评价:** 按照美国癌症联合学会(American Joint Committee on Cancer, AJCC),术前依据超声胃镜、腹部增强CT及腹腔镜探查术加脱落细胞学检查进行cTNM分期,术后病理送检肿瘤组织标本和淋巴结确定pTNM分期<sup>[11]</sup>。比较入组患者进行新辅助化疗后治疗前临床分期和病理分期,确定是否达到降期目的,并进一步阐述新辅助化疗降期效果。

## 2 结果

**2.1 患者基线特点** 从2012-02/2013-09共入组80例AJCC分期评估为II-III期进展期胃癌患者,男63例,女17例,平均年龄58.4岁;化疗前肿瘤分期为II期12例,III期68例。依据美国东部肿瘤协作组(Eastern Cooperative Oncology Group, ECOG)制定的评分标准<sup>[12]</sup>,所有患者的术前评分均为0或1分(表1)。

**2.2 新辅助化疗有效性的评估** 所有入组患者均通过超声胃镜、CT增强扫描以及腹腔镜镜检查诊断为AJCC II-III进展期胃癌。经2-4周期SOX方案新辅助化疗后,56例(70%)患者出现明显降期,其中10例患者出现病理学完全缓解(pCR)。比较所有入组患者临床与病理TNM分期,均具有统计学意义( $P<0.05$ )(表2)。对T分期进行分析结果显示,病理分期为无瘤、T2、T4组患者病理学分期具有统计学意义( $P<0.05$ )(表3)。该结果进一步证实了SOX新辅助化疗方案的高效性。

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件包进行数据分析。所有计量资料以mean±SD表示,采用配对t检验比较治疗前后差异。对于比例资料采用行×列 $\chi^2$ 检验分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 3 讨论

胃癌根治术的意义是将癌肿以及受累区域淋巴结进行清除,并且在肉眼下不可见癌灶残存。新辅助化疗的目标则是将肿瘤降期,从而提高进展期胃癌的R0切除,最终能够延长患者的寿命。

## ■相关报道

其他相关研究包括MAGIC、FFCD等研究,在研究设计方面具有一定类似性,都是探讨术前化疗在胃癌综合治疗中的应用。

表 1 患者基线特点 ( $n = 80$ )

	新辅助化疗患者	百分比(%)
年龄	58.4 ± 11.0	
性别 $n$ (%)		
男	63(78.8)	
女	17(21.2)	
体质量指数>25 kg/m <sup>2</sup>	26(32.5%)	
白细胞	4.73 ± 0.74	
血小板	156.7 ± 52.1	
血红蛋白	125.1 ± 17.7	
血清白蛋白	39.4 ± 3.4	
癌胚抗原>5 μg/L	17	21.2
CA19-9>37 U/mL	13	16.7
合并疾病	43	53.8
心血管疾病	31	38.8
肺部疾病	3	3.8
糖尿病	2	2.5
胃肠道疾病	7	8.8
肾脏疾病	4	5.0
肝脏疾病	4	5.0
手术史	22	27.5
其他疾病	12	15.0

表 2 TNM分期对比( $n$ )

	化疗前TNM分期	术后TNM分期	$P$ 值
0	0	10	0.001
I	0	32	0.000
II	4	13	0.020
III	76	25	0.000
IV	0	0	-

同时,与术后辅助化疗相比,新辅助化疗具有较高的顺应性。一般而言,术后的患者进食量减少、食欲下降并且体质量下降,营养状态较差会使得患者无法耐受术后辅助化疗。而行新辅助化疗的患者则对化疗药物耐受性增强,不会影响术后化疗的应用<sup>[13]</sup>。MAGIC试验使得新辅助化疗为进展期胃癌的治疗开辟了更加有利的方法和思路。大量的胃癌新辅助化疗方案得以开展,并且达到降期的目标<sup>[14]</sup>。因此,制定更好的化疗方案来进行治疗成为胃癌新辅助化疗的焦点。

2007年,新英格兰杂志刊登了S-1单药对进展期胃癌术后化疗的应用疗效,三年总体生存率达80.1%,术后无复发生存率达72.2%<sup>[13]</sup>。此后,日本学者Koizumi等<sup>[14]</sup>在美国临床肿瘤学会会议上报道了51例IV期胃癌患者应用SOX方案化疗

表 3 T分期对比( $n$ (%))

	治疗前临床T分期	术后T分期	$P$ 值
无瘤(T0)	0(0)	13(16.3)	0.000
T1	4(5.0)	9(11.3)	0.247
T2	7(8.8)	23(28.8)	0.002
T3	16(20.0)	15(18.8)	1.000
T4	53(66.3)	20(25.0)	0.000

后的结果,总体有效率接近60%,且不良反应小。很少有文献报道该方案应用于新辅助化疗来评估胃癌根治术后疗效的情况<sup>[15]</sup>。如果想把SOX方案作为一种标准治疗方案,评估其新辅助化疗对肿瘤TNM分期的影响是必不可少的。

相关研究结果显示胃癌患者经过新辅助化疗后可以出现肿瘤降期。但是对于如何定量分析肿瘤降期与化疗有效性之间的关系尚缺乏研究结果证实。本研究80例胃癌新辅助化疗患者,有56例患者出现肿瘤明显降期,降期率达到70%,其中10例患者达到病理学完全缓解。降期比例最高的是29例(36.%)患者由III期降为早期胃癌(I期),显示出新辅助化疗治疗效果。具体到T分期而言,大部分T4期患者经过SOX新辅助化疗方案后得到明显降期,新辅助化疗前后T0、T2期出现显著性差异,这也能够进一步说明该方案的有效性。

总之,对于进展期胃癌患者而言,初步结果显示SOX新辅助化疗方案具有较高的有效性,肿瘤降期明显。然而,该回顾性研究的结果与证据尚未完美,为了更充分地评估SOX新辅助化疗方案对进展期胃癌的疗效,由我们发起的胃癌新辅助化疗多中心随机对照大型临床试验(RESONANCE研究, NCT01583361)的研究正在进行中。更进一步的研究结果将证实SOX新辅助化疗方案能否提高胃癌患者的5年生存率,对于提高胃癌综合治疗效果具有重要临床意义。

#### 4 参考文献

- Parkin DM, Pisani P, Ferlay J. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 1999; 49: 33-64, 1 [PMID: 10200776]
- Pisani P, Parkin DM, Bray F, Ferlay J. Erratum: Estimates of the worldwide mortality from 25 cancers in 1990. *Int. J. Cancer*, 83, 18-29 (1999). *Int J Cancer* 1999; 83: 870-873 [PMID: 10602059]
- Sasako M. Principles of surgical treatment for curable gastric cancer. *J Clin Oncol* 2003; 21: 274s-275s [PMID: 14645409]
- Songun I, Putter H, Kranenbarg EM, Sasako M, van de Velde CJ. Surgical treatment of gastric can-

#### ■应用要点

本文临床和科研价值大,一方面体现了应用新的治疗模式提高治疗效果;另一方面对于疗效的评价采用病理学评价,更客观、准确。



## ■同行评价

本研究临床治疗效果较好, 值得临床推广。

- cer: 15-year follow-up results of the randomised nationwide Dutch D1D2 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 439-449 [PMID: 20409751 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70070-X]
- 5 Cardoso R, Coburn NG, Seevaratnam R, Mahar A, Helyer L, Law C, Singh S. A systematic review of patient surveillance after curative gastrectomy for gastric cancer: a brief review. *Gastric Cancer* 2012; 15 Suppl 1: S164-S167 [PMID: 22382929]
- 6 Yoshikawa T, Rino Y, Yukawa N, Oshima T, Tsuburaya A, Masuda M. Neoadjuvant chemotherapy for gastric cancer in Japan: a standing position by comparing with adjuvant chemotherapy. *Surg Today* 2014; 44: 11-21 [PMID: 23508452]
- 7 Cunningham D, Okines AF, Ashley S. Capecitabine and oxaliplatin for advanced esophagogastric cancer. *N Engl J Med* 2010; 362: 858-859 [PMID: 20200397 DOI: 10.1056/NEJMc0911925]
- 8 Mezhir JJ, Tang LH, Coit DG. Neoadjuvant therapy of locally advanced gastric cancer. *J Surg Oncol* 2010; 101: 305-314 [PMID: 20187070 DOI: 10.1002/jso.21483]
- 9 Li T, Chen L. [Efficacy and safety of SOX regimen as neoadjuvant chemotherapy for advanced gastric cancer]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2011; 14: 104-106 [PMID: 21365500]
- 10 Kajitani T. The general rules for the gastric cancer study in surgery and pathology. Part I. Clinical classification. *Jpn J Surg* 1981; 11: 127-139 [PMID: 7300058]
- 11 Edge S, Byrd DR, Compton CC, Fritz, AG, Greene FL, Trotti A. AJCC Cancer staging handbook: TNM classification of malignant tumors. 7th ed. New York: Springer, 2010
- 12 Oken MM, Creech RH, Tormey DC, Horton J, Davis TE, McFadden ET, Carbone PP. Toxicity and response criteria of the Eastern Cooperative Oncology Group. *Am J Clin Oncol* 1982; 5: 649-655 [PMID: 7165009]
- 13 Sakuramoto S, Sasako M, Yamaguchi T, Kinoshita T, Fujii M, Nashimoto A, Furukawa H, Nakajima T, Ohashi Y, Imamura H, Higashino M, Yamamura Y, Kurita A, Arai K. Adjuvant chemotherapy for gastric cancer with S-1, an oral fluoropyrimidine. *N Engl J Med* 2007; 357: 1810-1820 [PMID: 17978289]
- 14 Koizumi W, Takiuchi H, Yamada Y, Boku N, Fuse N, Muro K, Komatsu Y, Tsuburaya A. Phase II study of oxaliplatin plus S-1 as first-line treatment for advanced gastric cancer (G-SOX study). *Ann Oncol* 2010; 21: 1001-1005 [PMID: 19875759 DOI: 10.1093/annonc/mdp464]
- 15 Bittner R, Butters M, Ulrich M, Uppenbrink S, Beger HG. Total gastrectomy. Updated operative mortality and long-term survival with particular reference to patients older than 70 years of age. *Ann Surg* 1996; 224: 37-42 [PMID: 8678615]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 三种不同方法预防肝硬化食管静脉曲张首次出血的疗效及安全性评价

刘信, 李敏

刘信, 李敏, 安徽医科大学附属安庆医院消化内科 安徽省安庆市 246003

刘信, 硕士, 主要从事慢性肝病和肝硬化的研究.

作者贡献分布: 此研究由李敏指导设计; 在李敏指导下由刘信完成病例收集、数据处理及论文写作.

通讯作者: 李敏, 主任医师, 246003, 安徽省安庆市迎江区人民路352号, 安徽医科大学附属安庆医院消化内科.

lmin0556@163.com

收稿日期: 2013-09-18 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-11-06 在线出版日期: 2014-01-18

## Efficacy and safety of three different methods for primary prophylaxis of variceal bleeding in cirrhosis

Xin Liu, Min Li

Xin Liu, Min Li, Department of Gastroenterology, Affiliated Anqing Hospital of Anhui Medical University, Anqing 246003, Anhui Province, China

Correspondence to: Min Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Anqing Hospital of Anhui Medical University, 352 Renmin Road, Yingjiang District, Anqing 246003, Anhui Province, China. lmin0556@163.com  
Received: 2013-09-18 Revised: 2013-10-28  
Accepted: 2013-11-06 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To compare the efficacy and safety of endoscopic variceal ligation (EVL), propranolol and EVL plus propranolol for the primary prophylaxis of first variceal bleeding in cirrhosis.

**METHODS:** We chose 90 patients with cirrhosis and esophageal varices at a high risk of bleeding and divided them into EVL ( $n = 30$ ), propranolol ( $n = 30$ ) and combination ( $n = 30$ ) groups. Treatment effectiveness and side effects in the 3 groups were compared.

**RESULTS:** The three groups of patients had comparable baseline characteristics and follow-up time (EVL:  $19.9 \text{ mo} \pm 7.2 \text{ mo}$ ; propranolol:  $19.3 \text{ mo} \pm 6.7 \text{ mo}$ ; combination:  $21.4 \text{ mo} \pm 5.3 \text{ mo}$ ). There were no significant differences in average ligation times between the EVL group and combination group ( $2.2 \pm 1.2 \text{ vs } 2.0 \pm 0.9$ ,  $P > 0.05$ ),

mean daily propranolol dose between the propranolol group and combination group ( $75.6 \text{ mg} \pm 23.4 \text{ mg vs } 68.8 \text{ mg} \pm 30.5 \text{ mg}$ ,  $P > 0.05$ ), rate of first variceal bleeding and bleeding-related mortality ( $10.0\%$ ,  $16.7\%$  vs  $6.6\%$ , both  $P > 0.05$ ) or incidence of portal hypertensive gastropathy between the three groups ( $16.7\%$ ,  $6.6\%$  vs  $10.0\%$ , both  $P > 0.05$ ). The incidence of complications and adverse reactions was significantly different between the three groups ( $50.0\%$ ,  $26.7\%$  vs  $56.7\%$ , both  $P < 0.05$ ), but no serious complications or adverse reactions occurred. The difference in variceal recurrence rate was significant between the EVL group and combination group ( $26.7\%$  vs  $6.6\%$ ,  $P = 0.04$ ).

**CONCLUSION:** EVL, propranolol and EVL plus propranolol are effective and safe in primary prophylaxis of bleeding due to high-risk varices. The adverse effects caused by propranolol are minimal. The recurrence of varices is lower if propranolol is added to EVL, but without much more adverse reactions.

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

**Key Words:** Cirrhosis; Propranolol; Primary prophylaxis; Esophageal varices; Endoscopic variceal ligation; Esophageal variceal bleeding

Liu X, Li M. Efficacy and safety of three different methods for primary prophylaxis of variceal bleeding in cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 253-258 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/253.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.253>

## 摘要

**目的:** 比较内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)、非选择性 $\beta$ 受体阻滞剂普萘洛尔及两者联合应用预防肝硬化食管静脉曲张首次出血的疗效及其安全性.

**方法:** 选取食管静脉曲张有出血高危因素的

## ■背景资料

食管静脉曲张出血(esophageal variceal bleeding, EVB)是肝硬化门脉高压常见和严重的并发症,病情凶险,病死率高.因此,早期进行干预,有效预防出血不但可以改善其生活质量,还可以提高肝硬化患者的生存率.普萘洛尔和内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)都推荐作为预防首次EVB的有效方法,但各自有优缺点,另外两者联合行一级预防尚存争议.

## ■同行评议者

孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

## ■ 研发前沿

如何有效的预防首次出血,同时不带来更多并发症,而又能被更多患者所接受,是目前研究的热点。

肝硬化患者90例,随机分成EVL组( $n = 30$ )、药物组( $n = 30$ )和联合组( $n = 30$ ),分别接受EVL、普萘洛尔及EVL+普萘洛尔治疗,观察各组患者的疗效及不良反应发生情况。

**结果:** 3组患者治疗前各指标具有可比性;平均随访时间3组无明显差异分别为19.9 mo  $\pm$  7.2 mo、19.3 mo  $\pm$  6.7 mo、21.4 mo  $\pm$  5.3 mo ( $P = 0.832$ ); EVL平均套扎2.2次  $\pm$  1.2次,联合组平均套扎2.0次  $\pm$  0.9次 ( $P > 0.05$ ); 药物组普萘洛尔平均剂量75.6 mg  $\pm$  23.4 mg,联合组平均剂量68.8 mg  $\pm$  30.5 mg ( $P > 0.05$ ); 3组首次静脉曲张出血率及出血相关死亡率无明显差异(10.0%, 16.7% vs 6.6%,  $P = 0.455$ ); 门脉高压性胃病发生率3组无显著差异(16.7%, 6.6% vs 10.0%,  $P > 0.05$ ); 并发症及不良反应发生率差异有统计学意义(50.0%, 26.7% vs 56.7%,  $P < 0.05$ ), 均未见明显严重并发症及不良反应; 静脉曲张复发率(EVL组26.7% vs 联合组6.6%,  $P = 0.04$ ), 两者差异有显著性。

**结论:** EVL、普萘洛尔及两者联合预防食管中-重度静脉曲张首次出血均有效、安全,但普萘洛尔引起的不良反应最少; EVL联合普萘洛尔在静脉曲张复发率低于单纯EVL,且不良反应不增多,但需要更大的样本量和长期的跟踪随访来进一步证实。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝硬化; 普萘洛尔; 一级预防; 食管静脉曲张; 食管曲张静脉套扎术; 食管曲张静脉出血

**核心提示:** 本文对普萘洛尔、内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)及两者联合在肝硬化食管静脉曲张一级预防中的疗效及安全性进行了前瞻性研究。疗效上3组无明显差异,但较单纯EVL联合治疗食管静脉曲张(esophageal varices, EV)复发率更低; 不良反应上,3组比较普萘洛尔组发生最少,联合组和EVL组相当。该结果表明:就减少EV复发而言,联合治疗更为理想,而且不增加不良反应。

刘信, 李敏. 三种不同方法预防肝硬化食管静脉曲张首次出血的疗效及安全性评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 253-258  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/253.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.253>

## 0 引言

食管静脉曲张出血(esophageal variceal bleeding, EVB)是肝硬化门脉高压常见和严重的并发症,病情凶险,病死率高。肝硬化患者每年约有5%

形成食管静脉曲张,2年内发生破裂出血危险性为20%-30%,首次出血1 wk内的死亡率高达25%-50%<sup>[1-3]</sup>。尽管目前治疗水平的提高和新型血管活性药物的应用,静脉曲张破裂出血的死亡率仍高达25%-45%<sup>[4]</sup>。因此,降低食管静脉曲张出血风险的安全、有效、经济的预防性治疗是广大临床工作者共同追求的目标。

非选择性 $\beta$ 受体阻滞剂和内镜下食管曲张静脉套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)都推荐作为预防食管曲张静脉首次出血的有效方法<sup>[5]</sup>。非选择性 $\beta$ 受体阻滞剂作为无创的治疗手段可以有效降低门静脉压力、曲张静脉内血液流速,其中普萘洛尔近年来研究较多,研究证实<sup>[6]</sup>,普萘洛尔能减少出血的风险及死亡率,但需长期服药治疗,另外30%-40%的患者治疗后门静脉压力下降不明显,25%-30%的患者出现药物不良反应<sup>[7,8]</sup>; 而EVL通过物理方法使曲张静脉管腔闭塞、消失达到预防出血的目的,有报道<sup>[9]</sup>,EVL可有效降低食管静脉曲张首次出血率,但其需多次反复进行,造成门静脉压力上升,复发曲张静脉的概率增加<sup>[10]</sup>。普萘洛尔与EVL在肝硬化EV一级预防中具有各自优缺点,两者联合能否增加疗效,减少不良反应。就此,我们在临床中对三种方法的疗效和不良反应进行对比,评价三者的疗效及安全性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 共纳入患者90例,其中男51例,女39例,均为本院2009-05/2011-05收治的食管静脉曲张的肝硬化患者。入选和排除标准如下,入选标准: (1)患者确诊为肝硬化导致的门静脉高压(病理学检查或典型临床症状、生化检查、影像学检查); (2)根据中华消化内镜分会2003年修订的食管胃底曲张静脉内镜下诊断和治疗规范试行方案,内镜下食管静脉曲张程度分级达到中度或重度; (3)既往无食管曲张静脉出血史和其他上消化道损伤; (4)未曾接受过 $\beta$ 受体阻滞剂及内镜下治疗; (5)被告知药物治疗或内镜下治疗相关风险及并发症后,同意预防性治疗并签署相关知情同意书。排除标准: (1)年龄 $>75$ 岁或者 $<18$ 岁; (2)患有肝癌或其他恶性肿瘤或严重心肺肾疾病; (3)窦性心动过缓、完全性房室传导阻滞; (4)既往接受过外科治疗或者内镜治疗; (5) $\beta$ 受体阻滞剂应用禁忌,如:哮喘、糖尿病、心衰、周围血管疾病、前列腺增生、低血压(收缩压 $<100$  mmHg); (6)被告知药物治疗或内镜下治疗



表 1 食管静脉曲张内镜分级标准

分级(度)	EV形态(F)	EV红色征(RC)
轻度(GI)	EV呈直线形或略有迂曲(F1)	无
中度(GII)	EV呈F1	有
	EV呈蛇形迂曲隆起(F2)	无
重度(GIII)	EV呈F2	有
	EV呈串珠状、结节状或瘤状	有或无

EV: 食管静脉曲张.

相关风险及并发症后, 不同意预防性治疗或拒绝签署相关知情同意书. 本院伦理委员会批准该项研究提议, 参与研究的所有患者均自愿签署知情同意书.

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: (1)EVL组: 接受EVL治疗, 根据静脉曲张曲张情况, 每次套扎7个或10个点, 间隔2 wk, 直到曲张静脉消失或变为轻度静脉曲张. 曲张静脉消失后, 前3 mo每间隔1 mo复查胃镜, 之后每间隔6 mo复查胃镜, 如复发, 再行EVL, 至其消失或变为轻度静脉曲张; (2)药物组: 患者使用普萘洛尔的起始剂量为10 mg tid, 根据心率监测结果, 每周逐渐增加用量, 直到最大耐受量, 最高用量不超过160 mg/d. 如果心率较基础心率下降25%或<55次/min或收缩压低于90 mmHg, 则调整用量; (3)联合组: 患者先接受EVL治疗, 第1次EVL后自进食之日起即接受普萘洛尔治疗(方法同药物组)并维持最大耐受剂量, 间隔2 wk接受EVL治疗直到曲张静脉消失或仅为轻度静脉曲张, 曲张静脉消失后, 随访复查同EVL组.

1.2.2 随访: 随访2年, 并将出现消化系出血、死亡、严重的不良反应需停止治疗作为临床研究终点; 随访内容包括有无上消化道出血、有无并发症及不良反应、门脉高压性胃病发生、静脉曲张复发以及生存情况; 随访期间怀疑患者有消化道出血, 需立即收住入院并行急诊胃镜检查明确出血原因.

1.2.3 定义和分级标准: (1)食管静脉曲张分级标准: 依据中华消化内镜学会食管胃底静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案<sup>[11]</sup>, 按照食管静脉曲张形态和出血危险程度分为轻、中、重3级(表1); (2)食管静脉曲张破裂出血诊断标准: 依据国内共识意见<sup>[12]</sup>, 临床症状(呕血, 黑便)结合胃镜检查证实有食管静脉曲张. 胃镜下诊断标准为: 当发现下列表现之一, 静脉曲张破裂出血诊断成立: 曲张静脉活动性出血; 曲张静脉表面

有“白色血栓头”; 曲张血管表面覆盖血凝块; 发现曲张静脉而无其他潜在出血来源; (3)静脉曲张复发定义: 作者将内镜下表现为中度、重度静脉曲张经EVL或硬化剂(或组织胶)注射治疗后静脉曲张消失或基本消失定义为治疗有效, 经有效治疗后, 复查胃镜又见中度、重度静脉曲张形成定义为静脉曲张复发.

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计软件进行统计分析, 计量资料采用mean±SD表示, 3组比较采用单因素方差分析(ANOVA), 进一步两两比较采用SNK法; 定性资料采用百分率(%)表示, 采用 $\chi^2$ 检验, 选择 $\alpha = 0.05$ 作为检验水准,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 临床一般资料比较 最终入选病例共90例, 其中男51例, 女39例. 平均年龄54.1岁±9.2岁. 肝硬化病因病毒性(包括乙型肝炎、丙型肝炎及混合性)71例, 其他原因(包括酒精性、血吸虫性、自身免疫性肝病及隐源性)21例, 肝功能Child-Pugh分级A级51例, B级38例, C级1例, 曲张静脉分级中度40例, 重度50例, 合并胃底静脉曲张者7例, 合并门脉高压性胃病者14例. 3组之间比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ). 随访2年, 90例患者共失访1例, 为药物组. EVL组套扎次数(2.2次±1.2次), 联合组套扎次数2.1次±0.9次, 两组比较无显著差异( $P > 0.05$ ); 药物组普萘洛尔使用剂量75.6 mg±23.4 mg与联合组普萘洛尔口服剂量68.8 mg±30.5 mg相比, 两组比较无显著差异( $P > 0.05$ )(表2).

2.2 疗效比较 随访期内, 首次出血率及EV破裂出血率EVL组16.7%、10.0%, 药物组16.7%、16.7%, 联合组20.0%、6.6%, 三者无显著差异( $P > 0.05$ ); EVL组26.7%的患者EV复发、联合组为6.6%, 两者有显著差异( $P < 0.05$ ); 3组患者门脉高压性胃病发生率(分别为16.7%、

## ■ 相关报道

普萘洛尔联合EVL较单纯EVL, 增加了不良反应而对出血率无影响, 限制了联合治疗在一级预防中广泛开展, 另有报道称联合治疗减少了静脉曲张的复发率, 从而减少出血风险.

## ■创新盘点

本研究从疗效及不良反应2个方面比较EVL、普萘洛尔及两者联合三种不同方法在肝硬化食管静脉曲张一级预防中作用。

表 2 3组患者的临床特点 ( $n = 30$ )

项 目	EVL组	药物组	联合组	<i>P</i> 值
年龄(岁)	54.5 ± 9.3	54.5 ± 9.9	53.0 ± 8.4	0.317
性别				0.387
男	18	14	19	
女	12	16	11	
病因				0.883
乙型肝炎	23	21	24	
丙型肝炎	2 <sup>1</sup>	0	1	
血吸虫性	5	6	6 <sup>2</sup>	
酒精性	1	2	1	
其他	0	1	1	
血红蛋白浓度(g/dL)	8.7 ± 2.8	8.6 ± 2.7	8.9 ± 2.7	0.150
血清白蛋白	29.9 ± 9.7	31.1 ± 9.9	31.7 ± 9.4	0.270
总胆红素(mg/dL)	29.5 ± 20.9	32.6 ± 22.0	32.3 ± 19.2	0.204
谷丙转氨酶(U/L)	76.9 ± 50.9	63.0 ± 43.5	68.0 ± 45.3	0.685
Child-Pugh分级				0.538
A	16	20	15	
B	13	10	15	
C	1	0	0	
食管静脉曲张程度				0.730
GII	13	15	12	
GIII	17	15	18	
门脉高压性胃病	6	4	4	0.807
胃底静脉曲张	2	3	2	0.856
随访时间(mo)	19.9 ± 7.2	19.3 ± 6.7	21.4 ± 5.3	0.832

<sup>1</sup>其中包括丙型肝炎合并乙型肝炎1例; <sup>2</sup>其中包括血吸虫合并乙型肝炎3例。EVL: 内镜下食管曲张静脉套扎术。

表 3 3组患者的疗效比较  $n(\%)$ 

分组	总出血		出血原因	EV复发	PHG发生	出血相关死亡
	EV	其他 <sup>1</sup>				
EVL组	6(20.0)	3(10.0)	3(10.0)	8(26.7)	5(16.7)	3(10.0)
药物组	7(23.3)	5(16.7)	2(6.6)	—	2(6.6)	5(16.7)
联合组	5(16.7)	2(6.6)	3(10.0)	2(6.6)	3(10.0)	2(6.6)
<i>P</i> 值	0.812	0.455	—	0.04	0.455	0.455

<sup>1</sup>其他原因包括门脉高压性胃病、胃底静脉曲张破裂出血、消化性溃疡、糜烂出血性胃炎、并发食管胃肿瘤并出血。EV: 食管静脉曲张; EVL: 内镜下食管曲张静脉套扎术。

6.6%、10.0%)及出血相关死亡率(分别为10.0%、16.7%、6.6%)差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表3)。

2.3 不良反应发生情况比较 EVL组不良反应总发生率为50.0%, 主要表现为发热、吞咽困难和胸骨后疼痛, 无套扎相关的溃疡出血等严重并发症发生。药物组不良反应总发生率为26.7%, 主要表现为头晕、心动过缓, 其中1例出现低血压, 被迫停药。联合组不良反应发生率为56.7%,

表现有发热、心动过缓、吞咽困难和胸骨后不适, 3组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 均无严重并发症及不良反应发生(表4)。

## 3 讨论

EV B是肝硬化门脉高压最常见、最严重的并发症。约一半的患者在肝硬化确诊时已经存在EV, 且Child-Pugh B级和C级患者的比例更高<sup>[13]</sup>, EV患者中每年有10%-30%的发生出血, 大约

表 4 3组不良反应(或并发症)发生情况 (n)

项目	合计(%)	内镜下治疗相关			药物相关		
		胸痛	吞咽困难	发热	头晕	心动过缓	低血压
EVL组	15(50)	13 <sup>1</sup>	10	5	—	—	—
药物组	8(26.7)	—	—	—	5	3	1
联合组	17(56.7)	15 <sup>2</sup>	9	6	4	3	0

<sup>1</sup>13例胸痛患者中包括胸痛并吞咽困难10例、胸痛并发热5例; <sup>2</sup>15例胸痛患者中包括胸痛并吞咽困难5例, 胸痛并发热5例, 胸痛并吞咽困难、头晕4例, 胸痛并发热、头晕1例及胸痛并心动过缓1例。

## ■应用要点

EVL、普萘洛尔及两者联合在肝硬化食管胃底静脉曲张(esophageal varices, EV)一级预防中均有效, 且无严重并发症发生, 但普萘洛尔不良反应最少, 联合治疗EV复发率较单纯EVL低。

20%-35%的患者因首次出血死亡<sup>[14]</sup>。如果未经治疗, 首次出血后幸存患者中约60%会发生再出血, 1年内因出血致死的几率可达70%<sup>[15,16]</sup>。因此, 早期进行干预, 有效预防出血不但可以改善其生活质量, 还可以提高肝硬化患者的生存率, 目前其主要的治疗手段和措施有: 药物治疗、内镜治疗、介入治疗和外科手术治疗等, 共识<sup>[12]</sup>推荐作为一级预防手段的是 $\beta$ 受体阻滞剂和内镜下套扎治疗。相比而言, 药物治疗为无创治疗手段, 对患者的伤害最小; 但至少要有1/3以上患者接受 $\beta$ 受体阻滞剂治疗患者的门静脉压力下降并不明显, 并且出血率仍然13%-43%<sup>[17-19]</sup>, 因此有学者认为 $\beta$ 受体阻滞剂不能有效预防食管静脉曲张的发生并且会引起不良事件, 不建议其在临床大量使用<sup>[20]</sup>; 而内镜具有定位准的优点, 可以对曲张静脉直接进行套扎, 从而达到预防出血的目的, 随着内镜技术和设备的不断发展, 内镜下治疗已成为食管静脉曲张的主要治疗措施。但是随着研究的不断深入, 临床发现患者进行EVL后, 发生出血的例数仍较高; 因EVL和 $\beta$ 受体阻滞剂联合应用在二级预防中突出疗效, 国内外有学者主张二者联合也可作为预防食管静脉曲张首次出血的有效手段, 但在三种方法的使用上存在着差异<sup>[21-23]</sup>。为此, 本研究对三种方法预防肝硬化EV首次出血的疗效及不良反应行进一步探讨。

本研究中通过观察首次出血、首次EV出血、静脉曲张复发、PHG发生及出血相关死亡率来比较3种不同方法的疗效, 结果显示, 普萘洛尔预防性治疗首次出血和EV出血发生率均为16.7%, EVL组为16.7%、10.0%, 联合组为20.0%、6.6%, 3组之间比较无统计学意义, 该结果表明就预防出血和EV出血而言, 三种方法无明显差异。有研究表明普萘洛尔还可以缓解或预防PHG的发生, 降低肝硬化相关并发症如腹膜炎、肝肾综合征的发生率<sup>[24]</sup>。本研究随访期

内, 药物组及联合组新出现的PHG分别为2例、3例较单纯EVL组5例要少, 但3组差异无统计学意义。3组出血相关死亡率EVL组10%、药物组16.7%、联合组2%, 差异无统计学意义。上述观察指标, 3组间差异无统计学意义, 说明在疗效上三种方法治疗效果较为接近, 对肝硬化EV一级预防均有较好的作用。另外本研究发现, 联合组中EV复发率为6.6%, 而EVL组为26.7%, 两者比较差异有统计学意义, 这与Sarin等<sup>[25]</sup>研究结果相一致, 这说明就预防EV复发而言EVL联合普萘洛尔要优于单独EVL。

同时, 本研究还对3组患者进行了不良反应的随访, 结果显示, EVL及联合组不良反应发生较多(分别为50.0%和56.7%), 两者之间比较接近, 临床主要表现为发热、吞咽困难及胸痛, 少数表现为恶心、呕吐, 而普萘洛尔组, 仅有26.7%的患者发生不良反应, 主要表现为头晕、心动过缓, 一般不需干预, 3组均无严重并发症及不良反应发生。该结果显示普萘洛尔治疗期间不良反应明显低于EVL和普萘洛尔联合EVL, 三种方法预防肝硬化食管胃底静脉曲张(esophageal varices, EV)首次出血均安全, EVL与普萘洛尔联合EVL不良反应发生较为接近, 而口服普萘洛尔不良反应最少。

总之, EVL、普萘洛尔及两者联合预防中-重度EV首次出血均有效、安全, 普萘洛尔引起的不良反应最少。联合治疗在静脉曲张复发率低于单纯EVL, 且不良反应不增多, 但需要更大的样本量和长期的跟踪随访来进一步证实。

## 4 参考文献

- Lee SW, Lee TY, Chang CS. Independent factors associated with recurrent bleeding in cirrhotic patients with esophageal variceal hemorrhage. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 1128-1134 [PMID: 19051032]
- Merli M, Nicolini G, Angeloni S, Rinaldi V, De Santis A, Merkel C, Attili AF, Riggio O. Incidence and natural history of small esophageal varices in



## ■同行评价

文章有一定的临床指导意义和实用价值。

- 3 曹海龙, 张磊, 梅俏, 许建明. 肝硬化食管静脉曲张破裂出血风险的分析. 安徽医科大学学报 2006; 41: 682-684
- 4 何学敏. 肝硬化引发食管静脉曲张出血的治疗方案探讨. 中国医药 2012; 7: 722-723
- 5 de Franchis R. Revising consensus in portal hypertension: report of the Baveno V consensus workshop on methodology of diagnosis and therapy in portal hypertension. *J Hepatol* 2010; 53: 762-768 [PMID: 20638742 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.06.004]
- 6 石胜利, 戴小华, 袁帅, 沈洁. 预防性套扎联合普萘洛尔治疗肝硬化重度食管静脉曲张的临床研究. 中国医师进修杂志 2010; 33: 57-59
- 7 Lui HF, Stanley AJ, Forrest EH, Jalan R, Hislop WS, Mills PR, Finlayson ND, Macgilchrist AJ, Hayes PC. Primary prophylaxis of variceal hemorrhage: a randomized controlled trial comparing band ligation, propranolol, and isosorbide mononitrate. *Gastroenterology* 2002; 123: 735-744 [PMID: 12198700]
- 8 Abraczinskas DR, Ookubo R, Grace ND, Groszmann RJ, Bosch J, Garcia-Tsao G, Richardson CR, Matloff DS, Rodés J, Conn HO. Propranolol for the prevention of first esophageal variceal hemorrhage: a lifetime commitment? *Hepatology* 2001; 34: 1096-1102 [PMID: 11731997]
- 9 Imperiale T, Chalasani N. A meta-analysis of endoscopic variceal ligation for primary prophylaxis of esophageal variceal bleeding. *Hepatology* 2001; 33: 802-807 [PMID: 11283842 DOI: 10.1053/jhep.2001.23054]
- 10 黎晓武, 崔进, 陈杨志, 李金强. 食管静脉曲张套扎术加普萘洛尔预防肝硬化食管静脉曲张破裂出血的临床研究. 中国医药导刊 2010; 12: 537-539
- 11 陆星华. 食管胃静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案(2003年). 中华消化内镜杂志 2004; 21: 149-151
- 12 中华医学会消化病学分会, 中华医学会肝病学分会, 中华医学会内镜学分会. 肝硬化门静脉高压食管胃静脉曲张出血的防治共识(2008, 杭州). 内科理论与实践 2009; 4: 152-158
- 13 Kovalak M, Lake J, Mattek N, Eisen G, Lieberman D, Zaman A. Endoscopic screening for varices in cirrhotic patients: data from a national endoscopic database. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 82-88 [PMID: 17185084]
- 14 Sarin SK, Lamba GS, Kumar M, Misra A, Murthy NS. Comparison of endoscopic ligation and propranolol for the primary prevention of variceal bleeding. *N Engl J Med* 1999; 340: 988-993 [PMID: 10099140]
- 15 令狐恩强. 食管胃底静脉曲张致上消化道出血的内镜下诊治. 中国实用内科杂志 2005; 25: 200-201
- 16 Escorsell A, Bañares R, García-Pagán JC, Gilabert R, Moitinho E, Piqueras B, Bru C, Echenagusia A, Granados A, Bosch J. TIPS versus drug therapy in preventing variceal rebleeding in advanced cirrhosis: a randomized controlled trial. *Hepatology* 2002; 35: 385-392 [PMID: 11826413 DOI: 10.1053/jhep.2002.30418]
- 17 Bosch J, Abraldes JG, Groszmann R. Current management of portal hypertension. *J Hepatol* 2003; 38: 54-68 [DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00430-0]
- 18 Toda N. [Pharmacological studies of calcium blockers]. *Nihon Rinsho* 1977; 35: 53-58 [PMID: 15144]
- 19 Kamath PS. Esophageal variceal bleeding: primary prophylaxis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2005; 3: 90-93 [PMID: 15645410]
- 20 Garcia-Tsao G. Preventing the development of varices in cirrhosis. *J Clin Gastroenterol* 2007; 41 Suppl 3: S300-S304 [PMID: 17975480 DOI: 10.1097/MCG.0b]
- 21 Psilopoulos D, Galanis P, Goulas S, Papanikolaou IS, Elefsiniotis I, Liatsos C, Sparos L, Mavrogiannis C. Endoscopic variceal ligation vs. propranolol for prevention of first variceal bleeding: a randomized controlled trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005; 17: 1111-1117 [PMID: 16148558]
- 22 Drastich P, Lata J, Petrtyl J, Bruha R, Prochazka V, Vanasek T, Zdenek P, Skibova J, Hucl T, Spicak J. Endoscopic variceal band ligation compared with propranolol for prophylaxis of first variceal bleeding. *Ann Hepatol* 2011; 10: 142-149 [PMID: 21502675]
- 23 Pérez-Ayuso RM, Valderrama S, Espinoza M, Rolán A, Sánchez R, Otarola F, Medina B, Riquelme A. Endoscopic band ligation versus propranolol for the primary prophylaxis of variceal bleeding in cirrhotic patients with high risk esophageal varices. *Ann Hepatol* 2010; 9: 15-22 [PMID: 20308718]
- 24 Pérez-Ayuso RM, Piqué JM, Bosch J, Panés J, González A, Pérez R, Rigau J, Quintero E, Valderama R, Viver J. Propranolol in prevention of recurrent bleeding from severe portal hypertensive gastropathy in cirrhosis. *Lancet* 1991; 337: 1431-1434 [PMID: 1675316]
- 25 Sarin SK, Wadhawan M, Agarwal SR, Tyagi P, Sharma BC. Endoscopic variceal ligation plus propranolol versus endoscopic variceal ligation alone in primary prophylaxis of variceal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 797-804 [PMID: 15784021]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 胶囊内镜对于不明原因消化系出血与小肠血管发育不良的诊断价值

许统俭, 王 营

许统俭, 王营, 徐州医学院附属医院消化科 江苏省徐州市 221006

许统俭, 副主任医师, 主要从事重症胰腺炎、肝硬化及肝性脑病的诊治。

作者贡献分布: 许统俭负责论文研究的设计、资料收集和撰写; 王营负责文章的审核、校对以及论文写作指导。

通讯作者: 王营, 副教授, 主任医师, 221006, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院消化科。471840555@qq.com

收稿日期: 2013-10-29 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Diagnostic value of capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding and intestinal angiodysplasia

Tong-Jian Xu, Ying Wang

Tong-Jian Xu, Ying Wang, Department of Digestive Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ying Wang, Associate Professor, Chief Physician, Department of Digestive Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221006, Jiangsu Province, China. 471840555@qq.com

Received: 2013-10-29 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To explore the clinical value of capsule endoscopy for the diagnosis of obscure gastrointestinal bleeding (OGIB) and intestinal angiodysplasia.

**METHODS:** One hundred and eighty patients with OGIB treated at our hospital from February 2008 to November 2013 were included in the study. Causes of bleeding were analyzed by capsule endoscopy. The patients with intestinal angiodysplasia underwent single balloon enteroscopy to verify the accuracy of capsule endoscopy for the diagnosis of intestinal angiodysplasia.

**RESULTS:** Causes of bleeding were small bowel angiodysplasia, Crohn's disease, and gastrointestinal stromal tumors. A total of 38 cases of intestinal angiodysplasia were diagnosed by capsule endoscopy. The concordance rate of diagnosis of intestinal angiodysplasia by capsule endoscopy and single balloon enteroscopy was 97.37%.

tinal angiodysplasia were diagnosed by capsule endoscopy. The concordance rate of diagnosis of intestinal angiodysplasia by capsule endoscopy and single balloon enteroscopy was 97.37%.

**CONCLUSION:** Capsule endoscopy can effectively diagnose OGIB and has a highly diagnostic value for intestinal angiodysplasia, which is comparable to single balloon endoscopy.

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

**Key Words:** Obscure gastrointestinal bleeding; Capsule endoscopy; Intestinal angiodysplasia; Single balloon enteroscopy

Xu TJ, Wang Y. Diagnostic value of capsule endoscopy for obscure gastrointestinal bleeding and intestinal angiodysplasia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 259-262 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/259.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.259>

## 摘要

**目的:** 探讨胶囊内镜对小肠血管发育不良的临床诊断价值, 为该类药物病变的临床诊断提供参考手段。

**方法:** 选择2008-02/2013-11我院收治的不明原因消化系出血患者180例为研究对象, 经胶囊内镜对其出血原因进行检查。对检出的血管发育不良患者进行单气囊小肠镜复检, 以小肠血管发育不良进一步确诊, 并验证胶囊内镜对小肠血管发育不良的诊断率。

**结果:** 经胶囊内镜检查, 180例患者的出现原因主要为小肠血管发育不良、克罗恩病、胃肠间质瘤等, 检出小肠血管发育不良38例。小肠血管发育不良患者的单气囊复检结果与胶囊内镜结果一致, 小肠血管发育不良的阳性检出一致率为97.37%。

**结论:** 胶囊内镜可有效查明不明消化系出血患者的病因, 且对小肠血管发育不良具有较高

## ■背景资料

由于造成不明原因消化系出血的病变常具有隐匿性的特点, 一般的检查手段很难发现, 需借助胶囊内镜或小肠镜等设备进行诊断。随着临床研究的不断深入, 发现小肠血管发育不良是导致不明原因消化系出血的一类重要病变, 并且发生率有逐渐升高的趋势。目前, 关于胶囊内镜在胃肠道疾病诊断中的应用, 国内外已开展了广泛的临床研究, 并取得了较为理想的临床效果。因此, 使用胶囊内镜对不明原因消化系出血和小肠血管发育不良进行诊断是一种较为科学、高效的诊断途径。

## ■同行评议者

许玲, 教授, 主任医师, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

## ■研发前沿

通过评价胶囊内镜对不明原因消化道系出血和小肠血管发育不良的诊断价值,将能够为上述病变的诊断提供临床参考,寻求高效、安全的诊断方法,将能够有效降低不明原因消化道系出血和小肠血管发育不良患者的诊断费用,且可大大提高其确诊率。

的临床诊断价值,可与单气囊内镜相比拟。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 不明原因消化系出血; 胶囊内镜; 小肠血管发育不良; 单气囊小肠镜

**核心提示:** 胶囊内镜对不明原因消化系出血的病因如: 克罗恩病、小肠间质瘤特别是对小肠血管发育不良均有较为优越的诊断效果, 且临床诊断价值在某些病变的诊断方面可与小肠镜相当。

许统俭, 王莹. 胶囊内镜对于不明原因消化系出血与小肠血管发育不良的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 259-262  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/259.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.259>

## 0 引言

随着社会的发展和生活方式的加快, 胃肠类疾病的发病率逐年上升, 其中肠道不明原因出血 (obscure gastrointestinal bleeding, OGIB) 性疾病的发病比例也在逐渐增加。关于小肠出血性疾病, 国内外研究分别指出约有22%-60%<sup>[1]</sup>和70%-80%<sup>[2]</sup>的小肠出血事件是由小肠血管发育不良所致。小肠血管发育不良主要表现为小肠静脉曲张、血管瘤以及小肠毛细血管异常扩张等, 出血事件在病理机制上与病灶覆盖部位的黏膜变薄和溃疡的发生有关<sup>[3]</sup>。胶囊内镜, 作为新型的小肠疾病检查手段, 目前已被广泛应用于小肠出血性疾病的诊断之中<sup>[4]</sup>。在本研究中, 对180例小肠出血患者进行了胶囊内镜检查, 诊断出小肠血管发育不良患者38例, 并经单气囊小肠镜进行了验证。考虑胶囊内镜对于小肠血管发育不良有较高的诊断价值, 现在报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2008-02/2013-11我院收治的不明原因消化系出血患者180例为研究对象。男103例, 平均年龄42.4岁±18.1岁; 女77例, 平均年龄53.6岁±23.5岁。所有患者的临床特征以间歇性、持续性黑便(108例, 60.0%)、不同程度的上消化道出血(72例, 40.0%)为主。有31例患者就诊前接受过胃镜检查, 未发现明显异常。34例患者接受过消化系钡餐和X射线检查, 未见异常。15例患者接受过探针式小肠镜检查, 仅3例发现明显异常。17例经腹部血管造影检查, 5例发现明显血管异常。经初步诊断, 所有患者均无出血性疾病或出血性家族病史。此外, 180例患者中冠

心病患者4例、心脏内装有心脏起搏器的患者1例、有胃溃疡病史患者14例、有消化不良症状患者16例, 但这些疾病并不影响对患者进行胶囊内镜检查, 检查结果依然可靠。

### 1.2 方法

**1.2.1 胶囊内镜检查:** 180例患者在接受胶囊内镜 (重庆金山, OMOM) 检查前, 禁食7-10 h并饮用适量的清肠液, 尽量提高肠内清洁度。对16例有消化不良症状的患者进行肌注甲氧鲁普胺或口服适量的多潘立酮, 增加其胃肠蠕动, 防止胶囊内镜体内滞留的发生。患者吞服胶囊并系好记录背心后5-7 h允许进食适量固体食物, 可适当运动但7 h内不应远离医院, 防止发生意外事件。

**1.2.2 单气囊小肠镜检查:** 因有文献证实, 单气囊小肠镜对血管发育不良的阳性检出率与胶囊内镜有很好的致性<sup>[5]</sup>, 且肠镜检查结果被认为是肠内病变诊断的金标准。为验证胶囊内镜对小肠血管发育不良的确诊率以实现对血管发育不良患者的确诊, 建议经胶囊内镜检查显示小肠血管发育不良的患者进行了单气囊小肠镜复检 (患者于徐州市中心医院进行检查, 仪器型号: 日本奥林巴斯、SIF Q260)。检查方法为: 检查前, 对患者进行麻醉处理、肠内清洁和禁食。患者进镜方式因患者状况的不同而有所差异: 对有消化不良症状和有胃溃疡病史患者进行由口入镜、其他患者采取由肛门入镜。口腔入镜深度以回肠中段为界点, 肛门入镜以空回肠交界区域为分界点, 并于分界点处注射0.5 mL美蓝进行标记, 以方便下次进镜时作为参考。

## 2 结果

**2.1 内镜检查的一般情况** 所有患者均顺利吞服胶囊, 检查过程中除5例患者感觉有轻微腹痛以外, 其他患者均无异常感觉。胶囊内镜在患者体内的最短时间为7 h 42 min, 最长8 h 21 min。180例患者中有顺利完成了胶囊内镜的检查, 到达回肠末端的胶囊内镜87例, 到达回肠中段的胶囊内镜7例, 到达盲肠的胶囊内镜86例, 所有患者均于1 wk内将胶囊内镜排除体外。

患者复检后来我院复诊。所有受检患者均顺利完成了检查, 5例患者出现了小肠内镜侵入所致的肠黏膜出血, 其他患者除部分出现不同程度的主观耐受不良以外, 未出现其他明显不良反应。

**2.2 小肠出血原因的检出情况** 对胶囊内镜的病变更出情况进行的统计结果显示, 共计检出236

## ■相关报道

目前, 国内外关于胶囊内镜在胃肠道疾病中的诊断价值已有大量报道, 均充分肯定了胶囊内镜的安全性和有效性。胶囊内镜在不明原因消化道系出血和小肠血管发育不良的临床诊断方面具有较高的临床价值。



个与不明原因消化系出血相关的病变. 180例不明原因小肠出血患者的主要病理分布情况如下( $n/236$ ): 血管发育不良患者38例(16.10%)、克罗恩病34例(14.40%)、胃肠间质瘤25例(10.59%)、钩虫病16例(6.78%)、管状腺瘤28例(11.86%)、动静脉瘘18例(7.63%)、血管扩张19例(8.05%)、小肠黏膜糜烂17例(7.20%)、非特异性肠炎31例(13.14%)、小肠憩室10例(4.24%). 以上病变有交叉存在同时现象.

**2.3 血管发育不良的检出情况** 经胶囊内镜检查, 共发现38例血管发育不良患者. 38例血管发育不良患者经单气囊小肠镜复检后, 确诊37例, 与胶囊内镜的阳性检出一致性为97.37%, 另外1例患者因对单气囊小肠镜耐受性较差, 未顺利完成复检. 其中多发性血管发育不良25例(65.79%), 单发性血管发育不良13例(34.21%). 此外, 本次检出的血管发育不良患者中, 合并克罗恩病的患者6例、合并非特异性肠炎、小肠憩室或十二指肠溃疡患者各13例、合并胃肠间质瘤7例、合并小肠血管扩张4例, 其他患者为单纯血管发育不良. 单气囊复检结果表明, 胶囊内镜在小肠血管发育不良的诊断方面具有很高的临床诊断价值, 与单气囊小肠镜的检出效果接近.

### 3 讨论

**3.1 胶囊内镜的优势** 小肠血管发育不良作为小肠出血的重要诱因, 其诊断一直是困扰医学界的一个难题. 胶囊内镜的出现, 不仅提高了小肠血管发育不良的检出率, 而且开创了无创伤胃肠检查的新时代. Zuckerman等<sup>[6]</sup>使用胶囊内镜对100例不明原因小肠出血患者进行检查, 其结果显示阳性检出率约为95%, 阴性预测值可达83%-100%, 对小肠血管发育不良的阳性检出率与双气囊小肠镜具有很好的一致性. 关于胶囊内镜在国内的应用状况的报道也显示<sup>[7,8]</sup>, 胶囊内镜对于不明原因小肠出血的诊断率可达83%左右, 对小肠血管发育不良的阳性检出率为91.3%, 与国外的报道基本一致<sup>[9]</sup>. 此外, 胶囊内镜作为无创检查技术, 临床应用较为安全, 关于胶囊内镜全世界范围应用的研究表明<sup>[10]</sup>, 至今未发现胶囊内镜导致死亡或严重不良反应的事件发生. 与传统的灌肠造影、小肠钡餐及钡灌造影相比, 胶囊内镜具有高阳性检出率、安全、无痛苦、患者可耐受、操作简便的优点. 目前, 在小肠疾病的诊断方面, 其金标准为小肠镜的

检测结果<sup>[11]</sup>. Costamagna等<sup>[12]</sup>分别使用胶囊内镜和双气囊小肠镜对48例不明原因的小肠出血患者进行了检查, 结果显示胶囊内镜的检出效果与小肠镜之间并无明显差异, 并且避免了小肠镜导致的肠道出血或穿孔的危险. 因此, 在肠内病变的检出方面, 胶囊内镜相对于单气囊小肠镜或双气囊小肠镜具有较好的临床优势, 可大大降低患者受检时的痛苦, 且适应人群较广.

在本次研究中, 使用胶囊内镜对180例不明原因消化系出血的患者进行了诊断, 且检出38例患者为小肠血管发育不良, 证实胶囊内镜在检出小肠血管发育不良方面具有较高的临床价值. 虽然胶囊内镜在检出胃肠病变方面具有很高的阳性检出率, 但由于其偶尔可受患者肠内气体或污物的影响, 在小肠血管发育不良的确诊方面, 仍有必要进行血管造影或单/双气囊小肠镜的复检. 此外, 大量临床报道指出<sup>[13,14]</sup>, 胶囊内镜相对于单或双气囊小肠镜而言, 其可操作性较差, 其视角有限, 无法实现360度的旋转或回撤. 因此, 胶囊内镜在对于一些褶皱处或肠道转角处的小肠血管病变检出能力较差. 由于胶囊内镜的运动动力是胃肠道蠕动, 对于胃肠道蠕动过快的患者而言, 常可能会遗漏一些病变, 针对该类患者对胶囊内镜的图片采集频率进行调整是很有必要的<sup>[15]</sup>. 为验证胶囊内镜对小肠血管发育不良的诊断精度, 本次研究中的38例小肠血管发育不良患者同样也进行了单气囊小肠镜的复检. 结果显示, 两组镜检方法对小肠血管发育不良的阳性检出一致率为97.37%, 即表明胶囊内镜对小肠血管发育不良的临床诊断价值值得肯定. 需要指出的是, 本次研究由于小肠血管发育不良患者人数少, 无法实现对胶囊内镜检出不同类型、不同位置的血管病变的检出能力的全面评价, 关于该研究的欠缺之处, 将在以后的临床工作中不断对其进行完善. 但就目前的研究结果而言, 胶囊内镜对不明原因的消化系出血特别是小肠血管发育不良均具有较高的临床诊断价值, 其检出能力可与单气囊内镜相比拟, 其临床性价比较高, 值得推广.

### 4 参考文献

- 1 杨云生, 孙刚, 李闻, 令狐恩强, 程留芳, 王志强. 双气囊电子小肠镜临床应用初探. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 17-19
- 2 张洁, 王邦茂, 曹晓仓, 刘文天. 胶囊内镜在老年人不明原因的消化道出血诊断中的应用. 中华老年医学杂志 2006; 25: 729-731
- 3 Cao XC, Wang BM, Han ZC. Wireless capsule endo-

### ■创新盘点

使用胶囊内镜对小肠血管发育不良和不明原因消化系出血进行临床诊断, 并将其对小肠血管发育不良的临床诊断效果与单气囊小肠镜进行对比. 以更加科学、合理的角度评价胶囊内镜的临床应用优势. 对不明原因消化系出血特别是小肠血管发育不良的临床诊断均有较高的临床意义.

### ■应用要点

以胶囊内镜为主要检查手段, 对不明原因消化系出血的致病原因进行诊断. 并着重分析胶囊内镜对小肠血管发育不良的临床诊断价值, 将其与单气囊小肠镜进行对比.

## ■同行评价

胶囊内镜在胃肠道病变中的诊断价值已得到了临床的广泛肯定,但由于胃肠道疾病繁多,且由于胃肠道的解剖学结构复杂,对胶囊内镜在小肠血管发育不良以及不明原因消化道出血方面的临床诊断价值进行系统性评价很有必要。

- 4 戈之铮, 胡运彪, 萧树东. 胶囊内镜与推进式小肠镜诊断不明原因消化道出血的评价. 中华消化内镜杂志 2003; 20: 223-226
- 5 谢宏民, 李佳璇, 杨新魁. 胶囊内镜下小肠黏膜特征分析53例. 世界华人消化杂志 2012; 20: 430-433
- 6 Zuckerman GR, Prakash C, Askin MP, Lewis BS. AGA technical review on the evaluation and management of occult and obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2000; 118: 201-221 [PMID: 10611170]
- 7 戈之铮, 胡运彪, 高云杰, 萧树东. 胶囊内镜的临床应用. 中华消化杂志 2003; 23: 7-10
- 8 熊观瀛, 王敏, 杨丽华, 游思洪, 王敏. 胶囊内镜胃通过时间与全小肠镜检查完成率的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20: 401-402
- 9 胡耿诚, 刘俊, 谢小平, 侯晓华. 胶囊内镜在不明原因消化道出血患者诊断中的应用价值. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 511-513
- 10 李荣香, 周勤, 朱秀琴. 胶囊内镜检查质量的影响因素分析与护理对策. 护理学杂志 2013; 28: 364-366
- 11 陈飞, 刘文天, 张洁, 郑忠青, 王邦茂, 吕宗舜. 胶囊内镜和双气囊内镜诊断小肠肿瘤及克罗恩病316例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 391-393
- 12 Costamagna G, Shah SK, Riccioni ME, Foschia F, Mutignani M, Perri V, Vecchioli A, Brizi MG, Piccicocchi A, Marano P. A prospective trial comparing small bowel radiographs and video capsule endoscopy for suspected small bowel disease. *Gastroenterology* 2002; 123: 999-1005 [PMID: 12360460]
- 13 李运红, 徐肇敏, 陈隆典, 韩树堂, 于成功. 胶囊内镜对胃肠道疾病的诊断意义. 中华消化内镜杂志 2009; 20: 234-236
- 14 谭伟, 戈之铮, 高云杰, 戴军, 李晓波. 胶囊内镜对不明原因消化道出血诊断及其预后的影响. 中华消化内镜杂志 2012; 31: 296-298
- 15 周环, 张惠晶, 汪旭, 王轶淳, 孙明军. 70例胶囊内镜检查的临床应用分析. 中国内镜杂志 2011; 17: 49-53

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 南宁市大学生功能性消化不良的流行病学调查

左国文, 梁列新, 姚萍, 黄丹, 刘鑫, 何宛蓉, 张法灿

左国文, 梁列新, 姚萍, 黄丹, 刘鑫, 何宛蓉, 张法灿, 广西壮族自治区人民医院 广西壮族自治区南宁市 530021

左国文, 主要从事功能性胃肠病的临床研究.

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013230

广西壮族自治区卫生厅自筹科研课题基金资助项目, No. Z2010253

作者贡献分布: 此课题在梁列新的具体指导下, 由左国文设计; 研究由左国文、何宛蓉、刘鑫、黄丹及张法灿具体实施完成; 数据分析由左国文与黄丹完成; 论文写作由左国文与姚萍完成.

通讯作者: 梁列新, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科.

mdlianglx@126.com

电话: 0771-2186184

收稿日期: 2013-11-14 修回日期: 2013-11-30

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-18

## Prevalence and risk factors for functional dyspepsia in university students in Nanning

Guo-Wen Zuo, Lie-Xin Liang, Ping Yao, Dan Huang, Xin Liu, Wan-Rong He, Fa-Can Zhang

Guo-Wen Zuo, Lie-Xin Liang, Ping Yao, Dan Huang, Xin Liu, Wan-Rong He, Fa-Can Zhang, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Provincial Natural Science Foundation, No. 2010GXNSFA013230; and the Program of Guangxi Provincial Department of Public Health; No. Z2010253

Correspondence to: Lie-Xin Liang, Chief Physician, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, 6 Taoyuan Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. mdlianglx@126.com

Received: 2013-11-14 Revised: 2013-11-30

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To find the risk factors for functional dyspepsia (FD) in different populations.

**METHODS:** Cluster random sampling method was used to select university students in Nanning, and data were collected by face-to-face interview according to Rome III Diagnostic Questionnaire for Adult FGID. FD was diagnosed according to the scoring algorithm for the Rome III Diagnostic Questionnaire for Adult FGIDs. The prevalence of FD was accessed and the risk factors for FD were analyzed.

**RESULTS:** A total of 2580 questionnaires were

administered and 2520 were returned with a response rate of 97.7%. The overall prevalence of FD among university students in Nanning was 5.4%. The prevalence of FD differed by gender, with a higher prevalence in females than in males (5.91% vs 3.84%). No midnight snack, less exercise time and sleeping time were found to be correlated with FD by multiple logistic regression analysis ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** FD was a common disease in university students in Nanning, with an overall prevalence of 5.4%. The factors that affect this disease mainly included gender, midnight snack, exercise time and sleeping time.

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

**Key Words:** Functional dyspepsia; Epidemiology; Prevalence; Risk factor

Zuo GW, Liang LX, Yao P, Huang D, Liu X, He WR, Zhang FC. Prevalence and risk factors for functional dyspepsia in university students in Nanning. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 263-267 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/263.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.263>

## 摘要

**目的:** 了解不同人群功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)相关危险因素, 以进一步提高本地区功能性消化不良的防治水平.

**方法:** 以南宁市大学生为调查对象, 采用成人功能性胃肠病罗马Ⅲ诊断性问卷进行面访式调查, 按照成人功能性胃肠病罗马Ⅲ诊断性问卷的评分方法诊断功能性消化不良, 计算FD的人群患病率, 并分析FD患病的影响因素.

**结果:** (1)共调查2580例, 回收有效问卷2520份(97.7%). 南宁市大学生功能性消化不良的总体患病率为5.4%; (2)不同性别FD的患病率不同, 女性患病率明显高于男性(5.91% vs 3.84%); (3)多因素回归分析结果: FD患病不吃宵夜、运动时间和睡眠时间少有关( $P < 0.05$ ).

## ■背景资料

功能性胃肠病是一组以消化系统症状为主要表现的常见病、多发病, 其中以功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)最为常见. 据统计, 人群中每年约20%-30%的人有慢性或复发性消化不良症状, FD的患病率为20%左右. 我国以消化不良为主诉的患者占普通内科门诊的11.05%、占消化专科门诊的52.85%. 在美国, 消化不良患者在随访的一年中, 仍有症状的患者中有61%需要药物治疗, 43%的患者接受了胃肠道检查, 提示消化不良消耗大量的医疗资源. 因此, 功能性胃肠病严重地影响人们的工作和生活, 并造成医疗卫生资源的巨大花费, 给社会带来了沉重的负担.

## ■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室



## ■研发前沿

FD是常见病、多发病,尽管国内外做了大量的研究,但其发病机制仍未阐明.不同人群FD的流行病学特征不尽相同,针对以上的未知领域及研究仍有争议的地方,需要更广泛和深入的研究.

**结论:** 南宁市大学生FD的总体患病率为5.4%,是大学生人群的常见病和多发病,影响疾病的因素主要有性别、不吃宵夜、运动时间和睡眠时间等.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 功能性消化不良; 流行病学; 患病率; 影响因素

**核心提示:** 不同人群功能性消化不良的患病情况不同,可能与不同人群具有不同的疾病危险因素有关.我国幅员辽阔,不同地区、不同人群的功能性消化不良的流行病学特征亟待研究.

左国文, 梁列新, 姚萍, 黄丹, 刘鑫, 何宛容, 张法灿. 南宁市大学生功能性消化不良的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 263-267 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/263.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.263>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是指存在一种或多种起源于胃十二指肠区域的消化不良症状,并且缺乏能解释这些症状的任何器质性、系统性或代谢性疾病的一组临床综合征. FD是一常见病,多发病,一项系统评价<sup>[1]</sup>显示FD的人群患病率为11.5%-14.5%,但其病因和发病机制尚未完全明确.目前,国外开展了较为广泛的FD流行病学研究,不同人群FD的患病率和疾病影响因素不尽相同.有关大学生FD患病的研究不多,结果也存在较大差异.本研究采用随机整群抽样方法,应用标准的成人功能性胃肠病罗马III诊断性问卷,对南宁市大学生进行面访式调查,旨在了解西部少数民族地区大学生功能性消化不良的患病情况及其影响因素,为特定人群FD的防治提供一定的理论依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** (1)样本量估计: 国内报道20-29岁人群FD的患病率为11.06%, 取容许误差0.15P, 估计样本量约1600例, 增加样本量至2500例, 发放问卷2580份, 回收有效问卷2520份, 有效率达97.7%; (2)抽样方法及调查对象: 采用随机、分层、整群抽样的方法, 抽取南宁市区内广西师范学院在校全日制本科二年级学生2580例, 年龄18-22岁.

### 1.2 方法

**1.2.1 调查问卷:** 采用成人功能性胃肠病罗马III诊断性问卷功能性消化不良模块进行面访式调

查, 同时记录被调查者的人口学资料、饮食习惯、学习生活情况及既往健康状况.

**1.2.2 调查员:** 均为经过培训的高年级医学生和研究生, 在1 mo内完成调查问卷.

**1.2.3 调查问卷质量控制:** 问卷收回后由专人逐份检查, 剔除空白问卷、不完整问卷、可疑虚假问卷, 问卷由2人统一编号, 1人编写, 1人复核, 以保证编号是唯一的.

**1.2.4 评分:** 应用成人功能性胃肠病罗马III诊断性问卷的评分方法, 症状的频率分为“无或很少、有时、经常、很常见、几乎总是”, 分别记为“1、2、3、4分”, 以 $\geq 3$ 分判断消化不良症状的程度.

**1.2.5 诊断标准:** 按照罗马委员会统一制定的有关功能性消化不良问卷的国际评分方法诊断功能性消化不良, (1)符合以下1条或多条: 餐后饱胀不适; 早饱; 上腹痛; 上腹烧灼感; (2)没有可解释症状的器质性疾病. 诊断之前症状存在6 mo, 近3 mo症状符合诊断标准.

**1.2.6 排除标准:** 过去3 mo有与心脏无关的胸痛、烧心症状, 既往有胃溃疡、胃黏膜糜烂等消化系统器质性疾病, 既往有甲亢等全身代谢性疾病, 既往有腹部手术史, 近期服用非甾体类抗炎药等.

**1.2.7 评价指标:** 以百分数表示FD的患病率、以相对危险度表示各变量对FD患病的影响.

**统计学处理** 采用SPSS11.0软件进行统计分析, 患病率以百分率表示, 分类资料采用 $\chi^2$ 分析, 等级资料采用秩和检验, 采用Logistic回归进行多因素分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 FD的患病率** 调查学生2580例, 剔除不完整问卷60份, 回收有效问卷2520份, 年龄18-22岁, 平均年龄20.64岁 $\pm 1.035$ 岁, 其中男677例, 女1843例. FD的总患者数为135例, FD的总患病率为5.4%, 其中男26例(患病率为3.84%), 女109例(患病率为5.91%), 男女患病率之间有显著性差异( $\chi^2 = 4.199, P < 0.05$ ).

**2.2 FD与性别和生活习性的关系** 在调查FD与性别、生活习性的关系中, FD患病与女性、喜食酸制品食物、进食不规律、不吃宵夜等因素密切相关; 而与饮酒、吸烟、喝茶、进食生冷食物、进食辛辣食物、进食早餐等因素无关(表1).

**2.3 FD与学习、运动和睡眠的关系** FD患病与运动时间和睡眠时间过少密切相关, 与学习时间

## ■相关报道

国内外对普通自然人群进行了较为广泛的FD流行病学研究, 不同的研究显示FD的患病率不尽相同, 而且FD的患病情况存在地区、职业、性别、年龄、种族、经济状况、文化背景等方面的差异, 进一步的研究提示, 其影响因素包括遗传、环境、生活习惯等, 饮食习惯、生活方式、学习工作压力、应激等因素. 而不同人群的疾病影响因素也不尽相同, 有待进一步的研究.

表 1 FD组与对照组男女比率及生活习性的特点 $n(\%)$ 

因素	FD组	非FD组	$\chi^2$ 值	P值
性别			4.199	0.04
男	26(3.84)	651(95.16)		
女	109(5.91)	1734(94.06)		
吸烟			0.48	0.49
是	6(4.11)	140(95.89)		
否	129(5.43)	2245(94.57)		
饮酒			2.53	0.11
是	35(4.32)	775(95.68)		
否	100(5.85)	1610(94.15)		
喝茶			1.322	0.25
是	113(5.62)	1899(94.38)		
否	22(4.33)	486(95.67)		
酸制品			6.071	0.013
较多或一般	115(5.97)	1811(94.03)		
较少或无	20(3.37)	57(96.63)		
辛辣食品			1.356	0.244
较多或一般	107(5.65)	1784(94.34)		
较少或无	28(4.45)	601(95.55)		
生冷食品			2.611	0.106
较多或一般	101(5.85)	1626(94.15)		
较少或无	34(4.29)	759(95.71)		
进餐准时			6.146	0.013
较多或一般	78(4.59)	1623(95.41)		
较少或无	57(6.96)	762(93.04)		
进食早餐			0.238	0.626
较多或一般	110(5.26)	1982(94.74)		
较少或无	25(5.84)	403(96.16)		
进食宵夜			6.782	0.009
较多或一般	87(4.66)	1778(95.34)		
较少或无	48(7.33)	607(92.67)		

FD: 功能性消化不良.

无密切关系(表2).

2.4 FD患病影响因素的Logistic回归分析 将FD患者与非FD患者在生活方式及习性上有差异的因素喜酸、进餐不定时、进食宵夜、运动时间及睡眠时间引入Logistic回归分析模型, 结果显示, FD患病与不吃宵夜、运动时间和睡眠时间少有关,  $P$ 值分别为0.002、0.013、0.015; 而与喜食酸性食品、进餐不定时等因素无关( $P>0.05$ ).

### 3 讨论

功能性胃肠病的诊断经历了Manning标准、罗马 I、罗马 II, 直至目前的罗马III标准, 选用不同的诊断标准FD的患病率不同. 一项全球性的研究<sup>[2]</sup>统计, 以上消化道症状为诊断标准的消化不良患病率为23%-45%, 以罗马 I 标准调查的

患病率为18%-38%, 以罗马 II 标准调查的患病率为24%左右, 目前, 使用罗马III标准的患病率调查很少, 在中国, 广东、香港<sup>[3,4]</sup>的调查显示消化不良的患病率均为18%左右. 然而, 对同一对象分别使用不同的诊断标准, 患病率也存在差异, 台湾的研究<sup>[5]</sup>报道, 对同一对象使用罗马 I 和罗马 II 标准, 患病率分别为23.8%、11.8%. 以上的研究说明, 使用不同的诊断标准, FD患病率不同, 并且存在地域差异.

国内有关大学生FD的流行病学资料不多, 国内仅有的合肥、北京<sup>[6,7]</sup>两个有关大学生的调查显示: 消化不良的患病率分别8.3%、1.59%, 结果的差异与使用的诊断标准、研究方法不一有关. 我们使用成人罗马III标准的研究结果显示FD患病率为5.4%, 高于使用同一诊断标准的

### ■创新盘点

本研究表明, FD是南宁市大学生人群的常见病和多发病, 影响疾病的因素主要有性别、生活习惯、运动和睡眠等.

## ■应用要点

广泛开展不同自然人群的FD流行病学调查, 对了解不同人群的疾病相关危险因素, 提高FD的防治水平具有重要的理论意义和现实意义。

表 2 FD与学习、运动、睡眠时间的关系(h/d)

	总体	FD组	非FD组	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
<i>n</i>	2520	135	2385		
学习时间	7.34 ± 1.80	7.29 ± 1.99	7.34 ± 1.79	0.25	0.62
运动时间	4.54 ± 4.68	3.33 ± 2.49	4.61 ± 4.77	10.05	0.002
睡眠时间	7.63 ± 0.95	7.41 ± 1.11	7.64 ± 0.94	9.61	0.002

FD: 功能性消化不良。

北京在校大学生, 而低于使用自制量表的合肥地区大学生, 可能与采用的诊断标准、调查方法、研究对象等不同有关, 是否与存在地区经济差异、民族、生活方式等不同有关, 仍需进一步的研究。

本研究发现女性患病率明显高于男性 (5.91% vs 3.84%)。王巧民等<sup>[6]</sup>的研究报道合肥地区大学生FD的患病率在性别上无差异, 而胡景等<sup>[7]</sup>对北京地区大学生FD的流行病学调查研究显示女性患病率高于男性, 本研究的结果与之一致。多数来自普通人群的研究表明, FD患病率与性别无明显关系, 但也有研究<sup>[8-12]</sup>表明女性患病率明显高于男性, 造成不同性别FD患病率不同的原因可能与女性雌激素有关<sup>[13]</sup>, 但几乎没有证据显示FD的症状受月经周期的影响。也有研究<sup>[14]</sup>表明女性患病率高的原因可能与女性容易出现抑郁情绪有关。然而, 目前国内外的相关研究资料均较少, 大学生FD患病率与性别的关系仍需更深入的研究。

本研究结果显示某些饮食习惯、生活方式与FD的患病率有关, 经单因素分析后发现喜食酸制品、进餐不准时、不吃宵夜、运动时间及睡眠时间少与FD的患病率有一定的关系, 而与是否饮酒、吸烟等无关。进一步Logistic回归分析发现: 不吃宵夜、运动时间及睡眠时间少与FD的患病率有关。吸烟、饮酒以及某些不良的饮食习惯和生活方式是否为FD的影响因素, 各项研究报道均不一致<sup>[15-22]</sup>。王巧民等<sup>[6]</sup>的研究显示大学生FD发病与生活习惯和生活方式(饮酒、吸烟、咸辣饮食、冷食、三餐不定时和运动少等)无明显关系。而胡景等<sup>[7]</sup>的研究显示有不良饮食习惯及生活方式的人群患FD的概率明显高于对照组, 其研究报道造成此差异考虑可能与内脏敏感性及进食异常有关, 与本研究结果一致。左秀丽等<sup>[23]</sup>对进食某些食物后症状加重的FD患者进行研究发现IgG介导的食物过敏可能是其潜在的发病机制之一。目前关于饮食

习惯及生活方式与FD患病率之间的关系报道不一, 提示大学生的FD发病与其他人群不同, 有其特殊性, 但是也不能排除年龄分布、研究人群单一而产生的偏倚。不同的饮食习惯及生活方式是否影响胃肠动力、内脏高敏感有关或与个体差异有关仍有待深入研究。

我们的研究显示, FD患者存在睡眠障碍, 主要表现在睡眠不足及失眠, 睡眠时间减少是本地区大学生FD的影响因素之一。曼谷新分类明确了FD为一种神经支配调节障碍导致的胃肠运动和/或内脏感知异常的疾病, 即从包括精神心理因素在内的神经胃肠病学方面来揭示和解释其发病机制<sup>[24]</sup>, 大量的研究表明<sup>[25,26]</sup>FD患者与精神心理障碍性疾病重叠, 主要为焦虑、抑郁及躯体化, 而睡眠障碍是这类疾病最常见的临床表现之一。一些研究<sup>[25]</sup>使用匹茨堡睡眠质量指数量表对FD及伴有焦虑抑郁的FD进行睡眠质量的研究显示睡眠障碍与FD相关, 并且睡眠障碍的FD患者伴有焦虑抑郁。因此, 睡眠障碍与FD的患病密切相关, 并且可能与合并的精神心理障碍有关。

总之, 功能性消化不良是大学生人群中的常见病和多发病, 影响疾病的因素有性别、饮食习惯及生活方式。在疾病的防治上, 应结合大学生群体的疾病特点, 采取有针对性的防治措施, 提高疾病的防治水平。

## 4 参考文献

- 1 El-Serag HB, Talley NJ. Systemic review: the prevalence and clinical course of functional dyspepsia. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 19: 643-654 [PMID: 15023166 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2004.01897.x]
- 2 Mahadeva S, Goh KL. Epidemiology of functional dyspepsia: a global perspective. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 2661-2666 [PMID: 16718749]
- 3 陈旻湖, 钟碧慧, 李初俊, 彭晓忠, 胡品津. 广东城镇居民消化不良的流行病学调查. *中华内科杂志* 1998; 37: 312-314
- 4 Hu WH, Wong WM, Lam CL, Lam KF, Hui WM, Lai KC, Xia HX, Lam SK, Wong BC. Anxiety but not depression determines health care-seeking be-



- haviour in Chinese patients with dyspepsia and irritable bowel syndrome: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 2081-2088 [PMID: 12452941]
- 5 Lu CL, Lang HC, Chang FY, Chen CY, Luo JC, Wang SS, Lee SD. Prevalence and health/social impacts of functional dyspepsia in Taiwan: a study based on the Rome criteria questionnaire survey assisted by endoscopic exclusion among a physical check-up population. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 402-411 [PMID: 16028434]
  - 6 王巧民, 吴正祥, 殷保书, 郑邦海, 张开光, 丁西平, 张明黎. 合肥地区大学生功能性消化不良流行病学调查. *中国临床保健杂志* 2005; 8: 205-207
  - 7 胡景, 杨云生, 彭丽华, 孙刚, 郭旭, 王巍峰. 北京在校大学生功能性消化不良相关危险因素的调查. *第三军医大学学报* 2009; 31: 1498-1501
  - 8 Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Epidemiology and health care seeking in the functional GI disorders: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2290-2299 [PMID: 12358247 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05783.x]
  - 9 Lu CL, Lang HC, Chang FY, Chen CY, Luo JC, Wang SS, Lee SD. Prevalence and health/social impacts of functional dyspepsia in Taiwan: a study based on the Rome criteria questionnaire survey assisted by endoscopic exclusion among a physical check-up population. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 402-411 [PMID: 16028434]
  - 10 Kay L, Jørgensen T. Epidemiology of upper dyspepsia in a random population. Prevalence, incidence, natural history, and risk factors. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 2-6 [PMID: 8128172]
  - 11 Caballero-Plasencia AM, Sofos-Kontoyannis S, Valenzuela-Barranco M, Martín-Ruiz JL, Casado-Caballero FJ, López-Mañas JG. Irritable bowel syndrome in patients with dyspepsia: a community-based study in southern Europe. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 1999; 11: 517-522 [PMID: 10755255]
  - 12 王瑞, 唐承薇. 雌激素与功能性消化不良关系研究进展. *中国实用内科杂志* 2008; 28: 578-579
  - 13 Tougas G, Chen Y, Hwang P, Liu MM, Eggleston A. Prevalence and impact of upper gastrointestinal symptoms in the Canadian population: findings from the DIGEST study. Domestic/International Gastroenterology Surveillance Study. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2845-2854 [PMID: 10520832 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01427.x]
  - 14 Locke GR, Zinsmeister AR, Talley NJ, Fett SL, Melton LJ. Familial association in adults with functional gastrointestinal disorders. *Mayo Clin Proc* 2000; 75: 907-912 [PMID: 10994826 DOI: 10.4065/75.9.907]
  - 15 Bernersen B, Johnsen R, Straume B. Non-ulcer dyspepsia and peptic ulcer: the distribution in a population and their relation to risk factors. *Gut* 1996; 38: 822-825 [PMID: 8984017]
  - 16 Li Y, Nie Y, Sha W, Su H. The link between psychosocial factors and functional dyspepsia: an epidemiological study. *Chin Med J (Engl)* 2002; 115: 1082-1084 [PMID: 12173597]
  - 17 Koloski NA, Talley NJ, Boyce PM. Epidemiology and health care seeking in the functional GI disorders: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2290-2299 [PMID: 12358247 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05783.x]
  - 18 Lu CL, Lang HC, Chang FY, Chen CY, Luo JC, Wang SS, Lee SD. Prevalence and health/social impacts of functional dyspepsia in Taiwan: a study based on the Rome criteria questionnaire survey assisted by endoscopic exclusion among a physical check-up population. *Scand J Gastroenterol* 2005; 40: 402-411 [PMID: 16028434]
  - 19 Jones RH, Lydeard SE, Hobbs FD, Kenkre JE, Williams EI, Jones SJ, Repper JA, Caldow JL, Dunwoodie WM, Bottomley JM. Dyspepsia in England and Scotland. *Gut* 1990; 31: 401-405 [PMID: 2338264]
  - 20 Kay L, Jørgensen T. Epidemiology of upper dyspepsia in a random population. Prevalence, incidence, natural history, and risk factors. *Scand J Gastroenterol* 1994; 29: 2-6 [PMID: 8128172]
  - 21 Shah SS, Bhatia SJ, Mistry FP. Epidemiology of dyspepsia in the general population in Mumbai. *Indian J Gastroenterol* 2001; 20: 103-106 [PMID: 11400800]
  - 22 Leung FW. Endoscopic reflectance spectrophotometry and visible light spectroscopy in clinical gastrointestinal studies. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1669-1677 [PMID: 17932761 DOI: 10.1007/s10620-007-0026-8]
  - 23 左秀丽, 李延清, 李文捷, 郭玉婷, 曾娟. 食物抗原特异性IgG和IgE在功能性胃肠病发病中的作用. *胃肠病学* 2008; 13: 95-99
  - 24 Wingate D, Hongo M, Kellow J, Lindberg G, Smout A. Disorders of gastrointestinal motility: towards a new classification. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17 Suppl: S1-14 [PMID: 12000590]
  - 25 郭晓鹤, 李贞娟, 朱艳丽, 张彩凤, 韩宇. 功能性消化不良与睡眠障碍的相关分析. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 9: 836-838
  - 26 孙晓娜, 赵长普, 陈玉龙. 功能性消化不良患者的睡眠行为及睡眠生理学特征分析. *中国全科医学* 2007; 10: 1955-1957

# 同行评价

本文选题好, 设计合理, 具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 上消化道息肉临床诊治332例

陈 翀, 张月华, 叶学勇, 章格宁, 倪 敏, 吴有香, 汪玲荣

## ■背景资料

上消化道息肉是临床常见病, 有一定的恶变倾向, 其早诊断、早治疗是消化科医师必须面对的课题。基层医院技术有限、条件简陋, 积极而有效地诊治上消化道息肉具有重要意义。

陈翀, 张月华, 叶学勇, 安徽省祁门县人民医院消化内科 安徽省黄山市 245600

章格宁, 汪玲荣, 安徽省祁门县人民医院病理科 安徽省黄山市 245600

倪敏, 吴有香, 安徽省祁门县人民医院胃镜室 安徽省黄山市 245600

陈翀, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病及消化内镜临床诊治研究。  
作者贡献分布: 此课题由陈翀设计; 数据分析及论文写作由陈翀完成; 陈翀、张月华及叶学勇共同完成内镜的检查及治疗; 章格宁与汪玲荣共同完成组织病理诊断; 倪敏与吴有香协助完成资料收集与整理及内镜诊治中护理。

通讯作者: 陈翀, 副主任医师, 245600, 安徽省祁门县中心南路16号, 安徽省祁门县人民医院消化内科。541084216@qq.com

收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-12-05

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-01-18

## Clinical and endoscopic features and endoscopic therapy of upper gastrointestinal polyps: An analysis of 332 cases

Chong Chen, Yue-Hua Zhang, Xue-Yong Ye, Ge-Ning Zhang, Min Ni, You-Xiang Wu, Ling-Rong Wang

Chong Chen, Yue-Hua Zhang, Xue-Yong Ye, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Qimen County, Huangshan 245600, Anhui Province, China

Ge-Ning Zhang, Ling-Rong Wang, Department of Pathology, the People's Hospital of Qimen County, Huangshan 245600, Anhui Province, China

Min Ni, You-Xiang Wu, Gastroscopy Room, the People's Hospital of Qimen County, Huangshan 245600, Anhui Province, China

Correspondence to: Chong Chen, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Qimen County, 16 Zhongxin South Road, Qimen 245600, Anhui Province, China. 541084216@qq.com

Received: 2013-10-23 Revised: 2013-12-05

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinical and endoscopic characteristics of upper gastrointestinal polyps in Qimen county, and to evaluate the efficacy of endoscopic therapy for upper gastrointestinal polyps.

**METHODS:** A total of 5037 cases who underwent gastroscopy at our hospital from April 2009 to April 2013 were retrospectively analyzed. Upper gastrointestinal polyps were observed gastroscopically. Part of upper gastrointestinal polyps was removed gastroscopically, and the specimens were

subjected to pathological examination. Forty-four patients were followed for 3 to 36 mo.

**RESULTS:** A total of 332 patients with polyps were enrolled, including 146 (43.98%) males and 186 (56.02%) females. Approximately 64.46% of patients ranged in age between 40 and 60 years old. Of all patients enrolled, 88.5% had Yamata type I-II disease; 93.98% had polyps with a diameter < 1.5 cm; 75.9% (252) had single polyp, and 24.1% (80) had multiple polyps. The polyps were mainly located in the corpus and body (38.6%), antrum (32.8%), and duodenum (15.1%). Of 107 patients who underwent endoscopic therapy, all polyps were excised successfully once. During the follow-up period, 5 of 44 patients developed recurrent polyps, among whom 4 had multiple polyps.

**CONCLUSION:** Upper gastrointestinal polyps tend to occur in female patients between 40 and 60 years old. Single polyp, mainly found in the gastric antrum and fundus, occurs more often than multiple ones. Multiple polyps have a higher recurrence rate than single polyp. Endoscopic treatment is convenient, effective and safe for upper gastrointestinal polyps.

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

**Key Words:** Qimen county; Upper gastrointestinal polyp; Endoscopy; Therapy

Chen C, Zhang YH, Ye XY, Zhang GN, Ni M, Wu YX, Wang LR. Clinical and endoscopic features and endoscopic therapy of upper gastrointestinal polyps: An analysis of 332 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 268-272 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/268.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.268>

## 摘要

**目的:** 回顾性分析我院上消化道息肉临床、内镜特点及进行内镜疗效观察。

**方法:** 选择2009-04/2013-04于我院行胃镜检查的5037例进行回顾性分析, 对所发现的上消化道息肉患者进行内镜下观察, 部分予以内镜下切除, 并行病理检查, 对其中44例进行随访观

## ■同行评议者

李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医院消化科

察, 随访时间为3-36 mo.

**结果:** 共收集332例上消化道息肉患者, 检出率为6.59%. 男146例(43.98%), 女186例(56.02%). 64.46%的上消化道息肉患者年龄40-60岁. 88.5%为山田 I - II 型; 93.98%为直径<1.5 cm; 单发息肉252例(75.9%), 多发息肉80例(24.1%); 所有上消化道息肉发生部位为食道15例(4.5%)、贲门21例(6.3%)、胃底体128例(38.6%)、胃窦109例(32.8%)、十二指肠50例(15.1%). 107例患者给予内镜下治疗, 107例患者共163枚息肉, 经高频电切联合电凝55例(A组, 83枚), 经高频电切联合氩离子凝固术52例(B组, 80枚), 均一次性顺利切除, B组治疗止血效果优于A组( $P<0.05$ ). 44例随访患者, 5例复发, 其中4例为多发息肉.

**结论:** 上消化道息肉多见于40-60岁的患者, 女性多见; 上消化道息肉单发多见, 多位于胃窦、胃底、胃体部, 多发息肉治疗后易复发; 上消化道息肉是常见病, 需积极治疗, 内镜下治疗操作简便、有效、安全. 氩离子凝固术止血效果更好.

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 祁门县; 上消化道息肉; 内镜; 治疗

**核心提示:** 本研究回顾了祁门县医院4年内5037例行胃镜检查者, 并对其中332例上消化道息肉患者进行了临床、内镜特点及病理分析, 对107例患者的内镜治疗效果进行分析并随访. 从中了解到本地区上消化道息肉的临床、内镜特点及病理分型, 并选择了适合基层医院的上消化道息肉内镜下的治疗方法.

陈翀, 张月华, 叶学勇, 章格宁, 倪敏, 吴有香, 汪玲荣. 上消化道息肉临床诊治332例. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 268-272 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/268.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.268>

## 0 引言

祁门县地处皖南山区, 全县总人口不足20万. 祁门县人民医院是卫生部批准的二级甲等医院, 我院的诊治水平基本反映了祁门县的诊治水平. 消化系息肉是消化系统的常见病和多发病, 因其发展具有潜在恶性倾向<sup>[1]</sup>, 明确消化系息肉的临床特征及诊治手段具有重要意义. 为进一步了解祁门县上消化道息肉的临床特征及其治疗方法的有效性、安全性, 本文对2009-04/2013-04我院内镜下诊断的上消化道息肉332例患者的临床资料进行回顾

性分析, 对其中107例患者进行内镜下治疗, 并随访观察了内镜下治疗的44例患者. 现报告如下.

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 收集2009-04/2013-04于我院行胃镜检查的患者5037例, 排除了癌变患者以及巨大的肿瘤患者, 发现上消化道息肉患者332例, 其中269例患者进行了病理组织学检查, 有107例患者进行了内镜下治疗. 对以上患者临床资料进行回顾性分析, 以探讨我县上消化道息肉的临床特征及治疗方法, 以便我们今后更好地诊治上消化道息肉.

### 1.2 方法

**1.2.1 诊断:** 采用Olympus GIF V70胃镜检查诊断, 对内镜下发现息肉如有可能行病理组织学检查, 待病理回报后进行治疗. 治疗术前常规检查血常规、凝血四项、胸透或胸片、心电图等检查, 内镜医生根据息肉具体情况实行活检钳钳除、氩离子灼除、圈套器套扎电切或高频电凝电切等治疗方法. 仪器为YHA300型氩气高频电刀并附氩离子束凝固导管(山东玉华电器有限公司提供), 圈套器为WILSON WF-2323DT圈套器.

**1.2.2 幽门螺杆菌检测:** 检查前2 wk均未使用抗生素及其他对检测有影响的药物, 在胃镜下于胃窦距幽门2-5 cm取黏膜行快速尿素酶实验, 阳性者即为幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染, 阴性者即为非*H. pylori*感染者.

**1.2.3 病理组织学检查:** 将通过钳夹或息肉切除所取得的组织标本固定于4%中性甲醛溶液, 常规石蜡包埋, 3  $\mu$ m切片. 由我院病理科医生阅片并参考《诊断病理学》对息肉进行组织学评价.

**统计学处理** 利用Excel软件建立数据库, 采用SPSS17.0软件对数据进行分析, 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 应用 $t$ 检验; 计数资料以率表示, 采用 $\chi^2$ 检验, 计数资料在总样本量 $n<40$ 或者任何一项理论值 $T<1$ 时使用Fisher's精确概率法检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 一般资料** 5037例接受胃镜检查的患者, 332例患者存在上消化道息肉, 息肉检出率为6.59%. 其中男146例(43.98%), 女186例(56.02%), 男:女=1:1.27. 年龄15-79岁, 平均年龄为50.38岁 $\pm$ 12.01岁. 各年龄段发病情况如图1, 从图1可知上消化道息肉多见于40-60岁( $\geq 40$ 及 $<60$ 岁)中年患者, 有214例占64.46%, 而40岁以下的患者仅有44例, 占13.25%, 40岁以上的患者共有288例, 占86.75%.

**2.2 内镜检查一般情况** 332例上消化道息肉患

### ■ 研发前沿

上消化道息肉在临床上已有较多报道, 祁门县地处皖南山区, 祁门县医院是二级甲等医院, 进一步地了解皖南山区上消化道息肉的发病情况, 以及基层医院对上消化道息肉的诊治现状十分必要.



## ■相关报道

黄骏等认为经内镜高频电切联合氩离子凝固术治疗胃息肉疗效确切,操作简单、安全性好、不良反应少,耗时少,优于高频电切联合电凝治疗,有较高的临床推广价值。

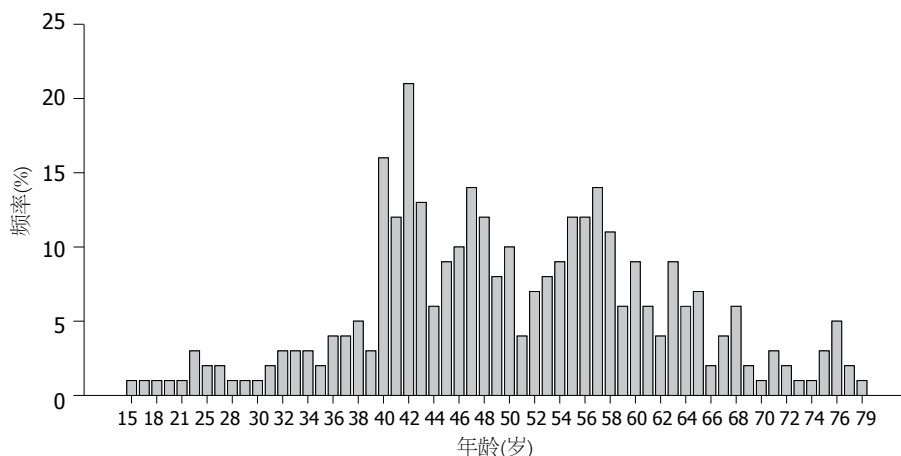


图1 各年龄段发病情况条形图。

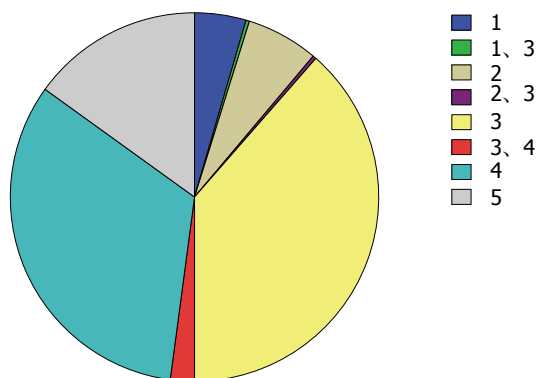


图2 上消化道息肉发生部位饼形图。部位: 1: 食道; 2: 贲门; 3: 胃底体; 4: 胃窦; 5: 十二指肠。

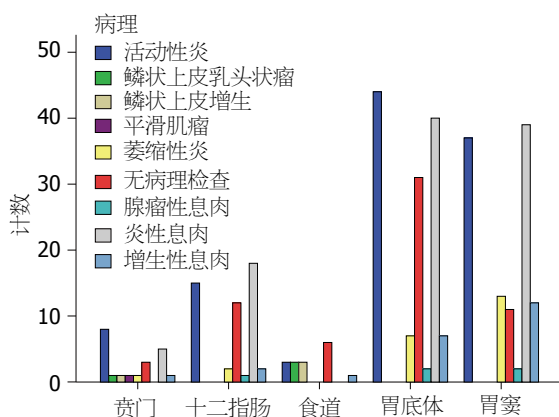


图3 上消化道息肉部位与病理组织学类型条形图。

者以息肉单发多见,有252例,占75.9%,息肉多发80例,占24.1%;山田分型以I、II型为主,其中,I:172例,占51.8%;II:122例,占36.7%;III:26例,占7.8%;IV:12例,占3.6%。息肉大小:直径 $\leq 0.5$  cm有175例(52.7%),0.5-1.5 cm有137例(41.3%), $\geq 1.5$  cm有20例(6.0%)。发生部位如下:食道15例(4.5%)、贲门21例(6.3%)、胃底体128例(38.6%)、胃窦109例(32.8%)、十二指肠50例(15.1%)、同时发生于多部位9例(2.7%)(图2)。

332例患者中有308例患者有*H. pylori*检测结果,308例中*H. pylori*感染者64例,*H. pylori*感染率为20.78%。息肉发生部位与*H. pylori*感染间无明显相关性,其 $\chi^2 = 10.92$ , $P = 0.207$ 。

2.3 上消化道息肉病理检查 332例患者中有269例患者进行了病理检查,病理检查率为81.0%,有19.0%(63例)患者因患者拒绝行病理检查或内镜医师内镜检查时发现息肉小、肉眼观察恶变可能性小以及取材困难而未取材病理检查。从我院检查中发现,在胃镜下诊断为上消化道息肉的患者中而病理诊断为炎性增生的有130例,占有病理检查患者的48.33%(130/269),上消化道息肉以炎性息肉为主,占37.92%(102/269),增生性息肉占8.55%(23/269),而腺瘤性息肉在上消化道息肉中少见,仅占1.86%(5/269)(表1)。从图3可知,胃底体及胃窦息肉以活动性炎以及炎性息肉为主。

## 2.4 治疗

2.4.1 内镜下治疗: 332例患者中有107例患者进行了内镜下治疗,107例患者共切除息肉163枚。随机方法分成A、B两组,A组经高频电切联合电凝治疗55例(83枚息肉),B组经高频电切联合氩离子凝固术治疗52例(80枚息肉)。所有患者均一次性顺利切除,两组临床资料及并发症具体如表2。从表2可知,两组不同切除术患者在临床资料,如性别、年龄、息肉大小、息肉山田分型以及息肉是否多发等无统计学差异( $P > 0.05$ )。两组患者术后并发症比较,术中、术后两组未见明显活动性出血及消化道穿孔,但两组在术后3 d行大便潜血实验发现,A组潜血试验阳性发生率为30.91%(17/55),而B组潜血试验阳性率为11.54%(6/52),两组比较有统计学意义( $P < 0.05$ ),说明高频电切联合电凝组少量出血的发生率高于高频电切联合氩离子凝固术组。

2.4.2 随访情况: 嘱所有上消化道息肉患者行内

表 1 上消化道息肉部位与病理组织学类型 (n)

部位	活动性炎	鳞状上皮乳头状瘤	鳞状上皮增生	平滑肌瘤	萎缩性炎	腺瘤性息肉	炎性息肉	增生性息肉	无病理检查	总计
贲门	8	1	1	1	1	0	5	1	3	21
十二指肠	15	0	0	0	2	1	18	2	12	50
食道	3	3	3	0	0	0	0	1	6	16
胃底体	44	0	0	0	7	2	40	7	31	131
胃窦	37	0	0	0	13	2	39	12	11	114
总计	107	4	4	1	23	5	102	23	63	332

表 2 两治疗组患者临床资料及并发症比较

分组	n	息肉数目	男/女	年龄(岁)	山田分型(n) (I/II/III/IV)	单发或多发 (单发/多发)	息肉大小(n) (<0.5/0.5-1.5/>1.5 cm)	大便潜血 (阳性/阴性)
A组	55	83	20/35	48.62 ± 11.70	25/23/6/1	44/11	22/32/1	17/38
B组	52	80	22/30	49.04 ± 11.69	18/27/5/2	40/12	17/33/2	6/46
P值			0.529	0.853	0.615	0.699	0.636	0.015

表 3 44例息肉复查患者是否复发与治疗及息肉特征比较

分组	n	单发或多发 (单发/多发)	治疗方法 (电凝组/氩气组)
未复发	39	32/7	19/20
复发	5	1/4	1/4
P值		0.003	0.225

镜下治疗术后3-12 mo复查胃镜, 107例行内镜下治疗患者有44例患者术后有随访资料, 随访率为41.1%, 随访时间为3-36 mo. 44例随访患者复查后发现息肉复发5例的患者中4例为多发性息肉, 多发性息肉患者复发率为36.36%(4/11); 1例复发患者为单发性息肉, 单发性息肉患者复发率为3.03%(1/33). 可见息肉复发与是否为多发性息肉有关( $P<0.05$ ), 多发性息肉易复发, 复发后继续内镜下治疗或随访. 5例复发患者中1例为高频电切联合电凝治疗组, 电凝治疗组复发率为5.00%(1/20); 而4例为高频电切联合氩离子凝固术组, 氩气组复发率为16.67%(4/24). 息肉复发与两种治疗方法相比无统计学差异( $P>0.05$ ), 说明息肉复发与两种治疗方法无关(表3).

### 3 讨论

为了解皖南山区祁门县上消化道息肉的发生、临床特征以及基层医院对上消化道息肉的诊治水准, 笔者收集了祁门县人民医院近4年来的上消化道息肉患者, 对上消化道息肉的临床特征及诊治情况进行相关分析.

### ■创新盘点

本研究为了解上消化道息肉内镜下切除术后出血并发症的发生率, 选用最简单的大便潜血实验来评估术后少量出血并发症, 这是适合基层医院的、经济、简单、易行的方法.

3.1 发病情况 上消化道息肉已有较多报道, 其发病率报导也不尽相同, 本文为6.59%, 较国内的冯丽英等<sup>[2]</sup>与杜文礼等<sup>[3]</sup>报道的低, 而较刘婉薇等<sup>[4]</sup>与王晨等<sup>[5]</sup>报道的高, 说明上消化道息肉是消化系常见病. 发病率以女性多见, 男: 女为1: 1.27, 与刘婉薇等<sup>[4]</sup>报道相似. 发病年龄为15-79岁, 平均年龄为50.38岁±12.01岁, 发病年龄以40岁以上为主, 这与刘婉薇等<sup>[4]</sup>报导类似, 占86.75%; 主要集中于40-60岁(≥40及<60岁)的中年患者, 共有214例占64.46%, 所以中年患者更需重视上消化道息肉的诊治.

3.2 内镜特征 内镜下单发息肉多见, 占75.9%; 山田分型以 I、II型为主, 两者共占88.5%; 息肉大小以直径<1.5 cm为主, 共有312例, 占93.98%. 息肉好发于胃窦部及胃底部, 共占71.4%. 从以上分析可见, 上消化道息肉以单发、山田 I 及 II型多见, 息肉大小上以直径<1.5 cm为主, 好发部位是胃窦、胃底、胃体部, 这与国内多家报道相似<sup>[2,4,6,7]</sup>. 上消化道息肉患者 *H. pylori* 感染率为20.78%, 这与刘婉薇<sup>[4]</sup>报道的相似, 但本研究中发现息肉发生部位与 *H. pylori* 感染间无明显相关性, 与刘婉薇<sup>[4]</sup>报道不同, 考虑可能系本地区上消化道息肉的成因与生活、饮食等多方面引起, 而 *H. pylori* 感染不是主要原因.

3.3 病理分型 消化系息肉分为肿瘤性(腺瘤)和非肿瘤性两大类. 据报道, 炎症性息肉、幼年性息肉及增生性息肉属于非肿瘤性息肉, 一般不发生恶变<sup>[8]</sup>, 且一般认为, 炎症性和增生性息肉癌变要经过腺瘤期, 故以往仅对于腺瘤性息肉提倡积极治疗<sup>[9]</sup>, 但亦有许多研究发现<sup>[10,11]</sup>, 炎症性及增生性息肉可直接发生不典型增生而导致癌变, 故

### ■应用要点

本研究为了解皖南山区上消化道息肉临床、内镜特点以及基层医院上消化道息肉的诊治现状, 有助于本地区上消化道息肉的临床诊治.

## ■同行评价

本文病例多,工作量大,具有比较高的临床实际意义。

提倡炎性及增生性息肉也应该积极治疗与随访。332例患者中有269例患者进行了病理检查,病理检查率为81.0%,有19.0%(63例)患者因患者经济原因拒绝行病理检查或内镜医师内镜检查时发现息肉小、肉眼观察恶变可能性小以及取材困难而未取材病理检查。本文中上消化道息肉以炎性息肉为主,虽其癌变的几率较小,但仍有可能癌变,故早诊断、早治疗,对患者还是有较大的获益;同时内镜医师需不断提高内镜的诊治水平,对发现息肉的患者尽可能行病理组织学检查。

3.4 治疗 上消化道息肉的数量、形态、大小,在不同的患者中各异,所以采用的治疗方法也不相同。山田I、II型息肉由于无蒂故不利于圈套器圈套,一般不用电切,而采用电凝或氩离子束灼除;山田III、IV型息肉有蒂,利于圈套器圈套行电切治疗,而术后残端渗血又需电凝或氩离子束止血。这样,就可选择高频电切联合氩离子凝固术或高频电切联合高频电凝术。本文将内镜下行息肉切除术的患者随机分成两组,两组在临床资料,如年龄、性别、息肉大小、息肉山田分型以及息肉是否多发等方面比较无统计学差异( $P>0.05$ ),两组患者均能一次性顺利切除,而术后亦无活动性出血、穿孔等并发症发生,但在术后大便潜血实验阳性率检查发现,高频电凝组潜血阳性率(30.91%)明显高于氩离子凝固术组术后潜血试验阳性率(11.54%),两组比较有统计学意义( $P<0.05$ ),说明氩离子凝固术对局部渗血止血效果更彻底、有效,这与黄骏等<sup>[12]</sup>的报道相似。氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)是一种非接触式电凝固技术。因其具有凝固深度均匀、无碳化等特性,APC已成为目前最富有创造精神的治疗手段之一<sup>[13,14]</sup>。APC对息肉的处理非常自如、简便,有独特的优势<sup>[15,16]</sup>。从治疗后胃镜复查随访情况可见,多发性息肉易复发( $P<0.05$ )。息肉复发与两种治疗方法无关( $P>0.05$ )。

高频电切联合电凝以及高频电切联合氩离子凝固术是治疗上消化道息肉的有效方法,但氩离子凝固术对电切后的止血更彻底、更有效,操作方面更简单、易行,值得在临床特别在基层医院进一步推广。

总之,上消化道息肉是消化系统常见病,本地以女性多见,男:女为1:1.27,多见于40-60岁的中年患者;内镜上以单发息肉、山田I-II型、直径<1.5 cm大小的息肉多见,主要发病部位是胃窦、胃底和胃体;病理组织学上以炎性增生性息肉多见,

腺瘤性息肉少见。早诊断、早治疗能减少息肉的癌变几率,而且多发性息肉易复发,需加强随访观察。

内镜下治疗是上消化道息肉的主要治疗方法,高频电切联合电凝以及高频电切联合氩离子凝固术是治疗上消化道息肉的有效方法,但氩离子凝固术对电切后的止血更彻底、更有效,操作方面更简单、易行,值得在临床特别在基层医院进一步推广。

## 4 参考文献

- 1 Weiss MM, Kuipers EJ, Postma C, Snijders AM, Stolte M, Vieth M, Pinkel D, Meuwissen SG, Albertson D, Meijer GA. Genome wide array comparative genomic hybridisation analysis of premalignant lesions of the stomach. *Mol Pathol* 2003; 56: 293-298 [PMID: 14514924 DOI: 10.1136/mp.56.5.293]
- 2 冯丽英. 633例消化道息肉的诊治分析. *中原医刊* 2005; 32: 51-52
- 3 杜文礼, 张亚历, 赖卓胜. 胃息肉与HP感染、黏膜炎症及黏膜萎缩相关性的研究. *现代消化及介入诊疗杂志* 2000; 5: 8-11
- 4 刘婉薇, 马娟, 余蓬英, 沙卫红, 王启仪. 上消化道息肉临床特征分析2376例. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 709-713
- 5 王晨, 文军宝, 姚小军, 刘宏生, 王基伟, 白冬梅. 高原地区上消化道疾病胃镜分析13944例. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2506-2510
- 6 朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平. 老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 179-183
- 7 张莉, 李元平, 王爱民, 付晓霞. 消化道息肉3314例临床、病理特点及内镜下治疗分析. *华北国防医药* 2009; 21: 36-37
- 8 Rubio CA, Jaramillo E, Lindblom A, Fogt F. Classification of colorectal polyps: guidelines for the endoscopist. *Endoscopy* 2002; 34: 226-236
- 9 常艳, 于晓红, 路聪哲. 大肠息肉90例临床及病理分析. *实用医学杂志* 2009; 25: 2045-2046
- 10 欧阳玉洁, 龙泽民. 483例内镜下治疗上消化道息肉临床分析. *海南医学院学报* 2011; 17: 951-953, 956
- 11 Yao T, Kajiwarra M, Kuroiwa S, Iwashita A, Oya M, Kabashima A, Tsuneyoshi M. Malignant transformation of gastric hyperplastic polyps: alteration of phenotypes, proliferative activity, and p53 expression. *Hum Pathol* 2002; 33: 1016-1022 [PMID: 12395375 DOI: 10.1053/hupa.2002.126874]
- 12 黄骏, 吴小微, 曾勇, 于皆平. 高频电切联合氩离子凝固术在治疗胃多发性息肉中的应用. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 414-416
- 13 陈东风, 刘重阳, 周世亮, 彭安国, 闫庆军, 李平, 张晓荣. 内镜下氩离子凝固术治疗消化道息肉的临床价值. *第三军医大学学报* 2003; 25: 531-533
- 14 张芸, 张晓荣. 氩离子凝固术治疗消化道出血及息肉的疗效观察. *现代医药卫生* 2003; 19: 1396
- 15 吴云林, 冯莉, 孙波, 季圣昉, 季雁浩, 方文莉, 诸琦, 钟捷. 氩离子血浆凝固术治疗胃肠广基息肉与出血. *中华消化内镜杂志* 2001; 18: 325-327
- 16 赵曙光, 王旭霞, 黄裕新, 闻勤生, 赵保民, 张少玲, 姜惠玲. 氩离子凝固术治疗消化道息肉和疣状胃炎的疗效观察. *中国内镜杂志* 2004; 10: 20-21, 25

编辑 田滢 电编 闫晋利





# VEGF 165b在结直肠癌组织中的差异表达及其意义

赵一军, 梁勇, 石忱长, 韩华中, 朱庆超, 杨俊

赵一军, 石忱长, 韩华中, 朱庆超, 杨俊, 上海交通大学附属上海市第六人民医院普外科 上海市 200233

梁勇, 徐州医学院附属医院普外科 江苏省徐州市 221002

赵一军, 硕士, 主要从事胃肠外科及外科营养的临床与基础研究。作者贡献分布: 此课题由杨俊与梁勇设计; 研究过程由赵一军与韩华中操作完成; 数据分析及本论文写作由赵一军完成; 论文由杨俊、石忱长及朱庆超审阅。

通讯作者: 杨俊, 副主任医师, 硕士生导师, 200233, 上海市宜山路600号, 上海第六人民医院普外科。yangjuns@foxmail.com

收稿日期: 2013-10-25 修回日期: 2013-11-13

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-18

## Clinical significance of differential expression of VEGF 165b between colorectal cancer and normal intestinal mucosa tissues

Yi-Jun Zhao, Yong Liang, Chen-Zhang Shi, Hua-Zhong Han, Qing-Chao Zhu, Jun Yang

Yi-Jun Zhao, Chen-Zhang Shi, Hua-Zhong Han, Qing-Chao Zhu, Jun Yang, Department of Surgery, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China

Yong Liang, Department of Surgery, Xuzhou Medical College Affiliated Hospital, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jun Yang, Associate Chief Physician, Department of Surgery, Shanghai Jiao Tong University Affiliated Sixth People's Hospital, 600 Yishan Road, Shanghai 200233, China. yangjuns@foxmail.com

Received: 2013-10-25 Revised: 2013-11-13

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the differential expression of vascular endothelial growth factor (VEGF) 165b between colorectal cancer (CRC) and normal intestinal mucosa tissues and its role in the development of CRC.

**METHODS:** Real-time qRT-PCR was performed to detect the expression of VEGF 165b mRNA in 20 fresh CRC tissues and 20 matched normal intestinal mucosa tissues. Statistical methods were used to compare the expression of VEGF 165b in CRC tissues and normal intestinal mucosa tissues; tissues inside and outside the serosal layer; tissues with and without lymph node metastasis; tissues of TNM stages II and III tumors.

**RESULTS:** The positive expression rate of VEGF 165b mRNA in normal intestinal mucosa tissues was significantly higher than that in CRC tissues ( $P = 0.006$ ). The expression of VEGF 165b was not statistically significant between CRC tissues and normal intestinal mucosa tissues, between tissues inside and outside the serosal layer, between tissues with and without lymph node metastasis, or tissues between TNM stages II and III tumors.

**CONCLUSION:** VEGF 165b might play a role in inhibiting the development of CRC and provide a new target for the diagnosis, prognosis and treatment of this malignancy.

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

**Key Words:** Colorectal Cancer; Alternative splicing; VEGF 165b; Real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction

Zhao YJ, Liang Y, Shi CZ, Han HZ, Zhu QC, Yang J. Clinical significance of differential expression of VEGF 165b between colorectal cancer and normal intestinal mucosa tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 273-278  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/273.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.273>

## 摘要

**目的:** 研究血管内皮生长因子165b(vascular endothelial growth factor 165b, VEGF 165b)在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)组织及其配对的正常黏膜组织中的表达情况, 探讨其与结直肠癌发生与发展的关系。

**方法:** 用实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(real-time quantitative reverse transcriptase polymerase chain reaction, real-time qRT-PCR)分别检测20对结直肠癌组织及其配对的正常肠黏膜组织中VEGF 165b mRNA的表达情况; 运用统计学方法对结直肠癌组织与正常黏膜组织、浆膜内侧与浆膜外侧组织、无淋巴结转移与有淋巴结转移组织以及TNM分期Ⅱ期与Ⅲ期组织中的VEGF 165b mRNA的表达情

## ■背景资料

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) 165b是VEGFA最重要的选择性剪接变体之一, 具有拮抗血管生长、抑制肿瘤生长的作用。以往的研究显示VEGF 165b在肾细胞癌、前列腺癌、膀胱癌、结直肠癌、恶性黑色素瘤、尤文氏肉瘤、糖尿病视网膜膜、Denys-Drash综合征、系统性硬化症等疾病密切相关。本实验进一步探讨VEGF 165b与结直肠癌发生与发展的关系。

## ■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

## ■研究前沿

选择性剪接是一种重要的转录后调控机制,具有促进基因组复杂性和蛋白质组多样性的作用,其过程受多种顺式作用元件和反式作用因子的调控。选择性剪接及其调控机制的异常与包括癌症在内的多种疾病密切相关。

况统计与分析。

**结果:** VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显低于正常黏膜组织的表达,统计具有显著性差异( $P = 0.006$ );在浆膜内侧与浆膜外侧组织、无淋巴结转移与有淋巴结转移组织以及TNM分期Ⅱ期与Ⅲ期组织中的VEGF 165b mRNA的表达无明显差别,统计无显著性差异( $P > 0.05$ )。

**结论:** VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显低于正常黏膜组织的表达,提示VEGF 165b可能具有抗血管生成、抑制肿瘤生长的作用,为结直肠癌的诊断、治疗和预后提供新的靶点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结直肠癌; 选择性剪接; VEGF 165b; 实时荧光定量逆转录聚合酶链反应

**核心提示:** 本文通过检测血管内皮生长因子165b在结直肠癌组织及其配对的正常黏膜组织中的表达情况,表明VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显低于正常黏膜组织的表达,提示VEGF 165b可能具有抗血管生成、抑制肿瘤生长的作用。

赵一军, 梁勇, 石忱长, 韩华中, 朱庆超, 杨俊. VEGF 165b在结直肠癌组织中的差异表达及其意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 273-278 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/273.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.273>

## 0 引言

结直肠癌是最常见的消化系恶性实体肿瘤之一,其发生与发展都依赖于血管生成,而血管的生成主要由促血管生成因子和抑血管生成因子调控失衡,促血管生成因子增多所致。血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)在调控血管生成方面具有重要意义,其家族成员包括VEGFA、PIGF、VEGFB、VEGFC和VEGFD(FIGF),而VEGFE和VEGFF分别存在于病毒和蛇类毒液中。VEGFA作为VEGF基因家族最重要的成员之一,由8个外显子和7个内含子构成,其中外显子6、7、8可选择性剪接,至少产生25种选择性剪接变异体。VEGFA mRNA外显子8的C末端的剪接方式不同可产生两大亚家族剪接体,即VEGFAxxx和VEGFAxxx<sub>b</sub>, xxx代表氨基酸的数目。VEGFAxxx是通过临近剪接位点(8a)方式产生,具有促血管生成作用,而VEGFAxxx<sub>b</sub>是通过远端剪接位点(8b)方式产生,具有

抗血管生成作用。VEGF 165b由7个外显子构成,缺乏外显子6,由Bates等<sup>[1]</sup>于2002年首次从肾小球上皮细胞分离得到,具有抑制血管生成的作用,在结构上与VEGF 165仅表现末端6个氨基酸的不同。研究发现VEGF 165b在肾细胞癌、前列腺癌、膀胱癌、结直肠癌、恶性黑色素瘤、尤文氏肉瘤、糖尿病视网膜、Denys-Drash综合征等组织中表达下降<sup>[2-8]</sup>,在系统性硬化症等组织中表达上调<sup>[9-11]</sup>,具有拮抗血管生长、抑制肿瘤生长的作用。本研究采用实时定量聚合酶链反应检测VEGF 165b在结直肠癌组织和正常黏膜组织中的表达情况,初步探讨其与结直肠癌发生发展的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-01/2013-01在上海交通大学附属第六人民医院普外科进行手术的结直肠癌患者20例(病理证实),于术中切除肿瘤标本后剪取肿瘤处黏膜组织和距肿瘤10 cm以上正常大肠黏膜组织(病理证实无肿瘤浸润转移)作为肿瘤组和正常黏膜组。全部病例术前均未行放射治疗、化学治疗;其中男11例,女9例。年龄39-81岁,平均65岁。并对临床资料按照浆膜内侧与浆膜外侧、无淋巴结转移与有淋巴结转移以及TNM分期Ⅱ期与Ⅲ期(Ⅰ期与Ⅳ期例数少,无统计意义)进行分组(表1)。每例取肿瘤组和正常黏膜组新鲜标本各3块,离体后立即放入液氮速冻待检。实时定量聚合酶链反应(qRT-PCR)方法检测20例结直肠癌组织中VEGF 165b的表达、20例正常黏膜组织中VEGF 165b的表达。本研究所有临床标本均事先得到家属知情同意和伦理委员会批准。TOYOBO Re-verTra Ace<sup>®</sup> qPCR RT Kit Code No.FSQ-101、TOYOBO SYBR Green Realtime PCR Master Mix Code No. QPK-201(日本TOYOBO公司);Thermo nanodrop 2000微量浓度测试仪(美国赛默非),Funglyn FTC-3000实时荧光定量PCR仪(加拿大枫岭生物),Ultra Pure UF除热源型超纯水机(上海和泰仪器有限公司),XIANG YI H1650-W台式微量高速离心机(湖南湘仪离心机仪器有限公司);BIO-RAD Powerpac Basic电泳仪系统(美国伯乐公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 引物设计与合成:** 引物设计参照文献[6,12]。VEGF 165b上游引物: 5'-TCAGAGCGGAGA-AAGCATTTGT-3',下游引物: 5'-TCCTGGT-

表 1 临床入组患者标本基本资料

	<i>n</i>	百分比(%)
性别		
男	11	55
女	9	45
原发肿瘤位置		
升结肠	2	10
横结肠	2	10
乙状结肠	8	40
直肠	8	40
TNM分期		
I	4	20
II	7	35
III	7	35
IV	2	10
浸润深度		
T1	1	5
T2	3	15
T3	4	20
T4	12	60
淋巴结转移		
N0	11	55
N1	4	20
N2	5	25
远处转移		
M0	18	90
M1	2	10

GAGAGATCTGCAAGT-3', 130 bp; GAPDH上游引物: 5'-TGAAGGTCGGAGTCAACGGA-3', 下游引物: 5'-CCTGGAAGATGGTGATGGGAT-3', 225 bp. 引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成.

1.2.2 组织总RNA提取与检测: 按试剂说明书操作步骤提取组织总RNA. 所提取总RNA完整性经1.5%琼脂糖凝胶电泳检测. 用nanodrop微量分析仪定量并检测其纯度, 检测 $A_{260}$ 、 $A_{279}$ 、 $A_{230}$ 的吸收峰已经核算浓度. 并计算 $A_{260/279}$ 以及 $A_{260/230}$ 的值验证RNA纯度.  $A_{260/279}$ 比值为1.8-2.0者可用于逆转录反应, -80 °C保存备用.

1.2.3 实时荧光定量PCR检测: 逆转录(RT)采用TOYOBO ReverTra Ace qPCR RT Kit(20  $\mu$ L体系), 8  $\mu$ L RNase-free H<sub>2</sub>O与6  $\mu$ L总RNA混匀, 冰上冷却; 将预先配好的RT组份(5 $\times$ RT buffer 4  $\mu$ L、Enzyme mix 1  $\mu$ L、RT primer 1  $\mu$ L)取6  $\mu$ L加入到上述体系(冰上加样), 组成逆转录完成的20  $\mu$ L体系. RT反应条件为: 65 °C变性5 min, 42 °C逆转录18 min, 98 °C灭活5 min, 1个循环. PCR反应体系为: RNase-free H<sub>2</sub>O 7.2  $\mu$ L、2 $\times$ real-time PCR Master Mix 10  $\mu$ L、上游引物

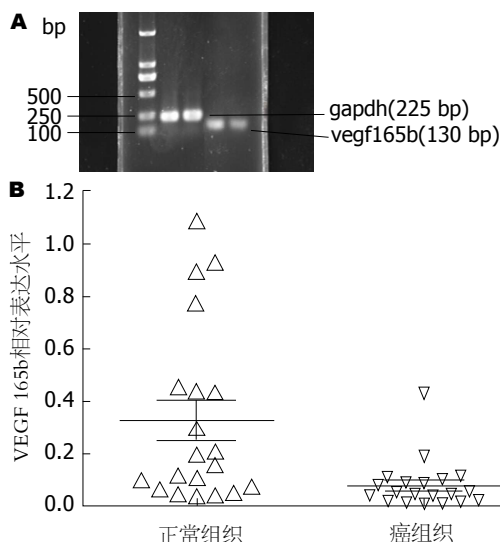


图 1 VEGF 165b在结直肠癌组织与正常黏膜组织中的表达. A: 电泳图; B: 统计图. VEGF: 血管内皮生长因子.

F1(10  $\mu$ mol/L) 0.4  $\mu$ L、下游引物R1(10  $\mu$ mol/L) 0.4  $\mu$ L、cDNA 2  $\mu$ L. PCR反应条件为: 94 °C 30 s; 94 °C 20 s, 61 °C 30 s, 72 °C 30 s, 40个循环; 72 °C 1 min, 降温至4 °C-10 °C. 1.5%琼脂糖凝胶电泳, 50 $\times$ TAE缓冲液, PCR产物及Marker均上样5  $\mu$ L, 于140 V下电泳25 min, EB染色10 min, 紫外灯下观察.

**统计学处理** 计数资料数据以mean $\pm$ SD表示. 两组计数资料的比较采用成组设计的 $t$ 检验; 组间比较采用SNK(Student-Newman-Keuls)法; 运用GraphPad Prism统计分析软件对资料进行统计学分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显下调 与正常黏膜组织相比, VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显下调, 统计具有显著性差异( $P = 0.006$ , 图1), 提示VEGF 165b可能具有抗血管生成、抑制肿瘤生长的作用.

2.2 VEGF 165b在浆膜内侧与浆膜外侧组织中的表达无显著性差异 VEGF 165b在浆膜内侧与浆膜外侧组织中的表达无明显差异, 统计具有无显著性差异( $P > 0.05$ , 图2A), 提示VEGF 165b在结直肠癌组织中持续低表达, 与结直肠癌的浸润相关性较低.

2.3 VEGF 165b在无淋巴结转移与有淋巴结转移组织中的表达无显著性差异 VEGF 165b在无淋巴结转移与有淋巴结转移组织中的表达无明显差异, 统计具有无显著性差异( $P > 0.05$ , 图2B), 提示VEGF 165b与结直肠癌的淋巴结转移无明显关联.

## ■ 相关报道

Woolard等研究证实, VEGF 165b在恶性前列腺组织中较良性前列腺组织中明显下降, 提示VEGF 165b具有抑制前列腺癌增殖和转移的作用. 姜翠苹等研究证实VEGF 165b在膀胱移行细胞癌和肾细胞癌中均表达下调, 提示VEGF 165b具有抑制膀胱移行细胞癌和肾细胞癌发生和发展的作用.



### ■ 创新盘点

本研究国内首次运用RT-PCR方法证实VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显下调,提示多种相关基因的选择性剪接与结直肠癌发生发展可能存在密切联系,为结直肠癌的研究提供了新的思路与方向。

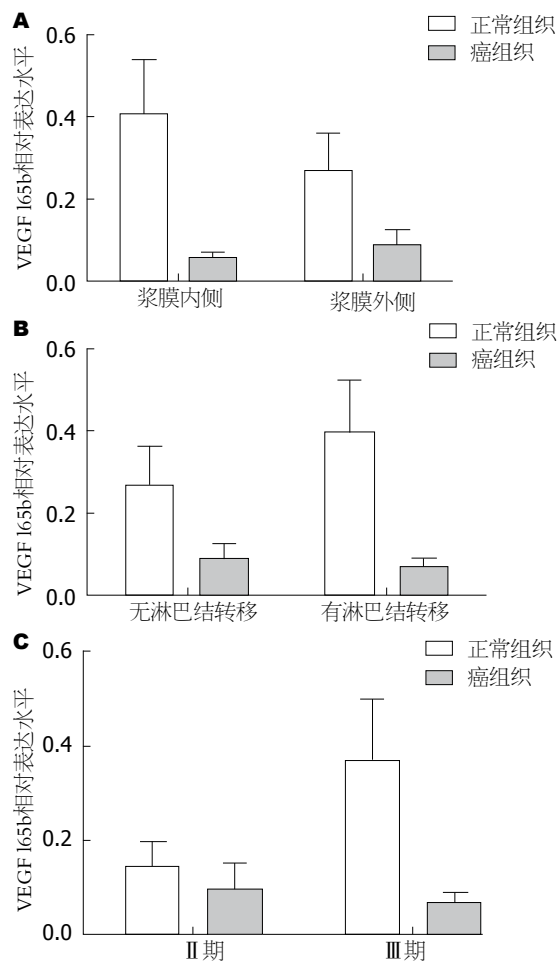


图2 VEGF 165b在组织中的表达。A: VEGF 165b在浆膜内侧与浆膜外侧组织中的表达; B: VEGF 165b在无淋巴结转移与有淋巴结转移组织中的表达; C: VEGF 165b在Ⅱ期与Ⅲ期组织中的表达。VEGF: 血管内皮生长因子。

2.4 VEGF 165b在Ⅱ期与Ⅲ期组织中的表达无显著性差异 VEGF 165b在Ⅱ期与Ⅲ期组织中的表达无明显差异,统计具有无显著性差异( $P>0.05$ ,图2C),提示VEGF 165b与结直肠癌的淋巴结浸润和转移无明显联系。

### 3 讨论

VEGF 165b是VEGFA最重要的选择性剪接变体,为研究最为深入的VEGFA之一,其末端6个氨基酸由外显子8b编码,依次为半胱氨酸-天冬氨酸-苏氨酸-精氨酸-赖氨酸-天冬氨酸,而VEGF 165末端6个氨基酸由外显子8a编码,依次为半胱氨酸-天冬氨酸-赖氨酸-脯氨酸-精氨酸-精氨酸。由于VEGF 165b末端2个精氨酸,被赖氨酸和天冬氨酸取代,丢失1个二硫键,导致其结合VEGFR2和神经菌毛素1(neuropilin1, NRP1)能力下降,引起下游信号通路一系列的变化。研究显示,VEGF 165b除存在于肿瘤组织等外,也存在于

正常的人体组织且占据所有VEGFA相当大的比例,如玻璃体液、血浆、尿液、肾皮质、肾小球、结肠上皮细胞、膀胱、平滑肌、肺、胰岛组织等<sup>[13-15]</sup>,具有拮抗血管生成、抑制内皮细胞生长、细胞保护、增加血管渗透性和舒张血管等作用。VEGF 165b在视网膜色素上皮细胞、足细胞和微血管内皮细胞的表达主要受生长因子的调节,如胰岛素样生长因子-1(insulin-like growth factor-1, IGF-1)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )等; IGF-1刺激蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)激活丝氨酸/精氨酸蛋白激酶1(serine/arginine protein kinase 1, SRPK1), SRPK1磷酸化激活富含丝氨酸/精氨酸剪接因子1(serine/arginine-rich splicing factor 1, SPSF1, ASF/SF2),结合于VEGF mRNA前体的临近剪接位点(8a),促使VEGF<sub>Axxx</sub>的表达<sup>[16,17]</sup>, WT1亦可结合SPSF1,产生相同效应<sup>[18]</sup>; TGF- $\beta$ 刺激p38丝裂原活化蛋白激酶信号通路,激活下游C1k/sty蛋白激酶,引起富含丝氨酸/精氨酸剪接因子6(serine/arginine-rich splicing factor 6, SPSF6, SRp55)磷酸化,结合于VEGF mRNA前体的远端剪接位点(8b),促使VEGF<sub>Axxxb</sub>的表达<sup>[11,17]</sup>;另外,转录因子1(E2F1)通过上调富含丝氨酸/精氨酸剪接因子2(serine/arginine-rich splicing factor 2, SPSF2, SC35),促使VEGF 165b的表达<sup>[19]</sup>。

研究表明,VEGF 165b在肾细胞癌、前列腺癌、膀胱癌、结直肠癌、恶性黑色素瘤等多种肿瘤组织中表达下调,具有拮抗血管生成和生长,抑制肿瘤组织生成和发展的作用。Cui等<sup>[20]</sup>对肾小球足突细胞的研究中发现,分化良好的足突细胞VEGF 165b高水平表达,而未分化的足突细胞VEGF 165b表达下降。Rennel等<sup>[5]</sup>研究证实,VEGF 165b过量表达可以抑制小鼠肿瘤模型中前列腺癌、肾细胞癌和尤文氏肉瘤的生长。Woolard等运用酶联免疫吸附试验(ELISA)和RT-PCR证实,VEGF 165b在恶性前列腺组织中较良性前列腺组织中明显下降,提示VEGF 165b具有抑制前列腺癌增殖和转移的作用。姜翠苹等<sup>[7,8]</sup>运用SP免疫组织化学和RT-PCR方法证实,VEGF 165b在膀胱移行细胞癌和肾细胞癌中均表达下调,提示VEGF 165b具有抑制膀胱移行细胞癌和肾细胞癌发生和发展的作用。上述研究结果进一步证实VEGF 165b可能具有拮抗血管生成从而抑制肿瘤生长的作用,成为判断肿瘤预后的指标。

本研究为进一步探讨VEGF 165b在结直肠癌发生、发展、浸润与转移中的作用, 采用RT-PCR方法, 从mRNA水平检测结直肠癌组织与正常黏膜组织中VEGF 165b的表达情况. 并运用统计学方法对结直肠癌组织与正常黏膜组织、浆膜内侧与浆膜外侧组织、无淋巴结转移与有淋巴结转移组织以及TNM分期Ⅱ期与Ⅲ期组织中的VEGF 165b mRNA的表达情况统计与分析. VEGF 165b在结直肠癌组织中的表达明显低于正常黏膜组织的表达, 统计具有显著性差异( $P = 0.006$ ), 与Varey等<sup>[21]</sup>研究结果相同; 在浆膜内侧与浆膜外侧组织、无淋巴结转移与有淋巴结转移组织以及TNM分期Ⅱ期与Ⅲ期组织中的VEGF 165b mRNA的表达无明显差别, 无统计学意义( $P > 0.05$ ). 上述结果提示, VEGF 165b可能与结直肠癌的发生和发展密切相关, 而与肿瘤的浸润和转移无明显关联.

总之, VEGF 165b在结直肠癌中表达明显下调, 可能具有抑制肿瘤发生和发展的作用. 进一步阐明VEGF 165b肿瘤发生和发展的确切机制以及VEGF 165b表达调控机制, 将为结直肠癌诊断、治疗和预后提供重要靶点.

#### 4 参考文献

- Bates DO, Cui TG, Doughty JM, Winkler M, Sugiono M, Shields JD, Peat D, Gillatt D, Harper SJ. VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, is down-regulated in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 4123-4131 [PMID: 12124351]
- Konopatskaya O, Churchill AJ, Harper SJ, Bates DO, Gardiner TA. VEGF165b, an endogenous C-terminal splice variant of VEGF, inhibits retinal neovascularization in mice. *Mol Vis* 2006; 12: 626-632 [PMID: 16735996]
- Schumacher VA, Jeruschke S, Eitner F, Becker JU, Pitschke G, Ince Y, Miner JH, Leuschner I, Engers R, Everding AS, Bulla M, Royer-Pokora B. Impaired glomerular maturation and lack of VEGF165b in Denys-Drash syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 719-729 [PMID: 17267748 DOI: 10.1681/asn.2006020124]
- Díaz R, Peña C, Silva J, Lorenzo Y, García V, García JM, Sánchez A, Espinosa P, Yuste R, Bonilla F, Domínguez G. p73 Isoforms affect VEGF, VEGF165b and PEDF expression in human colorectal tumors: VEGF165b downregulation as a marker of poor prognosis. *Int J Cancer* 2008; 123: 1060-1067 [PMID: 18546269 DOI: 10.1002/ijc.23619]
- Rennel E, Waine E, Guan H, Schüller Y, Leenders W, Woolard J, Sugiono M, Gillatt D, Kleinerman E, Bates D, Harper S. The endogenous anti-angiogenic VEGF isoform, VEGF165b inhibits human tumour growth in mice. *Br J Cancer* 2008; 98: 1250-1257 [PMID: 18349828 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604309]
- Tayama M, Furuhashi T, Inafuku Y, Okita K, Nishide T, Mizuguchi T, Kimura Y, Hirata K. Vascular endothelial growth factor 165b expression in stromal cells and colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4867-4874
- 姜翠苹, 王德林. 膀胱移行细胞癌组织与正常组织中VEGF165b的差异表达及其意义. *重庆医科大学学报* 2009; 34: 1137-1140
- 姜翠苹, 王德林, 彭波. 肾细胞癌组织与正常组织中VEGF165b的差异表达及其意义. *重庆医科大学学报* 2009; 34: 281-284
- Manetti M, Guiducci S, Ibba-Manneschi L, Matucci-Cerinic M. Mechanisms in the loss of capillaries in systemic sclerosis: angiogenesis versus vasculogenesis. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 1241-1254 [PMID: 20132409 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2010.01027.x]
- Manetti M, Guiducci S, Romano E, Bellando-Randone S, Lepri G, Bruni C, Conforti ML, Ibba-Manneschi L, Matucci-Cerinic M. Increased plasma levels of the VEGF165b splice variant are associated with the severity of nailfold capillary loss in systemic sclerosis. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1425-1427 [PMID: 23572336 DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-203183]
- Manetti M, Guiducci S, Romano E, Ceccarelli C, Bellando-Randone S, Conforti ML, Ibba-Manneschi L, Matucci-Cerinic M. Overexpression of VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, leads to insufficient angiogenesis in patients with systemic sclerosis. *Circ Res* 2011; 109: e14-e26 [PMID: 21636803 DOI: 10.1161/circresaha.111.242057]
- Delcombel R, Janssen L, Vassy R, Gammons M, Haddad O, Richard B, Letourneur D, Bates D, Hendricks C, Waltenberger J, Starzec A, Sounni NE, Noël A, Deroanne C, Lambert C, Colige A. New prospects in the roles of the C-terminal domains of VEGF-A and their cooperation for ligand binding, cellular signaling and vessels formation. *Angiogenesis* 2013; 16: 353-371 [PMID: 23254820 DOI: 10.1007/s10456-012-9320-y]
- Perrin RM, Konopatskaya O, Qiu Y, Harper S, Bates DO, Churchill AJ. Diabetic retinopathy is associated with a switch in splicing from anti- to pro-angiogenic isoforms of vascular endothelial growth factor. *Diabetologia* 2005; 48: 2422-2427 [PMID: 16193288 DOI: 10.1007/s00125-005-1951-8]
- Bevan HS, van den Akker NM, Qiu Y, Polman JA, Foster RR, Yem J, Nishikawa A, Satchell SC, Harper SJ, Gittenberger-de Groot AC, Bates DO. The alternatively spliced anti-angiogenic family of VEGF isoforms VEGFxxx in human kidney development. *Nephron Physiol* 2008; 110: p57-p67 [PMID: 19039247 DOI: 10.1159/000177614]
- Woolard J, Bevan HS, Harper SJ, Bates DO. Molecular diversity of VEGF-A as a regulator of its biological activity. *Microcirculation* 2009; 16: 572-592 [PMID: 19521900 DOI: 10.1080/10739680902997333]
- Nowak DG, Amin EM, Rennel ES, Hoareau-Aveilla C, Gammons M, Damodoran G, Hagiwara M, Harper SJ, Woolard J, Ladomery MR, Bates DO. Regulation of vascular endothelial growth factor (VEGF) splicing from pro-angiogenic to anti-angiogenic isoforms: a novel therapeutic strategy for angiogenesis. *J Biol Chem* 2010; 285: 5532-5540 [PMID: 19906640 DOI: 10.1074/jbc.M109.074930]
- Nowak DG, Woolard J, Amin EM, Konopatskaya O, Saleem MA, Churchill AJ, Ladomery MR, Harper SJ, Bates DO. Expression of pro- and anti-angiogenic

#### ■应用要点

本研究表明VEGF 165b结直肠癌组织中的表达明显下调, 提示具有抗血管生成、抑制肿瘤生长的作用, 从而为结直肠癌的诊断、治疗和预后提供参考。

## ■同行评价

本文探讨血管内皮生长因子165b与结直肠癌发生与发展的关系,内容客观,观点新颖,具有一定的科学意义.

- isoforms of VEGF is differentially regulated by splicing and growth factors. *J Cell Sci* 2008; 121: 3487-3495 [PMID: 18843117 DOI: 10.1242/jcs.016410]
- 18 Amin EM, Oltean S, Hua J, Gammons MV, Hamdollah-Zadeh M, Welsh GI, Cheung MK, Ni L, Kase S, Rennel ES, Symonds KE, Nowak DG, Royer-Pokora B, Saleem MA, Hagiwara M, Schumacher VA, Harper SJ, Hinton DR, Bates DO, Ladomery MR. WT1 mutants reveal SRPK1 to be a downstream angiogenesis target by altering VEGF splicing. *Cancer Cell* 2011; 20: 768-780 [PMID: 22172722 DOI: 10.1016/j.ccr.2011.10.016]
- 19 Merdzhanova G, Gout S, Keramidas M, Edmond V, Coll JL, Brambilla C, Brambilla E, Gazzeri S, Eymin B. The transcription factor E2F1 and the SR protein SC35 control the ratio of pro-angiogenic versus antiangiogenic isoforms of vascular endothelial growth factor-A to inhibit neovascularization in vivo. *Oncogene* 2010; 29: 5392-5403 [PMID: 20639906 DOI: 10.1038/onc.2010.281]
- 20 Cui TG, Foster RR, Saleem M, Mathieson PW, Gillatt DA, Bates DO, Harper SJ. Differentiated human podocytes endogenously express an inhibitory isoform of vascular endothelial growth factor (VEGF165b) mRNA and protein. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F767-F773 [PMID: 14644752 DOI: 10.1152/ajprenal.00337.2003]
- 21 Varey AH, Rennel ES, Qiu Y, Bevan HS, Perrin RM, Raffy S, Dixon AR, Paraskeva C, Zaccheo O, Hassan AB, Harper SJ, Bates DO. VEGF 165 b, an antiangiogenic VEGF-A isoform, binds and inhibits bevacizumab treatment in experimental colorectal carcinoma: balance of pro- and antiangiogenic VEGF-A isoforms has implications for therapy. *Br J Cancer* 2008; 98: 1366-1379 [PMID: 18349829 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604308]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# NF- $\kappa$ B p65在溃疡性结肠炎与结直肠癌患者肠黏膜中的表达差异与意义

加秀凤, 沈霖, 范恒, 谢纪文, 曾宇阳, 陈曦, 朱锐

加秀凤, 沈霖, 范恒, 谢纪文, 朱锐, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022  
曾宇阳, 陈曦, 华中科技大学同济医学院第一临床医学院 湖北省武汉市 430022

加秀凤, 硕士, 主要从事中西医结合肿瘤方向的研究.

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81102692, 81072944, 81072945

作者贡献分布: 此课题由加秀凤与朱锐设计; 研究过程由加秀凤、朱锐、曾宇阳及陈曦操作完成; 数据分析由加秀凤与朱锐完成; 本论文写作由加秀凤与朱锐完成; 整个过程由沈霖、范恒及谢纪文三位教授指导.

通讯作者: 朱锐, 主治医师, 430022, 湖北省武汉市解放大道1227号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. zhurui19830108@163.com

电话: 027-85726395

收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-11-17

接受日期: 2013-11-18 在线出版日期: 2014-01-18

## Significance of NF- $\kappa$ B p65 expression in ulcerative colitis and colorectal adenocarcinoma

Xiu-Feng Jia, Lin Shen, Heng Fan, Ji-Wen Xie, Yu-Yang Zeng, Xi Chen, Rui Zhu

Xiu-Feng Jia, Lin Shen, Heng Fan, Ji-Wen Xie, Rui Zhu, Department of Traditional Chinese Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Yu-Yang Zeng, Xi Chen, the First Clinical Medical College of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81102692, 81072944 and 81072945

Correspondence to: Rui Zhu, Attending Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Dadao, Wuhan 430022, Hubei Province, China. zhurui19830108@163.com

Received: 2013-11-05 Revised: 2013-11-17

Accepted: 2013-11-18 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of nuclear factor  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B) p65 protein in the colon mucosa of patients with ulcerative colitis (UC) or colorectal adenocarcinoma (CA) and healthy volunteers.

**METHODS:** Specimens were obtained from 12 healthy volunteers, 16 patients with UC and 18 pa-

tients with CA. Fresh colonic tissues were obtained by endoscopic punch biopsies. The diagnosis was confirmed pathologically. Reverse transcription-polymerase chain reaction and immunohistochemistry were used to examine the expression of NF- $\kappa$ B p65 at both mRNA and protein levels in the colon mucosa of different groups.

**RESULTS:** The expression rate of NF- $\kappa$ B p65 mRNA and protein was  $0.10\% \pm 0.03\%$  and  $2.06\% \pm 0.70\%$  in the normal colon mucosa,  $0.96\% \pm 0.11\%$  and  $36.16\% \pm 6.99\%$  in UC, and  $0.42\% \pm 0.77\%$  and  $9.54\% \pm 2.77\%$  in CA, respectively. The expression of NF- $\kappa$ B p65 was significantly higher in UC than in CA and normal mucosa (all  $P < 0.01$ ). Although the expression of NF- $\kappa$ B p65 in CA was higher than that in normal colon mucosa at both mRNA and protein levels, the expression intensity was not as strong as that reported in the literature.

**CONCLUSION:** Increased expression of NF- $\kappa$ B p65 may play an important role in the pathogenesis of UC, and anti-NF- $\kappa$ B therapy should be examined further for use as a potential therapy. NF- $\kappa$ B p65 may also be involved in the pathogenesis of CA.

**Key Words:** Colorectal cancer; Ulcerative colitis; NF- $\kappa$ B p65

Jia XF, Shen L, Fan H, Xie JW, Zeng YY, Chen X, Zhu R. Significance of NF- $\kappa$ B p65 expression in ulcerative colitis and colorectal adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 279-285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/279.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.279>

## 摘要

**目的:** 比较溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者与结直肠癌患者肠黏膜核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) p65表达差异, 探讨其临床意义.

**方法:** 12例无器质性肠道疾病志愿者、16例溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者及18

## ■背景资料

本文观察到结直肠癌患者肠黏膜核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的表达较正常人肠黏膜增加, 但其表达强度并非之前文献报道的那么高, 且低于溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者, 因此课题组认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达可能是治疗UC的较好思路, 但不认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达能从根本上治疗结直肠癌.

## ■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内镜科

## ■ 研究前沿

近年因受“西洋化”生活方式的影响, UC发病率与患病率日趋增加, 资料显示UC患者罹患结直肠癌的风险较高. 为降低UC恶变风险, 改善预后, 我们在前人的基础上研究NF- $\kappa$ B在UC与结直肠癌治疗中的意义.

例结直肠腺癌患者被纳入实验, 电子结肠镜下取活检获得新鲜的结肠黏膜组织. RT-PCR检测各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65 mRNA的表达, 免疫组织化学法检测各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65蛋白表达强度, 单因素方差分析三组之间的差异.

**结果:** 无器质性肠道疾病志愿者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65基因与蛋白表达量分别为0.10% $\pm$ 0.03%、2.06% $\pm$ 0.70%, UC患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65基因与蛋白表达量分别为0.96% $\pm$ 0.11%、36.16% $\pm$ 6.99%, 结直肠癌患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65基因与蛋白表达量分别为0.42% $\pm$ 0.77%、9.54% $\pm$ 2.77%, 3组之间差异具有统计学意义( $P<0.01$ ).

**结论:** 尽管炎症与肿瘤存在某种联系已在学界达成共识, 课题组也观察到结直肠癌患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65的表达较无器质性肠道疾病患者肠黏膜增加, 但其表达强度并非之前文献报道的那么高, 课题组认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达可能是治疗UC的较好思路, 但不认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达能从根本上治疗结直肠癌.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 结直肠癌; 溃疡性结肠炎; 核因子- $\kappa$ B p65

**核心提示:** 尽管前人认为核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)在结直肠癌的发生发展中起重要作用, 但其表达强度并非之前文献报道的那么高, 也远不如溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)患者肠黏膜表达强度, 认为NF- $\kappa$ B p65为治疗UC的较好靶点, 但不认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达能从根本上治疗结直肠癌.

加秀凤, 沈霖, 范恒, 谢纪文, 曾宇阳, 陈曦, 朱锐. NF- $\kappa$ B p65在溃疡性结肠炎与结直肠癌患者肠黏膜中的表达差异与意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 279-285 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/279.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.279>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)主要在北欧和北美国家流行, 近年受“西洋化”生活方式的影响, 亚洲、欧洲南部及大多数发展中国家该类疾病发病率与患病率日趋增加. 在美国, 炎症性肠病困扰大约140万人口, 每年用于治疗该病的医疗费用达20亿美元<sup>[1]</sup>.

目前的资料认为UC患者罹患结直肠癌(结直肠癌是世界第三大恶性肿瘤疾病, 每年大约

新增病例954000例, 492000例因该病失去生命<sup>[2]</sup>)的风险较高, UC病程达10、20、30年的患者的罹患结直肠癌的风险分别为2%、8%、18%<sup>[3]</sup>, 危险因素包括UC病程及病变范围、有无原发性硬化性胆管炎病史、有无大肠癌家族史(患UC 20年以上的患者及有原发性硬化性胆管炎的患者罹患大肠癌的风险分别高达20%与50%), 尽管预防性直肠或/和结肠切除术可从根本上消除此风险, 然而大多数患者和内科大夫都选择定期检查以监控病情<sup>[4]</sup>.

近年有文献报道核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)除了作为炎症反应的关键因子外, 人类罹患多种恶性肿瘤(特别是淋巴瘤)与Rel/NF- $\kappa$ B信号转导途径的活化相关, 于是学者们逐渐把目光转移到NF- $\kappa$ B与炎症相关性癌症的关系上来<sup>[5-7]</sup>.

本实验基于此探讨结直肠癌患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65的表达, 并与UC患者及正常人作比较, 探讨其临床意义.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 12例无器质性肠道疾病志愿者(46.13岁 $\pm$ 12.05岁, 男女各半), 16例UC患者(50.42岁 $\pm$ 10.43岁, 男10例, 女6例)及18例结直肠癌患者(59.00岁 $\pm$ 10.07岁, 男10例, 女8例)被纳入试验(UC与结直肠癌诊断标准参照全国高等学校内科学教材), 新鲜的结肠黏膜组织通过电子结肠镜下取活检获得, 患者在病变明显处取材, 无器质性肠道疾病志愿者在乙状结肠处取材, 每例取活检5块, 2块标本置于多聚甲醛固定后石蜡包埋切片, 另外3块-80℃保存作RT-PCR用.

### 1.2 方法

**1.2.1 RT-PCR法检测各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65 mRNA的表达:** 室温状态下, 用高温高压灭菌并经DEPC水处理的匀浆器将100  $\mu$ g肠黏膜组织匀浆(匀浆器中加入0.5 mL TRIzol液)→匀浆后液体收集于EP管中→4℃, 12000 r/min离心10 min→取上清200  $\mu$ L→加0.1 mL氯仿→快速震荡摇匀15 s→4℃, 12000 r/min离心10 min→取上层水相之上清→加异丙醇100  $\mu$ L→颠倒摇匀→-20℃静置30 min→4℃, 12000 r/min离心10 min→去上清→加0.5 mL 75%乙醇→震荡机震荡→4℃, 8000 r/min离心10 min→去上清, 自然凉干→加入15  $\mu$ L DEPC水溶解RNA→逆转录总反应体系为20  $\mu$ L: 溶解RNA的DEPC水6  $\mu$ L, oligdT 1  $\mu$ L,

表 1 RT-PCR引物序列、反应条件及产物大小

基因	引物序列	反应条件	大小(bp)
NF- $\kappa$ B p65	5'-ATGCTTACTGGGTGCCAAAC-3'	94 °C 5min; 94 °C 30 s,	125
	5'-GGCAAGTCACTCAGCCTTTC-3' <sup>[8]</sup>	60 °C 30 s, 72 °C 1 min,	
		35个循环; 72 °C 10 min	
$\beta$ -actin	5'-GGTCAGAAGGATTCATATGTG-3'	94 °C 5min; 94 °C 30 s,	615
	5'-ATTGCCAATGGTGATGACCTG-3' <sup>[9]</sup>	55 °C 30 s, 72 °C 1 min,	
		35个循环; 72 °C 10 min	

DEPC水5.5  $\mu$ L三者混匀短暂离心, 70 °C预变性5 min, 冰浴5 min; 加入MMLV逆转录酶1  $\mu$ L, RNasin 0.5  $\mu$ L, 10 mm dNTP 2  $\mu$ L, 5 $\times$ buffer缓冲液4  $\mu$ L, 以上混合液37 °C逆转录60 min, 94 °C灭活逆转录酶5 min. PCR引物系列、反应条件及扩增产物大小如表1, PCR总反应体系为20  $\mu$ L: 双蒸水16.6  $\mu$ L, 上游引物0.2  $\mu$ L, 下游引物0.2  $\mu$ L, cDNA 2  $\mu$ L, 10 $\times$ buffer缓冲液2.5  $\mu$ L, 25 mmol MgCl<sub>2</sub> 2  $\mu$ L, 10 mmol dNTP 1  $\mu$ L, Taq酶0.5  $\mu$ L. 取PCR产物3  $\mu$ L于含有溴化乙锭的琼脂糖凝胶(1.2%)中电泳, 运用JS-380自动凝胶图像分析仪记录条带, 用SensiAnsys凝胶图像分析软件分析条带相对灰度值(目标基因灰度值/ $\beta$ -actin灰度值).

1.2.2 免疫组织化学法检测各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65的表达: 活检获得的肠组织置于4%的多聚甲醛中固定 $\rightarrow$ 梯度乙醇脱水(750 mL/L无水乙醇浸泡5 min, 950 mL/L无水乙醇浸泡5 min, 无水乙醇浸泡5 min) $\rightarrow$ 二甲苯透明(二甲苯中浸泡2次, 每次15 min) $\rightarrow$ 常规石蜡包埋 $\rightarrow$ 切片(切片前载玻片先用多聚左旋赖氨酸行防脱片处理) $\rightarrow$ 二甲苯脱蜡(3次, 每次15 min) $\rightarrow$ 梯度乙醇水化(无水乙醇浸泡5 min, 950 mL/L无水乙醇浸泡5 min, 750 mL/L无水乙醇浸泡5 min) $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 微波修复抗原(将玻片放入装有pH值为6.0的0.01 mmol/L枸橼酸钠溶液的抗原修复盒中后置于微波炉中, 高火微波修复3 min后将玻片置于室温自然冷却) $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 玻片上滴加0.3%过氧化氢甲醇溶液避光反应30 min(过氧化氢甲醇溶液可消除内源性过氧化物酶的影响、使DAB显色及降低非特异性染色) $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 滴加羊血清封闭液, 孵育30 min(将载有玻片的湿盒置于37度恒温床中, 此步骤可降低非特异性染色), 滴加1:150稀释的兔抗人NF- $\kappa$ B p65抗体, 4 °C孵育过夜 $\rightarrow$ 复温(将载有玻片的湿盒置

于37 °C恒温床中10 min) $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 滴加二抗(将载有玻片的湿盒置于37 °C恒温床中40 min) $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 滴加HRP标记链亲和素(将载有玻片的湿盒置于37 °C恒温床中30 min) $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 滴加DAB显色液(1 mL蒸馏水中混入DAB显色试剂盒中A、B、C试剂各1滴, 混匀后滴加至玻片, 玻片在镜下可见棕黄色即用蒸馏水充分洗涤) $\rightarrow$ 苏木素复染(5 s) $\rightarrow$ 盐酸酒精分化 $\rightarrow$ PBS溶液洗涤玻片(3次, 每次5 min) $\rightarrow$ 乙醇脱水(750 mL/L无水乙醇浸泡5 min, 950 mL/L无水乙醇浸泡5 min) $\rightarrow$ 透明(二甲苯中浸泡2次, 每次15 min) $\rightarrow$ 中性树胶封片 $\rightarrow$ 显微镜下观察拍照后运用显微图像分析系统分析试验结果(高倍显微镜下每张切片随机选取5个视野, 用MAPIS-500病理彩色分析系统分析各视野下阳性染色面积与总场面积的比值后取均值).

**统计学处理** 应用SPSS12.0统计软件统计分析, 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 单因素方差分析无器质性肠道疾病志愿者、UC患者与结直肠癌患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65基因与蛋白表达量差异,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65 mRNA表达情况 如下图所示, UC组NF- $\kappa$ B p65 mRNA相对表达量最高, 结直肠癌组次之, 无器质性肠道疾病志愿者表达最少(图1, 表2).

2.2 免疫组织化学染色结果 无器质性肠道疾病志愿者肠黏膜基本未见NF- $\kappa$ B p65阳性表达, 结直肠癌患者肠黏膜可见NF- $\kappa$ B p65表达, UC患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65表达则明显增强, 阳性染色主要位于黏膜上皮细胞及巨噬细胞的细胞核与细胞浆(图2, 表2).

## ■ 相关报道

Aranha等及Lü等研究显示结直肠癌组织较癌旁组织NF- $\kappa$ B的表达明显增加, 且其表达高低与病理学恶化程度正相关且与预后相关. NF- $\kappa$ B对指导结直肠癌治疗有价值.



## ■ 创新盘点

NF- $\kappa$ B除了作为炎症反应的关键因子其在结直肠癌治疗中到底有多大的价值值得进一步研究从而指导临床应用。

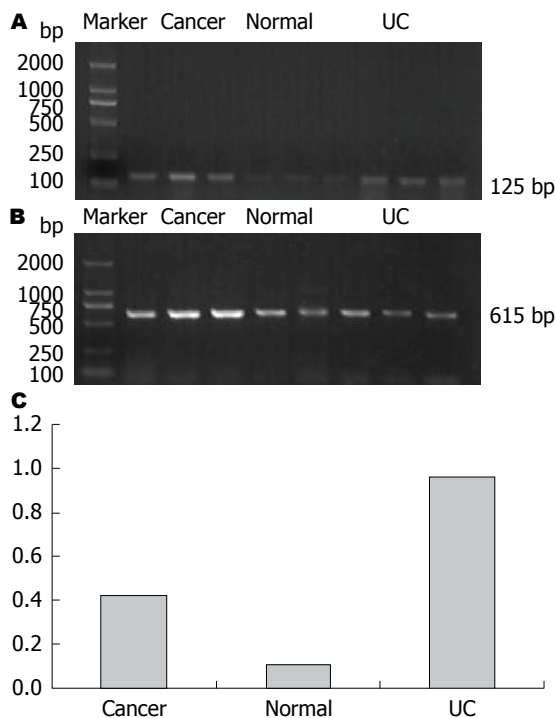


图1 各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65 mRNA表达情况. A: 各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65 mRNA RT-PCR扩增产物电泳图; B: 各组肠黏膜 $\beta$ -actin mRNA RT-PCR扩增产物电泳图; C: NF- $\kappa$ B p65基因灰度值/ $\beta$ -actin灰度值. Cancer: 结直肠癌组; Normal: 无器质性肠道疾病组; UC: 溃疡性结肠炎组.

## 3 讨论

Ekbom等<sup>[10]</sup>1986-12-31统计分析1965-1983年瑞典Uppsala地区确诊的2509例UC患者的相对生存率发现: 患者10年生存率达96%, 其中溃疡性直肠炎、左半结肠炎及全结肠炎患者相对生存率分别为98%、96%和93%, 结直肠癌是两类患者主要的死亡原因.

2002年Coussens等<sup>[11]</sup>与Karin等<sup>[12]</sup>于Nature发文称: 炎症是肿瘤发生发展的关键因素, 许多癌症起源于感染、慢性刺激与炎症反应. 肿瘤微环境里的炎性细胞是肿瘤形成、增殖、存活与迁移必不可少的参与者. 抗炎治疗可能是肿瘤治疗的新途径.

转录因子NF- $\kappa$ B是由p50、p52、p65(-RelA)、RelB及c-Rel组成的同源或异源二聚体复合物, p50-p65复合物为其主要组成部分, 他是先天与获得性免疫系统中一个关键的多效转录因子, 可调控多种促炎症因子的表达(如细胞因子、黏附分子等). 其功能主要受I $\kappa$ B调控(I $\kappa$ B家族有包括I $\kappa$ B $\alpha$ 、I $\kappa$ B $\beta$ 、I $\kappa$ B $\gamma$ 、I $\kappa$ B $\epsilon$ 、Bcl3及前体蛋白p100和p105 7个成员, 可阻止NF- $\kappa$ B的核聚集, 妨碍NF- $\kappa$ B与DNA结合), 当细胞受到促炎细胞因子、微生物产物等刺激时,

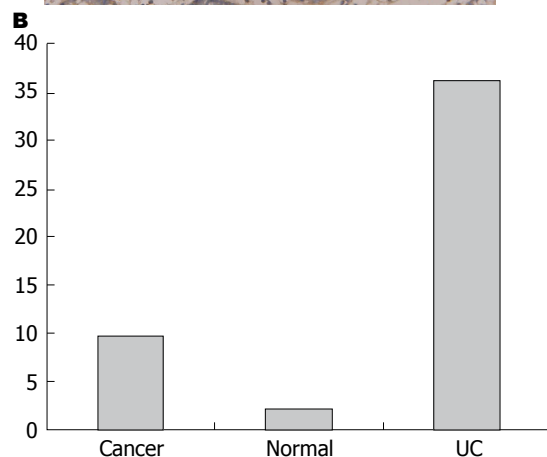
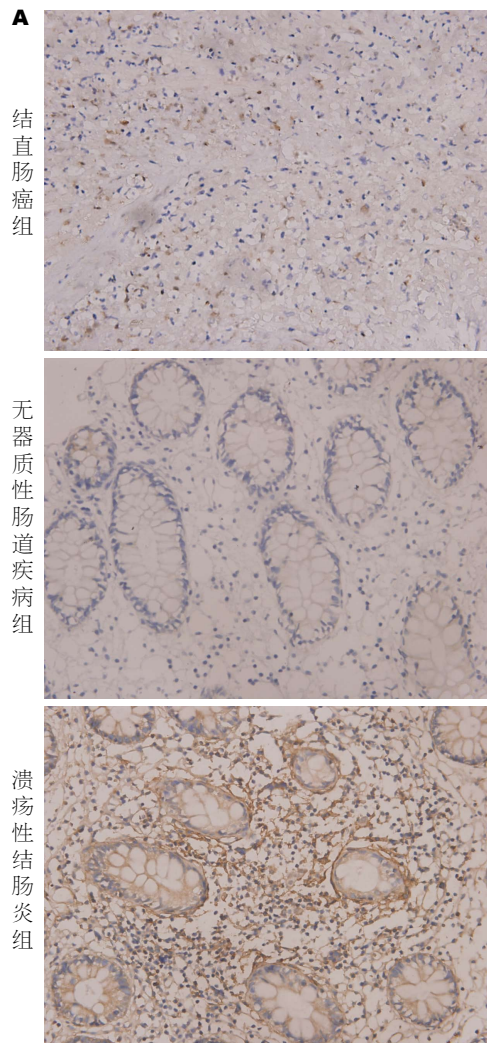


图2 各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65免疫组织化学染色结果(DAB  $\times$  400). A: 各组NF- $\kappa$ B p65免疫组织化学图片; B: 各组阳性染色细胞百分比柱状图.

I $\kappa$ B便在I $\kappa$ B激酶的诱导下发生磷酸化而降解, 此时I $\kappa$ 与NF- $\kappa$ B解离, NF- $\kappa$ B转入核内而发挥其生物学效应<sup>[13]</sup>.

学者们认为NF- $\kappa$ B参与肿瘤发生发展可能基于以下原因: (1)Rel/NF- $\kappa$ B转录因子家族成员之一c-rel最初被鉴定为致癌基因v-rel的同系

表 2 各组肠黏膜NF- $\kappa$ B p65表达情况

分组	NF- $\kappa$ B p65 mRNA	NF- $\kappa$ B p65蛋白
结直肠癌组	0.42 $\pm$ 0.07 <sup>b</sup>	9.54 $\pm$ 2.77 <sup>b</sup>
无器质性肠疾病组	0.10 $\pm$ 0.03	2.06 $\pm$ 0.70
溃疡性结肠炎组	0.96 $\pm$ 0.11 <sup>bd</sup>	36.16 $\pm$ 6.99 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 无器质性肠道疾病志愿者; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 结直肠癌组。

物, 这提示我们该转录因子家族其他成员也可能是潜在的致癌基因; (2)肿瘤微环境可诱导NF- $\kappa$ B活化。例如Szlosarek等<sup>[14]</sup>学者发现与正常人相比较, 多种癌症患者血清或组织的肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumour necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )表达明显增高; (3)肿瘤细胞中通常可见NF- $\kappa$ B的表达。例如Wang等<sup>[15]</sup>利用免疫组织化学、蛋白质印迹、RNA印迹、电泳迁移率分析和氯霉素乙酰转移酶检测等方法比较胰腺癌与正常胰腺组织的NF- $\kappa$ B活性发现: 大约67%(16/24)的胰腺癌患者胰脏组织NF- $\kappa$ B被组成性激活, 在正常组织中则未见此现象; Tai等<sup>[16]</sup>用免疫组织化学法比较比较65例肝细胞癌患者与9例正常人肝组织NF- $\kappa$ B p65及I $\kappa$ B的表达差异, 发现癌组织中这两个指标明显高于正常组织; Skrzycki等<sup>[17]</sup>用免疫印迹法比较胃癌及肝癌患者癌组织与癌旁组织NF- $\kappa$ B的表达差异, 发现癌组织较癌旁组织NF- $\kappa$ B的表达明显增高; (4)活化的NF- $\kappa$ B一方面能促进诸如IAPs等抗凋亡蛋白的表达, 另一方面他能抑制延长JNK的活化从而导致活性氧簇的聚集, 从而阻断细胞凋亡、促进细胞增殖。例如Lindholm等<sup>[18-21]</sup>研究发现活化的NF- $\kappa$ B可增强前列腺癌细胞PC-3的增殖能力; (5)几种参与肿瘤发生发展和转移的基因表达都受NF- $\kappa$ B的调控。例如作为NF- $\kappa$ B的重要靶基因*CyclinD1*、*cMyc*在细胞生长和增殖过程中起重要作用的; 一些血管新生的重要因子: 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、白介素-8(interleukin-8, IL-8)等均直接或间接地受NF- $\kappa$ B调控<sup>[22,23]</sup>; (6)多数治疗肿瘤药物可下调NF- $\kappa$ B的活性。例如Ban等<sup>[24]</sup>实验证实大蒜提取物可通过抑制癌细胞NF- $\kappa$ B的活性而影响细胞生长, 且能增加癌细胞对化疗药物的敏感性。Kim等<sup>[25]</sup>利用人参皂苷Rg3作为干预药物也得到类似的实验结果<sup>[24,25]</sup>; (7)提高NF- $\kappa$ B的活性可诱导癌症的发生。例如Greten等<sup>[26]</sup>实验证实敲除肠上皮细胞*I $\kappa$ B $\beta$* 基因可明显降低结肠炎相关性癌症(colitis-associated cancer, CAC)发生率;

Zhang等<sup>[27]</sup>发现敲除*Cylindromatosis*基因(NF- $\kappa$ B活性高)小鼠更容易诱发结肠炎相关性癌症; (8)NF- $\kappa$ B的活化可致癌并诱导化疗抵抗。例如Wang等<sup>[28]</sup>实验证实NF- $\kappa$ B的活化能保护肿瘤细胞在电离辐射和柔红霉素(一种抗肿瘤抗生素)的干预下免于死亡; Lind等<sup>[29]</sup>通过体外实验证实抑制NF- $\kappa$ B可增强抗肿瘤药物吉西他滨的抗癌活性, 体内实验发现结直肠癌患者癌组织NF- $\kappa$ B表达较癌旁组织明显增加。所有这些现象都提示NF- $\kappa$ B可作为癌症治疗的可能靶点<sup>[30-33]</sup>。

关于NF- $\kappa$ B与结直肠癌关系方面, 前人也做了一些研究。Yu等<sup>[34]</sup>应用免疫组织化学法比较10例正常人与52例结直肠癌患者NF- $\kappa$ B/RelA, VEGF与CD34表达差异, 结果显示: 结直肠癌NF- $\kappa$ B/RelA与VEGF表达明显增加, NF- $\kappa$ B/RelA与VEGF的表达呈线性关系, 且二者表达量与微血管密度呈正相关, 但这三个指标与患者临床表现无明显相关性。此结果表明NF- $\kappa$ B/RelA对结直肠癌肿瘤血管新生具有重要意义<sup>[34]</sup>。

Aranha等<sup>[35]</sup>收集结直肠腺瘤、腺癌及正常肠组织共48例, 用免疫组织化学法检测各组NF- $\kappa$ B的表达, 结果显示: 癌组织较癌旁组织NF- $\kappa$ B的表达明显增加, 且其表达高低与病理学恶化程度正相关。

Lü等<sup>[36]</sup>课题组采用免疫组织化学法分析359例结直肠癌患者癌组织NF- $\kappa$ B p65的表达, 发现NF- $\kappa$ B p65的阳性表达细胞数达67.7%, 分析成功随访的198例患者资料后发现高表达NF- $\kappa$ B p65的患者术后5年生存率较低。

Lee等<sup>[37]</sup>利用免疫组织化学法分析正常肠黏膜(20例)、低分化管状腺瘤(20例)、高分化管状腺瘤(20例)及腺癌(64例)组织NF- $\kappa$ B p65表达差异, 发现腺癌组织较其他组织NF- $\kappa$ B p65表达显著增加, 且NF- $\kappa$ B p65的表达与肿瘤分化程度呈负相关。

Kwon等<sup>[38]</sup>采用免疫组织化学法检测148例结直肠癌患者NF- $\kappa$ B及VEGF的表达发现: NF- $\kappa$ B表达与VEGF的表达呈正相关, NF- $\kappa$ B高表达的结直肠癌患者较低表达患者5年生存率低(55.8 mo vs 76.9 mo,  $P = 0.012$ )。

尽管前人认为NF- $\kappa$ B在结直肠癌的发生发展中起重要作用, 课题组也观察到结直肠癌患者肠黏膜NF- $\kappa$ B p65的表达较无器质性肠道疾病患者肠黏膜增加, 但其表达强度并非之前文献报道的那么高, 也远不如UC患者肠黏膜表达强度, 课题组认为NF- $\kappa$ B p65为治疗UC的较好靶

#### ■应用要点

NF- $\kappa$ B p65为治疗UC的较好靶点, 但不认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达能从根本上治疗结直肠癌。

## ■同行评价

本文为指导临床治疗, 提供了依据, 具有一定指导意义。

点, 但不认为抑制NF- $\kappa$ B p65的表达能从根本上治疗结直肠癌。

## 4 参考文献

- Loftus EV. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology* 2004; 126: 1504-1517 [PMID: 15168363 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.01.063]
- Davies RJ, Miller R, Coleman N. Colorectal cancer screening: prospects for molecular stool analysis. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 199-209 [PMID: 15738983 DOI: 10.1038/nrc1569]
- Itzkowitz SH, Harpaz N. Diagnosis and management of dysplasia in patients with inflammatory bowel diseases. *Gastroenterology* 2004; 126: 1634-1648 [PMID: 15168373 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.03.025]
- Eaden JA, Abrams KR, Mayberry JF. The risk of colorectal cancer in ulcerative colitis: a meta-analysis. *Gut* 2001; 48: 526-535 [PMID: 11247898 DOI: 10.1136/gut.48.4.526]
- Gilmore TD, Kalaitzidis D, Liang MC, Starczynowski DT. The c-Rel transcription factor and B-cell proliferation: a deal with the devil. *Oncogene* 2004; 23: 2275-2286 [PMID: 14755244 DOI: 10.1038/sj.onc.1207410]
- Lee SY, Cho JS, Yuk DY, Moon DC, Jung JK, Yoo HS, Lee YM, Han SB, Oh KW, Hong JT. Obovatol enhances docetaxel-induced prostate and colon cancer cell death through inactivation of nuclear transcription factor-kappaB. *J Pharmacol Sci* 2009; 111: 124-136 [PMID: 19834284 DOI: 10.1254/jphs.09048FP]
- Fantini MC, Pallone F. Cytokines: from gut inflammation to colorectal cancer. *Curr Drug Targets* 2008; 9: 375-380 [PMID: 18473765 DOI: 10.2174/138945008784221206]
- 范虹, 丁峰, 顾勇, 朱秋毓, 林善铤. 高级蛋白氧化产物对人脐静脉内皮细胞ECV-304的作用. *复旦学报(医学版)* 2007; 34: 176-182
- 王全胜, 张晓丽, 王玉梅, 张阿丽, 邓安国, 朱忠华, Florian Lang, 冯玉锡. 高糖通过血清和糖皮质激素诱导的蛋白激酶1通路促进人近端肾小管上皮细胞合成纤连蛋白. *中华肾脏病杂志* 2005; 21: 218-222
- Ekbom A, Helmick CG, Zack M, Holmberg L, Adami HO. Survival and causes of death in patients with inflammatory bowel disease: a population-based study. *Gastroenterology* 1992; 103: 954-960 [PMID: 1499945]
- Coussens LM, Werb Z. Inflammation and cancer. *Nature* 2002; 420: 860-867 [PMID: 12490959 DOI: 10.1038/nature01322]
- Karin M, Cao Y, Greten FR, Li ZW. NF-kappaB in cancer: from innocent bystander to major culprit. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 301-310 [PMID: 12001991 DOI: 10.1038/nrc780]
- Häcker H, Karin M. Regulation and function of IKK and IKK-related kinases. *Sci STKE* 2006; 2006: re13 [PMID: 17047224]
- Szlosarek P, Charles KA, Balkwill FR. Tumour necrosis factor-alpha as a tumour promoter. *Eur J Cancer* 2006; 42: 745-750 [PMID: 16517151 DOI: 10.1016/j.ejca.2006.01.012]
- Wang W, Abbruzzese JL, Evans DB, Larry L, Cleary KR, Chiao PJ. The nuclear factor-kappa B RelA transcription factor is constitutively activated in human pancreatic adenocarcinoma cells. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 119-127 [PMID: 9918209]
- Tai DI, Tsai SL, Chang YH, Huang SN, Chen TC, Chang KS, Liaw YF. Constitutive activation of nuclear factor kappaB in hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2000; 89: 2274-2281 [PMID: 11147598 DOI: 10.1002/1097-0142(20001201)89:11<2274::AID-CNCR16>3.0.CO;2-2]
- Skrzycki M, Scibior-Bentkowska D, Podsiad M, Czczot H. [Protein level of transcription factors AP-1 and NF-kappaB in selected human gastrointestinal tract tumors]. *Pol Merkuri Lekarski* 2008; 25: 510-515 [PMID: 19205384]
- Kucharczak J, Simmons MJ, Fan Y, Gélinas C. To be, or not to be: NF-kappaB is the answer--role of Rel/NF-kappaB in the regulation of apoptosis. *Oncogene* 2003; 22: 8961-8982 [PMID: 14663476 DOI: 10.1038/sj.onc.1207230]
- Luo JL, Kamata H, Karin M. IKK/NF-kappaB signaling: balancing life and death--a new approach to cancer therapy. *J Clin Invest* 2005; 115: 2625-2632 [PMID: 16200195]
- Skrzycki M, Majewska M, Podsiad M, Czczot H. Expression and activity of superoxide dismutase isoenzymes in colorectal cancer. *Acta Biochim Pol* 2009; 56: 663-670 [PMID: 19902052]
- Lindholm PF, Bub J, Kaul S, Shidham VB, Kajdacsy-Balla A. The role of constitutive NF-kappaB activity in PC-3 human prostate cancer cell invasive behavior. *Clin Exp Metastasis* 2000; 18: 471-479 [PMID: 11592304]
- Wang S, Liu Z, Wang L, Zhang X. NF-kappaB signaling pathway, inflammation and colorectal cancer. *Cell Mol Immunol* 2009; 6: 327-334 [PMID: 19887045]
- Karin M. NF-kappaB and cancer: mechanisms and targets. *Mol Carcinog* 2006; 45: 355-361 [PMID: 16673382]
- Ban JO, Lee HS, Jeong HS, Song S, Hwang BY, Moon DC, Yoon do Y, Han SB, Hong JT. Thiocremone augments chemotherapeutic agent-induced growth inhibition in human colon cancer cells through inactivation of nuclear factor-kappaB. *Mol Cancer Res* 2009; 7: 870-879 [PMID: 19531569 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-08-0580]
- Kim SM, Lee SY, Yuk DY, Moon DC, Choi SS, Kim Y, Han SB, Oh KW, Hong JT. Inhibition of NF-kappaB by ginsenoside Rg3 enhances the susceptibility of colon cancer cells to docetaxel. *Arch Pharm Res* 2009; 32: 755-765 [PMID: 19471891 DOI: 10.1007/s12272-009-1515-4]
- Greten FR, Eckmann L, Greten TF, Park JM, Li ZW, Egan LJ, Kagnoff MF, Karin M. IKKbeta links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer. *Cell* 2004; 118: 285-296 [PMID: 15294155 DOI: 10.1016/j.cell.2004.07.013]
- Zhang J, Stirling B, Temmerman ST, Ma CA, Fuss IJ, Derry JM, Jain A. Impaired regulation of NF-kappaB and increased susceptibility to colitis-associated tumorigenesis in CYLD-deficient mice. *J Clin Invest* 2006; 116: 3042-3049 [PMID: 17053834 DOI: 10.1172/JCI28746]
- Wang CY, Mayo MW, Baldwin AS. TNF- and cancer therapy-induced apoptosis: potentiation by inhibition of NF-kappaB. *Science* 1996; 274: 784-787 [PMID: 8864119]
- Lind DS, Hochwald SN, Malaty J, Rekkas S, Hebig P, Mishra G, Moldawer LL, Copeland EM, Mackay S.



- Nuclear factor-kappa B is upregulated in colorectal cancer. *Surgery* 2001; 130: 363-369 [PMID: 11490372 DOI: 10.1067/msy.2001.116672]
- 30 Yoshihara H, De France JF. Deep temporal lobe projections to the nucleus of the diagonal band of Broca. *Experientia* 1976; 32: 55-57 [PMID: 1248589 DOI: 10.1007/BF01932620]
- 31 Rayet B, Gélinas C. Aberrant rel/nfkb genes and activity in human cancer. *Oncogene* 1999; 18: 6938-6947 [PMID: 10602468]
- 32 Wang CY, Cusack JC, Liu R, Baldwin AS. Control of inducible chemoresistance: enhanced anti-tumor therapy through increased apoptosis by inhibition of NF-kappaB. *Nat Med* 1999; 5: 412-417 [PMID: 10202930 DOI: org/10.1038/7410]
- 33 Schottelius AJ, Dinter H. Cytokines, NF-kappaB, microenvironment, intestinal inflammation and cancer. *Cancer Treat Res* 2006; 130: 67-87 [PMID: 16610703 DOI: org/10.1007/0-387-26283-0\_3]
- 34 Yu HG, Zhong X, Yang YN, Luo HS, Yu JP, Meier JJ, Schrader H, Bastian A, Schmidt WE, Schmitz F. Increased expression of nuclear factor-kappaB/RelA is correlated with tumor angiogenesis in human colorectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 2004; 19: 18-22 [PMID: 12827408]
- 35 Aranha MM, Borralho PM, Ravasco P, Moreira da Silva IB, Correia L, Fernandes A, Camilo ME, Rodrigues CM. NF-kappaB and apoptosis in colorectal tumorigenesis. *Eur J Clin Invest* 2007; 37: 416-424 [PMID: 17461988 DOI: org/10.1111/j.1365-2362.2007.01801.x]
- 36 Lü Y, Liu L, Zhao P. [Expression of nuclear factor-kappa-B/P65 and fragile histidine triad in colorectal carcinoma and clinical significance thereof]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2008; 88: 610-614 [PMID: 18646716]
- 37 Lee SD. [Immunohistochemical analysis of nuclear factor, p38, and cyclin D1 proteins in premalignant lesions and carcinomas of the colorectal mucosa]. *Korean J Gastroenterol* 2008; 52: 359-367 [PMID: 19096253]
- 38 Kwon HC, Kim SH, Oh SY, Lee S, Kwon KA, Lee JH, Choi HJ, Park KJ, Lee HS, Roh MS, Kim HJ. Clinicopathological significance of nuclear factor-kappa B, HIF-1 alpha, and vascular endothelial growth factor expression in stage III colorectal cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 1557-1561 [PMID: 20398057 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01553.x]

编辑 田滢 电编 闫晋利



## 结直肠癌患者伴发结直肠息肉的临床特点

王玉欣, 路国涛, 肖炜明, 吴健, 陈姚生, 薛艳, 陈海燕, 丁岩冰

### ■背景资料

结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)被认为是最重要的癌前病变,与结直肠癌的发生发展有密切关系,及早切除,可降低结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率。研究提示,伴癌生存患者罹患第二种肿瘤的比例高于正常患者,结直肠癌术后患者再患结直肠腺瘤要比正常人群高6倍。荟萃分析提示多原发结直肠癌患者结直肠腺瘤的发生率约为3%。且伴结直肠癌生存者再次罹患第二原发结直肠癌亦常见于临床。因此,研究结直肠癌患者伴发CRA的临床特点有其特殊临床意义。

■同行评议者  
顾国利, 副主任医师, 中国人民解放军空军总医院普外科

王玉欣, 路国涛, 肖炜明, 吴健, 陈姚生, 薛艳, 陈海燕, 丁岩冰, 扬州市第一人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001  
王玉欣, 在读硕士, 主要从事肠镜检查质量的相关研究。

作者贡献分布: 此课题由丁岩冰与王玉欣设计; 研究过程由王玉欣、路国涛、薛艳及陈海燕操作完成; 数据分析由王玉欣、肖炜明、吴健及陈姚生完成; 本论文写作由王玉欣与丁岩冰完成。  
通讯作者: 丁岩冰, 副教授, 主任医师, 225001, 江苏省扬州市邗江中路368号, 扬州市第一人民医院消化内科。

chinadyb@vip.sina.com

收稿日期: 2013-10-25 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-18

### Clinical characteristics of adenomatous polyps in colorectal cancer

Yu-Xin Wang, Guo-Tao Lu, Wei-Ming Xiao, Jian Wu, Yao-Sheng Chen, Yan Xue, Hai-Yan Chen, Yan-Bing Ding

Yu-Xin Wang, Guo-Tao Lu, Wei-Ming Xiao, Jian Wu, Yao-Sheng Chen, Yan Xue, Hai-Yan Chen, Yan-Bing Ding, Department of Gastroenterology, Yangzhou No. 1 People's Hospital, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China  
Correspondence to: Yan-Bing Ding, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Yangzhou No. 1 People's Hospital, 368 Hanjiang Middle Road, Hanjiang District, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. chinadyb@vip.sina.com

Received: 2013-10-25 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-18

### Abstract

**AIM:** To evaluate the morphological and pathologic features of polyps in colorectal cancer (CRC) patients.

**METHODS:** A total of 3166 patients underwent colonoscopy between April 2009 and August 2012 at the First People's Hospital of Yangzhou. These patients were divided into two groups: CRC and non-CRC. Sex, age, characteristics of adenomatous polyps (location, number, size, morphology and pathology), and CRC were recorded. The morphological and pathologic features of polyps in the two groups were analyzed.

**RESULTS:** Of 3022 cases who underwent total colonoscopy, 142 were diagnosed with CRC (4.7%), and 2880 had non-CRC diseases. CRC patients had higher prevalences of polyps, multiple polyps and high-risk adenomas than non-

CRC patients ( $P = 0.017, 0.02, 0.002$ ). Although CRC patients had a higher frequency of tubular or villous adenomas ( $P < 0.05$ ), no significant differences in size of the lesion or pathological type were observed between the two groups. The frequency of right colonic lesions in CRC patients was significantly higher than that in non-CRC patients (37.4% vs 27.5%,  $P = 0.007$ ).

**CONCLUSION:** There are high detection rates of colon polyps and high-risk adenomas in CRC patients. The quality of colonoscopy should be stressed in CRC patients.

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

**Key Words:** Colonoscopy; Colorectal cancer; Colorectal polyps

Wang YX, Lu GT, Xiao WM, Wu J, Chen YS, Xue Y, Chen HY, Ding YB. Clinical characteristics of adenomatous polyps in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 286-290 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/286.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.286>

### 摘要

**目的:** 探讨结直肠癌(colorectal cancer, CRC)患者结直肠息肉的形态学及病理学特点。

**方法:** 对2009-04/2012-08于扬州市第一人民医院西区行结肠镜检查的患者进行回顾性分析。将患者分为两组: CRC组与非CRC组。统计患者的性别、年龄、息肉检出情况(部位、数量、大小及病理学特点)以及CRC检出情况, 对比分析两组患者息肉形态学及病理学特点。

**结果:** 共纳入3022例患者, CRC组142例(4.7%), 非CRC组2880例。CRC组息肉、多发性息肉及高危腺瘤检出率较非CRC组均显著增加( $P = 0.017, 0.02, 0.002$ ); CRC组患者管状腺瘤和绒毛状腺瘤检出率均高于非CRC组( $P < 0.05$ ), 但两组在病变的大小、病理类型等方面差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); CRC组右半结肠病变比例较非CRC组高(37.4% vs 27.5%,  $P =$

0.007), 有统计学意义。

**结论:** CRC患者息肉及高危腺瘤检出率明显高于非CRC患者, 临床工作中应重视并提高CRC患者及CRC术后患者全结肠镜检查质量。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结肠镜; 结直肠癌; 息肉

**核心提示:** 结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一种常见的恶性肿瘤, 我国CRC的发病率和死亡率呈逐年上升趋势。CRC术后如何进行内镜下随访是此类患者的临床关注点之一。本研究提示CRC患者较非CRC患者息肉、多发性息肉及高危腺瘤检出率增加, 同时CRC患者结直肠病变显著右移。因此, 临床工作中应加强结直肠癌患者以及结直肠癌术后患者全结肠镜检查, 尤需警惕右半结肠病变。

王玉欣, 路国涛, 肖炜明, 吴健, 陈姚生, 薛艳, 陈海燕, 丁岩冰. 结直肠癌患者伴发结直肠息肉的临床特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 286-290 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/286.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.286>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是一种常见的恶性肿瘤, 我国CRC的发病率和死亡率呈逐年上升趋势。结直肠腺瘤(colorectal adenoma, CRA)被认为是最重要的癌前病变<sup>[1,2]</sup>, 与结直肠癌的发生发展有密切关系, 及早切除可降低CRC的发病率<sup>[3,4]</sup>。

研究<sup>[5]</sup>提示, 伴癌生存患者罹患第二种肿瘤的比例高于正常患者, 结直肠癌术后患者再患结直肠腺瘤要比正常人群高6倍。荟萃分析<sup>[6]</sup>提示多原发结直肠癌患者结直肠腺瘤的发生率约为3%。且伴结直肠癌生存者再次罹患第二原发结直肠癌亦常见于临床<sup>[7]</sup>。鉴于此, 临床工作中应关注CRC患者所伴发的息肉、腺瘤临床特点, 本研究从此方面着手进行回顾性研究, 以期望对临床实践有所帮助。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2009-04/2012-08于扬州市第一人民医院消化内镜中心(西区)进行结肠镜检查的患者为研究对象。排除标准: (1)既往有CRC及结肠手术史; (2)既往有肠息肉病史; (3)结肠镜检查未能成功到达回盲瓣者。共3022例纳入此研

表 1 两组患者基本资料

	CRC组	非CRC组	P值
年龄(mean ± SD, 岁)	61.6 ± 11.5	58.0 ± 13.7	0.716
性别(男/女)	89/53	1626/1254	0.144
麻醉(是/否)	100/42	2109/771	0.261
肠道准备质量			0.333
优	16	533	
良	74	1692	
中	28	355	
差	24	300	

CRC: 结直肠癌。

究, 将患者分为CRC组及非CRC组。

### 1.2 方法

**1.2.1 记录内容:** 患者性别、年龄、息肉腺瘤特点(部位、大小、数量、病理学特点)、CRC等。将盲肠、升结肠、肝曲、横结肠、脾曲定义为近端结肠, 降结肠、乙状结肠、直肠则定义为远端结肠。

**1.2.2 结肠镜检查:** 所有检查者均使用复方聚乙二醇电解质散(恒康正清)、聚乙二醇(福松)或复方甘露醇+口服补液盐(ORS)进行肠道准备。根据波士顿肠道准备量表(the Boston bowel preparation scale, BBPS)将患者肠道准备质量分为4级: 优、良、中、差<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 进展性腺瘤定义:** 进展性腺瘤即高危腺瘤, 具备以下三项之一者即可诊断为高危腺瘤<sup>[3,9]</sup>: (1)息肉或病变直径≥1.0 cm; (2)绒毛状腺瘤或混合性腺瘤中绒毛样结构>25%; (3)伴高级别上皮内瘤变者。

**统计学处理** 所有统计分析均通过SPSS17.0软件分析完成, 计量资料以mean ± SD表示; 计数资料统计分析采用 $\chi^2$ 检验。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 基本资料** 共纳入3022例患者, 男1715例(56.8%)、女1307例(43.2%); 中位年龄为53岁; 结直肠息肉者1079例(35.7%), 共检出息肉数4209枚, 其中腺瘤性息肉344例(11.4%), 共510枚; 高危腺瘤315例。CRC组142例(4.7%), 非CRC组2880例(95.3%), 两组患者在性别、年龄、是否麻醉以及肠道准备质量方面差异无统计学意义(表1)。

**2.2 息肉及高危腺瘤检出率** 142例CRC组中伴发息肉者64例(45.1%), 而非CRC组患者伴发息

### ■研究前沿

结直肠癌的预防是目前临床的研究热点、重点之一。国内目前已有结直肠癌所伴发结直肠腺瘤患病率等研究报道, 但对结直肠癌所伴发结直肠腺瘤的病理特点、部位等报道较少。本人对结直肠癌所伴发结直肠腺瘤的病理特点、病变部位、病变大小等临床特点进行了详细的描述, 并对并发症发生情况进行分析研究, 值得临床借鉴。

### ■相关报道

目前关于结直肠癌所伴发结直肠腺瘤国内外均有相关报导, Hong等研究发现结直肠癌患者息肉及高危腺瘤检出率较非结直肠癌患者增加; 研究提示, 伴癌生存患者罹患第二种肿瘤的比例高于正常患者; 荟萃分析提示多原发结直肠癌患者结直肠腺瘤的发生率约为3%; Chu等对1202例结直肠癌术后患者定期结肠镜检查, 发现36%有腺瘤存在; 另有研究表明, 结直肠癌术后患者再患结直肠腺瘤要比正常人群高6倍。



## ■创新盘点

本研究将患者分为CRC组和非CRC组,对比两组患者结直肠息肉的临床特点,并重点分析了两组患者病变的数量、大小、部位、病理等方面的差异。结果提示CRC患者息肉及高危腺瘤检出率明显高于非CRC患者,因此临床工作中应重视并提高CRC患者及CRC术后患者全结肠镜检查质量。

表 2 两组息肉检出率情况对比

	CRC组		非CRC组		P值
	n	百分比(%)	n	百分比(%)	
息肉					
无	78	54.9	1865	64.8	0.017
有	64	45.1	1015	35.2	
合计	142		2880		
息肉数量					0.02
1	454	44.7	25	39.1	
2	177	17.4	20	31.3	
≥3	384	37.8	19	29.7	
合计	1015		64		
高危腺瘤	26	18.3	289	10	0.002

CRC: 结直肠癌。

表 3 两组患者病变部位、大小分布情况对比 n(%)

	CRC组	非CRC组	P值
息肉长径(cm)			0.466
≤0.5	24(52.2)	410(49.8)	
0.6-0.9	17(37.0)	301(36.5)	
≥1.0	5(10.9)	113(13.7)	
腺瘤长径(cm)			0.141
<1.0	4(16.7)	98(30.6)	
≥1.0	20(83.3)	222(69.4)	
息肉部位			0.007
近端结肠	9(14.0)	142(14.0)	
远端结肠	40(62.5)	736(72.5)	
近端结肠+远端结肠	15(23.4)	137(13.5)	

CRC: 结直肠癌。

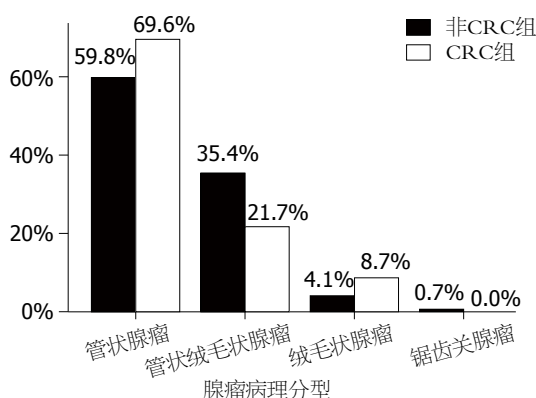


图 1 两组患者腺瘤病理类型对比。CRC: 结直肠癌。

肉者1015例(35.2%), 两组患者息肉检出率差异有统计学意义( $P<0.05$ )。同时, CRC组高危腺瘤所占比例显著高于非CRC组(18.3% vs 10.0%,  $P<0.05$ )(表2)。

2.3 腺瘤性息肉形态学及病理学特点 3022例患者共检出腺瘤性息肉344例, 其中管状腺瘤190例, 管状绒毛状腺瘤108例, 绒毛状腺瘤14例, 锯齿状腺瘤2例。结直肠癌伴发的息肉以≤0.5 cm居多(52.2%), 而腺瘤性息肉则以长径≥1.0 cm居多(83.3%)。

与非CRC组患者相比, CRC组管状腺瘤和绒毛状腺瘤所占比例略高, 管状绒毛状腺瘤比例较低, 但组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。两组在病变的大小、病理类型等方面差异无统计学意义( $P>0.05$ )。而CRC组右半结肠病变比例显著高于非CRC组(37.4% vs 27.5%,  $P=0.007$ )(表3, 图1)。

## 3 讨论

我国CRC的发病率逐年升高。通常认为结直肠肿瘤主要包括CRC和CRA<sup>[9]</sup>。病变直径≥1.0 cm、

病变数量多于3个、病理为绒毛状或重度不典型增生者视为致癌的独立危险因素<sup>[10,11]</sup>。“腺瘤-癌顺序”是一个著名的假说,解释了CRC的形成机制,研究<sup>[12,13]</sup>报道约85%的CRC由腺瘤演变而来。有研究<sup>[14]</sup>提示腺瘤演变为癌的几率每年近为0.25%;若息肉未予处理,则演变为癌的几率:5年为4%,10年为14%<sup>[10]</sup>。随着结肠镜筛查的开展,CRC的发病率和死亡率呈明显下降趋势<sup>[15,16]</sup>。Das等<sup>[7]</sup>对1202例结直肠癌术后患者定期结肠镜检查,发现36%有腺瘤存在。另有研究表明<sup>[17]</sup>,结直肠癌术后患者再患结直肠腺瘤要比正常人群高6倍。沈俊等<sup>[18]</sup>从术后无症状定期结肠镜随访与有症状后再行肠镜检查的对照研究发现,前者异时多原发癌明显低于有症状者,但发现的同时原发结直肠癌、早期结直肠癌和腺瘤比率高。因此,应加强对无症状CRC患者及CRC术后患者全结肠镜检查,并提高肠镜检查的质量。

本研究结果显示,CRC患者共142例(4.7%),其中伴发息肉者64例,与非CRC者比较,息肉检出率较高(45.1% vs 35.2%,  $P < 0.05$ ),与前人<sup>[19,20]</sup>研究结果一致。同时,本研究提示CRC患者中高危腺瘤及多发性息肉( $\geq 3$ 个)检出率均较普通人群高,提示CRC患者再次罹患第二原发结直肠癌的风险高于正常人群,需在随访过程中重点关注。此外,本研究提示,CRC患者腺瘤性息肉中管状腺瘤和绒毛状腺瘤所占的比例较非CRC者高,与Hong等<sup>[12]</sup>结果相似,但本研究中结果差异无统计学意义,可能与本研究样本量较小有关,尚待进一步扩大样本量观察。

目前认为,结直肠息肉发病部位多以左侧结肠为著,Yamaji等<sup>[21]</sup>研究发现随着年龄增长,息肉的发病部位显著右移,其原因尚不明确。研究<sup>[22]</sup>报道在老年CRC患者中常可检测到微卫星不稳定、TGF $\beta$ -II(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )受体的异常表达或是抑癌基因过度甲基化,这些异常变化更易出现在近端结肠肿瘤中。Sung等与Heresbach等<sup>[23,24]</sup>研究说明右半结肠高级别瘤变、腺瘤以及腺癌等病变较左半结肠显著减小,且右半结肠以扁平样息肉较多见,故在临床工作中全结肠镜较难发现右侧病变。本研究发现CRC患者较非CRC患者右半结肠病变发生率高(37.4% vs 27.5%,  $P = 0.007$ )。同样提示,在临床工作中,需强调全结肠镜在CRC筛查中的重要性,尤须注意右半结肠病变的特殊性,警惕右半结肠病变的漏诊。

本研究存在一定的缺陷,其一,样本量较少,

期待大样本量研究进一步证实;其二,本研究是单中心的回顾性研究,有待前瞻性或多中心研究证实本文论点。

总之,CRC患者较非CRC患者息肉、多发性息肉及高危腺瘤检出率增加,同时CRC患者结直肠病变显著右移。因此,临床工作中应加强结直肠癌患者以及结直肠癌术后患者全结肠镜检查,尤需警惕右半结肠病变。

## 4 参考文献

- 1 Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Wayne JD, Schapiro M, Bond JH, Panish JF. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-1981 [PMID: 8247072 DOI: 10.1056/NEJM199312303292701]
- 2 Cotton S, Sharp L, Little J. The adenoma-carcinoma sequence and prospects for the prevention of colorectal neoplasia. *Crit Rev Oncog* 1996; 7: 293-342 [PMID: 9467664]
- 3 Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, Bond J, Dash C, Giardiello FM, Glick S, Johnson D, Johnson CD, Levin TR, Pickhardt PJ, Rex DK, Smith RA, Thorson A, Winawer SJ. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 2008; 134: 1570-1595 [PMID: 18384785 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.002]
- 4 Erichsen R, Baron JA, Stoffel EM, Laurberg S, Sandler RS, Sørensen HT. Characteristics and survival of interval and sporadic colorectal cancer patients: a nationwide population-based cohort study. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1332-1340 [PMID: 23774154 DOI: 10.1038/ajg.2013.175]
- 5 Chu DZ, Giacco G, Martin RG, Guinee VF. The significance of synchronous carcinoma and polyps in the colon and rectum. *Cancer* 1986; 57: 445-450 [PMID: 3942978]
- 6 何建军. 中国人2025例多原发结直肠癌荟萃分析. 中华胃肠外科杂志 2006; (3): 225-229
- 7 Das A, Chak A, Cooper GS. Temporal trend in relative risk of second primary colorectal cancer. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1342-1347 [PMID: 16771959 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00580.x]
- 8 Tae JW, Lee JC, Hong SJ, Han JP, Lee YH, Chung JH, Yoon HG, Ko BM, Cho JY, Lee JS, Lee MS. Impact of patient education with cartoon visual aids on the quality of bowel preparation for colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 804-811 [PMID: 22840295 DOI: 10.1016/j.gie.2012.05.026]
- 9 中华医学会消化病学分会. 中国直肠肿瘤筛查、早诊早治和综合预防共识意见. 胃肠病学 2011; 16: 666-744
- 10 Wasif N, Etzioni D, Maggard MA, Tomlinson JS, Ko CY. Trends, patterns, and outcomes in the management of malignant colonic polyps in the general population of the United States. *Cancer* 2011; 117: 931-937 [PMID: 20960490 DOI: 10.1002/cncr.25657]
- 11 Levine JS, Ahnen DJ. Clinical practice. Adenoma-

## ■应用要点

本研究提示,CRC患者息肉及高危腺瘤检出率明显高于非CRC患者。在临床工作中应加强对无症状CRC患者及CRC术后患者全结肠镜检查,尤须注意右半结肠病变的特殊性,警惕右半结肠病变的漏诊,提高肠镜检查的质量,有一定的临床参考价值。

## ■同行评价

本文资料可靠, 具有一定的临床指导价值.

- 12 Hong YS, Jung EJ, Ryu CG, Kim GM, Kim SR, Hong SN, Hwang DY. Incidence and Multiplicities of Adenomatous Polyps in TNM Stage I Colorectal Cancer in Korea. *J Korean Soc Coloproctol* 2012; 28: 213-218 [PMID: 22993708 DOI: 10.3393/jksc.2012.28.4.213]
- 13 Park YJ. Synchronous lesions in colorectal cancer. *J Korean Soc Coloproctol* 2005; 21: 413-418
- 14 Gordon PH, Nivatvongs S. Principles and practice of surgery for the colon, rectum, and anus. 3rd ed. London: Informa Healthcare, 2007
- 15 Rembacken B, Hassan C, Riemann JF, Chilton A, Rutter M, Dumonceau JM, Omar M, Ponchon T. Quality in screening colonoscopy: position statement of the European Society of Gastrointestinal Endoscopy (ESGE). *Endoscopy* 2012; 44: 957-968 [PMID: 22987217 DOI: 10.1055/s-0032-1325686]
- 16 Singh R, Bourke MJ, Jayanna M, Nind G. Colon tumors and colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 525-530 [PMID: 22898412 DOI: 10.1016/j.gie.2012.06.028]
- 17 沈俊. 结直肠癌高危人群结肠镜追踪随访的研究. *中华消化内镜杂志* 1996; 12: 279-281
- 18 沈俊, 莫善兢, 蔡三军, 赵伟民, 顾伟力, 管祖庆, 张绍珍, 陈洁. 结直肠癌术后患者结肠镜随访检查的意义. *中华消化内镜杂志* 2008; 9: 466-468
- 19 Regula J, Rupinski M, Kraszewska E, Polkowski M, Pachlewski J, Orlowska J, Nowacki MP, Butruk E. Colonoscopy in colorectal-cancer screening for detection of advanced neoplasia. *N Engl J Med* 2006; 355: 1863-1872 [PMID: 17079760 DOI: 10.1056/NEJMoa054967]
- 20 Winawer SJ, Zauber AG, Fletcher RH, Stillman JS, O'Brien MJ, Levin B, Smith RA, Lieberman DA, Burt RW, Levin TR, Bond JH, Brooks D, Byers T, Hyman N, Kirk L, Thorson A, Simmang C, Johnson D, Rex DK. Guidelines for colonoscopy surveillance after polypectomy: a consensus update by the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer and the American Cancer Society. *Gastroenterology* 2006; 130: 1872-1885 [PMID: 16697750 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.012]
- 21 Yamaji Y, Mitsushima T, Ikuma H, Watabe H, Okamoto M, Yoshida H, Kawabe T, Wada R, Omata M. Right-side shift of colorectal adenomas with aging. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 453-448; quiz 464 [PMID: 16500395 DOI: 10.1016/j.gie.2005.09.014]
- 22 Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Phipps AI, Passarelli MN, Grady WM, Upton MP, Zhu LC, Potter JD. Colorectal endoscopy, advanced adenomas, and sessile serrated polyps: implications for proximal colon cancer. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1213-1219 [PMID: 22688851 DOI: 10.1038/ajg.2012.167]
- 23 Sung JJ, Lau JY, Goh KL, Leung WK. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* 2005; 6: 871-876 [PMID: 16257795 DOI: 10.1016/1473-3099(05)70422-8]
- 24 Heresbach D, Barrioz T, Lapalus MG, Coumaros D, Bauret P, Potier P, Sautereau D, Boustière C, Grimaud JC, Barthélémy C, Sée J, Serraj I, D'Halluin PN, Branger B, Ponchon T. Miss rate for colorectal neoplastic polyps: a prospective multicenter study of back-to-back video colonoscopies. *Endoscopy* 2008; 40: 284-290 [PMID: 18389446 DOI: 10.1055/s-2007-995618]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 腹腔镜直肠癌根治术与Dixon直肠癌根治术的临床疗效对比

黄甫达, 杨昌谋, 郭俊宇, 浦 润

黄甫达, 杨昌谋, 郭俊宇, 浦润, 右江民族医学院附属医院肛肠科 广西壮族自治区百色市 533000

黄甫达, 主治医师, 主要从事结肠与肛管疾病的研究.

作者贡献分布: 本课题由黄甫达与浦润共同设计; 研究过程黄甫达、浦润、杨昌谋及郭俊宇完成; 数据分析由杨昌谋与郭俊宇完成; 论文写作由黄甫达完成; 浦润审校.

通讯作者: 浦润, 主任医师, 533000, 广西壮族自治区百色市中山二路18号, 右江民族医学院附属医院肝胆外科.

448445226@qq.com

收稿日期: 2013-10-18 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

## Efficacy of laparoscopic versus Dixon radical resection for rectal cancer

Fu-Da Huang, Chang-Mou Yang, Jun-Yu Guo, Jian Pu

Fu-Da Huang, Chang-Mou Yang, Jun-Yu Guo, Jian Pu, Department of Anorectal Medicine, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Jian Pu, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical University for Nationalities, 18 Zhongshan Road II, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 448445226@qq.com

Received: 2013-10-18 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

## Abstract

**AIM:** To compare the clinical effects of laparoscopic versus Dixon radical operation for rectal cancer.

**METHODS:** Fifty-three patients who underwent laparoscopic operation and sixty-nine cases who underwent Dixon operation from January 2006 to January 2013 at our hospital were included in this study. The operative time, intraoperative bleeding, postoperative anal exhaust time, and postoperative complications as well as short-term and long-term curative effects were compared between the two groups.

**RESULTS:** Compared with the Dixon operation group, laparoscopic surgery had significantly shorter operative time ( $165.18 \text{ min} \pm 25.45 \text{ min}$  vs  $177.19 \text{ min} \pm 12.28 \text{ min}$ ,  $P = 0.014$ ), less intraoperative bleeding volume ( $589.85 \text{ mL} \pm 127.45 \text{ mL}$  vs  $682.30 \text{ mL} \pm 122.76 \text{ mL}$ ,  $P = 0.004$ ), and shorter

postoperative anal exhaust time ( $3.94 \text{ d} \pm 1.0 \text{ d}$  vs  $4.62 \text{ d} \pm 1.3 \text{ d}$ ,  $P = 0.01$ ), while the number of intraoperatively removed lymph nodes ( $3.8 \pm 1.6$  vs  $3.7 \pm 1.2$ ,  $P = 0.756$ ) did not significantly between the two groups. In addition, the satisfaction to low incidence of postoperative complications, such as anastomotic leakage, wound infection and adhesion obstruction, as well as urinary and sexual functions was significantly higher in the laparoscopic operation group ( $P = 0.033$ ,  $0.049$ ,  $0.000$ ), although there were no statistical differences in local tumor recurrence or distant metastasis and 5-year survival rate between the two groups ( $P = 0.701$ ,  $0.583$ ).

**CONCLUSION:** Compared with Dixon operation for rectal cancer, laparoscopic surgery was associated with minimal invasion, quicker recovery, fewer postoperative complications and higher satisfaction to sexual and urinary functions, although the 5-year survival rate, local tumor recurrence and distant metastasis showed no significant differences between the two groups.

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

**Key Words:** Rectal cancer; Laparoscopy; Dixon; Clinical efficacy

Huang FD, Yang CM, Guo JY, Pu J. Efficacy of laparoscopic versus Dixon radical resection for rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 291-295  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/291.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.291>

## 摘要

**目的:** 比较腹腔镜与Dixon直肠癌根治术的临床疗效.

**方法:** 回顾分析2006-01/2013-01在我院完成腹腔镜直肠癌根治术53例及Dixon直肠癌根治术69例, 分析比较两组患者的手术时间、术中出血和术后肛门排气时间、术后并发症及近、远期疗效.

**结果:** 与Dixon手术组相比, 腹腔镜组直肠癌

## ■背景资料

直肠癌发病率呈逐渐上升的趋势, 手术治疗是直肠癌的主要治疗方式, 其中Dixon手术仍是目前应用最多的直肠癌根治术, 现腹腔镜逐渐应用于治疗直肠癌手术中, 但关于其可行性和临床疗效仍有争议.

## ■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科

## ■研发前沿

在根治直肠癌的前提下, 对手术创伤、临床疗效、生活质量的要求越来越高, 因此, 在达到肿瘤学安全的基础上采取多渠道手术方式提高患者生活质量尤为重要。

根治术组手术时间( $165.18 \text{ min} \pm 25.45 \text{ min}$  vs  $177.19 \text{ min} \pm 12.28 \text{ min}$ ,  $P = 0.014$ )、术中出血量( $589.85 \text{ mL} \pm 127.45 \text{ mL}$  vs  $682.30 \text{ mL} \pm 122.76 \text{ mL}$ ,  $P = 0.004$ )、术后肛门排气时间( $3.94 \text{ d} \pm 1.0 \text{ d}$  vs  $4.62 \text{ d} \pm 1.3 \text{ d}$ ,  $P = 0.01$ ), 具有统计学差异, 术中摘除淋巴结( $3.8 \pm 1.6$  vs  $3.7 \pm 1.2$ ,  $P = 0.756$ )无统计学差异。术后并发症吻合口漏、切口感染、黏连性梗阻发生率低以及性功能和排尿功能满意度高, 均有统计学差异( $P = 0.033, 0.049, 0.000$ ); 但两组肿瘤局部复发远处转移、5年生存率无统计学意义( $P = 0.701, 0.583$ )。

**结论:** 腹腔镜直肠癌根治术相比Dixon手术, 其手术创伤性小、康复快、术后并发症少及性功能和排尿功能满意度高等优点。但在5年生存率、肿瘤局部复发和远处转移二者无明显差异。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 直肠癌; 腹腔镜; Dixon; 临床疗效

**核心提示:** 腹腔镜直肠癌根治术相比Dixon手术, 其手术创伤性小、康复快、术后并发症少及性功能和排尿功能满意度高等优点。但在5年生存率、肿瘤局部复发和远处转移二者无明显差异。

黄甫达, 杨昌谋, 郭俊宇, 浦润. 腹腔镜直肠癌根治术与Dixon直肠癌根治术的临床疗效对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 291-295 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/291.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.291>

## 0 引言

直肠癌(carcinoma of rectum)是消化系最常见的恶性肿瘤之一, 发病率有逐渐上升的趋势, 好发于50岁以后中老年人<sup>[1]</sup>。手术治疗是直肠癌的主要治疗方式, 根治性切除术后5年生存率在60%左右, 早期直肠癌术后5年的生存率在80%-90%左右。Dixon手术是目前应用最多的直肠癌根治术, 能保留原有肛门, 改善患者生活质量, 但由于吻合口位于齿状线附近, 在术后的一段时期内患者出现便秘增多, 排便控制功能较差, 特别是对于吻合口距离齿状线 $<1 \text{ cm}$ 者, 长期生存的生活质量明显下降<sup>[2]</sup>, 而对于超低位直肠癌如何做到根治性切除并保存肛门功能仍是直肠癌治疗中的难点<sup>[3-5]</sup>。随着医学科学的发展, 低位直肠癌保肛率明显提高<sup>[6]</sup>。大规模随机对照试验的结果均支持将此微创手术用于治疗直肠癌, 但是其可行性和有效性仍有争议<sup>[7-10]</sup>。本研究的目的

是比较腹腔镜直肠癌根治术(laparoscopic rectectomy, LAR)与传统开腹手术(Dixon)的临床疗效, 现总结如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析于2006-01/2013-01在我院行直肠癌根治术患者122例, 其中行腹腔镜组直肠癌根治术(LAR组)患者53例, 男性患者45例, 女性患者8例, 年龄42-77岁, 平均53.7岁。经腹直肠癌切除术(Dixon组)患者69例, 其中男性患者58例, 女性患者11例, 年龄41-76岁, 平均54.4岁, 两组患者的性别、年龄及临床分型等比较差别无统计学意义(表1)。所有患者术前经结肠镜及病理检查, 诊断为直肠癌, 行CT及MRI检未发现远处器官转移。均做充分的术前准备, 将患者机体调整到最佳生理状态, 无手术禁忌证, 采取全身麻醉、截石位。

### 1.2 方法

**1.2.1 手术:** 采用5孔穿刺法, 截石位。遵照直肠全系膜切除原则。先行腹腔探查和淋巴结清扫, 并确定直肠肿瘤位置及切除范围。分离直肠上段至腹膜反折处, 在直肠后间隙沿骶前筋膜前方锐性分离至耻骨尖, 沿直肠系膜侧壁与盆丛之间用超声刀锐性分离达肛提肌筋膜表面, 分离切断直肠悬韧带, 再沿直肠前方的腹会阴筋膜向下游离前壁至尾骨水平。用超声刀游离乙状结肠及降结肠, 显露左右输尿管; 提起直肠, 直视下沿盆筋膜脏、壁层之间的疏松结缔组织用超声刀锐性分离, 女性悬吊子宫及附件, 采用可吸收夹或钛夹高位结扎肠系膜下动脉, 于肿瘤下方2-5 cm处用线形切割吻合器切断肠管。延长左麦氏点切口至4 cm, 用保护套保护切口, 牵出乙状结肠, 在腹壁外于肿瘤近端8-10 cm处离断。近端置入抵钉座, 荷包缝合后回纳入腹, 肛门置入吻合器吻合, 小心拉出吻合器, 仔细检查吻合圈的完整满意度。探查腹腔, 放置引流管。Dixon组行Dixon手术。

**1.2.2 观察指标:** (1)比较两组患者的手术时间, 术中出血、术中摘除淋巴结个数和术后肛门首次排气时间; (2)比较两组患者术后并发症: 包括吻合口瘘、切口感染、黏连性梗阻发生率; (3)比较两组患者近、远期疗效包括性功能和排尿功能<sup>[11]</sup>及5年生存率及肿瘤的局部复发和转移。

**统计学处理** 应用统计学软件SPSS16.0进行数据分析, 分类变量用 $\chi^2$ 检验, 数值型的变量用 $t$

## ■相关报道

侯雷等报道在腹腔镜下中低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经对患者排尿功能影响较小, 提高患者的生活质量。

表 1 腹腔镜组直肠癌根治术(LAR组)与经腹直肠癌切除术(Dixon组)临床资料

分组	年龄 (岁)	性别		肿瘤大小 (cm)	肠镜大体病理分型			改良Dukes分期				组织学分类			临床分型		
		男	女		溃疡 型	肿块 型	浸润 型	A	B	C		腺 癌	腺鳞 癌	未分 化癌	低 位	中 位	高 位
LAR组	53.7±9.3	45	8	3.8±0.8	31	14	8	17	24	7	5	45	2	6	5	25	23
Dixon组	54.4±8.7	58	11	4.0±1.0	41	18	10	21	32	9	7	57	3	9	3	35	31
检验统计量	$t = -0.401$	$\chi^2 = 0.016$		$t = -1.563$	$\chi^2 = 0.090$			$\chi^2 = 0.050$				$\chi^2 = 0.115$			$\chi^2 = 1.275$		
P值	0.689	0.898		0.121	0.956			0.997				0.944			0.528		

## ■创新盘点

本文对腹腔镜直肠癌根治术的临床疗效进行归纳,并与Dixon手术相比较,腹腔镜直肠癌根治术手术创伤性小、康复快、术后并发症少及性功能和排尿功能满意度高等优点。

表 2 LAR组与Dixon组手术时间、术中出血、摘除淋巴结个数及术后排气比较

分组	手术时间(min)	术中出血(ml)	术中摘除淋巴结(个)	肛门排气时间(d)	n
LAR组	165.2±25.5	589.9±127.5	3.8±1.6	3.94±1.0	53
Dixon组	177.2±12.3	682.3±122.8	3.7±1.2	4.62±1.3	69
t值	-2.563	-3.001	0.314	2.65	
P值	0.014	0.004	0.756	0.010	

表 3 LAR组与Dixon组术后并发症及疗效比较 (n)

分组	术后并发症		近、远期疗效	
	吻合口漏、伤口感染	黏连性梗阻	性功能和排尿功能	局部复发或转移
LAR组	3	4	48	5
Dixon组	13	14	29	8
$\chi^2$ 值	4.57	3.87	30.334	0.147
P值	0.033	0.049	0	0.701

检验。计量资料以mean±SD表示。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

术后所有患者均获得随访,时间6 mo-6年。两种方式的手术均顺利完成,无术中转换手术方式。与Dixon手术相比,腹腔镜组直肠癌根治术的手术时间短、术中出血量少、术后肛门首次排气时间早,具有统计学意义(P<0.05),术中摘除淋巴结个数无统计学差异(表2);术后并发症: LAR组有2例出现吻合口漏,发生率为3.8%,1例切口感染,发生率1.9%; Dixon组有4例出现吻合口漏,发生率5.8%和3例切口感染,发生率4.3%,两组比较吻合口瘘发生率、切口感染率具有统计学意义(P<0.05)。LAR组术后有2例发生黏连性梗阻,发生率3.8%, Dixon组术后有6例发生黏连性梗阻,发生率8.7%,两组比较有统计学意义(P<0.05);性功能和排尿功能随访, LAR组满意度90.1%, Dixon组满意度42.0%,两组比较具有统计学意义;术后LAR组肿瘤局部复发1例,复

发率为1.9%,远处转移4例,远处转移率为7.5%, Dixon组肿瘤局部复发2例,复发率为2.9%,远处转移6例,远处转移率为8.7%,两组比较无统计学差异(表3)。两组5年随访患者分别为25例和31例,生存率分别为84.7%与77.4%,两组比较无统计学差异(表4,图1)。

## 3 讨论

随着腹腔镜设备得到不断更新、完善,腹腔镜技术在腹部手术应用的日趋成熟,腹腔镜直肠癌手术已逐步在国内开展,腹腔镜具有着清晰、多倍放大视野,使得腹腔组织结构更易辨认,能够清楚识别和发现腹腔淋巴结转移病灶,并遵循肿瘤根治原则,可彻底行淋巴结清扫,而且腹腔镜直肠癌根治术治疗直肠癌A期、B期、C期,获得与开腹手术同样的淋巴结清扫范围<sup>[12]</sup>。

良好的操控性的镜头可以从不同的角度进行观察,使手术能更准确地地在直肠特定的间隙进行直视锐性分离,可精确地在系膜根部高位结扎血管,使用超声刀进行解剖能有效减少



## ■应用要点

从研究中可以看出腹腔镜直肠癌根治术同样可保证足够的肿瘤学安全性,而且较Dixon手术其临床疗效具有优势,因此在条件许可下可采用腹腔镜直肠癌根治术。

表 4 LAR组与Dixon组5年生存率比较

	LAR组	Dixon组
5年随访( <i>n</i> )	25	31
存活( <i>n</i> )	21	24
5年生存率(%)	84.0	77.4
$\chi^2$ 值	0.389	
<i>P</i> 值	0.533	

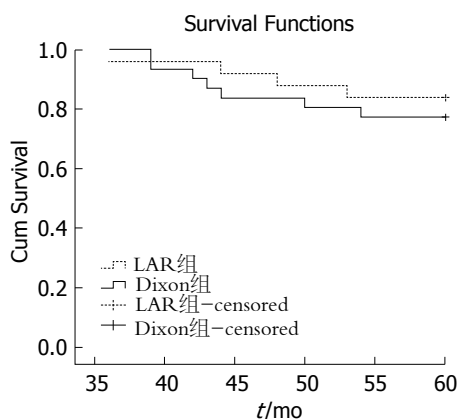


图 1 LAR组与Dixon组生存曲线。

术中出血,统计结果表明LAR组手术出血量较Dixon组明显减少,与邢岩伟等<sup>[13]</sup>报道一致。

腹腔镜直肠癌手术通过改变患者体位以及气腹的帮助,充分显露术野,减少了术中手术器械对小肠的机械损伤,同时操作处在相对密闭的空间内,能更好地维持腹腔内环境,减轻炎症介质的释放,相对于开腹手术,其更具有免疫保护的优势<sup>[14]</sup>,腹腔镜切口小以及套筒的保护作用,减少组织损伤和伤口感染的机会,降低患者术后切口感染发生率<sup>[15]</sup>。术后疼痛较轻,可促进患者早日下床活动,均利于术后胃肠道功能的恢复,减少肠粘连肠梗阻等并发症的发生率<sup>[16]</sup>,数据结果统计显示LAR组较Dixon组肛门排气时间提前1.3 d,与Gouvas等<sup>[17]</sup>报道结果一致。比较LAR和Dixon组,发生黏连性梗阻分别是3.8%和8.7%,有统计学差异,与Rosin等<sup>[18]</sup>报道一致。

对于女性患者,锐性分离骶前间隙直达肛尾韧带并向两侧盆壁分离,在denonvilliers筋膜的两叶之间游离直肠前壁,完全显露阴道后壁并保持阴道后壁穹窿的完整性,沿尾部内切切断直肠侧韧带。对于男性患者,分别向外侧和盆腔方向沿Toldt筋膜后间隙分离直肠,显露并保护左侧输尿管和性腺血管,从两侧髂总动脉内侧直肠系膜边缘锐性分离至进入盆壁,然后进入骶前间隙进行锐性分离,完整分离直肠系膜,靠近直肠离断

侧韧带以保留膀胱支和性腺支的神经。有文献报道,与开腹盆腔自主神经保留术相比,腹腔镜手术突破了开腹手术的盲区,能更准确地识别并保护盆腔自主神经丛,有效地减少盲目止血导致的神经损伤<sup>[19]</sup>,减少术后排尿和性功能障碍的发生<sup>[20]</sup>,且患者心理压力小,全身免疫反应和局部炎症反应小,利于邻近器官功能的恢复,对保护患者术后排尿及性功能起重要作用<sup>[21]</sup>。在所有的随访患者中比较,LAR组对术后的排尿功能和性功能满意度明显高于Dixon组患者<sup>[22,23]</sup>。

直肠癌向远侧扩散的只占7.4%,且都在0.6 cm以内,只有3.6%直肠远端侵犯会超过1 cm,很少达到2 cm,众多学者认为切除距肿瘤下方2 cm直肠已足够安全<sup>[24-26]</sup>,保留肛门的后盆脏器切除术可以达到与低前切除术相同的生活质量,而且其局部复发率及生存率与不保留肛门的后盆脏器切除术没有区别<sup>[27]</sup>。腹腔镜具有着清晰、多倍放大视野良好的操作性能,能够准确把握切除的范围。术后LAR组肿瘤局部复发率为1.9%,远处转移率为7.5%,Dixon组肿瘤局部复发率为2.9%,远处转移率为8.7%,两组5年随访患者生存率分别为84%和77.4%,两组在肿瘤局部复发、转移及生存率上无统计学意义,与Laurent等<sup>[28-31]</sup>报道一致,但LAR组术中出血量少、术后恢复快、近远期并发症发生率低<sup>[32]</sup>,并获得与开腹直肠癌根治术相似的近期疗效及远期疗效<sup>[33]</sup>。也有学者认为腹腔镜在治疗直肠癌方面优于开腹手术<sup>[32]</sup>,但对淋巴结清扫及周围被侵犯脏器的处理仍有争议。对于低位直肠癌,严格执行肿瘤手术的原则,我们采取腹腔镜与直肠吻合器的配合,取得良好的效果,术后未出现吻合口漏及大小便失禁,取得与开腹手术相当或更好的根治效果<sup>[34]</sup>。

总之,腹腔镜直肠癌根治术与Dixon手术相比同样安全、切实可行。虽在5年生存率、肿瘤局部复发和远处转移无明显差异,但腹腔镜直肠癌根治术具有手术时间短,出血少,术后肠功能恢复快,吻合口漏、伤口感染、黏连性肠梗阻发生率低,并取得患者满意性功能和排尿功能,提高了患者的生活质量,达到直肠癌根治术的目的要求,值得临床推广。

## 4 参考文献

- 董秋美, 郑伟华, 黄赛花, 何友兼. 青年结直肠癌患者临床病理特征分析. 广西医学 2009; 31: 621-623
- 马骏, 冯勇, 丛进春, 刘恩卿. 低位直肠癌保肛术后的吻合口水平对排便功能及生活质量的影响. 世界华人

- 消化杂志 2009; 17: 221-224
- 3 彭开勤, 邵永胜, 张应天, 吴文良, 刘文. 结直肠癌淋巴结的分期. 世界华人消化杂志 2008; 16: 112-115
- 4 陈双. 直肠癌直肠系膜全切除技术的再思考. 岭南现代临床外科 2009; 9: 405-406
- 5 王存, 周总光, 徐丹, 于永扬, 程中, 李立. 直肠癌系膜切缘和盆腔侧方转移规律的研究及生存分析. 中华胃肠外科杂志 2006; 9: 474-476
- 6 王冬冬, 曹秀峰, 吕进, 朱斌, 李苏卿. 直肠拖出双吻合治疗低位直肠癌的前瞻性研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 702-704
- 7 任镜清, 刘建伟, 刘少杰, 黄时杰, 陈志棠, 洪劲松. 腹腔镜结直肠癌根治术与开腹手术远期疗效比较. 广东医学 2012; 33: 376-379
- 8 Lezoche G, Baldarelli M, Campagnacci R, Rimini M, Organetti L, Guerrieri M. [Laparoscopic surgery of rectal cancer: state of art and long-term results]. *Ann Ital Chir* 2010; 81: 265-268; discussion 283 [PMID: 21322271]
- 9 Wasserberg N. Laparoscopic colectomy for colorectal cancer. *Isr Med Assoc J* 2010; 12: 572-576 [PMID: 21287804]
- 10 Rîșnoveanu N, Dima AC, Ciurea M. The use of laparoscopic surgery in the treatment of rectal cancer. *J Med Life* 2010; 3: 402-406 [PMID: 21254738]
- 11 林鸿悦, 池畔. 腹腔镜与开腹直肠癌根治术后排尿功能和性功能的比较. 中华胃肠外科杂志 2011; 14: 289-290
- 12 Martinek L, Dostalík J, Gunka I, Gunková P, Vávra P. [Laparoscopic surgery for rectal carcinoma--long-term outcomes]. *Rozhl Chir* 2009; 88: 675-680 [PMID: 20662450]
- 13 邢岩伟, 赵龙, 朱安龙, 朱跃坤. 腹腔镜技术在开腹直肠癌手术流程中的应用. 广东医学 2012; 33: 982-984
- 14 甘涛, 李威, 夏涛, 罗运生, 陈远健, 杨颢. 腹腔镜手术与开腹结直肠癌根治术对免疫系统影响的比较. 广东医学 2012; 33: 3125-3127
- 15 杨钰, 姜春玉. 腹腔镜手术与开腹手术在结直肠癌根治术中临床疗效的对比研究. 中国全科医学 2013; 16: 1990-1993
- 16 沙洪存, 洪晓明, 倪开元. 腹腔镜与开腹直肠癌全系膜切除术的对照研究. 中华普通外科杂志 2010; 25: 287-290
- 17 Gouvas N, Tsiaoussis J, Pechlivanides G, Zervakis N, Tzortzinis A, Avgerinos C, Dervenis C, Xynos E. Laparoscopic or open surgery for the cancer of the middle and lower rectum short-term outcomes of a comparative non-randomised study. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 761-769 [PMID: 19221764 DOI: 10.1007/s00384-009-0671-9]
- 18 Rosin D, Zmora O, Hoffman A, Khaikin M, Munz Y, Zakai BB, Goldes Y, Shabtai EL, Shabtai M, Ayalon A. [Laparoscopic colon and rectal surgery--after ten years and 350 operations]. *Harefuah* 2007; 146: 176-180, 247-248 [PMID: 17460920]
- 19 侯雷, 刘志满, 张学敏, 赵明明. 腹腔镜下低位直肠癌手术中保留盆腔自主神经的临床价值. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2113-2116
- 20 吕钦国, 李英俊. 腹腔镜直肠癌根治术中保护盆腔植物神经的体会. 腹腔镜外科杂志 2009; 14: 119-121
- 21 杨硕, 张建立. 腹腔镜与开腹结直肠癌根治术对机体免疫系统影响的比较研究. 腹腔镜外科杂志 2008; 13: 22-24
- 22 姚寒晖, 朱志强, 宁忠良, 梁伟, 张善家. 腹腔镜自主神经保护的直肠癌根治术对女性性功能的影响. 安徽医科大学学报 2012; 47: 157-160
- 23 郭伟, 王昭顺, 郭澎, 孙军席, 刘铁. 腹腔镜与开腹直肠癌根治术保留盆腔自主神经对男性排尿及性功能影响的对比研究. 腹腔镜外科杂志 2011; 16: 436-438
- 24 李德川, 冯海洋, 刘勇, 陈贤贵, 楼荣灿, 曹浩明. 超低位直肠癌保肛手术的可行性研究. 肿瘤研究与临床 2003; 15: 242-244
- 25 何美文, 刘铮, 白植军, 于鼎. 双吻合器在超低位直肠癌保肛术中的应用. 华西医学 2010; 25: 150-152
- 26 吴在德, 吴肇汉, 郑树, 安洪, 汪建平. 外科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 493
- 27 马明星, 陈春生, 丛进春. 保留肛门的后盆腔脏器切除患者术后生活质量及局部复发. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1156-1159
- 28 Laurent C, Leblanc F, Wütrich P, Scheffler M, Rullier E. Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer: long-term oncologic results. *Ann Surg* 2009; 250: 54-61 [PMID: 19561481 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181ad6511]
- 29 应晓江, 李振军, 沈毅, 叶平江, 陈洪亮, 潘伟火. 腹腔镜与开腹直肠癌根治术临床疗效的对比研究. 中华普通外科杂志 2011; 26: 823-825
- 30 张成余. 老年直肠癌患者行腹腔镜与开腹直肠癌根治术的远期疗效对比. 山东医药 2011; 51: 92-93
- 31 Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Yamaguchi T, Moriya Y. Laparoscopic surgery for transverse and descending colon carcinomas has comparable safety to laparoscopic surgery for colon carcinomas at other sites. *Dig Surg* 2009; 26: 487-492 [PMID: 20068322 DOI: 10.1159/000253875]
- 32 Lacy AM, Delgado S, Castells A, Prins HA, Arroyo V, Ibarzabal A, Pique JM. The long-term results of a randomized clinical trial of laparoscopy-assisted versus open surgery for colon cancer. *Ann Surg* 2008; 248: 1-7 [PMID: 18580199 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31816a9d65]
- 33 谢镔, 王小忠. 腹腔镜与开腹直肠癌根治术早期疗效比较. 广东医学 2012; 33: 3457-3459
- 34 贺长林, 杨康, 李鸿, 秦凯, 周晏林, 黎秋羲, 刘锋, 杨向, 张华茂. 腹腔镜下直肠癌根治术的临床应用. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 107-109

## ■同行评价

本文具有一定的创新性, 对临床具有一定指导作用.

编辑 田滢 电编 闫晋利



## 腹腔镜与开腹直肠癌Dixon术的近期疗效比较

丁伟超, 张蓬波, 张秀忠, 张冲, 任泽强

### ■背景资料

1991年Jacobs等首次开展腹腔镜结肠癌切除术。多年来,随着腹腔镜技术的发展,腹腔镜结肠癌根治术已逐渐成熟。目前,直肠癌的治疗方法仍是以手术切除为主的综合治疗,全直肠系膜切除(total mesorectal excision, TME)为手术“金标准”。无论开腹或腹腔镜手术,都应遵循TME原则。因此,理论上,两者能达到同样的根治效果。文献报道,腹腔镜手术的肿瘤根治性与开腹手术基本相同。

丁伟超, 徐州医学院研究生学院 江苏省徐州市 221000  
张蓬波, 张秀忠, 张冲, 任泽强, 徐州医学院附属医院普外科 江苏省徐州市 221002

丁伟超, 在读硕士, 主要从事肝胆胰外科的研究。

作者贡献分布: 此课题由丁伟超与任泽强设计; 临床操作由张秀忠、张蓬波及张冲完成; 资料收集由丁伟超与张蓬波完成; 论文由丁伟超与任泽强完成。

通讯作者: 任泽强, 主任医师, 硕士生导师, 221002, 江苏省徐州市淮海西路99号, 徐州医学院附属医院普外科。rzq0805@189.cn  
收稿日期: 2013-10-31 修回日期: 2013-11-19

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-18

### Short-term efficacy of laparoscopic and open Dixon surgery for rectal cancer

Wei-Chao Ding, Peng-Bo Zhang, Xiu-Zhong Zhang, Chong Zhang, Ze-Qiang Ren

Wei-Chao Ding, Graduate School of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221000, Jiangsu Province, China  
Peng-Bo Zhang, Xiu-Zhong Zhang, Chong Zhang, Ze-Qiang Ren, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Ze-Qiang Ren, Chief Physician, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 Huaihai West Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. rzq0805@189.cn

Received: 2013-10-31 Revised: 2013-11-19

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-18

### Abstract

**AIM:** To compare the short-term efficacy of laparoscopic and open Dixon surgery for rectal cancer.

**METHODS:** The clinical data for 109 patients who received Dixon surgery for rectal cancer at our hospital between June 2011 and June 2013 were reviewed retrospectively and perioperative results were compared. The patients were divided into two groups, a laparoscopy group ( $n = 48$ ) and an open surgery group ( $n = 61$ ).

**RESULTS:** The operation was successfully performed on all patients. The mean operation time for the laparoscopy group was significantly longer than that for the open surgery group ( $231.0 \text{ min} \pm 60.3 \text{ min}$  vs  $201.7 \text{ min} \pm 46.9 \text{ min}$ ,  $P < 0.05$ ). The length of operative incision ( $5.9 \text{ cm} \pm 0.7 \text{ cm}$  vs  $15.1 \text{ cm} \pm 2.6 \text{ cm}$ ), blood loss ( $96.2 \text{ mL} \pm 20.0$

$\text{mL}$  vs  $181.2 \text{ mL} \pm 117.7 \text{ mL}$ ), postoperative administration of anodyne ( $0.5 \pm 0.6$  vs  $0.9 \pm 0.8$ ), time to anal exhaust ( $2.1 \text{ d} \pm 0.8 \text{ d}$  vs  $3.0 \text{ d} \pm 0.7 \text{ d}$ ), time of liquid food intake ( $3.3 \text{ d} \pm 0.5 \text{ d}$  vs  $4.3 \text{ d} \pm 0.4 \text{ d}$ ), urinary catheterization time ( $4.5 \text{ d} \pm 0.5 \text{ d}$  vs  $6.2 \text{ d} \pm 0.4 \text{ d}$ ), pelvic cavity drainage tube placement time ( $7.5 \text{ d} \pm 0.6 \text{ d}$  vs  $8.2 \text{ d} \pm 0.4 \text{ d}$ ), and postoperative hospitalization time ( $11.7 \text{ d} \pm 2.1 \text{ d}$  vs  $13.8 \text{ d} \pm 2.8 \text{ d}$ ) were significantly less in the laparoscopy group than in the open surgery group (all  $P < 0.05$ ). The postoperative complication, mass maximal diameter, the distance between the distal and proximal margin and the mass in rectum specimens, resected lymph node number and positive lymph node number were not significantly different between the two groups (all  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The laparoscopic Dixon surgery for rectal cancer is safe and feasible in terms of favorable short-term outcomes and minimal invasiveness.

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

**Key Words:** Rectal cancer; Laparoscopy; Open surgery; Dixon surgery

Ding WC, Zhang PB, Zhang XZ, Zhang C, Ren ZQ. Short-term efficacy of laparoscopic and open Dixon surgery for rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(2): 296-300 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/296.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i2.296>

### 摘要

**目的:** 比较腹腔镜与开腹Dixon术的近期临床疗效。

**方法:** 选择2011-06/2013-06于我院行Dixon术的109例患者进行回顾性分析, 对比两组患者的围手术期情况。其中, 腹腔镜组48例、开腹组61例。

**结果:** 两组手术均顺利实施。腹腔镜组手术时间明显长于开腹组( $231.0 \text{ min} \pm 60.3 \text{ min}$  vs

### ■同行评议者

智绪亭, 教授, 山东大学齐鲁医院普外科



201.7 min $\pm$ 46.9 min,  $P<0.05$ ); 切口长度(5.9 cm $\pm$ 0.7 cm vs 15.1 cm $\pm$ 2.6 cm)、术中出血量(96.2 mL $\pm$ 20.0 mL vs 181.2 mL $\pm$ 117.7 mL)、术后镇痛药使用次数(0.5次 $\pm$ 0.6次 vs 0.9次 $\pm$ 0.8次)、术后排气时间(2.1 d $\pm$ 0.8 d vs 3.0 d $\pm$ 0.7 d)、术后进流质时间(3.3 d $\pm$ 0.5 d vs 4.3 d $\pm$ 0.4 d)、尿管留置时间(4.5 d $\pm$ 0.5 d vs 6.2 d $\pm$ 0.4 d)、盆腔引流管留置时间(7.5 d $\pm$ 0.6 d vs 8.2 d $\pm$ 0.4 d)、术后住院时间(11.7 d $\pm$ 2.1 d vs 13.8 d $\pm$ 2.8 d)均小于开腹组( $P>0.05$ ); 术后并发症、肿瘤大小、肿瘤近切缘距离、肿瘤远切缘距离、清扫淋巴结数目及阳性淋巴结数目的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。

**结论:** 腹腔镜Dixon术安全可行, 近期临床疗效满意, 且较开腹手术具有创伤小、恢复快等优点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 直肠癌; 腹腔镜; 开腹; Dixon术

**核心提示:** 目前, 外科手术仍是直肠癌的首选治疗方法。传统开腹手术具有创伤大、恢复慢、并发症多等缺点。随着微创技术的发展, 腹腔镜直肠癌Dixon术已逐渐成熟, 其疗效与传统手术并无明显差别, 且更具优点。尤其对于中低位直肠癌, 腹腔镜Dixon术的保肛优势是开腹手术所无法比拟的。

丁伟超, 张蓬波, 张秀忠, 张冲, 任泽强. 腹腔镜与开腹直肠癌Dixon术的近期疗效比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(2): 296-300 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/296.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i2.296>

## 0 引言

随着腹腔镜技术的发展, 要求行微创治疗和术后保肛的直肠癌患者逐渐增多。现将我院2011-6/2013-06行Dixon术的109例患者, 腹腔镜组48例, 开腹组61例, 资料进行回顾性分析, 比较两组的近期临床疗效, 探讨腹腔镜Dixon术的临床应用价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究共计109例患者, 术前均经直肠镜及活检病理确诊, 且行影像学检查明确肿瘤局部情况并排除肝脏、肺部等重要脏器转移。随机分为腹腔镜组(48例)和开腹组(61例)。两组患者在性别、年龄、TNM分期、术后病理类型等方面无显著性差异( $P>0.05$ )(表1)。

**1.2 方法** (1)腹腔镜Dixon术: 手术遵循全直肠系膜切除(total mesorectal excision, TME)原则。全身麻醉, 气管插管, 患者取截石位。采用五孔法手术, 气腹压力维持在1.596-1.995 kPa(12-15 mmHg)。于肠系膜根部切开系膜, 沿肠系膜下血管走行清扫其周围脂肪组织及淋巴结, 裸化肠系膜下血管, 钛夹夹闭后高位离断。沿骶前间隙分离至直肠骶骨筋膜, 充分骶前分离, 低位直肠癌分离过尾骨尖。注意保护自主神经丛, 勿损伤骶前静脉丛。离断直肠侧方韧带, 切开直肠前方的腹会阴筋膜, 向下游离直肠前壁。用Endo-GIA腔内直线切割闭合器于肿瘤远端2-3 cm处离断肠管。左下腹取4-6 cm切口, 保护圈保护切口后取出肿瘤, 并于肿瘤近端10 cm处切断肠管。吻合器钉座置于近端肠管, 重建气腹后, 于肛门置入吻合器于腹腔镜下完成结-直肠端端吻合; (2)开腹Dixon术: 无特殊情况, 程序基本相同。

**统计学处理** 应用SPSS16.0进行统计分析, 其中, 定性资料采用 $\chi^2$ 检验, 定量资料采用 $t$ 检验, 结果以mean $\pm$ SD表示,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 围手术期情况比较** 两组Dixon直肠癌根治术均顺利实施, 腹腔镜组无中转开腹。腹腔镜组切口长度明显短于开腹组( $P<0.05$ ); 手术时间长于开腹组( $P<0.05$ ); 术中出血量、术后镇痛药使用次数、术后排气时间、术后进流质时间、尿管留置时间、盆腔引流管留置时间、术后住院时间均显著少于开腹组( $P<0.05$ )(表2)。腹腔镜组5例术后出现并发症, 少于开腹组9例, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表3)。两组患者均无围手术期死亡。

**2.2 肿瘤根治性比较** 腹腔镜与开腹组患者的肿瘤大小、肿瘤近切缘距离、肿瘤远切缘距离、清扫淋巴结数目及阳性淋巴结数目的差异均无统计学意义( $P>0.05$ )(表4)。

## 3 讨论

1991年Jacobs等<sup>[1]</sup>首次开展腹腔镜结肠癌切除术。多年来, 随着腹腔镜技术的发展, 腹腔镜结直肠癌根治术已逐渐成熟。目前, 直肠癌的治疗方法仍是以手术切除为主的综合治疗, TME为手术“金标准”<sup>[2,3]</sup>。无论开腹或腹腔镜手术, 都应遵循TME原则。因此, 理论上, 两者能达到同样的根治效果<sup>[4,5]</sup>。文献报道<sup>[6,7]</sup>, 腹腔镜手术的肿

### ■应用要点

腹腔镜Dixon术较开腹手术具有创伤小、恢复快等优点, 且安全可靠, 疗效满意。因此, 只要我们严格把握其手术指征, 定能取得与开腹手术相同的根治效果。

## ■同行评价

本文具有一定的  
临床参考和借鉴  
意义。

表 1 两组患者一般资料 (mean ± SD)

	腹腔镜组	开腹组	P值
<i>n</i>	48	61	
性别( <i>n</i> )			0.531
男	28	32	
女	20	29	
年龄(岁)	58.7 ± 10.9	61.1 ± 12.6	0.338
TNM分期( <i>n</i> )			0.602
I 期	10	14	
II 期	17	26	
III 期	21	21	
病理类型( <i>n</i> )			0.151
腺癌(低分化)	3	3	
腺癌(中分化)	31	44	
腺癌(高分化)	4	10	
黏液腺癌	9	4	
印戒细胞癌	1	0	

表 2 两组患者术中及术后情况 (mean ± SD)

	腹腔镜组	开腹组	P值
<i>n</i>	48	61	
切口长度(cm)	5.9 ± 0.7	15.1 ± 2.6	<0.001
手术时间(min)	231.0 ± 60.3	201.7 ± 46.9	0.009
术中出血量(mL)	96.2 ± 20.0	181.2 ± 117.7	<0.001
术后镇痛药使用次数	0.5 ± 0.6	0.9 ± 0.8	0.017
术后排气时间(d)	2.1 ± 0.8	3.0 ± 0.7	<0.001
术后进流质时间(d)	3.3 ± 0.5	4.3 ± 0.4	<0.001
尿管留置时间(d)	4.5 ± 0.5	6.2 ± 0.4	<0.001
盆腔引流管留置时间(d)	7.5 ± 0.6	8.2 ± 0.4	<0.001
术后住院时间(d)	11.7 ± 2.1	13.8 ± 2.8	<0.001

表 3 两组患者术后并发症 (mean ± SD)

	<i>n</i>	吻合口瘘	膀胱瘘	直肠阴道瘘	肠梗阻	乳糜瘘	切口感染	尿路感染	下肢深静脉血栓
腹腔镜组	48	2	0	0	1	0	1	1	0
开腹组	61	4	1	1	0	1	1	0	1
P值						0.347			

表 4 两组患者肿瘤根治性比较 (mean ± SD)

	腹腔镜组	开腹组	P值
<i>n</i>	76	142	
肿瘤大小(cm)	4.2 ± 0.9	4.6 ± 1.5	0.123
肿瘤近切缘距离(cm)	11.4 ± 0.4	11.3 ± 0.5	0.793
肿瘤远切缘距离(cm)	3.4 ± 0.4	3.3 ± 0.3	0.221
清扫淋巴结数目(枚)	10.4 ± 2.8	11.4 ± 4.9	0.184
阳性淋巴结数目(枚)	1.0 ± 1.6	1.3 ± 2.7	0.658

瘤根治性与开腹手术基本相同. 本研究中, 腹腔镜与开腹组患者的肿瘤大小( $4.2\text{ cm} \pm 0.9\text{ cm}$  vs  $4.6\text{ cm} \pm 1.5\text{ cm}$ )、肿瘤近切缘距离( $11.4\text{ cm} \pm 0.4\text{ cm}$  vs  $11.3\text{ cm} \pm 0.5\text{ cm}$ )、肿瘤远切缘距离( $3.4\text{ cm} \pm 0.4\text{ cm}$  vs  $3.3\text{ cm} \pm 0.3\text{ cm}$ )、清扫淋巴结数目( $10.4\text{ 枚} \pm 2.8\text{ 枚}$  vs  $11.4\text{ 枚} \pm 4.9\text{ 枚}$ )及阳性淋巴结数目( $1.0\text{ 枚} \pm 1.6\text{ 枚}$  vs  $1.3\text{ 枚} \pm 2.7\text{ 枚}$ )的差异均无统计学意义( $P>0.05$ ).

与开腹手术相比, 腹腔镜Dixon术的术中操作更具优势. 首先, 腹腔镜的放大作用能够提供清晰的视野, 腹腔镜直视下能够更为准确地锐性分离盆筋膜间隙, 更完整的切除直肠系膜; 其次, 超声刀良好的止血作用有助于保持术野清晰, 且其具有精细解剖的优越性, 腹腔镜下使用超声刀不仅可“骨骼化”肠系膜根部血管, 亦可对一些难于显露的淋巴结、血管等行更准确的手术操作; 最后, 腹腔镜下可清晰显示并放大狭窄的小骨盆, 更好地识别、保护盆腔自主神经丛, 以减少尿潴留、排便功能障碍等并发症的发生<sup>[8]</sup>. 对于中低位直肠癌, 腹腔镜Dixon术的保肛优势更是开腹手术所无法比拟的<sup>[9]</sup>. 开腹时, 因盆腔狭小, 术野暴露不好, 有时为了肿瘤的完整切除, 而不得已放弃保肛; 行腹腔镜Dixon术时, 在狭窄的盆腔中, 借助各种腔镜器械, 除了能够切除更低位的肿瘤, 还可以达到保肛的效果. 另外, 如腹腔镜下发现无法行根治性手术, 可行姑息性切除或单纯造瘘等缓解患者症状, 从而避免剖腹探查造成的创伤.

本研究结果显示, 腹腔镜组切口长度、术中出血量、术后镇痛药使用次数、术后排气时间、术后进流质时间、尿管留置时间、盆腔引流管留置时间、术后住院时间均显著小于开腹组( $P<0.05$ ). 由此可见, 腹腔镜Dixon术具有创伤小、疼痛轻、恢复快、住院时间短等优点. 有学者认为<sup>[10,11]</sup>, 腹腔镜直肠癌根治术的术后并发症发生率少于开腹手术. 本研究中, 腹腔镜组5例术出现后并发症, 少于开腹组9例, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ ). 其中, Dixon术后比较常见的并发症是吻合口瘘. 本研究中, 腹腔镜组2例患者出现吻合口瘘, 少于开腹组4例. 避免吻合口漏主要是做到减少吻合口张力且保证吻合口血供. 因此, 要充分游离结肠, 以减少吻合口张力; 但是不可过多游离远端直肠、肛管, 以免影响吻合口血供. 对于腹腔镜低位直肠癌Dixon术, 当存在吻合口瘘的高危因素或者对吻合不满意时, 可考虑行预防性造瘘<sup>[12,13]</sup>. 与大多数报

道一致, 本研究中腹腔镜组手术时间明显长于开腹组( $231.0\text{ min} \pm 60.3\text{ min}$  vs  $201.7\text{ min} \pm 46.9\text{ min}$ )( $P<0.05$ ), 我们相信, 随着腹腔镜技术的成熟和术者操作的熟练, 手术时间将逐渐缩短, 接近甚至短于开腹手术. 文献报道, 腹腔镜与开腹手术的远期疗效亦无明显差异<sup>[14-16]</sup>. 本研究腹腔镜组患者近期疗效满意, 远期疗效尚需术后密切随访.

总之, 腹腔镜Dixon术较开腹手术具有创伤小、恢复快等优点, 且安全可行, 疗效满意. 因此, 只要我们严格把握其手术指征, 定能取得与开腹手术相同的根治效果.

#### 4 参考文献

- 1 Jacobs M, Verdeja JC, Goldstein HS. Minimally invasive colon resection (laparoscopic colectomy). *Surg Laparosc Endosc* 1991; 1: 144-150 [PMID: 1688289]
- 2 池畔. 腹腔镜直肠癌全直肠系膜切除手术技巧. *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 397
- 3 李伟, 魏晰, 刘宁. 全直肠系膜切除治疗直肠癌70例临床分析. *徐州医学院学报* 2007; 27: 739-741
- 4 Poon JT, Law WL. Laparoscopic resection for rectal cancer: a review. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3038-3047 [PMID: 19641971 DOI: 10.1245/s10434-009-0603-5]
- 5 李军, 丁克峰, 张苏展. 结直肠癌患者经腹腔镜手术后短期疗效和安全性的荟萃分析. *中华医学杂志* 2006; 86: 2485-2490
- 6 Staudacher C, Vignali A. Laparoscopic surgery for rectal cancer: The state of the art. *World J Gastrointest Surg* 2010; 2: 275-282 [PMID: 21160896 DOI: 10.4240/wjgs.v2.i9.275]
- 7 李俊韬, 洪楚原, 邹湘才, 邓一文, 梁国健, 林健生, 张继民. 腹腔镜下直肠癌根治术与开腹手术围手术期疗效分析. *国际外科学杂志* 2011; 38: 666-671
- 8 季新威, 张建立, 孙振青, 王政坤, 邱志刚. 开腹与腹腔镜结直肠癌根治术后并发症的分级与评估. *腹腔镜外科杂志* 2012; 17: 356-360
- 9 徐宗斌, 池畔. 腹腔镜与开腹低位直肠癌保肛手术预后对比分析. *中国普外基础与临床杂志* 2012; 19: 600-603
- 10 梁小波, 侯生槐, 李国栋, 刘海义, 李耀平, 江波, 白文启, 王文渊. 腹腔镜直肠癌手术的疗效分析. *中华消化外科杂志* 2010; 9: 411-414
- 11 McKay GD, Morgan MJ, Wong SK, Gatenby AH, Fulham SB, Ahmed KW, Toh JW, Hanna M, Hitos K. Improved short-term outcomes of laparoscopic versus open resection for colon and rectal cancer in an area health service: a multicenter study. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 42-50 [PMID: 22156866 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318239341f]
- 12 Karahasanoglu T, Hamzaoglu I, Baca B, Aytac E, Erenler I, Erdamar S. Evaluation of diverting ileostomy in laparoscopic low anterior resection for rectal cancer. *Asian J Surg* 2011; 34: 63-68 [PMID: 21723468 DOI: 10.1016/S1015-9584(11)60021-3]
- 13 王道荣, 陈杰. 腹腔镜超低位直肠癌保肛术后吻合口瘘的预防策略. *国际外科学杂志* 2013; 40: 437-439
- 14 Laurent C, Leblanc F, Wütrich P, Scheffler M, Rullier E. Laparoscopic versus open surgery for rectal cancer: long-term oncologic results. *Ann Surg*



- 2009; 250: 54-61 [PMID: 19561481 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181ad6511]
- 15 Jayne DG, Thorpe HC, Copeland J, Quirke P, Brown JM, Guillou PJ. Five-year follow-up of the Medical Research Council CLASICC trial of laparoscopically assisted versus open surgery for colorectal cancer. *Br J Surg* 2010; 97: 1638-1645 [PMID: 20629110 DOI: 10.1002/bjs.7160]
- 16 Jayne DG, Guillou PJ, Thorpe H, Quirke P, Copeland J, Smith AM, Heath RM, Brown JM. Randomized trial of laparoscopic-assisted resection of colorectal carcinoma: 3-year results of the UK MRC CLASICC Trial Group. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3061-3068 [PMID: 17634484]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的



相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号. 如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>. 文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]. 所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献. 期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程.

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿. 在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>. 无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助. 投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>. 审稿过程平均时间需要14-28天. 所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审.

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任.

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负. 作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码. 如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有.

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进.



## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

戴朝六 教授  
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

石毓君 副研究员  
四川大学华西医院

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

汤华 研究员  
重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

齐清会 教授  
大连医科大学附属第一医院

傅华群 教授  
南昌大学第二附属医院

邱伟华 主任医师  
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

官泳松 教授  
四川大学华西医院放射科

王德盛 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

何敏 教授  
广西医科大学医学科学实验中心

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院

江建新 副主任医师  
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

王阁 教授  
中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

李炎 副研究员  
中山大学肿瘤防治中心, 华南肿瘤学国家重点实验室

魏睦新 教授  
南京医科大学第一附属医院

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内镜科

吴建兵 教授  
南昌大学第二附属医院

刘连新 教授  
哈尔滨医科大学第一临床医学院

肖秀英 主治医师  
上海市徐汇区中心医院

林潮双 主任医师  
中山大学附属第三医院

薛东波 教授  
哈尔滨医科大学附属第一医院

吕凌 副教授  
江苏省人民医院肝脏外科

殷正丰 教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

彭亮 副主任医师  
中山大学附属第三医院感染科

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

倪润洲 教授  
南通大学附属医院消化内科

张明辉 副主任医师  
河北医科大学第一医院

任粉玉 教授  
吉林省延边大学附属医院消化内科

张占卿 主任医师  
上海市复旦大学公共卫生中心肝脏病学、传染病学

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：







Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

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

<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



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

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 1 月 28 日      第 22 卷      第 3 期      (Volume 22 Number 3)



## 3/2014

ISSN 1009-3079



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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授



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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 1 月 28 日 第 22 卷 第 3 期 (总第443期)

述 评	301 自身免疫性肝病重叠综合征的现状 黄颖秋
基础研究	310 SB203580对肝纤维化大鼠肝脏 I、III型胶原蛋白表达的影响 杨新疆, 齐翠花, 郑勇, 曹玉文, 李睿, 宋丽秀, 赵强, 陈卫刚 319 基于耐药特性联合单细胞培养识别肝癌干细胞克隆亚群 陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 陈相宜, 邱晓聪
临床研究	327 肥大细胞及蛋白酶激活受体-2在肠易激综合征中的作用 王军浩, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 王劲松, 黄文斌
文献综述	333 IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展 何文敏, 苏毅 340 肠道微生物在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用 卢伟娜, 冯丽英 345 DNA甲基转移酶与胰腺癌关系的研究进展 廖国良, 肖卫东 350 转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子 李慧明, 余英豪 359 括约肌间瘘管结扎术治疗复杂性肛瘘 邓超, 金黑鹰
研究快报	364 健脾解毒方对人结肠癌HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤的作用及Caspase3表达的影响 张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽
临床经验	371 NBI诊断Barrett食管伴特殊肠化生的临床价值 齐艳荣, 高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 王邦茂 375 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术疗效对比的Meta分析 王晓骏, 张铸, 孙清超 383 替吉奥或氟尿嘧啶联合顺铂治疗晚期食管癌疗效和安全性的比较 庞丽娜, 王峰, 何炜, 周然, 曹蕾, 樊青霞 389 江苏不同地区胃疾病相关幽门螺杆菌差异蛋白质的比较 叶振宇, 李军成, 邢春根 394 胃癌患者应用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测的意义 朱勇, 陈乾, 汪生尧 399 复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油不同服用方法在胶囊内镜肠道准备中的效果对比 刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉 404 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价 方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖 409 导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施 吕剑敏, 程锐, 吴伟东 415 抗结核药物肝损伤与无肝损伤患者化疗前血循环miRNA分子的差异性表达 叶长根, 孙水林, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明 423 鱼油脂肪乳减轻全胃肠外营养引起的肝损害 马麟, 姜晶, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源 429 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效 王宏伟, 曹丽丽, 樊民强 434 肝再生增强因子在HBV相关肝硬化患者中的表达及意义 陈文, 杨春, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良 439 替吉奥或卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌疗效 胡方宽, 王亚楠, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁 444 人大肠癌癌旁不同部位组织架构及相关分子差异 苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元

病例报告	450 以反复腹水为表现的嗜酸细胞性胃肠炎2例 袁珂
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	318 《世界华人消化杂志》参考文献要求 332 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 358 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 382 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 388 《世界华人消化杂志》外文字符标准 398 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 408 《世界华人消化杂志》栏目设置 422 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 443 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化内科
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-01-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有



# World Chinese Journal of Digestology

## January 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 3

<b>EDITORIAL</b>	301 Current progress in research of overlap syndrome of autoimmune liver diseases <i>Huang YQ</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	310 SB203580 decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis <i>Yang XJ, Qi CH, Zheng Y, Cao YW, Li R, Song LX, Zhao Q, Chen WG</i> 319 Identification of liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture <i>Chen J, Ou YF, Cai J, Tao L, Chen XY, Kuang XC</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	327 Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome <i>Wang JJ, Jiang ZD, Zhang ZY, Wang ZB, Wang JS, Huang WB</i>
<b>REVIEW</b>	333 Progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, hepatitis B virus-related liver cirrhosis and cirrhosis with abdominal infection <i>He WM, Su Y</i> 340 Role of gut microbiota in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease <i>Lu WN, Feng LY</i> 345 DNA methyltransferases and pancreatic cancer <i>Liao GL, Xiao WD</i> 350 Key molecules in targeted therapies for metastatic colorectal cancer <i>Li HM, Yu YH</i> 359 Ligation of intersphincteric fistula tract for treatment of complex anal fistula <i>Deng C, Jin HY</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	364 Effects of Jianpi Jiedu decoction on tumor growth and Caspase 3 expression in HCT116/L-OHP colon cancer xenografts in nude mice <i>Zhang RJ, Yu QY, Xu JH, Sun J, Zhao CG, Fan ZZ</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	371 Narrow-band imaging endoscopy for diagnosis of specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus <i>Qi YR, Gao JX, Qian JY, Wang WJ, Jia WJ, Wang BM</i> 375 Combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy versus open esophagectomy for esophageal cancer: A systematic review and meta-analysis <i>Wang XJ, Zhang Z, Sun QC</i> 383 Efficacy and safety of S-1 or fluorouracil combined with cisplatin in treatment of advanced esophagus cancer <i>Pang LN, Wang F, He W, Zhou R, Cao L, Fan QX</i> 389 Proteomic analysis of <i>Helicobacter pylori</i> from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu <i>Ye ZY, Li JC, Xing CG</i> 394 A prospective clinical trial of diagnostic peritoneal lavage for peritoneal cytology in patients with gastric cancer <i>Zhu Y, Chen Q, Wang SY</i> 399 Clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in bowel preparation before capsule endoscopy <i>Liu MZ, Li YZ, Wei TL, Liang CY, Li L</i> 404 Prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury <i>Fang XW, Chang S, Zhao JH, Qian XY</i> 409 Drug-induced liver disease: Risk factors and intervention measures <i>Lv JM, Cheng R, Wu WD</i> 415 Differentially expressed microRNAs in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drugs-induced hepatotoxicity <i>Ye CG, Sun SL, Bai R, Zhu WX, Chen CP, Xie P, Zhao H, Tu WJ, Gao DY, Liu LM</i> 423 Preventive effects of omega-3 fish oil emulsions on parenteral nutrition-associated liver disease <i>Ma L, Jiang J, Liu RM, Wang Q, Suo J, Cao XY</i> 429 Effect of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in treatment of nonalcoholic steatohepatitis <i>Wang HW, Cao LL, Fan MQ</i> 434 Clinical significance of serum levels of augments of liver regeneration in patients with HBV-related cirrhosis <i>Chen W, Yang C, Bi YL, Tang L, Wu G, Deng CL</i> 439 Efficacy of three-dimensional conformal therapy combined with S-1 or capecitabine for recurrent rectal carcinoma in elderly patients <i>Hu FK, Wang YN, Deng YW, Wang HS, Zhang SW, Li XJ</i> 444 Variance of crypt architecture and E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions <i>Su M, Wen B, Hu FL, Liu JY</i>

<b>CASE REPORT</b>	450 Eosinophilic gastroenteritis manifesting as recurrent ascites: Report of two cases <i>Yuan K</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Ying-Qiu Huang, Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical College of China Medical University, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaoning Province, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** January 28, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgx.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgx.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 自身免疫性肝病重叠综合征的现状

黄颖秋

黄颖秋, 中国医科大学第五临床学院 本溪钢铁(集团)总医院  
消化内科 辽宁省本溪市 117000

黄颖秋, 主任医师, 教授, 研究生导师, 主要从事胃肠动力疾病、  
消化系统肿瘤及肝硬化的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本述评由黄颖秋独立完成。

通讯作者: 黄颖秋, 教授, 117000, 辽宁省本溪市平山区人民路  
29号, 中国医科大学第五临床学院, 本溪钢铁(集团)总医院消化  
内科. huangyingqiu\_bx@126.com

电话: 0414-2215137

收稿日期: 2013-07-17 修回日期: 2013-10-14

接受日期: 2013-10-17 在线出版日期: 2014-01-28

## Current progress in research of overlap syndrome of autoimmune liver diseases

Ying-Qiu Huang

Ying-Qiu Huang, Department of Gastroenterology, General  
Hospital of Benxi Steel & Iron (Group); the Fifth Clinical  
College of China Medical University, Benxi 117000, Liaon-  
ing Province, China

Correspondence to: Ying-Qiu Huang, Professor, Department of  
Gastroenterology, General Hospital of Benxi Steel & Iron  
(Group); the Fifth Clinical College of China Medical Univer-  
sity, 29 Renmin Road, Pingshan District, Benxi 117000, Liaon-  
ing Province, China. huangyingqiu\_bx@126.com

Received: 2013-07-17 Revised: 2013-10-14

Accepted: 2013-10-17 Published online: 2014-01-28

## Abstract

Autoimmune liver diseases (AILDs) include autoimmune hepatitis (AIH), primary biliary cirrhosis (PBC) and primary sclerosing cholangitis (PSC). Overlap syndrome (OS) of AILDs is a relatively infrequent disease that has the combined clinical, biochemical, serological, histological and radiological features of AIH and PBC or PSC, mainly comprising AIH-PBC and AIH-PSC overlap syndromes. The AIH-PBC overlap syndrome is common in adults, while the AIH-PSC overlap syndrome is predominantly found in children. Overlap syndromes have a progressive course and may finally lead to liver cirrhosis and liver failure without treatment. High-dose ursodeoxycholic acid (UDCA) combined with immunosuppressive therapy with corticosteroids and/or azathioprine (AZA) is usually used in both AIH-PBC and AIH-PSC overlap syndromes. At present, liver transplantation is the

only option with known therapeutic benefit for end-stage patients.

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

**Key Words:** Autoimmune liver diseases; Overlap syndrome; Autoimmune hepatitis; Primary biliary cirrhosis; Primary sclerosing cholangitis

Huang YQ. Current progress in research of overlap syndrome of autoimmune liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 301-309 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/301.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.301>

## 摘要

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)。AILD重叠综合征(overlap syndrome, OS)是指患者同时兼具AIH和PBC或PSC两种疾病的临床表现、生物化学、血清学、组织学以及影像学特征的一种罕见疾病状态。AILD OS主要分为AIH-PBC OS和AIH-PSC OS。前者多见于成人, 后者多见于儿童。OS若无治疗, 最终可致肝硬化或肝衰竭。高剂量熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid)与免疫抑制剂类固醇和/或硫唑嘌呤(azathioprine)联合使用通常被用于治疗AIH-PBC OS和AIH-PSC OS。目前, 肝移植仍是治疗终末期OS患者的唯一有效方法。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 自身免疫性肝病; 重叠综合征; 自身免疫性肝炎; 原发性胆汁性肝硬化; 原发性硬化性胆管炎

**核心提示:** 自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)及原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)。AILD重叠综

## ■背景资料

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是一种由免疫介导的肝脏损伤, 包括以肝细胞损伤为主型的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)以及以胆系损害、胆汁淤积为主型的原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)3种疾病, 部分AILD患者在具有AIH的临床和病理表现的同时, 还具有PBC或PSC的临床及组织病理学特征, 称之为重叠综合征(overlap syndrome, OS), 但此定义尚存争议, 并未被国际自身免疫性肝炎小组认同。

## ■同行评议者

台桂香, 教授, 吉林大学; 宣世英, 教授, 青岛市立医院肝病内科



## ■ 研发前沿

AILD重叠综合征的发病机制尚不清楚,从人类白细胞抗原的遗传易感性以及外周血单核细胞micro-RNAs过度表达的角度探讨其发病机制似乎有其重要意义。

合征(overlap syndrome, OS)临床罕见,表现复杂,主要包括AIH-PBC OS和AIH-PSC OS。本文详尽阐述了上述AILD OS的最新研究进展,有助于人们加深对AILD OS的认识。

黄颖秋. 自身免疫性肝病重叠综合征的现状. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 301-309 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/301.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.301>

## 0 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver disease, AILD)是免疫介导的以肝组织损伤、肝功能异常为特征的一组自身免疫性疾病,包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)和原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)3种疾病<sup>[1]</sup>。其临床表现各异,发病机制尚不十分清楚,体液免疫和细胞免疫异常是其共有的病理生理学机制<sup>[1]</sup>。AIH是一种免疫介导的炎症性肝病,多发于女性,以血清转氨酶、自身抗体及免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)升高为特征,组织病理学示界面性肝炎(interface hepatitis)<sup>[2,3]</sup>。PBC是一种免疫介导的慢性胆汁淤积性肝病,常见于中年女性,以血清抗线粒体抗体(antimitochondrial antibody, AMA)升高为主要特征,组织病理学示慢性肉芽肿性淋巴细胞性小胆管炎<sup>[4]</sup>。PSC也是一种免疫介导的慢性胆汁淤积性肝病,以肝内外胆管弥漫性炎症浸润、纤维化、胆管节段性狭窄和变形为主要特征,组织病理学示同心性“洋葱皮”样纤维化<sup>[5]</sup>。上述3种疾病均可致肝硬化或肝衰竭。近年来研究发现,部分AILD既具有AIH的特征,同时又符合PBC或PSC的临床和病理特征,故称其为重叠综合征(overlap syndrome, OS)<sup>[1,6,7]</sup>。OS的变异型还包括小胆管型PSC、AMA阴性PBC、自身免疫性硬化性胆管炎(autoimmune sclerosing cholangitis, ASC)及IgG4相关硬化性胆管炎(immunoglobulin G4-related sclerosing cholangitis, IgG4-SC)<sup>[6]</sup>,后者是一种新近认识的与IgG4密切相关、对类固醇激素敏感的慢性胆管炎症性疾病,其主要特征为IgG4阳性浆细胞组织浸润、纤维化及闭塞性静脉炎<sup>[8]</sup>。此外, AIH合并系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)<sup>[9,10]</sup>或系统性硬化症-多发性肌炎(systemic sclerosis-polymyositis, SSc PM)<sup>[11]</sup>也被称为OS,但上述观点尚未达成共识。OS因兼具两种AILD特征或AIH与其他

自身免疫性疾病共存,临床罕见且非常复杂,使诊断和治疗不仅面临挑战,也存在诸多争议,本文就OS的研究现状概述如下。

## 1 AIH-PBC重叠综合征(AIH-PBC OS)

1.1 概念 AIH-PBC OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和PBC两种疾病的临床、血清学、生物化学以及组织学特征的一种疾病状态,但因其诊断标准或术语尚未标准化,此定义仍显含糊或笼统<sup>[12]</sup>, AIH-PBC OS究竟是一种独立疾病抑或是AIH或PBC的变异或者是AIH和PBC同时发生的临床表现目前尚存争议<sup>[7,13]</sup>。为此,国际自身免疫性肝炎小组(International Autoimmune Hepatitis Group, IAIHG)就上述争议问题发表如下立场声明<sup>[14]</sup>。AILD(即AIH、PBC、PSC)部分患者具有两种疾病的重叠特征,通常被分类为“OS”,但目前尚缺乏标准的“OS”概念,重叠状况的诊断标准只能随意定义,用于诊断AIH的IAIHG评分系统曾被广泛用于诊断“OS”,但因尚未证明其为有效诊断工具,并未以此用于“OS”的诊断目的,部分胆汁淤积的“OS”患者或从熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)联合免疫抑制剂治疗中受益,但此策略并非基于证据,就此不必定义新的诊断组别<sup>[14]</sup>。IAIHG建议, AILD应按其优势特征分类为AIH、PBC、PSC或小胆管PSC,具有重叠特征的AILD不应视为独立疾病, IAIHG评分系统不应确立亚组患者,具有AIH特征的PBC和PSC患者应予免疫抑制剂治疗<sup>[14]</sup>。由于此类“OS”发病率低,在可预见的未来,不可能期望有前瞻性的干预性治疗试验<sup>[14]</sup>。

1.2 流行病学 流行病学资料显示, AIH-PBC OS的患病率约占AILD患者的7%-13%<sup>[6]</sup>, Zhao等<sup>[15]</sup>的一项回顾性研究也显示, 1413例AILD患者中, 146例为AIH-PBC OS, 其患病率约为10.33%, 此结论与多数调查结果相近。但因AIH-PBC OS的诊断方法尚不确切, 其患病率也存争议。Bonder等<sup>[16]</sup>研究发现, 如按巴黎标准, AIH-PBC OS的患病率仅为1%, 若虽不符合巴黎标准, 但经强的松治疗后肝功酶学及肝活检结果明显改善即可诊断为AIH-PBC OS, 则其患病率为2.8%。

1.3 遗传易感性 表观遗传变异在AILD的发病机制中至关重要<sup>[17]</sup>。AIH、PBC及AIH-PBC OS的遗传易感性均与人类白细胞抗原(human leukocyte antigen, HLA)密切相关<sup>[17]</sup>。Geylanı Güleç等<sup>[18]</sup>对32例AIH患儿研究发现, AIH组不仅I类

HLA抗原A24.9、A26、A32、B38、B51显著增加, 其Ⅱ类HLA抗原DRB1\*04、DRB1\*07、DRB1\*11、DRB1\*15、DRB1\*14、DR11.5的频率也显著高于健康对照组。此外, 1型AIH主要与HLA-A24.9、A26、A32和DRB1\*15密切相关, 而2型AIH则与HLA-A26、B51、B38及DRB1\*11显著相关<sup>[18]</sup>。Invernizzi等<sup>[19]</sup>对676例意大利的PBC患者研究显示, *HLA-DRB1*基因(\*08、\*11和\*14)及*DPB1*基因与PBC密切相关, 此结论与Chow等<sup>[20]</sup>的研究结果基本一致。仅从遗传易感性的角度而言, 尽管AIH、PBC及AIH-PBC OS似乎均与HLA等位基因密切相关, 但三者之间仍有显著的差异, 这或许有助于彼此的鉴别诊断<sup>[21]</sup>。Zepeda-Gomez等<sup>[21]</sup>采用多态性遗传标记检测了20例AIH、16例PBC及10例AIH-PBC OS患者的HLA-DR等位基因, 结果显示, PBC患者的HLA-DR4、-DR1频率显著高于AIH-PBC OS患者(分别为 $P = 0.01$ ,  $P = 0.004$ ), 但3组的HLA-DR5频率均显著低于健康对照组。Coss Adame等<sup>[22]</sup>对26例AIH和15例AIH-PBC OS患者的HLA研究发现, 与健康对照组相比, AIH患者的HLA-DR1/DR3频率显著增加, 而HLA-DR8频率则显著降低, 但AIH-PBC OS患者的上述基因频率却与对照组无显著差异。然而, AIH-PBC OS患者的HLA-DR7频率却显著高于AIH患者( $P = 0.02$ )<sup>[22]</sup>。因此, HLA-DR7有助于AIH-PBC OS与AIH的鉴别<sup>[22]</sup>。

1.4 自身抗体 AIH-PBC OS的确切发病机制仍不清楚, 除HLA的遗传易感因素外, 免疫异常也十分重要, 已证实AIH-PBC OS与多种自身抗体有关<sup>[23]</sup>, 如抗核抗体(antinuclear antibody, ANA)、抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)、抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)、抗肝肾微粒体抗体(anti-liver-kidney microsomal antibody, LKM)。但Zhao等<sup>[15]</sup>研究发现, 146例AIH-PBC OS患者中, 仅14例SMA阳性, 提示SMA对AIH-PBC OS的诊断意义甚微。Himoto等<sup>[24]</sup>对40例AIH、41例PBC、5例PSC及8例AIH-PBC OS患者的p53抗体检测发现, 50%的AIH-PBC OS患者及15%的AIH患者p53抗体阳性, 而仅2.4%的PBC患者p53抗体阳性, 但全部5例PSC患者均显示p53抗体阴性。由此不难看出, p53抗体与AIH-PBC OS关系密切, 以此也可与几种AILD鉴别。

1.5 感染因素 AIH-PBC OS的发病可能与甲型肝炎病毒(hepatitis A virus, HAV)<sup>[25]</sup>、乙型肝炎病

毒(hepatitis B virus, HBV)<sup>[25]</sup>、EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)<sup>[23]</sup>、巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)<sup>[23]</sup>的感染有关。Toyoda-Akui等<sup>[23]</sup>报道1例63岁的女性AIH-PBC OS患者, 其血清CMV检测结果阳性, 提示CMV感染可能与AIH-PBC OS有关。此外, Kaech等<sup>[26]</sup>还报道1例伯纳特氏立克次氏体(*Coxiella burnetii*)感染引发AIH-PBC OS的病例。

1.6 与非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)的关系 NASH是以肝细胞丧失、脂肪变性、气球样变、炎症坏死及纤维化形成特征的病理状态, 常见于2型糖尿病、高脂血症及肥胖患者<sup>[27]</sup>。有报道显示, NASH存在自身免疫特征, 但意义尚不清楚<sup>[28]</sup>。最近, Tsuneyama等<sup>[28]</sup>对54例NASH患者研究发现, 48%(26/54)的NASH患者ANA或AMA阳性, 且肝脏组织学显示有AIH和PBC重叠征象, 换言之, 48%的NASH患者有AIH-PBC OS, 与无自身免疫的NASH患者比较后发现, AIH-PBC OS患者年龄较大(60岁 $\pm$ 10岁 vs 50岁 $\pm$ 16岁)、女性多见(81% vs 43%), 且门管区炎症浸润更为严重, 提示NASH的慢性炎症可能参与AIH-PBC OS的某些致病机制, 且可能与年龄增长有关。

1.7 临床特征 AIH-PBC OS兼具AIH和PBC的临床特征, 常表现为厌食、恶心、呕吐、黄疸、乏力等症状, 血清ANA、AMA阳性, 血清碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(gamma glutamyl transpeptidase,  $\gamma$ -GT)、总胆红素(total bilirubin, TBil)及IgG显著升高<sup>[15]</sup>。Katsushima等<sup>[29]</sup>对PBC及AIH-PBC OS患者外周血单核细胞micro-RNAs(miRNAs)表达情况分析发现, miR-299-5p表达与血清ALP、 $\gamma$ -GT、TBil及IgM水平显著相关, 提示miRNAs的过度表达可能与其发病机制有关。此外, Katsushima等<sup>[30]</sup>在另一项研究中发现, AIH-PBC OS患者的IgG和IgM均显著升高, 尤以后者明显。Zhao等<sup>[15]</sup>对146例AIH-PBC OS研究证实, 41.57%的患者血清IgM显著升高, 而IgG升高者仅为19.10%, 提示IgM可作为AIH-PBC OS的重要血清学指标。除上述特征外, AIH-PBC OS常合并其他自身免疫性疾病, 使临床表现更为复杂, 诊断也更加困难<sup>[31]</sup>。Efe等<sup>[31]</sup>对71例AIH-PBC OS研究发现, 31例(43.6%)合并肝外自身免疫性疾病, 包括自身免疫性甲状腺疾病(13例, 18.3%)、干燥综合征(6例, 8.4%)、乳糜泻(3例, 4.2%)、银屑病(3例, 4.2%)、类风湿性关节炎(3例, 4.2%)、白癜风(2

#### ■相关报道

Zhao等对146例AIH-PBC OS患者的临床、生化、自身抗体及组织病理学特征进行了回顾性研究发现, AILD OS患者存在血清抗平滑肌抗体(smooth muscle antibody, SMA)阳性率低及IgM阳性率高的特征, 此结果与以往OS患者血清SMA阳性率高及IgG阳性率高的报道不同。

## ■创新盘点

本文详尽阐述了近5年来有关AILD重叠综合征的发病机制、临床特征、诊断及治疗方面的最新研究进展,内容及观点新颖.

例, 2.8%)和系统性红斑狼疮(2例, 2.8%), 而合并自身免疫性溶血性贫血、抗磷脂抗体综合征、多发性硬化症、膜性肾小球肾炎、结节病、系统性硬化症、颞动脉炎各1例(分别占1.4%). 提示多种自身免疫性疾病与AIH-PBC OS有关. 因此, 适当拓宽AIH-PBC OS患者自身免疫性疾病谱的筛查范围十分必要<sup>[31]</sup>. 晚近, Korkmaz等<sup>[32]</sup>报道1例合并Evans综合征的罕见AIH-PBC OS病例, 其主要表现为疲乏、肌肉痛、关节痛、气短和紫癜, 血清学检查示肝功异常、贫血、血小板减少、ANA及AMA-M2阳性. 根据上述特征以及骨髓涂片结果, 该患被诊断为AIH-PBC OS、自身免疫性溶血性贫血及自身免疫性血小板减少性紫癜(后者二者并存时称为Evans综合征), 经强的松龙和UDCA联合治疗, 症状迅速缓解. 此外, Aksoy等<sup>[33]</sup>还报道1例合并白癜风和桥本甲状腺炎的AIH-PBC OS病例.

**1.8 诊断标准的评估** IAIHG于1999年修订的AIH诊断评分系统(巴黎诊断标准), 因过于复杂而难以在临床实践中全面推广. 因此, IAIHG最近提出了一个仅包含4个评分项目的AIH简化诊断评分系统. 但这两种评分系统的诊断价值尚存争议. Kuiper等<sup>[34]</sup>基于巴黎标准对包括AIH、PBC及AIH-PBC OS在内的134例AILD患者的一项回顾性研究发现, 巴黎标准诊断AIH-PBC OS的敏感性和特异性分别为92%和97%, 而IAIHG新的AIH评分系统的敏感性和特异性却相当低. 由此他们认为, 用巴黎诊断标准确认AIH-PBC OS具有高度的敏感性和特异性, 而简化版的AIH评分系统的临床价值尚不确切. 而Neuhauser等<sup>[35]</sup>以新版AIH简化诊断评分系统作为AIH-PBC OS诊断工具对368例AILD患者回顾性研究发现, 以1999年AIH修订版诊断的43例(12%) AIH-PBC OS患者, 按简化版标准仅为23例(6%), 且后者肝病相关死亡率的频率更高, 提示简化版AIH评分系统不仅有助于AIH-PBC OS的诊断和临床评估, 而且可以替代修订版的AIH-PBC OS诊断标准.

**1.9 治疗** AIH的药物治疗仍以类固醇激素和/或AZA为主, PBC则常采用UDCA治疗, 而对于AIH-PBC OS患者, 除UDCA外, 是否还需要免疫抑制剂治疗仍存争议<sup>[36]</sup>. 随机对照试验是选择药物治疗的最佳方法. 但由于AIH-PBC OS患病率低, 有关其药物治疗, 迄今尚缺乏大规模随机双盲对照临床试验和前瞻性研究, 因此很难判断哪种药物治疗AIH-PBC OS的效果最佳<sup>[36]</sup>. Ozaslan

等<sup>[37]</sup>的一项非随机双盲小样本回顾性研究发现, 对于AIH评分较高及AMA阴性的AIH-PBC OS患者, 应采取类固醇和UDCA的联合治疗方案, 而对于AIH评分较低及AMA阳性者, 应首先使用UDCA, 如无应答, 加用类固醇激素时应予密切监控. Tanaka等<sup>[38]</sup>研究证实, 简化的AIH评分系统对于预测需类固醇激素治疗的AIH-PBC OS患者具有高度特异性. UDCA的推荐使用剂量为每天13-15 mg/kg<sup>[36]</sup>. 尽管UDCA能减缓PBC的进展, 但大多数患者对UDCA没有完全应答, 即便完全应答者, UDCA也不能治愈疾病<sup>[39]</sup>. 肝移植无疑是终末期AILD患者的唯一有效治疗手段, 其术后的5年生存率接近80%, 但术后复发问题仍很明显<sup>[5]</sup>. Bhanji等<sup>[40]</sup>研究发现, OS患者肝移植的术后复发率较单纯的AILD患者显著增加(5年: 53% vs 17%; 10年: 69% vs 29%,  $P = 0.001$ ), 而复发的中位时间也较后者显著缩短(67 mo vs 20 mo vs 172 mo  $\pm$  9 mo,  $P = 0.001$ ), 但生存期并无显著差异.

## 2 AIH-PSC重叠综合征(AIH-PSC OS)

**2.1 概念** AIH-PSC OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和PSC两种疾病的临床、血清学、生物化学、免疫学、组织学或影像学特征的一种疾病状态<sup>[41,42]</sup>, 临床罕见, 诊断十分困难, 迄今仅见少数病例报告发表, 其中的部分患者伴有溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)或克罗恩病(Crohn's disease, CD), 多见于儿童或青少年<sup>[41]</sup>, 目前尚无AIH-PSC OS的统一定义标准, IAIHG认为AIH-PSC OS不是独立的疾病, 不推荐IAIHG评分系统诊断OS, 建议按AIH、PSC的特征优势分类替代AIH-PSC OS诊断<sup>[14]</sup>.

**2.2 流行病学** AIH-PBC OS的报道相对较多, 而AIH-PSC OS则较少, 尤其是儿童以及常伴发炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)者<sup>[7]</sup>, AIH-PSC OS的患病率约占AILD的8%-17%<sup>[6]</sup>, Abdalian等<sup>[43]</sup>通过磁共振胆管成像(magnetic resonance cholangiography, MRC)检测了79例AIH患者的胆管硬化情况, 并经肝活检组织病理学证实, 其中的8例为AIH-PSC OS, 患病率约为10%. 因此, Hunter等<sup>[42]</sup>建议, 对生化指标显示胆汁淤积的AIH患者, 行常规MRC检查有助于AIH-PSC OS的早期诊断及提高检出率, 可将MRC作为AIH-PSC OS的筛查手段. 但也有学者认为AIH-PSC OS的患病率明显低于AIH-PBC OS, Zhao等<sup>[15]</sup>对1413例AILD患者的一项回顾性



研究发现, 尽管AIH-PBC OS患者高达146例, 但AIH-PSC OS的患者数却为零。

**2.3 临床特征** AIH-PSC OS兼具AIH及PSC的临床特征, 但缺乏特异性, 常伴有IBD, 主要表现为嗜睡、疲劳、厌食、皮肤瘙痒和其他淤胆症状, 血清ALP、 $\gamma$ -GT升高, 血清ANA、SMA、LKM及核周型抗中性粒细胞胞浆抗体(perinuclear antineutrophil cytoplasmic antibodies, p-ANCA)阳性, 肝活检示中、重度界面性肝炎、胆管纤维化及周围炎性改变, 影像学示胆管串珠样或树枝样改变<sup>[44,45]</sup>。ASC是兼具AIH和PSC特征的OS, 即所谓发生于儿童的AIH-PSC OS<sup>[46]</sup>。PSC通常累及大胆管, 而小胆管受累者极为罕见<sup>[46]</sup>, 但Olsson等<sup>[47]</sup>研究显示, 26例AIH-PSC OS患者中, 经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)、MRC及肝组织活检, 确诊为小胆管型AIH-PSC OS患者7例(27%), 可见小胆管受累并非罕见。AIH-PSC OS发生于儿童的频率远高于成人, 且常伴发IBD, 尤其是UC<sup>[46]</sup>, 但伴发CD者罕见<sup>[48]</sup>。最近, Larsen等<sup>[46]</sup>报道1例同时患有CD及严重小胆管ASC的10岁病例, 其主要表现为体质量减轻、腹痛、呕吐和腹泻, 血清ALT、 $\gamma$ -GT及IgG水平升高, 血清SMA、p-ANCA阳性, 但ALP正常, 肝活检示AIH和PSC的组织学特征, 后者为小胆管的急性、增生性及破坏性炎症及粒细胞浸润, MRC正常, 结肠镜病理活检示盲肠、升结肠及横结肠符合CD的慢性炎症性改变。此外, Malik等<sup>[48]</sup>确诊的1例22岁女性AIH-PSC OS患者, 于3年后又出现腹泻、腹部绞痛等症状, 结肠镜检查发现全结肠及末段回肠呈广泛黏膜炎症改变, 黏膜活检示大量的隐窝结构扭曲变形、局灶性隐窝炎、慢性炎症细胞浸润及纤维炎症性渗出, 腹部CT扫描显示末段回肠、盲肠、升结肠及横结肠管壁弥漫性增厚、肠腔狭窄及肠管周围间隙模糊等活动性IBD表现, 据此诊断为CD。

**2.4 诊断方法的评估** AIH-PSC OS的早期诊断常面临困难, 对于显示胆汁淤积的AIH患者尽早采用MRC筛查似乎有助于早期诊断<sup>[42]</sup>, 但对小胆管型AIH-PSC OS者无效<sup>[46]</sup>。Hunter等<sup>[42]</sup>对118例AIH患者的胆汁淤积指标进行筛查, 从中选择24例胆汁淤积的AIH患者, 通过对其临床病理及MRC研究发现, 近期淤胆的12例AIH患者(50%)显示有PSC特征, 最终被诊断为OS。与对照组比较, 胆汁淤积组的AST降低( $P = 0.012$ )、IgM升高( $P = 0.002$ ), 且多数患者有UC。Hunter等<sup>[42]</sup>认

为, MRC作为AIH患者可能罹患AIH-PSC OS的筛查手段, 有其应用价值, 甚至优于ERCP, 但对可疑者, 若MRC正常, 应尽早行肝组织活检以除外小胆管型AIH-PSC OS。

**2.5 治疗** 因缺乏有效诊断标准和大量治疗试验, AIH-PSC OS的治疗多源于AILD的治疗体会或经验<sup>[1]</sup>。美国肝病研究学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)主张对AIH、PSC采用个性化治疗方案<sup>[1]</sup>。作为一线药物, 类固醇激素可联合或不联合AZA使用, AIH-PSC OS的药物治疗一般采用免疫抑制剂、类固醇激素、UDCA或联合应用, 但疗效仍有争议<sup>[1]</sup>。UDCA是治疗早期或中期PSC的常用药物, 可降低转氨酶, 缓解乏力和皮肤瘙痒<sup>[5,39]</sup>, 因此也成为AIH-PSC OS的首选药物。UDCA的常规剂量尚未定论, 通常采用每天10-30 mg/kg, 但近年来也推荐高剂量UDCA<sup>[5]</sup>。但Culver等<sup>[49]</sup>认为, 小或中等剂量的UDCA其疗效令人失望, 而高剂量UDCA又面临潜在的风险。Malik等<sup>[48]</sup>对1例伴发CD的22岁女性AIH-PSC OS患者采用个体化治疗方案观察发现, 停用强的松龙, 改用布地奈德(Budesonide)每天9 mg以治疗活动性CD, 但腹泻症状无缓解, 肝功能进一步减退, 停用布地奈德和AZA, 应用肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)阻滞剂阿达木单抗(adalimumab), 腹泻明显缓解, 肝功能指标趋于正常, 但维持6 mo后, 腹泻、腹痛及血便症状又逐渐复发, 加用氨甲蝶呤(methotrexate, MTX), 腹泻、腹痛仅暂时缓解, 但转氨酶再次升高, 故停用阿达木单抗和MTX, 直接应用6-巯基嘌呤(6-mercaptopurine, 6-MP)每天100 mg治疗, 患者腹泻症状明显缓解。此外, 应用霉酚酸酯(mycophenolate mofetil)成功控制其AIH, 用UDCA治疗PSC引发的胆汁淤积症状, 应用ERCP球囊扩张或置放支架治疗PSC导致的胆管狭窄<sup>[48]</sup>。目前, 肝移植仍是终末期AIH-PSC OS患者的唯一有效治疗手段<sup>[5,49]</sup>。Bhanji等<sup>[40]</sup>对5例AIH-PSC OS患者研究发现, 虽然其肝移植的术后复发率较AILD显著增加, 但二者的生存率并无显著差异。

### 3 AIH-SLE重叠综合征(AIH-SLE OS)

AIH-SLE OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和SLE两种疾病的临床、生物化学、免疫学以及组织学特征的一种疾病状态<sup>[10,50]</sup>, 但此定义并未被IAIHG认同<sup>[14]</sup>, Efe等<sup>[31]</sup>认为SLE仅为AIH患者的一种肝外自身免疫性疾病表现, 不

#### ■应用要点

本文就AILD重叠综合征的发病机制、临床特征、诊断及治疗的最新进展进行了详尽阐述, 有助于加深人们对AILD疾病行为的进一步认识。

## ■同行评价

本文详尽阐述了AILD OS的最新研究进展,有助于人们加深对AILD OS的认识,有重要的学术价值和临床指导意义。

能称其为OS. 该病较罕见,成人<sup>[10]</sup>或儿童<sup>[50]</sup>均可发病. 尽管AIH和SLE均为自身免疫性疾病,但前者主要为细胞免疫异常,而后者则为体液免疫异常<sup>[51]</sup>. 而AIH-SLE OS的发病机制可能与Th1细胞/调节性T细胞(T-regs)间复杂的免疫调节失衡有关<sup>[9]</sup>. 由于SLE可致肝损害,且可为首发表现,肝损害有时甚至相当严重,而ANA、SMA也可阳性,因此易与AIH混淆<sup>[51]</sup>. SLE常累及皮肤、肾脏、神经等多系统,肝损害常与其他系统并行,且与SLE活动性有关,而AIH则以肝实质损害为主要表现,肝外损害相对较轻<sup>[51]</sup>. 但当AIH和SLE共存于同一患者时,鉴别肝损害的病因仍面临挑战. Efe等<sup>[51]</sup>对147例SLE患者的回顾性研究发现,36例患者肝酶异常,而全部SLE患者中的4.7%被诊断为AILD,占肝酶异常者的19.4%,72.3%肝酶异常者符合IAIHG修订的AIH标准,而采用简化标准时AIH则为66.7%,然而,这些患者中仅13.8%有符合AIH的肝活检结果. 此研究表明,AIH可能出现于SLE的病程中,但由于二者的生化指标相似,应用IAIHG评分系统和简化标准很可能将SLE的肝损害误认为AIH,为确定AIH诊断,对于肝酶异常的全部SLE患者应实施肝活检. 因此,对于既符合SLE诊断标准又同时具有AIH临床病理表现的病例,应视为AIH-SLE OS.

## 4 AIH-SSc PM重叠综合征(AIH-SSc PM OS)

AIH-SSc PM OS是指患者在同一时间段或病程中同时具备AIH和SSc PM两种疾病的临床、生物化学、免疫学以及组织学特征的一种疾病状态<sup>[11,52]</sup>,但IAIHG并不认同此定义<sup>[14]</sup>,Efe等<sup>[31]</sup>也视SSc PM仅为AIH患者的一种肝外自身免疫性疾病,而非OS. SSc是一种以皮肤和内脏器官纤维化、微血管系统显著改变以及免疫学异常为主要特征的自身免疫性疾病<sup>[11,52]</sup>,PM是一种以对称性肌无力、肌萎缩和肌痛为主要表现的自身免疫性疾病<sup>[11]</sup>,SSc与PM重叠,使临床表现更为复杂<sup>[11]</sup>. Pamfil等<sup>[11]</sup>首次报道了1例AIH、SSc、PM及脑血管炎共存于同一患者的病例,并称其为AIH-SSc PM OS. 依据ANA阳性,血清球蛋白及转氨酶升高,肝活检示门管区及小叶内浆细胞浸润、碎屑样坏死及纤维化,并除外病毒性肝炎、酒精或药物性肝损害,该患被诊断为AIH,经强的松龙(prednisolone)和AZA治疗后不久,患者即出现严重的吞咽困难,被诊断为胃-食管念珠菌病,病情进一步恶化,出现疲劳、

近端肌无力、体质量下降及胃肠道症状导致的脱水,进而出现认知功能障碍、困惑、焦虑以及毛细血管扩张显著增加. 实验室检查示白细胞、血小板减少,ALT、AST、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)、肌酸磷酸激酶(creatine phosphokinase, CPK)、球蛋白增加,ANA、抗磷脂抗体(antiphospholipid antibodies, APA)阳性,超声心动图示少量心包积液,肺CT示渗出性肺炎及早期纤维化. 肌活检示活动性肌炎. 磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)T2-加权示大脑血管炎性病变. 据此,补充诊断为SSc、PM及脑血管炎,予甲基强的松龙和环磷酰胺联合冲击治疗,同时继续抗真菌治疗. 3 mo后,患者的肌力、认知障碍、焦虑状态、肝酶及白细胞等均明显恢复.

## 5 PBC-PSC重叠综合征(PBC-PSC OS)

PBC-PSC OS是指患者同时具备PBC和PSC两种疾病的临床、组织学及影像学特征的一种疾病状态,目前仅有个别病例报告<sup>[53]</sup>. Jeevagan<sup>[54]</sup>报道1例罹患PBC 17年的女性PBC-PSC OS病例,该患具有胆汁淤积的典型临床和生化特征,ERCP及磁共振胆胰管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)均显示典型的PSC特征,肝脏组织学示汇管区大量淋巴细胞浸润,且于中小胆管周围出现淋巴滤泡,但血清AMA、SMA、LKM均阴性,血清IgG、IgA、IgM也均在正常范围,经胆管内置放支架及UDCA治疗,患者症状、生化指标及影像学特征明显改善.

## 6 PBC-IgG4-SC重叠综合征(PBC-IgG4-SC OS)

PBC-IgG4-SC OS是指患者同时具备PBC和IgG4-SC两种疾病的临床、血清学、组织学及影像学特征的一种疾病状态,目前仅见1例病例报告<sup>[55]</sup>. Naitoh等<sup>[55]</sup>报道1例PBC与IgG4-SC重叠,经强的松龙和UDCA联合治疗成功的病例. 患者除血清转氨酶、AMA显著升高外,血清IgG4滴度为968 mg/dL(正常范围: 4.8-105 mg/dL),内镜逆行胰管造影(endoscopic retrograde pancreatography, ERP)显示,胰头部主胰管呈局灶性不规则狭窄,体尾部胰管呈节段性狭窄. 内镜逆行胆管造影(endoscopic retrograde cholangiography, ERC)示肝内胆管弥漫性狭窄. 胆管腔内超声(intraductal ultrasonography, IDUS)显示胆管壁连续性增厚. 肝活检病理显示,门管区及胆管壁

可见中等量的淋巴浆细胞浸润, 并可见大量的IgG4阳性浆细胞浸润。据此, 该病例诊断为PBC和IgG4-SC, 并经类固醇激素和UDCA联合治疗取得了较好的疗效。

## 7 结论

AILD OS通常包括AIH-PBC OS和AIH-PSC OS两种疾病, 而AIH-SLE OS、AIH-SSc PM OS、PBC-PSC OS及PBC-IgG4-SC OS迄今罕有报道, 其定义也仅为少数学者主张, 并未被多数学者认同。重叠综合征的存在使AILD的临床表现更为复杂, 诊断和治疗也面临诸多挑战, 在评估可能存在的AILD OS时, 必须兼顾肝炎性和胆管炎性成分的组织病理学证据, 只有存在典型的界面性肝炎, 同时又兼有破坏性肉芽肿性胆管炎或纤维性阻塞性胆管炎时, 才可考虑AILD OS的存在。因AILD OS相对少见, 目前尚缺乏大规模随机双盲的前瞻性研究, 而AILD OS这一定义迄今也尚存争议, 且仍未被IAIHG认同。因此对AILD OS的深入了解仍需时日。

## 8 参考文献

- Trivedi PJ, Hirschfield GM. Review article: overlap syndromes and autoimmune liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 517-533 [PMID: 22817525 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05223.x]
- Gossard AA, Lindor KD. Autoimmune hepatitis: a review. *J Gastroenterol* 2012; 47: 498-503 [PMID: 22526272 DOI: 10.1007/s00535-012-0586-z]
- Lata J. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Dig Dis* 2012; 30: 212-215 [PMID: 22722441 DOI: 10.1159/000336704]
- 黄颖秋. 原发性胆汁性肝硬化发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2761-2770
- 黄颖秋. 原发性硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2978-2985
- Czaja AJ. The overlap syndromes of autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 326-343 [PMID: 22918690 DOI: 10.1007/s10620-012-2367-1]
- Durazzo M, Premoli A, Paschetta E, Belci P, Span-dre M, Bo S. Overlap syndromes of autoimmune hepatitis: an open question. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 344-348 [PMID: 23086110 DOI: 10.1007/s10620-012-2378-y]
- 黄颖秋. IgG4相关硬化性胆管炎的研究进展. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2554-2561
- Longhi MS, Ma Y, Grant CR, Samyn M, Gordon P, Mieli-Vergani G, Vergani D. T-regs in autoimmune hepatitis-systemic lupus erythematosus/mixed connective tissue disease overlap syndrome are functionally defective and display a Th1 cytokine profile. *J Autoimmun* 2013; 41: 146-151 [PMID: 23287048 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.12.003]
- Koshy JM, John M. Autoimmune hepatitis--SLE overlap syndrome. *J Assoc Physicians India* 2012; 60: 59-60 [PMID: 23547416]
- Pamfil C, Zdrenghea MT, Mircea PA, Manzat Sap-lacan RM, Rednic N, Rednic S. Systemic sclerosis-polymyositis overlap syndrome associated with autoimmune hepatitis and cerebral vasculitis. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21: 317-320 [PMID: 23012675]
- Lee H, Stapp RT, Ormsby AH, Shah VV. The usefulness of IgG and IgM immunostaining of periportal inflammatory cells (plasma cells and lymphocytes) for the distinction of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis and their staining pattern in autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome. *Am J Clin Pathol* 2010; 133: 430-437 [PMID: 20154281 DOI: 10.1309/AJCPE93G-ZSHUNTAI]
- Talukdar A, Khanra D, Mukherjee K, Saha M. Autoimmune hepatitis in a teenage boy: 'overlap' or 'outlier' syndrome--dilemma for internists. *BMJ Case Rep* 2013; 2013 [PMID: 23396934 DOI: 10.1136/bcr-2012-008335]
- Boberg KM, Chapman RW, Hirschfield GM, Lohse AW, Manns MP, Schrumpf E. Overlap syndromes: the International Autoimmune Hepatitis Group (IAIHG) position statement on a controversial issue. *J Hepatol* 2011; 54: 374-385 [PMID: 21067838 DOI: 10.1016/j.jhep.2010.09.002]
- Zhao P, Han Y. Low incidence of positive smooth muscle antibody and high incidence of isolated IgM elevation in Chinese patients with autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis overlap syndrome: a retrospective study. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 1 [PMID: 22214224 DOI: 10.1186/1471-230X-12-1]
- Bonder A, Retana A, Winston DM, Leung J, Kaplan MM. Prevalence of primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 609-612 [PMID: 21440668 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.03.019]
- Wang Q, Selmi C, Zhou X, Qiu D, Li Z, Miao Q, Chen X, Wang J, Krawitt EL, Gershwin ME, Han Y, Ma X. Epigenetic considerations and the clinical reevaluation of the overlap syndrome between primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis. *J Autoimmun* 2013; 41: 140-145 [PMID: 23187010 DOI: 10.1016/j.jaut.2012.10.004]
- Geylan Güleç S, Urganci N, Polat TB, Demirel E, Yilmaz E. Relations between human leukocyte antigens and autoimmune hepatitis in Turkish children. *Turk J Gastroenterol* 2011; 22: 42-46 [PMID: 21480110]
- Invernizzi P, Ransom M, Raychaudhuri S, Kosoy R, Lleo A, Shigeta R, Franke A, Bossa F, Amos CI, Gregersen PK, Siminovitch KA, Cusi D, de Bakker PI, Podda M, Gershwin ME, Seldin MF. Classical HLA-DRB1 and DPB1 alleles account for HLA associations with primary biliary cirrhosis. *Genes Immun* 2012; 13: 461-468 [PMID: 22573116 DOI: 10.1038/gene.2012.17]
- Chow IT, James EA, Gates TJ, Tan V, Moustakas AK, Papadopoulos GK, Kwok WW. Differential binding of pyruvate dehydrogenase complex-E2 epitopes by DRB1\*08: 01 and DRB1\*11: 01 is predicted by their structural motifs and correlates with disease risk. *J Immunol* 2013; 190: 4516-4524 [PMID: 23543758 DOI: 10.4049/jimmunol.1202445]
- Zepeda-Gomez S, Montaña-Loza A, Zapata-Colindres JC, Paz F, Olivera-Martinez M, López-Reyes A, Granados J, Vargas-Alarcón G. HLA-DR allele frequencies in Mexican mestizos with autoimmune



- liver diseases including overlap syndromes. *Immunol Invest* 2009; 38: 276-283 [PMID: 19811438]
- 22 Coss Adame E, Granados J, Uribe M, Torre A. Does HLA-DR7 differentiate the overlap syndrome of auto-immune hepatitis-primary biliary cirrhosis (AIH-PBC) from those with auto-immune hepatitis type 1? *Ann Hepatol* 2011; 10: 28-32 [PMID: 21301006]
  - 23 Toyoda-Akui M, Yokomori H, Kaneko F, Shimizu Y, Takeuchi H, Tahara K, Yoshida H, Kondo H, Motoori T, Ohbu M, Oda M, Hibi T. Association of an overlap syndrome of autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis with cytomegalovirus infection. *Int J Gen Med* 2011; 4: 397-402 [PMID: 21731890 DOI: 10.2147/IJGM.S19245]
  - 24 Himoto T, Yoneyama H, Kurokohchi K, Inukai M, Masugata H, Goda F, Haba R, Watanabe S, Senda S, Masaki T. Clinical significance of autoantibodies to p53 protein in patients with autoimmune liver diseases. *Can J Gastroenterol* 2012; 26: 125-129 [PMID: 22408762]
  - 25 Núñez Martínez Ó, Marquina Ibáñez I, Ruiz Bravo-Burguillos E, Encinas Sotillos A, Erdozaín Sosa JC. [Primary biliary cirrhosis-autoimmune hepatitis overlap syndrome in a patient with chronic hepatitis B infection]. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 382-387 [PMID: 23084258 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2012.07.007]
  - 26 Kaech C, Pache I, Raoult D, Greub G. Coxiella burnetii as a possible cause of autoimmune liver disease: a case report. *J Med Case Rep* 2009; 3: 8870 [PMID: 19830243 DOI: 10.4076/1752-1947-3-8870]
  - 27 黄颖秋. 非酒精性脂肪性肝炎发病机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3181-3188
  - 28 Tsuneyama K, Baba H, Kikuchi K, Nishida T, Nomoto K, Hayashi S, Miwa S, Nakajima T, Nakanishi Y, Masuda S, Terada M, Imura J, Selmi C. Autoimmune features in metabolic liver disease: a single-center experience and review of the literature. *Clin Rev Allergy Immunol* 2013; 45: 143-148 [PMID: 23842720 DOI: 10.1007/s12016-013-8383-x]
  - 29 Katsushima F, Takahashi A, Sakamoto N, Kanno Y, Abe K, Ohira H. Expression of micro-RNAs in peripheral blood mononuclear cells from primary biliary cirrhosis patients. *Hepatol Res* 2013 Jul 9. [Epub ahead of print] [PMID: 23834361 DOI: 10.1111/hepr.12198]
  - 30 Katsushima F, Takahashi A, Suzuki T, Ejiri Y, Abe K, Ohira H. A case of overlap syndrome of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis with marked elevation of IgM. *Fukushima J Med Sci* 2013; 59: 63-67 [PMID: 23842517 DOI: 10.5387/fms.59.63]
  - 31 Efe C, Wahlin S, Ozaslan E, Berlot AH, Purnak T, Muratori L, Quarneti C, Yüksel O, Thiéfin G, Muratori P. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome and associated extra-hepatic autoimmune diseases. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2012; 24: 531-534 [PMID: 22465972 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328350f95b]
  - 32 Korkmaz H, Bugdaci MS, Temel T, Dagli M, Karabagli P. Autoimmune hepatitis-primary biliary cirrhosis overlap syndrome concomitant with immune hemolytic anemia and immune thrombocytopenic purpura (Evans syndrome). *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: e45-e50 [PMID: 23273499 DOI: 10.1016/j.clinre.2012.11.001]
  - 33 Aksoy EK, Yilmaz B, Köklü S. Autoimmune hepatitis/primary biliary cirrhosis overlap syndrome developed in a patient with vitiligo and Hashimoto thyroiditis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 121-122 [PMID: 23196727 DOI: 10.1097/MEG.0b013e328359493e]
  - 34 Kuiper EM, Zondervan PE, van Buuren HR. Paris criteria are effective in diagnosis of primary biliary cirrhosis and autoimmune hepatitis overlap syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 530-534 [PMID: 20304098 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.03.004]
  - 35 Neuhauser M, Bjornsson E, Treeprasertsuk S, Enders F, Silveira M, Talwalkar J, Lindor K. Auto-immune hepatitis-PBC overlap syndrome: a simplified scoring system may assist in the diagnosis. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 345-353 [PMID: 19888204 DOI: 10.1038/ajg.2009.616]
  - 36 Rust C, Beuers U. Overlap syndromes among autoimmune liver diseases. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 3368-3373 [PMID: 18528934 DOI: 10.3748/wjg.14.3368]
  - 37 Ozaslan E, Efe C, Akbulut S, Purnak T, Savas B, Erden E, Altiparmak E. Therapy response and outcome of overlap syndromes: autoimmune hepatitis and primary biliary cirrhosis compared to autoimmune hepatitis and autoimmune cholangitis. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 441-446 [PMID: 20698205]
  - 38 Tanaka A, Harada K, Ebinuma H, Komori A, Yokokawa J, Yoshizawa K, Abe M, Miyake Y, Kikuchi K, Ohira H, Zeniya M, Yamamoto K, Ishibashi H, Onji M, Nakanuma Y, Tsubouchi H, Takikawa H. Primary biliary cirrhosis - Autoimmune hepatitis overlap syndrome: A rationale for corticosteroids use based on a nation-wide retrospective study in Japan. *Hepatol Res* 2011; 41: 877-886 [PMID: 21883738 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00844.x]
  - 39 Carey EJ, Lindor KD. Current pharmacotherapy for cholestatic liver disease. *Expert Opin Pharmacother* 2012; 13: 2473-2484 [PMID: 23094715 DOI: 10.1517/14656566.2012.736491]
  - 40 Bhanji RA, Mason AL, Girgis S, Montano-Loza AJ. Liver transplantation for overlap syndromes of autoimmune liver diseases. *Liver Int* 2013; 33: 210-219 [PMID: 23146117 DOI: 10.1111/liv.12027]
  - 41 Lamia S, Sana K, Rachid J, Hajer A, Leila M, Nabil T, Mongia H. Autoimmune hepatitis-primary sclerosing cholangitis overlap syndrome complicated by inflammatory bowel disease. *Tunis Med* 2012; 90: 899-900 [PMID: 23247795]
  - 42 Hunter M, Loughrey MB, Gray M, Ellis P, McDougall N, Callender M. Evaluating distinctive features for early diagnosis of primary sclerosing cholangitis overlap syndrome in adults with autoimmune hepatitis. *Ulster Med J* 2011; 80: 15-18 [PMID: 22347734]
  - 43 Abdalian R, Dhar P, Jhaveri K, Haider M, Guindi M, Heathcote EJ. Prevalence of sclerosing cholangitis in adults with autoimmune hepatitis: evaluating the role of routine magnetic resonance imaging. *Hepatology* 2008; 47: 949-957 [PMID: 18200555 DOI: 10.1002/hep.22073]
  - 44 Lüth S, Kanzler S, Frenzel C, Kasper HU, Dienes HP, Schramm C, Galle PR, Herkel J, Lohse AW. Characteristics and long-term prognosis of the autoimmune hepatitis/primary sclerosing cholangitis overlap syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 75-80 [PMID: 18769363 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318157c614]
  - 45 Trivedi PJ, Chapman RW. PSC, AIH and overlap

- syndrome in inflammatory bowel disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2012; 36: 420-436 [PMID: 22306055 DOI: 10.1016/j.clinre.2011.10.007]
- 46 Larsen EP, Bayat A, Vyberg M. Small duct autoimmune sclerosing cholangitis and Crohn colitis in a 10-year-old child. A case report and review of the literature. *Diagn Pathol* 2012; 7: 100 [PMID: 22891962 DOI: 10.1186/1746-1596-7-100]
- 47 Olsson R, Glaumann H, Almer S, Broomé U, Lebrun B, Bergquist A, Björnsson E, Prytz H, Danielsson A, Lindgren S. High prevalence of small duct primary sclerosing cholangitis among patients with overlapping autoimmune hepatitis and primary sclerosing cholangitis. *Eur J Intern Med* 2009; 20: 190-196 [PMID: 19327611 DOI: 10.1016/j.ejim.2008.06.004]
- 48 Malik TA, Gutierrez AM, McGuire B, Zarzour JG, Mukhtar F, Bloomer J. Autoimmune hepatitis-primary sclerosing cholangitis overlap syndrome complicated by Crohn's disease. *Digestion* 2010; 82: 24-26 [PMID: 20160443 DOI: 10.1159/000273735]
- 49 Culver EL, Chapman RW. Systematic review: management options for primary sclerosing cholangitis and its variant forms - IgG4-associated cholangitis and overlap with autoimmune hepatitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 33: 1273-1291 [PMID: 21501198 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04658.x]
- 50 Usta Y, Gurakan F, Akcoren Z, Ozen S. An overlap syndrome involving autoimmune hepatitis and systemic lupus erythematosus in childhood. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2764-2767 [PMID: 17569152]
- 51 Efe C, Purnak T, Ozaslan E, Ozbalkan Z, Karaaslan Y, Altıparmak E, Muratori P, Wahlin S. Autoimmune liver disease in patients with systemic lupus erythematosus: a retrospective analysis of 147 cases. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 732-737 [PMID: 21348808 DOI: 10.3109/00365521.2011.558114]
- 52 Klein R, Hintz E, Staehler G. Exacerbation of AIH in a patient with an AIH/systemic sclerosis overlap syndrome and pulmonary arterial hypertension treated with the endothelin-1 receptor antagonist sitaxentan. *BMJ Case Rep* 2012; 2012 [PMID: 22802555 DOI: 10.1136/bcr-01-2012-5494]
- 53 卞兆连, 尤征瑞, 马雄. 自身免疫性肝病重叠综合征的诊断与治疗. *临床肝胆病杂志* 2011; 27: 601-604
- 54 Jeevagan A. Overlap of primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis - a rare coincidence or a new syndrome. *Int J Gen Med* 2010; 3: 143-146 [PMID: 20531971]
- 55 Naitoh I, Nakazawa T, Hayashi K, Miyabe K, Shimizu S, Kondo H, Yoshida M, Yamashita H, Nojiri S, Takahashi S, Joh T. A case of IgG4-related sclerosing cholangitis overlapped with primary biliary cirrhosis. *Intern Med* 2012; 51: 1695-1699 [PMID: 22790128 DOI: 10.2169/internalmedicine.51.7327]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# SB203580对肝纤维化大鼠肝脏 I、III型胶原蛋白表达的影响

杨新疆, 齐翠花, 郑勇, 曹玉文, 李睿, 宋丽秀, 赵强, 陈卫刚

## ■背景资料

目前尚无特效药物能将肝硬化治愈, 但肝纤维化作为各种慢性肝病进展为肝硬化的一个必经阶段, 已被证实是可逆的。P38MAPK信号通路在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用。研究发现, P38MAPK的活化与肝纤维化有密切关系, 因此他在肝纤维化形成过程中的作用受到众多研究者的关注。

杨新疆, 赵强, 石河子大学医学院 新疆维吾尔自治区石河子市 832002

齐翠花, 郑勇, 李睿, 宋丽秀, 陈卫刚, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008  
曹玉文, 石河子大学医学院第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区石河子市 832008

杨新疆, 在读硕士, 主要从事肝纤维化与门脉高压症的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81170402

作者贡献分布: 本课题由杨新疆、陈卫刚、郑勇、李睿及宋丽秀设计; 研究过程由杨新疆、齐翠花、曹玉文及赵强完成; 研究所用试剂由陈卫刚与郑勇提供; 数据分析由杨新疆完成; 本论文写作由杨新疆与陈卫刚完成。

通讯作者: 陈卫刚, 副教授, 主任医师, 832008, 新疆维吾尔自治区石河子市北二路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。cw\_g\_sh@126.com

收稿日期: 2013-10-13 修回日期: 2013-11-10

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-28

## SB203580 decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis

Xin-Jiang Yang, Cui-Hua Qi, Yong Zheng, Yu-Wen Cao, Rui Li, Li-Xiu Song, Qiang Zhao, Wei-Gang Chen

Xin-Jiang Yang, Qiang Zhao, College of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Cui-Hua Qi, Yong Zheng, Rui Li, Li-Xiu Song, Wei-Gang Chen, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yu-Wen Cao, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of College of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81170402

Correspondence to: Wei-Gang Chen, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Medicine of College of Shihezi University, Beier Road, Shihezi 832008, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. cw\_g\_sh@126.com

Received: 2013-10-13 Revised: 2013-11-10

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of P38MAPK inhibitor SB203580 on collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis.

**METHODS:** Thirty-two female SD rats were randomly divided into four groups: a normal con-

trol group, a hepatic fibrosis group, a dimethyl sulfoxide (DMSO) group and a SB203580 group. Except the normal control group, rats in other groups were subcutaneously injected with carbon tetrachloride to induce hepatic fibrosis. The DMSO group was intraperitoneally injected with 2% DMSO [3 mL/(kg·d)]. Rats in the SB203580 group were intraperitoneally injected with SB203580 [10 mg/(kg·d), dissolved in DMSO]. Fibrosis was staged using histopathological methods. The expression of collagen I and collagen III was detected by immunohistochemistry and RT-PCR.

**RESULTS:** In the normal control group, hepatic fibrosis group, DMSO group and SB203580 group, mean rank of liver fibrosis stage was 4.50, 22.50, 24.00 and 15.00, respectively; SSS scores were  $2.750 \pm 0.707$ ,  $15.875 \pm 0.835$ ,  $16.000 \pm 0.926$  and  $11.625 \pm 0.916$ , respectively; color rendering indexes of collagen I were  $1.575 \pm 0.249$ ,  $7.650 \pm 0.621$ ,  $7.725 \pm 0.501$  and  $4.625 \pm 0.495$ , respectively; color rendering indexes of collagen III were  $2.375 \pm 0.518$ ,  $4.025 \pm 0.446$ ,  $4.075 \pm 0.544$  and  $3.375 \pm 0.167$ , respectively; the relative expression levels of collagen I were  $0.020 \pm 0.003$ ,  $0.012 \pm 0.002$ ,  $0.009 \pm 0.002$  and  $0.016 \pm 0.005$ , respectively; the relative expression levels of collagen III were  $0.412 \pm 0.772$ ,  $0.773 \pm 0.137$ ,  $0.799 \pm 0.116$  and  $0.572 \pm 0.862$ , respectively. Compared to the normal control group, the stage of fibrosis was elevated ( $P < 0.001$ ) and the expression of collagen I and collagen III was increased (both  $P < 0.001$ ) in the hepatic fibrosis group. Compared to the hepatic fibrosis group, the stage of fibrosis declined ( $P = 0.015$ ) and the expression of collagen I ( $P < 0.001$ ) and collagen III ( $P = 0.041$ ) was decreased in the SB203580 group.

**CONCLUSION:** P38MAPK inhibitor SB203580 decreases the expression of collagen I and collagen III and inhibits the progression of hepatic fibrosis in rats.

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

**Key Words:** SB203580; Hepatic fibrosis; Collagen I; Collagen III

## ■同行评议者

李淑德, 教授, 第二军医大学长海医院消化内科



Yang XJ, Qi CH, Zheng Y, Cao YW, Li R, Song LX, Zhao Q, Chen WG. SB203580 decreases collagen I and collagen III expression in the liver of rats with experimental hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 310-318 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/310.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.310>

## 摘要

**目的:** 探讨SB203580对肝纤维化大鼠肝脏I、III型胶原蛋白表达的影响。

**方法:** 将32只♀SD大鼠分为4组: 正常组(N组)8只、肝纤维化组(HF组)8只、DMSO溶剂干预组(D组)8只、P38MAPK抑制剂SB203580干预组(SB组)8只。采用四氯化碳复合因素法复制肝纤维化模型, 肝纤维化模型制作结束后, D组给予2%DMSO溶液3 mL/(kg·d), SB组给予SB203580溶液10 mg/(kg·d), N组、HF组给予同等剂量0.9%生理盐水3 mL/(kg·d)腹腔注射, 连续注射4 d。干预结束后, 宰杀大鼠留取肝脏, 行肝组织病理切片HE染色评价肝纤维化分期, 行Masson染色观察胶原纤维沉积情况, 采用SP免疫组织化学法检测肝脏I、III型胶原蛋白表达, 应用逆转录PCR法检测肝脏中I、III型胶原mRNA表达。

**结果:** 正常对照组(N组)、肝纤维化组(HF组)、SB203580溶剂组(DMSO组)和P38MAPK通路特异性抑制剂组(SB203580组)的肝纤维化分期平均秩分别为4.50、22.50、24.00和15.00; SSS评分分别为 $2.750 \pm 0.707$ 、 $15.875 \pm 0.835$ 、 $16.000 \pm 0.926$ 和 $11.625 \pm 0.916$ ; I型胶原显色指数分别为 $1.575 \pm 0.249$ 、 $7.650 \pm 0.621$ 、 $7.725 \pm 0.501$ 和 $4.625 \pm 0.495$ ; III型胶原显色指数分别为 $2.375 \pm 0.518$ 、 $4.025 \pm 0.446$ 、 $4.075 \pm 0.544$ 和 $3.375 \pm 0.167$ ; I型胶原mRNA表达分别为 $0.020 \pm 0.003$ 、 $0.012 \pm 0.002$ 、 $0.009 \pm 0.002$ 和 $0.016 \pm 0.005$ ; III型胶原mRNA表达分别为 $0.412 \pm 0.772$ 、 $0.773 \pm 0.137$ 、 $0.799 \pm 0.116$ 和 $0.572 \pm 0.862$ 。HF组与N组相比, I、III型胶原及其mRNA表达升高(均 $P < 0.001$ ), 与肝纤维化分期结果一致( $P < 0.001$ ); D组与HF组无明显差异(均 $P > 0.05$ ); SB组与HF组相比, I、III型胶原表达降低(I型胶原显色指数 $P < 0.001$ , III型胶原显色指数 $P = 0.041$ ); I型胶原mRNA表达降低( $P = 0.005$ ), 同时III型胶原mRNA表达亦降低( $P = 0.005$ ), 肝纤维化分期下降( $P = 0.015$ )。

**结论:** P38MAPK抑制剂SB203580阻断

P38MAPK通路具有降低肝脏I、III型胶原表达的作用, 能够延缓肝纤维化的发生发展。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** SB203580; 肝纤维化; I型胶原; III型胶原

**核心提示:** P38MAPK在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用, 其活化与肝纤维化有密切关系。本研究表明, P38MAPK抑制剂SB203580阻断P38MAPK通路具有降低肝脏I、III型胶原表达的作用, 能够延缓肝纤维化的发生发展。为阐述肝纤维化的分子机制提供理论基础。

杨新疆, 齐翠花, 郑勇, 曹玉文, 李睿, 宋丽秀, 赵强, 陈卫刚. SB203580对肝纤维化大鼠肝脏I、III型胶原蛋白表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 310-318 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/310.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.310>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是肝脏对各种慢性刺激进行损伤修复反应时, 以胶原为主的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)在肝内大量沉积的病理过程。因其发生机制尚未完全明确, 故已成为目前国内外学者研究的热点。近年来, HF形成过程中信号传导通路作为研究热点受到越来越多的关注。其中丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应。而P38MAPK作为MAPK家族的重要信号通路, 在细胞炎症、增殖、应激、凋亡、细胞周期和生长等多种生理和病理过程中起着重要作用<sup>[1]</sup>。因此, 本实验复制肝纤维化模型, 通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的I、III型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究P38MAPK通路与肝纤维化的关系提供理论基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 32只实验大鼠购自新疆医科大学实验动物中心, 均为同期出生、纯种系、SPF级4-5周龄的健康♀SD大鼠, 体质量约180-220 g。DMSO为韩国BIOSHARP公司产品, 兔抗大鼠I型胶原蛋白多克隆抗体、兔抗大鼠III型胶原蛋白多

## ■研究前沿

近年来, 肝纤维化形成过程中的信号传导通路作为研究热点受到越来越多的关注。其中丝裂原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其主要之一P38MAPK通路在MAPK信号通路中占重要地位, 是近年信号传导领域研究的热点之一。

### ■相关报道

MAPK级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应。本实验复制肝纤维化模型, 通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 发现肝纤维化大鼠在给予SB203580后肝内I、III型胶原的表达降低, 同时从组织病理学观察肝纤维化分期下降, 表明SB203580能够减少胶原沉积, 改善肝脏损害。

克隆抗体为美国Abcam公司产品; 免疫组织化学染色SP试剂盒为北京中杉公司产品; DAB显色剂为DAKO公司产品; RNA提取试剂TRIzol为美国Invitrogen公司产品; 逆转录酶试剂盒为美国Fermentas公司产品; 四氯化碳、无水乙醇、胆固醇粉均为国产分析纯。PCR引物由上海生物工程公司合成, COL-I mRNA引物序列<sup>[2]</sup>: Forward: 5'-GGTCCCAAAGGTGCTGATGG-3', Reverse: 5'-GACCAGCCTACACGGTCT-3', 扩增长度为182 bp; COL-III mRNA引物序列<sup>[2]</sup>: Forward: 5'-CGAGGTGACAGAGGTGAAAGA-3', Reverse: 5'-AACCCAGTATTCTCCGCTCTT-3', 扩增长度为336 bp; GAPDH引物序列: Forward: 5'-CAAGGTCATCCATGACAACCTTTG-3', Reverse: 5'-CAAGGTCATCATGACAACCTTTG-3', 扩增长度为496 bp。

### 1.2 方法

1.2.1 制备模型及实施干预: 根据本课题组前期实验经验, 采用四氯化碳复合因素法复制肝纤维化大鼠模型。将44只大鼠随机分为4组: N组(正常对照组)8只, HF组(肝纤维化组)12只, DMSO组(SB203580溶剂组)12只和SB203580组(P38MAPK通路特异性抑制剂组)12只。给予HF组、DMSO组和SB203580组大鼠背部皮下注射40%四氯化碳棉籽油溶液, 首剂5 mL/kg体重, 后每隔4 d注射一次, 剂量为3 mL/kg体重, 共注射12次; 以100 mL/L乙醇溶液为唯一饮用液体; 前2 wk喂以20%猪油高脂肪饲料, 以后喂以0.5%高胆固醇饲料; N组同期给予相同剂量的生理盐水背部皮下注射, 喂正常复合饲料, 饮清洁饮用水。肝纤维化模型制作结束后, D组给予2% DMSO溶液3 mL/(kg·d), SB组给予SB203580溶液10 mg/(kg·d), N组、HF组给予同等剂量0.9%生理盐水3 mL/(kg·d)腹腔注射, 连续注射4 d。干预治疗后实验各组大鼠的数量均为8只。

1.2.2 标本留取: 模型复制及干预剂实施结束后, 乙醚麻醉后处死大鼠, 取大鼠肝左叶以40 g/L中性甲醛溶液固定, 其余肝脏投入液氮速冻后置于-80 °C备用。

1.2.3 肝组织形态学观察: 石蜡包埋组织制作切片(4 μm), 行HE染色观察肝纤维化分期, 分期标准符合《病毒性肝炎防治方案》<sup>[3]</sup>; 行Masson染色观察肝组织胶原沉积情况, 评价标准依照《肝纤维化诊断及疗效评估共识》<sup>[4]</sup>中纤维化半定量评分系统(SSS)。

1.2.4 SP免疫组织化学法检测肝组织COL-I、COL-III表达: 石蜡切片常规脱蜡至水; 3% $H_2O_2$ 甲醇溶液室温孵育10 min以阻断内源性过氧化物酶; PBS浸洗3遍, 0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液(pH 6.0)高温修复8 min; 自然冷却至室温后PBS浸洗5 min×3次, 滴加适量山羊血清工作液, 37 °C封闭20 min; 甩去多余血清, 滴加COL-I一抗(1:200)或COL-III一抗(1:200), 4 °C过夜。次日PBS浸洗5 min×3次, 滴加生物素化山羊抗兔二抗工作液, 37 °C孵育20 min; PBS浸洗5 min×3次, 滴加辣根酶标记链霉卵白素工作液, 37 °C孵育20 min后PBS浸洗5 min×3次。DAB显色, 镜下观察以控制显色时间。显色满意后, 自来水冲去DAB, 苏木素复染, 0.1%盐酸乙醇分化, 自来水中返蓝, 脱水、透明、中性树脂封片。选取人正常皮肤组织作为阳性对照; 阴性对照为N组大鼠肝脏, 以滴加PBS代替一抗。COL-I、COL-III结果以细胞外基质着棕黄色为阳性染色。请石河子大学医学院病理教研室曹玉副教授阅片, 每张切片随机观察10个高倍视野(×200), 以显色指数代表目的蛋白的表达水平, 显色指数越大则目的蛋白越多, 反之则越少。

1.2.5 RT-PCR法检测肝组织中COL-I mRNA和COL-III mRNA的表达: 使用TRIzol法提取肝脏总RNA, 用紫外分光光度仪行RNA浓度及纯度测定,  $A_{260/280}$ 为1.9-2.0。说明RNA纯度较高, 并将总RNA调至相同浓度。使用RevertAidTMH Minus First Strand cDNA Synthesis kit试剂盒将总RNA逆转录为cDNA, 然后进行PCR扩增。COL-I mRNA扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min。COL-III mRNA扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min。GAPDH扩增条件: 95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 58 °C 30 s, 72 °C 30 s, 共36个循环; 72 °C延伸10 min。反应结束后, PCR产物用2%琼脂糖凝胶进行电泳分析, 采用Quantity one凝胶成像分析系统测定各相应条带的灰度值, 选取GAPDH作为内参照, 以COL-I/GAPDH和COL-III/GAPDH的比值作为目的基因的相对表达水平。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行分析。计量资料数据以mean±SD表示, 选择单因素方差分析进行均数差异性比较, 多样本两两比较选择Bonferroni法; 肝纤维化分期半定量资料的比较采用多样本比较的秩和检验(Kruskal-



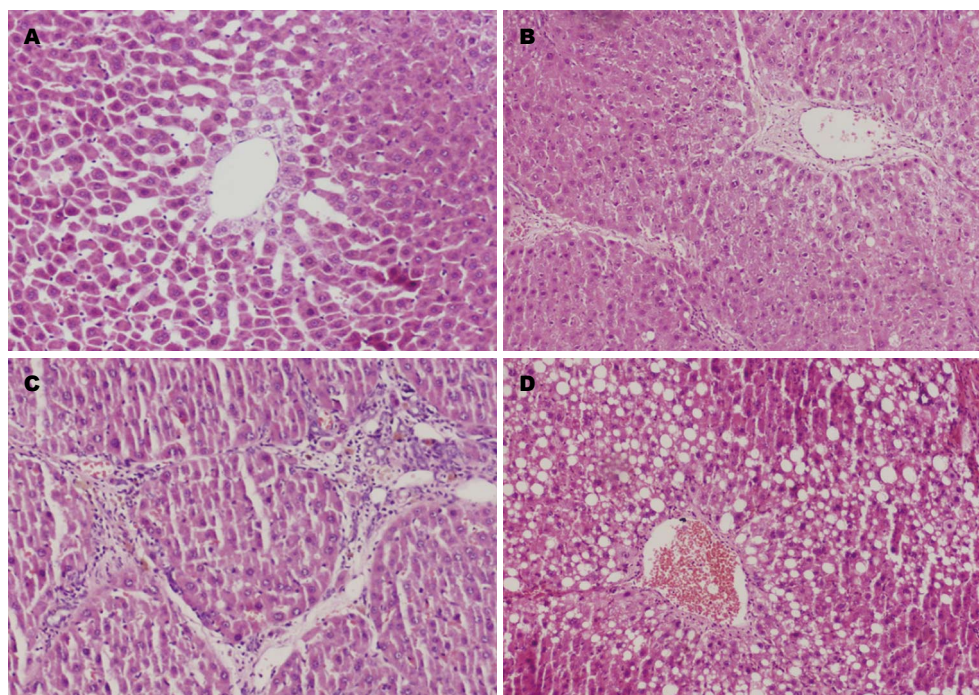


图1 HE染色观察各组大鼠肝纤维化分期( $\times 200$ )。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

#### ■创新盘点

本实验通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的I、III型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究P38MAPK通路与肝纤维化的关系提供理论基础。

表1 各组大鼠肝脏纤维化分期结果( $n = 8$ )

分组	肝纤维化分期					平均秩
	0	1	2	3	4	
N组	3	5	0	0	0	4.50
HF组	0	0	0	2	6	22.50 <sup>b</sup>
D组	0	0	0	1	7	24.00
SB组	0	0	0	7	1	15.00 <sup>ad</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs HF组; <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$  vs N组。N组: 正常组; HF组: 肝纤维化组; D组: DMSO溶剂干预组; SB组: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

Wallis法), 多样本间两两比较时选择Mann-Whitney U法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肝组织形态学观察结果** 肝组织HE染色可知(图1): N组肝小叶结构清晰, 小叶内肝细胞无脂肪变性、坏死, 无炎症细胞浸润及纤维组织增生。HF组肝小叶结构紊乱, 纤维组织增生、假小叶形成, 肝细胞变性、坏死明显, 部分细胞可见气球样变, 有大量炎细胞浸润。D组与HF组所见无明显差异。SB组肝组织仍可见假小叶结构, 但部分区假小叶纤维间隔变窄或局灶模糊不清, 肝细胞脂肪变性、坏死较HF组为轻。HF组、D

组肝纤维化分期较N组明显升高( $P < 0.001$ ), 给予SB203580干预的SB组其肝纤维化分期较HF组降低( $P = 0.015$ ), 差异均具有统计学意义(表1)。

肝组织Masson染色可知(图2): N组肝小叶结构完整, 仅中央静脉和汇管区有少量胶原纤维; F组肝小叶结构破坏, 胶原纤维增多增粗, 呈弥漫分布; D组与HF组所见无明显差异; SB组仍可见部分假小叶结构, 但胶原纤维沉积减少, 纤维间隔纤细菲薄。HF组SSS评分较N组明显升高( $P < 0.001$ ), SB组其SSS评分较HF组降低( $P < 0.001$ ), 差异均具有统计学意义(表2)。

**2.2 免疫组织化学染色法检测COL-I、COL-III表达** 免疫组织化学染色示: N组肝组织中央静脉、汇管区中可见少量I型(图3)、III型(图4)胶原表达。HF组肝组织I型、III型胶原成条索状或小片状广泛分布, 主要表达于中央静脉、汇管区以及肝窦Disse间隙中, 显色指数均较N组显著升高(均 $P < 0.001$ )。SB203580干预的SB组I型、III型胶原表达部位基本同HF组, 但显色面积减少、显色强度降低, 且显色指数较HF组降低(COL-I显色指数 $P < 0.001$ , COL-III显色指数 $P = 0.041$ )。差异均具有统计学意义(表2)。

**2.3 肝组织COL-I mRNA和COL-III mRNA的表达** 与N组相比, HF组肝脏COL-I mRNA及COL-III mRNA表达均明显升高(均 $P < 0.001$ ), 而SB组



### ■应用要点

P38MAPK在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用。目前肝硬化的治疗尚为世界性难题,只有在深入明确其具体机制后,才能为临床应用提供指导依据。本研究为肝纤维化的基础研究,仅为肝纤维化研究提供进一步的理论基础。

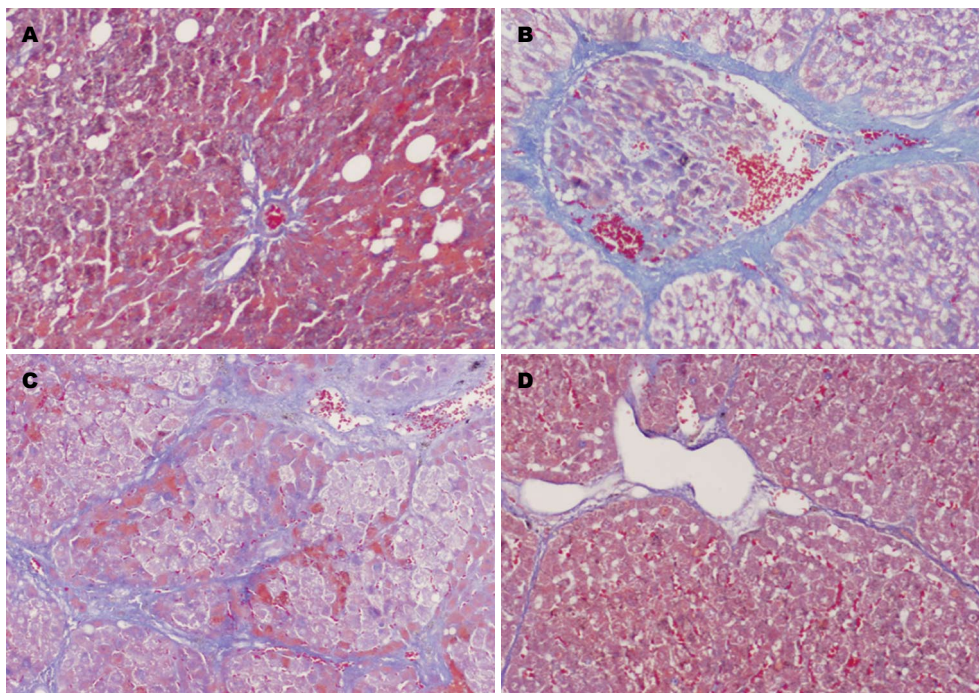


图2 Masson染色观察各组大鼠肝纤维化分期( $\times 200$ )。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

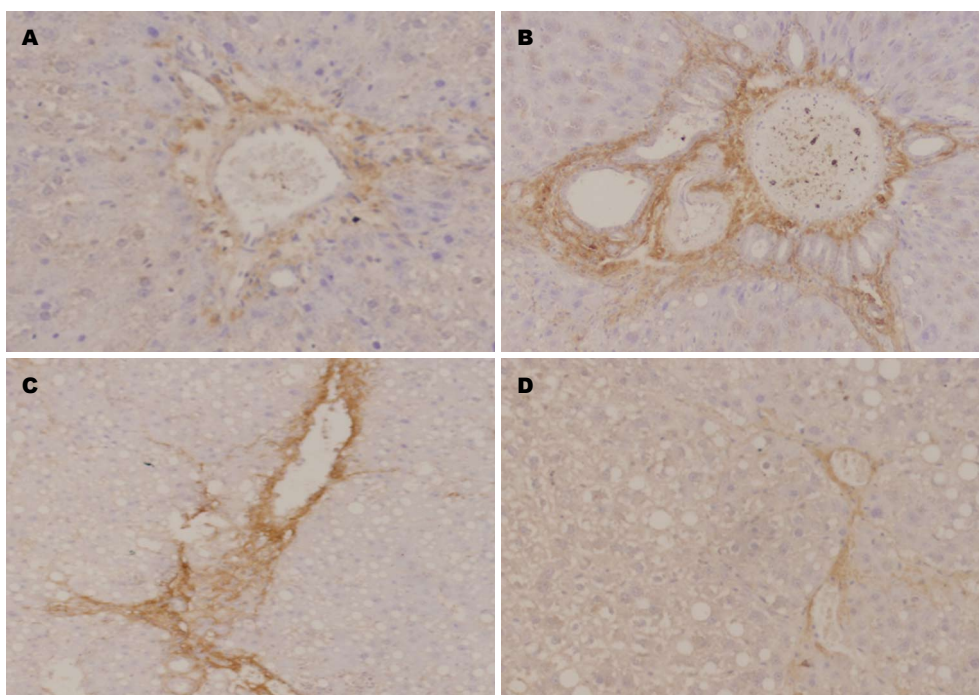
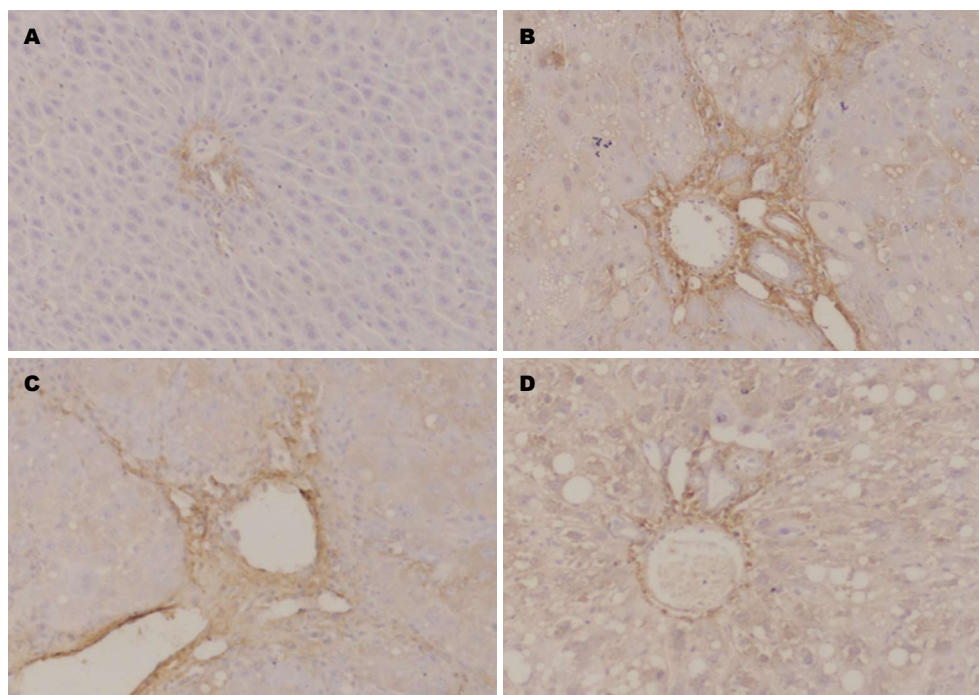


图3 免疫组织化学法观察大鼠肝脏COL-1表达(DAB  $\times 200$ )。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

肝脏COL-1 mRNA及COL-III mRNA表达均较HF组降低(分别 $P = 0.005$ 、 $0.005$ )。差异均具有统计学意义(表3, 图5)。

### 3 讨论

肝纤维化是肝组织损害后的一种损伤修复反应,以细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过



#### ■同行评价

本文通过P38MAPK通路抑制剂SB203580干预大鼠肝脏I、III型胶原蛋白表达,并探讨肝纤维化发生的分子机制,具有重要临床指导意义。

图4 免疫组织化学法观察大鼠肝脏COL-III表达(DAB × 200)。A: 对照组; B: 肝纤维化组; C: DMSO溶剂干预组; D: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

表2 各组大鼠SSS评分、COL-I及COL-III表达量 ( $n = 8$ , mean ± SD)

分组	SSS评分	COL-I 显色指数	COL-III 显色指数
N组	2.750 ± 0.707	1.575 ± 0.249	2.375 ± 0.518
HF组	15.875 ± 0.835 <sup>b</sup>	7.650 ± 0.621 <sup>b</sup>	4.025 ± 0.446 <sup>b</sup>
D组	16.000 ± 0.926	7.725 ± 0.501	4.075 ± 0.544
SB组	11.625 ± 0.916 <sup>bd</sup>	4.625 ± 0.495 <sup>bd</sup>	3.375 ± 0.167 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs N组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs HF组。N组: 正常组; HF组: 肝纤维化组; D组: DMSO溶剂干预组; SB组: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

表3 各组大鼠肝脏COL-I mRNA及COL-III mRNA的表达量 ( $n = 8$ , mean ± SD)

分组	COL-I/GAPDH	COL-III/GAPDH
N组	0.020 ± 0.003	0.412 ± 0.772
HF组	0.012 ± 0.002 <sup>b</sup>	0.773 ± 0.137 <sup>b</sup>
D组	0.009 ± 0.002	0.799 ± 0.116
SB组	0.016 ± 0.005 <sup>bd</sup>	0.572 ± 0.862 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs N组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs HF组。N组: 正常组; HF组: 肝纤维化组; D组: DMSO溶剂干预组; SB组: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

度沉积为特点。如果慢性炎症和ECM沉积持续存在,会导致肝实质结构逐渐被破坏,由瘢痕组织代替,从而形成肝硬化,预后较差<sup>[5]</sup>。目前尚无特效药物能将肝硬化治愈,但肝纤维化作为各

种慢性肝病进展为肝硬化的一个必经阶段,已被证实是可逆的<sup>[6]</sup>。肝纤维化的发生发展是一个复杂的全身病理生理过程,涉及多种细胞因子及细胞内信号分子网络。肝纤维化的形成机制中,肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化是公认的中心环节。其活化后向肌成纤维细胞转变,可分泌大量细胞外基质成分,包括I、III型胶原、透明质酸和层黏连蛋白,同时使胶原酶活性下降,胶原降解减少,造成细胞外基质产生与降解不平衡,纤维化形成<sup>[7]</sup>。目前<sup>[8]</sup>认为活化的HSC有2个去向:(1)由激活态转变回静息态;(2)发生凋亡而死亡。且大多数研究表明,活化的HSC主要通过凋亡途径消除,是肝纤维化消退的主要机制。

近年来,肝纤维化形成过程中信号传导通路作为研究热点受到越来越多的关注。其中丝裂



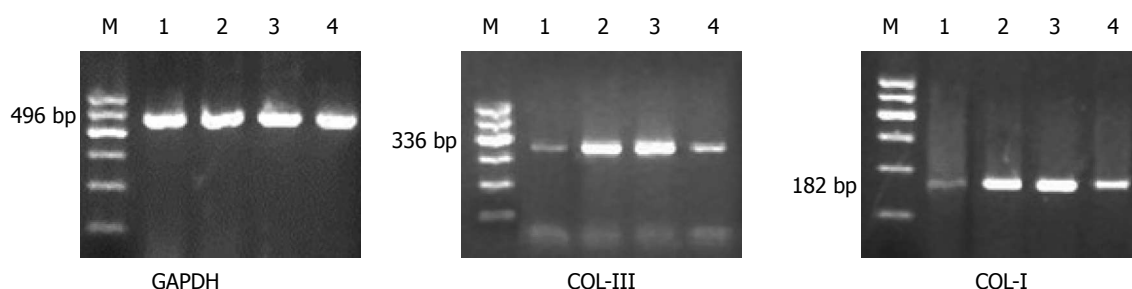


图5 RT-PCR法检测各组大鼠肝脏COL- I mRNA、COL- III mRNA的表达。M: DNA marker; 1: 对照组; 2: 肝纤维化组; 3: DMSO溶剂干预组; 4: P38MAPK抑制剂SB203580干预组。

原活化蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)级联是细胞内重要的信号传导系统之一, 其将细胞外刺激信号传递到细胞核引起一系列细胞生物学反应<sup>[9]</sup>。主要成员包括细胞外信号调节激酶、C-jun氨基末端激酶和P38MAPK。P38MAPK通路在MAPK信号通路中占重要地位<sup>[10]</sup>, 是近年信号传导领域研究的热点之一。P38MAPK在细胞的炎症反应、细胞凋亡等各种反应和免疫调节等过程中起重要作用<sup>[11]</sup>。叶平等<sup>[12]</sup>发现, P38MAPK的活化与肝纤维化有密切关系, 因此他在肝纤维化形成过程中的作用受到众多研究者的关注。SB203580是一种P38MAPK的特异性抑制剂, 他可以通透细胞抑制P38MAPK, 抑制后续MAPKAPK-2和MAPKAPK-3的激活。通过抑制P38MAPK, SB203580可以有效抑制一些炎症因子(如IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ )诱导的部分信号转导。研究显示<sup>[13]</sup>, SB203580可阻断P38MAPK通路的活化, 进而激活Caspase3引起HSC-T6的凋亡。有报道称<sup>[14]</sup>, SB203580阻断P38MAPK信号通路后肝星状细胞增殖明显受到抑制, 且增殖抑制程度与药物浓度有剂量依赖关系。崔巍等<sup>[15]</sup>研究发现, 血管紧张素II通过P38MAPK通路促进HSC分泌TGF- $\beta$ 1, 进而增加HSC活化以及细胞外基质合成。肝星状细胞的活化增殖与肝纤维化的形成密切相关, 吴文娟等<sup>[16]</sup>证明, P38MAPK表达水平与肝纤维化程度呈显著正相关。说明在肝纤维化形成中, P38MAPK被激活, 活化的P38MAPK转移入核内, 磷酸化下游转录因子, 调节目的基因的表达, 从而可能由此参与了大鼠肝纤维化形成。

因此, 本实验复制肝纤维化模型, 通过P38MAPK特异性抑制剂SB203580的干预, 观察肝脏组织病理学变化, 检测与肝纤维化进程中关系最为密切的I、III型胶原沉积情况, 探讨其对肝纤维化的影响, 为进一步研究P38MAPK

通路与肝纤维化的关系提供理论基础。

本实验表明: 正常大鼠肝脏内I、III型胶原表达很少, 肝纤维化组大鼠肝脏纤维化分期及I、III型胶原的表达较正常组明显升高, 说明肝纤维化模型复制成功; 肝纤维化大鼠在给予P38MAPK通路特异性抑制剂SB203580后肝内I、III型胶原的表达降低, 同时从组织病理学观察肝纤维化分期下降, 表明SB203580能够减少胶原沉积, 改善肝脏损害。

肝脏内HSC是分泌ECM的主要细胞<sup>[17]</sup>。多篇文献证实<sup>[18-20]</sup>, 肝脏受到损伤刺激时, 位于窦周Disse间隙内静止态的HSC活化, 转变成具有增殖、收缩、迁移、促进炎症和纤维生成活性的表型-肌成纤维细胞(myofibroblasts, MFBs), MFBs能调节组织损伤修复, 通过合成胶原促进ECM累积, 表达 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA), 表现收缩功能<sup>[21]</sup>。而肝纤维化的持续存在主要是由肝脏MFBs维持<sup>[22]</sup>。P38MAPK信号通路参与了细胞的生长发育及细胞间功能同步等多种生理过程, 与炎症及细胞周期调控密切相关, MAPK信号通路能够通过调控HSC的活化、增殖、凋亡等参与肝纤维化的形成<sup>[23]</sup>。陈辉等<sup>[24]</sup>发现, 激活肝星状细胞p38MAPK信号通路可调节肝纤维化相关因子MMP-13和TIMP-1的表达。徐霞等<sup>[25]</sup>研究发现, H<sub>2</sub>S激活P38MAPK信号通路, 同时加用SB203580阻断P38MAPK信号通路后, 可促进H<sub>2</sub>S刺激的HSC的凋亡。亦有研究发现<sup>[26]</sup>, 用阻断剂SB203580阻断P38MAPK可以降低静息HSC的 $\alpha$ -SMA蛋白表达, 并可调节其细胞周期, 改变HF的进程。姚希贤等<sup>[27]</sup>发现: 阻断P38MAPK通路可以明显抑制IL-1 $\beta$ 促大鼠HSC I型胶原合成的作用。Tsukada<sup>[28]</sup>研究发现, 阻断P38MPAK通路可降低培养活化的和TGF $\beta$ 诱导活化的HSC $\alpha$ 1(I)胶原基因的表达。Adachi等<sup>[29]</sup>



研究者发现, 在PDGF诱导HSC增殖过程中, HSC细胞NAD(P)H氧化酶的表达可以被PDGF-BB可诱导, 并生成活性氧, 进而通过P38MAPK信号通路产生促进HSC增殖作用, 而用SB203580阻断P38MAPK信号通路能明显抑制增殖, 促进凋亡. 李政通等<sup>[30]</sup>进一步研究发现, P38MAPK的表达增多能够促进HF形成, 反之在其表达减少时则可促进HF的逆转.

总之, 抑制 P38MAPK通路能减少肝细胞的损伤和凋亡而间接抑制HSC的激活, 或者直接抑制HSC增殖, 使 I、III型胶原的合成来源减少; 亦通过增加 I、III型胶原的降解, 使ECM的沉积减少. 我们的研究表明, 抑制P38MAPK通路能够减少肝内 I、III型胶原表达, 延缓肝纤维化的进程, 这为进一步研究P38MAPK通路与肝纤维化的关系提供理论基础.

#### 4 参考文献

- 1 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60 [PMID: 16139830]
- 2 Fang HL, Lai JJ, Lin WL, Lin WC. A fermented substance from *Aspergillus phoenicis* reduces liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007; 71: 1154-1161 [PMID: 17485851 DOI: 10.1271/bbb.60604]
- 3 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝病杂志* 2000; 8: 324-329
- 4 中华肝脏病学肝纤维化学组. 肝纤维化诊断及疗效评估共识. *中华肝病杂志* 2002; 10: 327-328
- 5 Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurevpathol-011110-130246]
- 6 Ramachandran P, Iredale JP. Reversibility of liver fibrosis. *Ann Hepatol* 2009; 8: 283-291 [PMID: 20009126]
- 7 Iwaisako K, Brenner DA, Kisseleva T. What's new in liver fibrosis? The origin of myofibroblasts in liver fibrosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27 Suppl 2: 65-68 [PMID: 22320919 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.07002.x]
- 8 李春霞, 戴立里. 肝星状细胞与肝纤维化研究进展. *国际消化病杂志* 2007; 27: 1008-1101
- 9 Wen J, Watanabe K, Ma M, Yamaguchi K, Tachikawa H, Kodama P, Aizawa Y. Edaravone inhibits JNK-c-Jun pathway and restores anti-oxidative defense after ischemia-reperfusion injury in aged rats. *Biol Pharm Bull* 2006; 29: 713-718 [PMID: 16595905]
- 10 Deng ZY, Li J, Jin Y, Chen XL, Lü XW. Effect of oxymatrine on the p38 mitogen-activated protein kinases signalling pathway in rats with CCl<sub>4</sub> induced hepatic fibrosis. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 1449-1454 [PMID: 19567170]
- 11 Jameel NM, Thirunavukkarasu C, Wu T, Watkins SC, Friedman SL, Gandhi CR. p38-MAPK- and caspase-3-mediated superoxide-induced apoptosis of rat hepatic stellate cells: reversal by retinoic acid. *J Cell Physiol* 2009; 218: 157-166 [PMID: 18792915 DOI: 10.1002/jcp.21581]
- 12 叶平, 杨波, 吴晓玲, 蒋明德. P38 MAPK信号通路主要功能及对肝纤维化的作用. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3353-3358
- 13 卓强, 蒋明德, 梅浙川. P38MAPK信号通路对大鼠肝星状细胞凋亡的影响. *吉林大学学报(医学版)* 2011; 4: 6
- 14 郑人源, 蒋明德, 梅浙川, 卓强, 叶平, 唐文. 肝星状细胞增殖与p38丝裂原活化蛋白激酶信号传导通路的关系. *中国组织工程研究与临床康复* 2011; 15: 3711-37
- 15 崔巍, 邵臻, 傅宝玉. p38 MAPK介导的血管紧张素 II 的促肝星状细胞增殖作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1309-1314
- 16 吴文娟, 杨妙芳, 许小兵, 张晓华, 季洪赞, 袁柏思, 朱人敏. p38 MAPK在大鼠实验性肝纤维化发生中的表达及其意义. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3822-3827
- 17 Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223]
- 18 Choi SS, Syn WK, Karaca GF, Omenetti A, Moylan CA, Witek RP, Agboola KM, Jung Y, Michelotti GA, Diehl AM. Leptin promotes the myofibroblastic phenotype in hepatic stellate cells by activating the hedgehog pathway. *J Biol Chem* 2010; 285: 36551-36560 [PMID: 20843817]
- 19 尤俊勇, 王效民. 肝星状细胞的激活与凋亡相关信号通路研究进展. *中外医学研究* 2011; 9: 155-158
- 20 Ikeda N, Murata S, Maruyama T, Tamura T, Nozaki R, Kawasaki T, Fukunaga K, Oda T, Sasaki R, Homma M, Ohkohchi N. Platelet-derived adenosine 5'-triphosphate suppresses activation of human hepatic stellate cell: In vitro study. *Hepatol Res* 2012; 42: 91-102 [PMID: 21988364 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00893.x]
- 21 Hinz B, Phan SH, Thannickal VJ, Prunotto M, Desmoulière A, Varga J, De Wever O, Mareel M, Gabbiani G. Recent developments in myofibroblast biology: paradigms for connective tissue remodeling. *Am J Pathol* 2012; 180: 1340-1355 [PMID: 22387320 DOI: 10.1016/j.ajpath.2012.02.004]
- 22 Parola M, Marra F, Pinzani M. Myofibroblast - like cells and liver fibrogenesis: Emerging concepts in a rapidly moving scenario. *Mol Aspects Med* 2008; 29: 58-66 [PMID: 18022682]
- 23 Schwer CI, Guerrero AM, Humar M, Roesslein M, Goebel U, Stoll P, Geiger KK, Pannen BH, Hoetzel A, Schmidt R. Heme oxygenase-1 inhibits the proliferation of pancreatic stellate cells by repression of the extracellular signal-regulated kinase1/2 pathway. *J Pharmacol Exp Ther* 2008; 327: 863-871 [PMID: 18784349 DOI: 10.1124/jpet.108.136549]
- 24 陈辉, 马超, 张育先, 马红. 全部作脂联素通过激活 p38MAPK信号通路调节大鼠肝星状细胞MMP-13及TIMP-1表达. *首都医科大学学报* 2010; 31: 304-309
- 25 徐霞, 李睿, 任婧, 刘芳, 宋丽秀, 郑勇, 陈卫刚. 硫化氢在SB203580影响肝星状细胞增殖、凋亡中的作用. *天津医药* 2013; 41: 1095-1098
- 26 Schnabl B, Bradham CA, Bennett BL, Manning AM, Stefanovic B, Brenner DA. TAK1/JNK and p38 have opposite effects on rat hepatic stellate cells. *Hepatology* 2001; 34: 953-963 [PMID: 11679966]
- 27 姚希贤, 张亚平, 赵霞. 益肝康抑制肝星状细胞 I 型胶原合成的作用机制. *中西医结合肝病杂志* 2007; 17: 159-161
- 28 Tsukada S, Westwick JK, Ikejima K, Sato N, Rippe RA. SMAD and p38 MAPK signaling pathways

- independently regulate alpha1(I) collagen gene expression in unstimulated and transforming growth factor-beta-stimulated hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 10055-10064 [PMID: 15647278]
- 29 Adachi T, Togashi H, Suzuki A, Kasai S, Ito J, Sugahara K, Kawata S. NAD(P)H oxidase plays a crucial role in PDGF-induced proliferation of hepatic stellate cells. *Hepatology* 2005; 41: 1272-1281 [PMID: 15915457]
- 30 李政通, 李俊, 黄成, 李浩, 章圣鹏, 黄艳, 陶辉. CCl<sub>4</sub>诱导的大鼠肝纤维化模型肝纤维化逆转与MAPK信号通路的研究. *中国药理学通报* 2011; 27: 809-814

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 基于耐药特性联合单细胞培养识别肝癌干细胞克隆亚群

陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 陈相宜, 邝晓聪

陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 邝晓聪, 广西医科大学病理与病理生理教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

陈相宜, 广西医科大学生理教研室 广西壮族自治区南宁市 530021

陈娟, 硕士, 主要从事癌干细胞的研究.

广西自然科学基金资助项目, Nos. 桂科自0991139, 2013GXNSFAAO19244

广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻0993003C-1

作者贡献分布: 本文由陈娟撰写; 邝晓聪负责实验设计; 区泳芳、蔡捷、陶璐及陈相宜负责实验数据的收集和整理.

通讯作者: 邝晓聪, 副教授, 硕士生导师, 530021, 广西南宁市双拥路22号, 广西医科大学病理与病理生理教研室.

1609800049@qq.com

电话: 0771-5358502

收稿日期: 2013-09-30 修回日期: 2013-11-21

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Identification of liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture

Juan Chen, Yong-Fang Ou, Jie Cai, Lu Tao, Xiang-Yi Chen, Xiao-Cong Kuang

Juan Chen, Yong-Fang Ou, Jie Cai, Lu Tao, Xiao-Cong Kuang, Department of Pathology and Pathophysiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Xiang-Yi Chen, Department of Physiology, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nos. Guikezi0991139 and 2013GXNSFAAO19244; and the Scientific Research and Technological Development Program of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. Guikegong0993003C-1

Correspondence to: Xiao-Cong Kuang, Associate Professor, Department of Pathology and Pathophysiology, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. 1609800049@qq.com

Received: 2013-09-30 Revised: 2013-11-21

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To identify liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture.

**METHODS:** The BEL-7404 cell line was inoculat-

ed subcutaneously in nude mice to induce tumor formation, and adriamycin (8 mg/kg) intervention was given. When the tumor diameter was 1.5 cm, tumor tissues were collected for primary culture. The cells were inoculated subcutaneously in nude mice again. After four consecutive generations in nude mice, the tumor cells were named "BEL-7404-ADM-P4". Based on the tumor forming time, the enrichment of liver cancer stem cells was tested. Using unicellular culture, clones from BEL-7404 and BEL-7404-ADM-P4 cells were divided into holoclones, meroclones and pareclones to test the cancer stem cell characteristics (renewal ability, clone formation and sphere formation). Holoclones, meroclones and pareclones were stained with hoechst33342 and observed under a confocal microscope. Based on the renewal ability, clone formation rate and sphere formation rate and hoechst33342 staining properties, cancer stem cells subpopulations were identified.

**RESULTS:** The tumor formation rate was 100%, and tumor formation time was shortened from the first generation to the fourth generation, which suggested the preliminary enrichment of liver cancer stem cells. Holoclones showed the fastest growth and the largest cell volume, followed by meroclones and pareclones. On the 10th day, pareclones started to shrivel and die. The clone formation rate of BEL-7404-ADM-P4-H cells was significantly higher than those of BEL-7404 and BEL-7404-ADM-P4-M cells ( $P < 0.05$ ). Only BEL-7404-H and BEL-7404-ADM-P4-H cells could form spheres, and there was no significant difference in sphere formation rate between BEL-7404-H and BEL-7404-ADM-P4-H cells. In BEL-7404 and BEL-7404-ADM-P4 monoclones and holoclones, there were a small number of lowly hoechst33342 stained or non-stained cells, but cells in meroclones and pareclone cells were all stained. The hoechst33342 fluorescence intensity of BEL-7404 holoclones, meroclones and pareclones was stronger than that of BEL-7404-ADM-P4 clones.

**CONCLUSION:** Based on resistance charac-

## ■背景资料

肝癌是世界上最常见恶性肿瘤之一, 研究者们认为全克隆细胞群富含癌干细胞, 从肝癌细胞中分离出肝癌干细胞是根治肝癌重要前提.

## ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科



## ■研究前沿

癌干细胞是当前研究热点,也是干细胞的研究重点,癌干细胞理论更新了当前的临床治疗策略,但癌干细胞由于缺乏特异性标志物而使癌干细胞的分选成为干细胞研究领域的难点。

teristics and unicellular culture, we found that holoclones contain a higher proportion of liver cancer stem cells.

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

**Key Words:** Adriamycin intervention; Liver cancer stem cells; Unicellular culture; Holoclone; Meroclone; Pareclone

Chen J, Ou YF, Cai J, Tao L, Chen XY, Kuang XC. Identification of liver cancer stem cells-containing cell subgroups based on resistance characteristics and unicellular culture. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 319-326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/319.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.319>

## 摘要

**目的:** 基于癌干细胞的耐药特性联合单细胞培养方法识别肝癌干细胞所在的克隆亚群。

**方法:** 以BEL-7404细胞系为研究对象,裸鼠体内移植瘤形成实验,并予阿霉素(adriamycin, ADM)8 mg/kg干预,待肿瘤直径为1.5 cm时取移植瘤细胞做原代培养,并在裸鼠体内连续传代4代,并将第4代移植瘤细胞命名为“BEL-7404-ADM-P4”,根据成瘤时间检测肝癌干细胞富集情况。联合单细胞培养,取BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4所形成的克隆根据克隆形态分为全克隆、部分克隆、旁克隆,检测BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆的癌干特性,即增殖能力、克隆形成率及悬浮球形成率;取其全克隆、部分克隆、旁克隆做hoechst33342染色,并在共聚焦显微镜下观察其染色情况;根据BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆的增殖能力、克隆形成率及悬浮球形成率以及hoechst33342染色情况识别癌干细胞所在的克隆亚群。

**结果:** 裸鼠体内低剂量阿霉素干预,在体内连续成瘤传代过程中,裸鼠皮下移植瘤成瘤率均为100%,且成瘤时间从第一代到第四代均有所缩短,以此达到了肝癌干细胞的初步富集;增殖能力:全克隆增殖速度最快,细胞量最大,部分克隆次之,旁克隆增殖速度最慢,并于第10天开始出现细胞皱缩死亡;克隆形成率:BEL-7404-ADM-P4-H高于BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4-M,差异有统计学意义( $P<0.05$ );悬浮球形成率:仅BEL-7404-H及BEL-7404-ADM-P4-H可形成悬浮球,其余细胞系不形成悬浮球,而BEL-7404-H及BEL-7404-ADM-P4-H悬浮球形成率比较,无

统计学意义( $P>0.05$ );BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆hoechst33342染色情况:BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆都有极少数不染和低染的细胞存在,但部分克隆、旁克隆全染,且BEL-7404单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆hoechst33342荧光强度均强于BEL-7404-ADM-P4单克隆中全克隆、部分克隆、旁克隆。

**结论:** 基于癌干细胞的耐药特性联合单细胞培养方法所形成的克隆亚群中,全克隆含有更高比例的肝癌干细胞。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 阿霉素干预;肝癌干细胞;单细胞培养;全克隆;部分克隆;旁克隆

**核心提示:** 近几年,研究者们通过单细胞克隆培养法分离癌干细胞,研究者们认为全克隆细胞群富含癌干细胞,本文首次将癌干细胞的耐药特性和单细胞克隆方法相结合,以识别富含肝癌干细胞的克隆亚群,以期临床针对肝癌干细胞的治疗提供坚实的实验基础。

陈娟, 区泳芳, 蔡捷, 陶璐, 陈相宜, 卢晓聪. 基于耐药特性联合单细胞培养识别肝癌干细胞克隆亚群. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 319-326 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/319.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.319>

## 0 引言

肝癌是世界上最常见恶性肿瘤之一,我国肝癌死亡人数占世界肝癌总死亡人数的45%左右,但目前肝癌发生的机制仍不十分明确<sup>[1]</sup>.肝癌目前主要治疗手段是外科手术切除、辅以肝移植和化疗,但所有治疗方式后有高复发率,为了解释这种高复发率,研究者们提出了癌干学说.该学说认为,肿瘤的发生、发展、转移以及复发依赖于肿瘤起始细胞,这些细胞具有自我更新、无限增殖能力、高耐药性和肿瘤启动作用,把这样的细胞称为癌干细胞(cancer stem cells, CSCs)<sup>[2,3]</sup>.CSCs理论在十年前被提出,大量实验已对癌干细胞的存在提供了依据,如乳腺癌<sup>[4]</sup>、前列腺癌<sup>[5]</sup>、胰腺癌<sup>[6]</sup>、卵巢癌<sup>[7]</sup>、肝细胞性肝癌<sup>[8]</sup>等.大量实验已证实,CSCs在体外无血清干细胞培养条件下可形成悬浮球,有限稀释条件下可形成单细胞克隆,在非肥胖型糖尿病及重症联合免疫缺陷病(non-obese diabetic-severe

combined immunodeficiency disease, NOD-SCID) 体内低数量级便可形成皮下肿瘤及具有外排荧光染料hoechst33342的特性<sup>[9,10]</sup>。近几年, 研究者们通过单细胞克隆培养法分离癌干细胞, 根据单细胞克隆形态可将克隆分为3种类型, 即全克隆(holoclone, H)、部分克隆(meroclone, M)和旁克隆(pareclone, P), 研究者们认为全克隆细胞群富含癌干细胞, 前列腺癌<sup>[11]</sup>、胶质瘤<sup>[12]</sup>、黑色素瘤<sup>[13]</sup>、胰腺癌<sup>[14]</sup>等的相关实验已证实全克隆富含癌干细胞。因此, 从肝癌细胞中分离出肝癌干细胞(liver cancer stem cells, HCSCs), 是根治肝癌的前提。本文以BEL-7404细胞系为研究对象, 以单细胞培养为手段, 以识别富含HCSCs的克隆亚群为目的进行了以下实验, 以期临床针对肝癌干细胞的治疗提供坚实的实验基础。

## 1 材料和方法

1.1 材料 人肝癌细胞系BEL-7404购自中山大学细胞库, 用含10%胎牛血清(加拿大WISENT公司)的RPMI 1640培养液(加拿大WISENT公司), 置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

### 1.2 方法

1.2.1 BEL-7404-ADM-P4细胞系的建立: 取对数生长期BEL-7404细胞调整细胞密度为 $5 \times 10^7$ /mL, 800 r/min离心5 min, 弃掉上清, 用RPMI 1640培养基1 mL重悬, 用1 mL注射器吸取细胞悬液, 注射至10只裸鼠两侧腋窝皮下(0.2 mL/侧, 即每侧注射细胞数为 $1 \times 10^6$ ), 并予阿霉素(深圳万乐药业有限公司)8 mg/kg干预, 待肿瘤直径为1.5 cm时取移植瘤细胞做原代培养, 并在裸鼠体内连续传代4代, 并将第四代移植瘤细胞命名为“BEL-7404-ADM-P4”, 并用含10%FBS的RPMI 1640培养液, 置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中培养。

1.2.2 单细胞培养: 取对数生长期BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞, 胰酶消化, 胎牛血清终止消化后制作成单细胞悬液, 调整细胞浓度为1250个/mL; 取80  $\mu$ L细胞悬液, 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基稀释至10 mL, 按每孔100  $\mu$ L接种入96孔板, 平均每孔1个细胞, 置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中, 2 h观察并记录每孔含有1个细胞的孔, 并记录接种的细胞总数; 每天用倒置显微镜观察细胞生长情况, 记录细胞数量; 2 wk后观察单个细胞克隆形成情况, 根据单细胞克隆形态分类, 将克隆分为3类: H、M和P, 做好标记及记录; 计算克隆形成率: 克隆形

成率 = 克隆总数/接种细胞数  $\times 100\%$ 。

1.2.3 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的连续传代培养: 根据形态分类, 取BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P, 胰酶消化成单个细胞, 胎牛血清终止消化, 移液器移入1.5 mL的eppendorf管中, 离心2次, 加含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基重悬, 调整细胞浓度为1250个/mL; 取80  $\mu$ L细胞悬液, 用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基稀释至10 mL, 按每孔100  $\mu$ L接种入96孔板, 平均每孔1个细胞, 置于37℃、50 mL/L CO<sub>2</sub>培养箱中, 2 h计数接种细胞数; 2 wk观察单个细胞克隆形成情况, 计算克隆形成率: 克隆形成率 = 克隆总数/接种细胞数  $\times 100\%$ 。

1.2.4 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其H、M、P的无血清悬浮球培养: 取对数生长期的BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其H、M、P, 胰酶消化成单个细胞后, 用配制好mTeSRTM1人胚胎干细胞完全培养基重悬细胞, 2000 r/min离心2次, 调整细胞密度为2000个/mL, 接种于低黏附的96孔板, 200个细胞每孔, 每一种细胞设10个副孔, 2 h后记录每孔的接种细胞数。每天观察细胞生长情况, 10 d后计算 $\geq 100$ 个细胞的“球囊”数, 计算悬浮球形成率: 悬浮球形成率 = 球囊数/接种细胞数  $\times 100\%$ 。

1.2.5 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的hoechst33342<sup>[15]</sup>染色及共聚焦检测: 根据形态分类, 取种于96孔板的BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P, 弃原培养液, 用PBS液冲洗2遍, 重新添加含终浓度为5  $\mu$ g/mL hoechst33342的RPMI 1640培养液100  $\mu$ L, 置于37℃孵箱中避光孵育30 min; 吸去含hoechst33342的RPMI 1640培养液, 用PBS液清洗2遍, 重新加入含10%FBS的RPMI 1640培养液; 共聚焦荧光显微镜下观察BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P荧光特性。

**统计学处理** 克隆形成实验和悬浮球形成实验重复3次, 采用SPSS16统计分析软件, 率的比较,  $\chi^2$ 检验。数据资料采用mean  $\pm$  SD表示,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 BEL-7404-ADM-P4细胞系的建立 在体内连续成瘤传代过程中, 裸鼠皮下移植瘤成瘤率均为100%, 且成瘤时间从第一代到第4代均有所缩

### ■ 相关报道

当前很多研究者从事癌干细胞的研究, 已有研究者证实乳腺癌、前列腺癌、黑色素瘤中存在癌干细胞, 并有相关文献报道癌细胞中全克隆含有较高比例的癌干细胞, 本文结合癌干细胞的特性和单细胞培养方法以期待证实肝癌细胞中全克隆表现出更强的癌干细胞特性。

### ■创新盘点

本文首次将癌干细胞的耐药特性和单细胞克隆方法相结合,检测肝癌干细胞的特性.

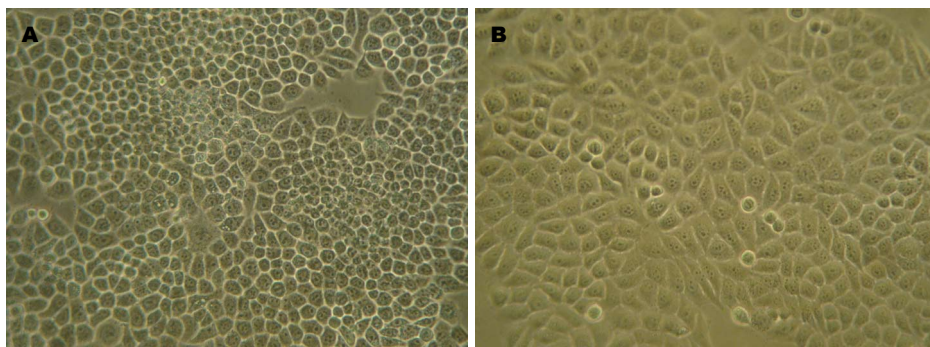


图1 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4在RPMI 1640培养基的生长状态( $\times 200$ ). A: BEL-7404细胞; B: BEL-7404-ADM-P4细胞.

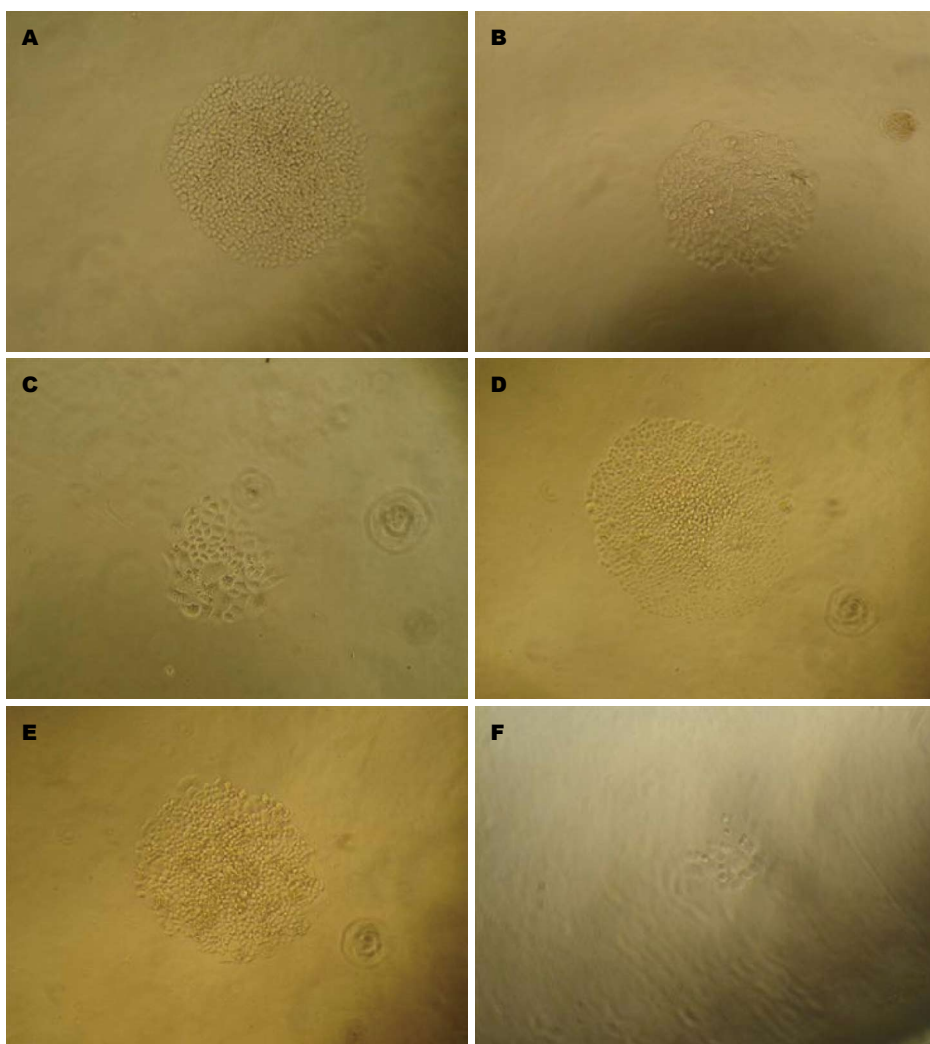


图2 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单细胞培养所形成的3种克隆形态( $\times 200$ ). A: BEL-7404-H; B: BEL-7404-M; C: BEL-7404-P; D: BEL-7404-ADM-P4-H; E: BEL-7404-ADM-P4-M; F: BEL-7404-ADM-P4-P.

短, BEL-7404-ADM-P4细胞系成功建立.

2.2 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系的生长情况及其单克隆细胞中H、M、P的生长曲线  
BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系在倒置显微镜下观察,细胞形态无明显差异,均呈上皮样单层排列铺路石状贴壁生长,细胞大小均等,

呈椭圆形或不规则形,边界清晰,增殖迅速(图1). BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系单细胞培养均可形成3种细胞形态,即H、M、P(图2). 为了了解3种克隆形态细胞的增殖情况,我们做了3种克隆细胞的生长曲线(图3). 从生长曲线可以看出, BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4细胞系



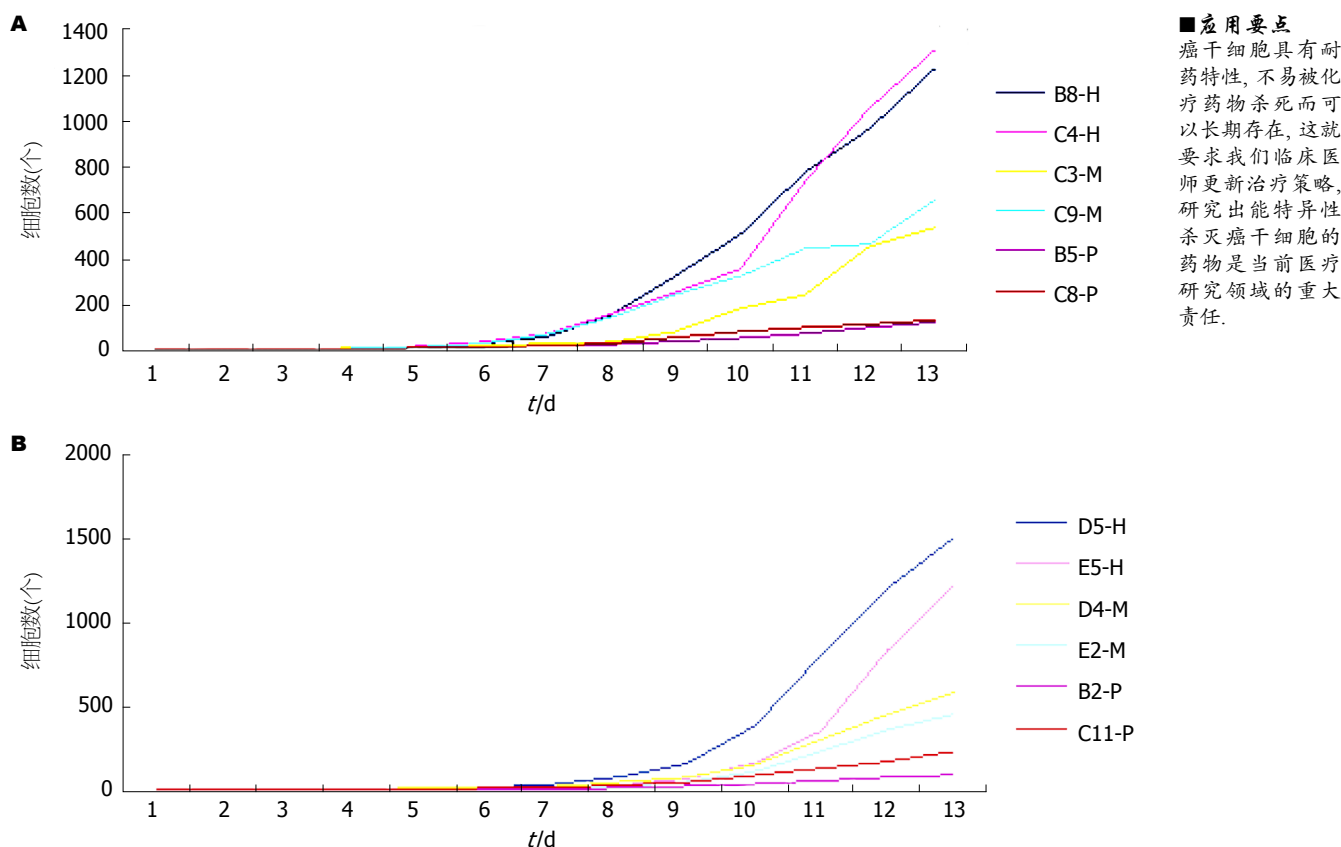


图3 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4中H、M、P的生长曲线。A: BEL-7404中H、M、P的生长曲线, 其中B8、C4、C3、C9、B5、C8为96孔板孔号; B: BEL-7404-ADM-P4中H、M、P的生长曲线, 其中D5、E5、D4、E2、B2、C11为96孔板孔号。

中, 从第6天开始, H增殖速度最快, 细胞量最大; M次之; P增殖速度最慢, 并于第10天开始出现细胞皱缩死亡; 且BEL-7404-ADM-P4-H细胞数大于BEL-7404-H。

2.3 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其单克隆细胞中H、M连续传代后的克隆形成情况 由表1可知, BEL-7404-ADM-P4-H的克隆形成率高于BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4-M( $P < 0.05$ ), 有统计学意义(表1, 图4)。

2.4 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其单克隆细胞中H、M、P悬浮球形成情况 悬浮球形成实验, 只有BEL-7404-ADM-P4-H及BEL-7404-H有悬浮球形成, 其余细胞系不形成悬浮球, 均于第3天开始逐渐皱缩死亡。而BEL-7404-ADM-P4-H及BEL-7404-H悬浮球形成率无统计学意义( $\chi^2 = 1.228, P = 0.268 > 0.05$ , 图5)。

2.5 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的hoechst33342染色及共聚焦检测结果 BEL-7404及BEL-7404-ADM-P4单克隆中H都有极少数不染和低染的细胞存在, 但M、P全染, 且BEL-7404单克隆中H、M、P的hoechst33342荧光强度均强于BEL-7404-

ADM-P4单克隆中H、M、P(图6)。

### 3 讨论

CSCs已经成为目前肿瘤研究的热点, 为肿瘤的治疗提供了新的思路。CSCs理论提出, 肿瘤的发生、发展、临床耐药以及高复发率、高转移性依赖于肿瘤细胞中的极少部分的癌干细胞; 癌干细胞具有无限增殖能力、肿瘤耐药性及高致瘤性<sup>[16]</sup>。目前, CSCs的富集主要通过CSCs的克隆形成实验<sup>[17]</sup>、悬浮球形成实验<sup>[18]</sup>以及CSCs的耐药性<sup>[19]</sup>, 近几年有相关文献报道, 采用单细胞培养法<sup>[11-14]</sup>, 根据细胞克隆形态可将单细胞克隆分为H、M、P, 其中H被证实富含CSCs; CSCs的分离纯化主要依靠其表面标志物进行免疫磁珠分选<sup>[20]</sup>(magnetic activated cell sorting, MACS)和荧光免疫分选<sup>[21]</sup>(fluorescence activated cell sorting, FACS)以及SP细胞<sup>[22]</sup>(side population, SP)结合流式分选法。而SP细胞结合流式分选法<sup>[23]</sup>是利用高表达ABCG2<sup>[24,25]</sup>的癌干细胞能将荧光染料hoechst33342排出胞外的特性, 用流式细胞仪<sup>[26]</sup>将hoechst33342低染或不染的SP细胞分离出来, 研究者们认为SP具有癌干细胞特性。但是

**■应用要点**  
癌干细胞具有耐药特性, 不易被化疗药物杀死而可以长期存在, 这就要求我们临床医师更新治疗策略, 研究出能特异性杀灭癌干细胞的药物是当前医疗研究领域的重大责任。

### ■同行评价

本文作者采用阿霉素干预裸鼠体内肝癌移植瘤, 收集其第4代肝癌细胞, 继而体外单细胞克隆培养, 经筛选初步确认全克隆细胞亚群(BEL-7404-ADM-P4-H)具有增殖力和耐药性强的癌干细胞特点。

表 1 各细胞系克隆形成率的比较

对比组	$\chi^2$ 值	P值
BEL-7404与BEL-7404-H	2.253	0.133
BEL-7404与BEL-7404-M	0.025	0.874
BEL-7404与BEL-7404-ADM-P4	0.416	0.519
BEL-7404与BEL-7404-ADM-P4-H	5.007	0.025
BEL-7404与BEL-7404-ADM-P4-M	0.097	0.755
BEL-7404-H与BEL-7404-M	1.807	0.179
BEL-7404-H与BEL-7404-ADM-P4	0.741	0.389
BEL-7404-H与BEL-7404-ADM-P4-H	0.567	0.451
BEL-7404-H与BEL-7404-ADM-P4-M	3.271	0.071
BEL-7404-M与BEL-7404-ADM-P4	0.237	0.626
BEL-7404-M与BEL-7404-ADM-P4-H	0.702	0.402
BEL-7404-M与BEL-7404-ADM-P4-M	0.221	0.638
BEL-7404-ADM-P4与BEL-7404-ADM-P4-H	2.580	0.108
BEL-7404-ADM-P4与BEL-7404-ADM-P4-M	0.913	0.339
BEL-7404-ADM-P4-H与BEL-7404-ADM-P4-M	6.452	0.011

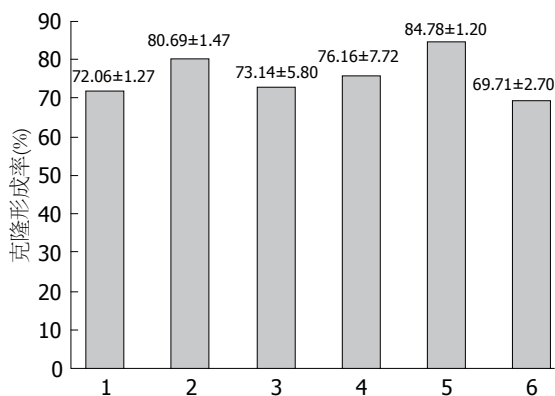


图 4 各细胞系克隆形成率. 1: BEL-7404; 2: BEL-7404-H; 3: BEL-7404-M; 4: BEL-7404-ADM-P4; 5: BEL-7404-ADM-P4-H; 6: BEL-7404-ADM-P4-M.

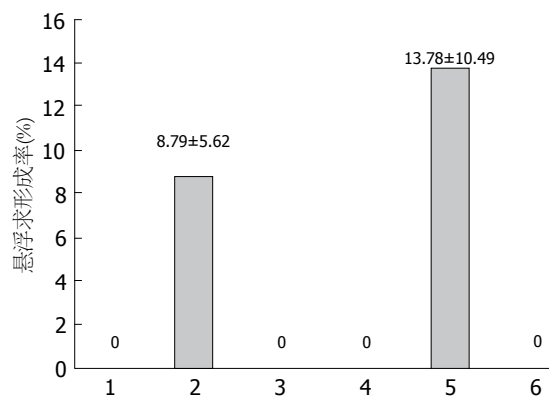


图 5 各细胞系悬浮球形成率. 1: BEL-7404; 2: BEL-7404-H; 3: BEL-7404-M; 4: BEL-7404-ADM-P4; 5: BEL-7404-ADM-P4-H; 6: BEL-7404-ADM-P4-M.

肝癌干细胞缺乏特异性表面标志物, 因此, 在目前的肝癌干细胞研究中, 没有必要过度苛求发现其特异性的表面标志物, 关注和识别癌干细胞所在的细胞亚群更为重要。

本实验组基于肿瘤的耐药性, 裸鼠体内低剂量阿霉素干预, 在体内连续成瘤传代过程中, 裸鼠皮下移植瘤成瘤率均为100%, 且成瘤时间从第一代到第四代均有所缩短, 以此达到了CSCs的初步富集。从BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4及其单克隆细胞中H、M、P的生长情况来看, BEL-7404-H和BEL-7404-ADM-P4-H生长速度最快, 同等时间内细胞量最大, 提示全克隆增殖能力最强, 这可能与含有较高比例的CSCs有关。从BEL-7404、BEL-7404-H、BEL-7404-M、BEL-7404-ADM-P4、BEL-7404-ADM-

P4-H、BEL-7404-ADM-P4-M的克隆形成率来看, BEL-7404-ADM-P4-H克隆形成率高于亲本细胞BEL-7404, 同样说明与亲本细胞BEL-7404相比, BEL-7404-ADM-P4-H具有更强的自我更新和增殖能力, 具有更高的癌干细胞特性, 这提示BEL-7404-ADM-P4-H中可能含有更高比例的癌干细胞。

无血清悬浮球培养<sup>[18]</sup>, 不仅是一种癌干细胞的富集手段, 也是鉴定癌干细胞特性的指标之一<sup>[27]</sup>。在无血清培养条件下癌干细胞能够悬浮生长, 而非癌干细胞则不能<sup>[28]</sup>。在悬浮球形成实验中, 只有BEL-7404-ADM-P4-H及BEL-7404-H有悬浮球形成, 而其余细胞不形成悬浮球, 这也充分说明了全克隆具有更强的癌干细胞特性, 但是BEL-7404-ADM-P4-H与BEL-7404-H悬浮球

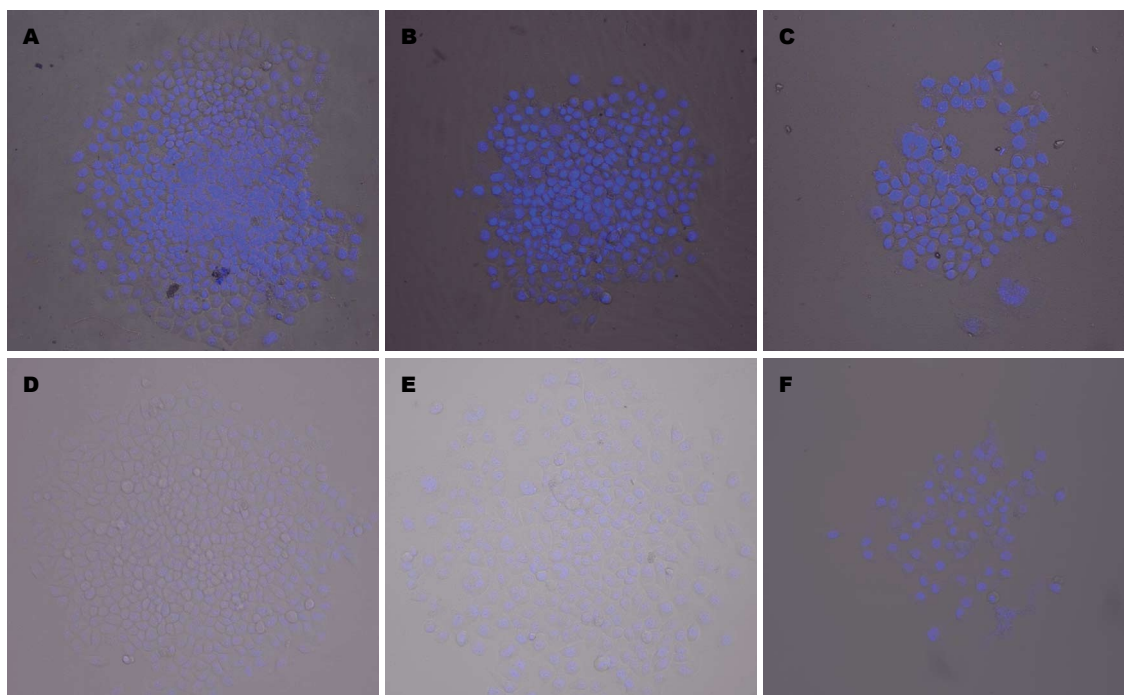


图 6 BEL-7404、BEL-7404-ADM-P4单克隆细胞中H、M、P的hoechst33342染色及共聚焦检测结果( $\times 200$ )。A: BEL-7404-H; B: BEL-7404-M; C: BEL-7404-P; D: BEL-7404-ADM-P4-H; E: BEL-7404-ADM-P4-M; F: BEL-7404-ADM-P4-P。

形成率差异无统计学意义, 通过无血清悬浮球培养, 并不能说明BEL-7404-ADM-P4-H癌干细胞特性强于BEL-7404-H。

Zhou等<sup>[29]</sup>和Fiegel等<sup>[30]</sup>实验证明CSCs具有较强的耐药特性, 其胞膜表面高表达耐药蛋白ABCG2, 可以将荧光染料hoechst33342排出胞外, 使细胞不着色或低染。根据这一特性, 本实验组以BEL-7404亲本细胞形成的3种类型克隆为对照, 通过在共聚焦荧光显微镜下直接观察BEL-7404-ADM-P4细胞形成的3种类型克隆的hoechst33342的染色情况, 结果发现BEL-7404-H和BEL-7404-ADM-P4-H都有极少数不染和低染的细胞存在, 但M、P均着色, 且BEL-7404单克隆中H、M、P的hoechst33342荧光强度均强于BEL-7404-ADM-P4单克隆中H、M、P, 这也提示BEL-7404-ADM-P4-H可能富含肝癌干细胞, 具有较强的耐药特性, 能够将荧光染料hoechst33342泵出胞外。

总之, 经裸鼠体内阿霉素干预富集的第四代肝癌细胞, 通过体外单细胞克隆培养法, 形成的全克隆细胞亚群表现出较强的癌干特性: 具有较强的自我更新增殖能力、克隆形成能力及耐药特性。因此我们认为体内阿霉素干预联合体外单细胞培养所形成的全克隆细胞亚群含有更高比例的肝癌干细胞样细胞。但是, 由于癌干细

胞缺乏特异性的标志物, 目前在研究领域癌干细胞的筛选遇到了瓶颈, 所以癌干细胞的筛选和寻找有待研究者们继续努力, 寻找到癌干细胞, 并进行靶向治疗, 为临床根治肿瘤打下坚实的基础。

#### 4 参考文献

- Chen X, Cheung ST, So S, Fan ST, Barry C, Higgins J, Lai KM, Ji J, Dudoit S, Ng IO, Van De Rijn M, Botstein D, Brown PO. Gene expression patterns in human liver cancers. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1929-1939 [PMID: 12058060 DOI: 10.1091/mbc.02-02-0023]
- Ko CH, Cheng CF, Lai CP, Tzu TH, Chiu CW, Lin MW, Wu SY, Sun CY, Tseng HW, Wang CC, Kuo ZK, Wang LM, Chen SF. Differential proteomic analysis of cancer stem cell properties in hepatocellular carcinomas by isobaric tag labeling and mass spectrometry. *J Proteome Res* 2013; 12: 3573-3585 [PMID: 23782096 DOI: 10.1021/pr4004294]
- Winkquist RJ, Boucher DM, Wood M, Furey BF. Targeting cancer stem cells for more effective therapies: Taking out cancer's locomotive engine. *Biochem Pharmacol* 2009; 78: 326-334 [PMID: 19539800 DOI: 10.1016/j.bcp.2009.03.020]
- Al-Hajj M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF. Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 3983-3988 [PMID: 12629218 DOI: 10.1073/pnas.0530291100]
- Collins AT, Berry PA, Hyde C, Stower MJ, Maitland NJ. Prospective identification of tumorigenic prostate cancer stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 10946-10951 [PMID: 16322242 DOI: 10.1158/0008-5472.CCR-05-0000]



- 10.1158/0008-5472.CAN-05-2018]
- 6 Li C, Heidt DG, Dalerba P, Burant CF, Zhang L, Adsay V, Wicha M, Clarke MF, Simeone DM. Identification of pancreatic cancer stem cells. *Cancer Res* 2007; 67: 1030-1037 [PMID: 17283135 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-2030]
- 7 Zhang S, Balch C, Chan MW, Lai HC, Matei D, Schilder JM, Yan PS, Huang TH, Nephew KP. Identification and characterization of ovarian cancer-initiating cells from primary human tumors. *Cancer Res* 2008; 68: 4311-4320 [PMID: 18519691 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0364]
- 8 Yamashita T, Ji J, Budhu A, Forgues M, Yang W, Wang HY, Jia H, Ye Q, Qin LX, Wauthier E, Reid LM, Minato H, Honda M, Kaneko S, Tang ZY, Wang XW. EpCAM-positive hepatocellular carcinoma cells are tumor-initiating cells with stem/progenitor cell features. *Gastroenterology* 2009; 136: 1012-1024 [PMID: 19150350 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.004]
- 9 周志华, 王卫兵, 张健东. 全克隆与肿瘤干细胞. 国际病理科学与临床杂志 2011; 31: 420-423
- 10 Zucchi I, Sanzone S, Astigiano S, Pelucchi P, Scotti M, Valsecchi V, Barbieri O, Bertoli G, Albertini A, Reinbold RA, Dulbecco R. The properties of a mammary gland cancer stem cell. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 10476-10481 [PMID: 17566110 DOI: 10.1073/pnas.0703071104]
- 11 Li H, Chen X, Calhoun-Davis T, Claypool K, Tang DG. PC3 human prostate carcinoma cell holoclones contain self-renewing tumor-initiating cells. *Cancer Res* 2008; 68: 1820-1825 [PMID: 18339862 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5878]
- 12 Zhou ZH, Ping YF, Yu SC, Yi L, Yao XH, Chen JH, Cui YH, Bian XW. A novel approach to the identification and enrichment of cancer stem cells from a cultured human glioma cell line. *Cancer Lett* 2009; 281: 92-99 [PMID: 19324493 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.02.033]
- 13 Kalirai H, Damato BE, Coupland SE. Uveal melanoma cell lines contain stem-like cells that self-renew, produce differentiated progeny, and survive chemotherapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2011; 52: 8458-8466 [PMID: 21896849 DOI: 10.1167/iov.11-7379]
- 14 Tan L, Sui X, Deng H, Ding M. Holoclone forming cells from pancreatic cancer cells enrich tumor initiating cells and represent a novel model for study of cancer stem cells. *PLoS One* 2011; 6: e23383 [PMID: 21826251 DOI: 10.1371/journal.pone.0023383]
- 15 Singh S, Dwarakanath BS, Lazar Mathew T. Role of topoisomerases in cytotoxicity induced by DNA ligand Hoechst-33342 and UV-C in a glioma cell line. *Indian J Exp Biol* 2005; 43: 313-323 [PMID: 15875714]
- 16 高杨, 李立, 冉江华. 肝癌干细胞的研究进展. 医学综述 2011; 17: 374-377
- 17 Dou J, Pan M, Wen P, Li Y, Tang Q, Chu L, Zhao F, Jiang C, Hu W, Hu K, Gu N. Isolation and identification of cancer stem-like cells from murine melanoma cell lines. *Cell Mol Immunol* 2007; 4: 467-472 [PMID: 18163959]
- 18 Reynolds BA, Weiss S. Generation of neurons and astrocytes from isolated cells of the adult mammalian central nervous system. *Science* 1992; 255: 1707-1710 [PMID: 1553558 DOI: 10.1126/science.1553558]
- 19 Zhang Q, Shi S, Yen Y, Brown J, Ta JQ, Le AD. A subpopulation of CD133(+) cancer stem-like cells characterized in human oral squamous cell carcinoma confer resistance to chemotherapy. *Cancer Lett* 2010; 289: 151-160 [PMID: 19748175 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.08.010]
- 20 谭岫, 陈积圣, 宋尔卫. 低剂量环磷酰胺富集肝癌干细胞的实验研究. 中山大学, 2009
- 21 颜政, 方驰华, 高鹏. 人原发肝细胞癌干细胞表面标志的初步研究. 南方医科大学学报 2006; 26: 1304-1306
- 22 董强刚, 姚明, 耿沁, 周瑾, 闫明霞. 人肺腺癌干细胞的分离及鉴定. 肿瘤 2008; 28: 1-7
- 23 Seigel GM, Campbell LM, Narayan M, Gonzalez-Fernandez F. Cancer stem cell characteristics in retinoblastoma. *Mol Vis* 2005; 11: 729-737 [PMID: 16179903]
- 24 Doyle L, Ross DD. Multidrug resistance mediated by the breast cancer resistance protein BCRP (ABCG2). *Oncogene* 2003; 22: 7340-7358 [PMID: 14576842 DOI: 10.1038/sj.onc.1206938]
- 25 Huss WJ, Gray DR, Greenberg NM, Mohler JL, Smith GJ. Breast cancer resistance protein-mediated efflux of androgen in putative benign and malignant prostate stem cells. *Cancer Res* 2005; 65: 6640-6650 [PMID: 16061644 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-2548]
- 26 Maeda S, Shinchi H, Kurahara H, Mataka Y, Mae-mura K, Sato M, Natsugoe S, Aikou T, Takao S. CD133 expression is correlated with lymph node metastasis and vascular endothelial growth factor-C expression in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2008; 98: 1389-1397 [PMID: 18349830 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604307]
- 27 关小芳, 文忠, 申聪香, 牟少凤, 张宏征, 谢民强, 郭梦和. 人鼻咽癌细胞株中类肿瘤干细胞的分离、培养及鉴定. 解放军医学杂志 2008; 33: 1461-1464
- 28 胡以平. 关于肿瘤干细胞问题的一些思考. 中国肿瘤生物治疗杂志 2008; 15: 201-204
- 29 Zhou S, Schuetz JD, Bunting KD, Colapietro AM, Sampath J, Morris JJ, Lagutina I, Grosveld GC, Osawa M, Nakauchi H, Sorrentino BP. The ABC transporter Bcrp1/ABCG2 is expressed in a wide variety of stem cells and is a molecular determinant of the side-population phenotype. *Nat Med* 2001; 7: 1028-1034 [PMID: 11533706 DOI: 10.1038/nm0901-1028]
- 30 Fiegel HC, Glüer S, Roth B, Rischewski J, von Schweinitz D, Ure B, Lambrecht W, Kluth D. Stem-like cells in human hepatoblastoma. *J Histochem Cytochem* 2004; 52: 1495-1501 [PMID: 15505344 DOI: 10.1369/jhc.4A6297.2004]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 肥大细胞及蛋白酶激活受体-2在肠易激综合征中的作用

王军洁, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 王劲松, 黄文斌

王军洁, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 南京医科大学附属南京医院消化科 江苏省南京市 210006

王劲松, 黄文斌, 南京医科大学附属南京医院病理科 江苏省南京市 210006

王军洁, 硕士, 主要从事肠易激综合征的研究。

**作者贡献分布:** 此课题由王军洁与张振玉设计; 研究操作过程及论文撰写由王军洁与姜宗丹完成; 资金提供与课题申请由张振玉完成; 数据分析由姜宗丹与汪志兵完成; 病理及免疫组织化学染色操作由王劲松与黄文斌完成。

**通讯作者:** 张振玉, 主任医师, 210006, 江苏省南京市秦淮区长乐路68号, 南京医科大学附属南京医院消化科。

ahzhangzhenyu@sina.com

电话: 025-87726249

收稿日期: 2013-08-16 修回日期: 2013-10-29

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome

Jun-Jie Wang, Zong-Dan Jiang, Zhen-Yu Zhang, Zhi-Bing Wang, Jin-Song Wang, Wen-Bin Huang

Jun-Jie Wang, Zong-Dan Jiang, Zhen-Yu Zhang, Zhi-Bing Wang, Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

Jin-Song Wang, Wen-Bin Huang, Department of Pathology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China

**Correspondence to:** Zhen-Yu Zhang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing First Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, 68 Changle Road, Qinhua District, Nanjing 210006, Jiangsu Province, China. ahzhangzhenyu@sina.com

Received: 2013-08-16 Revised: 2013-10-29

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the role of mast cells and protease activated receptor-2 (PAR-2) in irritable bowel syndrome (IBS).

**METHODS:** A total of 90 subjects were divided into a diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS-D) group ( $n = 60$ ) and a normal control group ( $n = 30$ ), all of them were selected from digestive outpatient department of Nanjing Hospital Affiliated to Nanjing Medical University from January 2012 to December 2012. The expression of mast cells and PAR-2 was detected

by immunohistochemistry, and the expression of Occludin was detected by Western blot.

**RESULTS:** Immunohistochemistry analysis showed that compared with the normal control group, the expression of both mast cells and PAR-2 was significantly higher in the IBS-D group ( $5.20 \pm 2.78$  vs  $1.40 \pm 0.55$ ,  $P < 0.05$ ;  $3.20 \pm 1.64$  vs  $1.20 \pm 0.45$ ,  $P < 0.05$ ). Western blot analysis indicated that the expression of Occludin decreased significantly in the IBS-D group compared with the normal control group ( $2108.33 \pm 59.58$  vs  $3113.00 \pm 77.74$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Our study suggests that in IBS-D subjects, overexpressed and activated mast cells may stimulate PAR-2 and lead to the damage of intercellular tight junctions.

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

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; Mast cell; Protease activated receptor-2; Occludin

Wang JJ, Jiang ZD, Zhang ZY, Wang ZB, Wang JS, Huang WB. Role of mast cells and protease activated receptor-2 in irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 327-332 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/327.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.327>

## 摘要

**目的:** 探讨肥大细胞及蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2)在肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)中的作用。

**方法:** 2012-01/2012-12自南京医科大学附属南京医院消化内科门诊随机选取腹泻型IBS患者60例及正常者30例, 采用免疫组织化学检测各组肥大细胞、PAR-2蛋白的表达强度; 采用Western blot检测各组Occludin的表达量。

**结果:** 免疫组织化学法结果显示IBS-D组与对照组相比, 肥大细胞表达明显增多( $5.20 \pm 2.78$

## ■背景资料

肠易激综合征是一种没有器质性疾病或生化异常可以解释的腹部不适或疼痛同时伴有排便紊乱, 其发病机制被认为与内脏感觉过敏和胃肠动力异常有关。

## ■同行评议者

潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心

## ■ 研发前沿

肠易激综合征的发病机制尚未明确, 本研究重点关注腹泻型肠易激综合征的发病机制。

vs  $1.40 \pm 0.55$ ,  $P < 0.05$ ); PAR-2蛋白的表达明显增多( $3.20 \pm 1.64$  vs  $1.20 \pm 0.45$ ,  $P < 0.05$ ); Western blot结果示IBS-D组Occludin蛋白的表达明显低于正常组( $2108.33 \pm 59.58$  vs  $3113.00 \pm 77.74$ ,  $P < 0.01$ ).

**结论:** 本研究提示IBS-D患者肥大细胞过表达、激活后可刺激PAR-2活化, 从而进一步损伤细胞间紧密连接。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肠易激综合征; 肥大细胞; 蛋白酶激活受体-2; Occludin

**核心提示:** 本研究提示腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)患者肥大细胞过表达、激活后可刺激蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2)活化, 通过PAR-2进一步损伤细胞间紧密连接。

王军洁, 姜宗丹, 张振玉, 汪志兵, 王劲松, 黄文斌. 肥大细胞及蛋白酶激活受体-2在肠易激综合征中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 327-332 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/327.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.327>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种没有器质性疾病或生化异常可以解释的腹部不适或疼痛同时伴有排便紊乱<sup>[1]</sup>, 其发病机制被认为与内脏感觉过敏和胃肠动力异常有关, 肥大细胞(mast cell, MC)可能在其中起一定的作用. 肠道内肥大细胞数量、活化增多, 分泌类胰蛋白酶等活性介质, 进而活化蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2), PAR-2的激活可能引起细胞上皮细胞的紧密连接的骨架组织的重排, 可以导致肠道屏障的改变, 肠道黏膜的渗透性增加, 增加了液体甚至是微生物跨越肠黏膜的通道<sup>[2,3]</sup>.

紧密连接蛋白(tight junction, TJ)是细胞间连接的一个重要形式, 是构成黏膜机械屏障最重要的结构, 由Claudin蛋白、Occludin蛋白、JAM、ZOs等结构蛋白及各类连接蛋白分子共同组成<sup>[4-6]</sup>, Occludin是最先分离出来的TJ跨膜蛋白<sup>[7]</sup>, 免疫电镜显示Occludin定位在TJ上<sup>[8-10]</sup>, Occludin蛋白是TJ中最重要的结构蛋白, 他不仅能通过外环以拉链式结合进而产生严密的细胞旁

封闭, 还能与不同的分子结合, 参与TJ形成的信号调节<sup>[11,12]</sup>, Occludin形成紧密连接蛋白的基本结构, Occludin的功能广泛, 涉及细胞间黏附、移动、调节细胞通透性及细胞表型的改变<sup>[13]</sup>. 在低氧、炎症因子刺激等病理情况下可引起Occludin等分布异常、表达减少甚至融解, 导致TJ结构和功能的异常, 细胞间隙增宽, 进而使内皮层通透性升高<sup>[14]</sup>.

本研究分析腹泻型肠易激综合征(diarrhea-predominant irritable bowel syndrome, IBS-D)患者的升结肠黏膜中MC、PAR2蛋白及Occludin蛋白表达的变化, 探讨MC、PAR2、Occludin与IBS-D关系, 为研究IBS-D的发病机制和临床治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2012-01/2012-12自南京医科大学附属南京医院消化科门诊经排除炎症性肠病、结直肠肿瘤、先天性巨结肠、糖尿病以及甲亢等疾病. 诊断参照新近颁布的罗马III诊断标准<sup>[15]</sup>. 选取腹泻型IBS患者60例, 男26例, 女34例, 年龄21-71岁(平均年龄 $49.7 \pm 3.1$ 岁). 正常对照组30例, 为体检者, 男19例, 女11例, 年龄32-58岁(平均年龄 $47.5 \pm 2.8$ 岁). 无消化系和神经系统症状和体征, 无免疫疾病史、感染病史, 无近期服药史. 两组性别、年龄构成比差异无显著性( $P > 0.05$ ). PENTAX电子肠镜、JEM-1011型透射电子显微镜为日本JEOL公司产品, 由南京医科大学电镜室提供. 肥大细胞抗体、Occludin抗体、PAR2抗体均购自cell signal公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 肠镜检查及标本制备:** 所有研究对象均签署知情同意书并通过院内伦理委员会批准后, 肠镜检查研究对象并活检钳取肠道黏膜标本, 分别于回盲部和距肛门20-25 cm乙状结肠部位各取两块标本固定后制成石蜡切片.  $4 \mu\text{m}$ 连续切片, 进行免疫组织化学SP法染色(操作严格按照试剂盒说明书进行).

**1.2.2 结果判定:** 肥大细胞计数: 类胰蛋白酶是活化的MC释放的介质之一, 具有胰蛋白酶样活性, 在MC介导的多种反应中起重要作用, 常被作为MC活化的标志物<sup>[16]</sup>. 类胰蛋白酶阳性MC呈棕褐色. 于光学显微镜下( $\times 200$ )选取阳性细胞密度最高的5个视野进行计数, 取均值. PAR-2蛋白、主要定位于细胞膜及细胞质, 分别选取5个视野对各实验组及对照组染色阳性细胞进



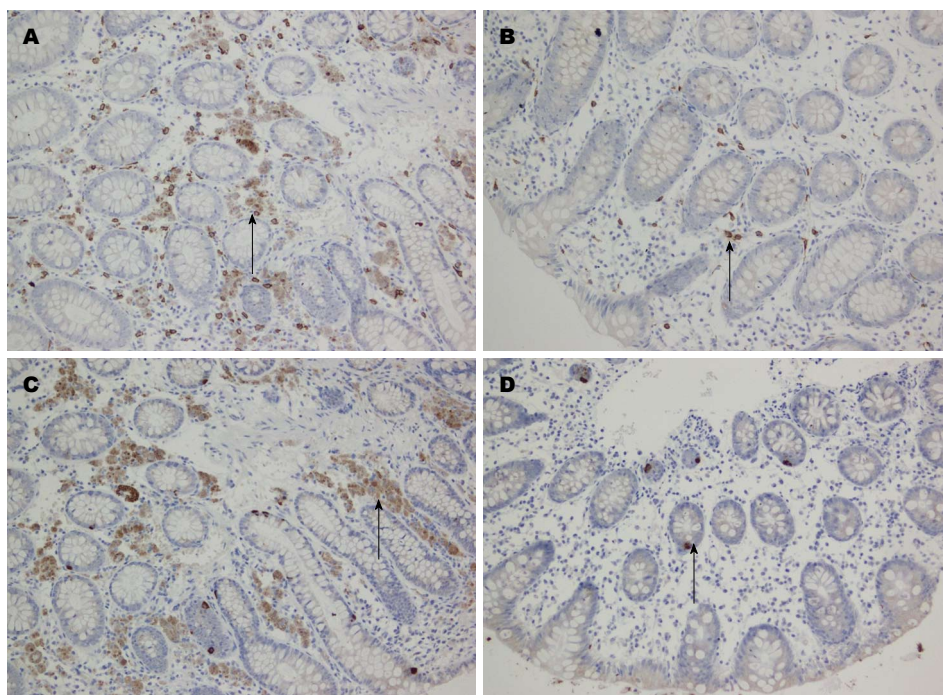


图 1 免疫组织化学结果(×200). A: IBS-D组中肥大细胞的表达; B: 正常组中肥大细胞的表达; C: IBS-D组中PAR-2蛋白的表达; D: 正常组中PAR-2蛋白的表达.

#### ■ 相关报道

既往有研究发现蛋白酶激活受体-2(protease activated receptor-2, PAR-2)激动剂可高效激活人结肠肥大细胞(mast cell, MC), 诱导其释放类胰蛋白酶和组胺, MC可通过其分泌的类胰蛋白酶激活自身或邻近MC的PAR-2, 对脱颗粒信号进行自我放大, 从而放大炎症反应. 但他们都没有与肠易激综合征联系.

表 1 各组肥大细胞及PAR-2表达强度 ( $n = 5$ , mean  $\pm$  SD)

表达强度	正常组	IBS-D组	$F$ 值	$P$ 值
肥大细胞	1.40 $\pm$ 0.55	5.20 $\pm$ 2.78 <sup>a</sup>	3.004	0.017
PAR-2	1.20 $\pm$ 0.45	3.20 $\pm$ 1.64 <sup>c</sup>	2.626	0.030

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 正常组. IBS-D: 腹泻型肠易激综合征; PAR-2: 蛋白酶激活受体-2.

行计数及统计学分析, 染色强度标准1: 按照胞膜及胞质染色着色深浅计分, 无色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分, 深褐色为4分. 标准2: 按照阳性细胞率计分, 阴性为0分, 0%-10%为1分, 11%-50%为2分, >50%为3分. 表达强度 = 标准1  $\times$  标准2.

1.2.3 透射电镜观察细胞超微结构: 取肠黏膜组织标本置于2.5%戊二醛、pH7.4的固定液中(二甲砷酸钠缓冲液配制), 室温固定1 h后, 4 °C保存. 经0.1 mmol/L的二甲砷酸钠缓冲液冲洗后, 用1%锇酸(osmium tetroxide, OSO4)固定2 h, 常规方法脱水, 定向包埋. 60-80  $\mu$ m超薄切片经铅双染色后, 在JEM-1011透射电镜下观察.

1.2.4 Western blot检测: 将标本组织研磨后加入蛋白裂解液, 4 °C裂解, 12000 r/min离心5 min, 取上清为全蛋白提取物, BCA法进行蛋白浓度测定. 与蛋白上样缓冲液混合后, 煮沸5 min, 分装

保存于-80 °C冰箱. 进行SDS-PAGE凝胶电泳、转膜、用5%脱脂牛奶封闭1 h后, 分别加入一抗, 4 °C过夜. TBST洗4次后加入辣根过氧化物酶标记的二抗, 室温作用2 h, 再次用TBST洗膜, 后使用ECL法显色, GIS凝胶图像分析系统照相并分析处理. 上述反应以 $\beta$ -actin作为内参照, 结果用Alphamager™ 2200图像分析系统对胶片扫描并进行平均密度值(average density values, ADV)测定, 以Occludin/ADV  $\beta$ -actin的比值作为各组产物相对吸光度值.

**统计学处理** 采用SPSS11.5软件进行分析. 计量资料采用 $t$ 检验. 数据以mean  $\pm$  SD表示,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 免疫组织化学 肠黏膜上皮类胰蛋白酶免疫反应产物主要定位于MC胞质中, 少数MC胞质、胞核均着色. 分别选取5个视野对实验组及对照组中肥大细胞表达强度及统计学分析. PAR-2蛋白阳性染色表达定位于细胞膜及胞质, 分别选取5个视野对实验组及对照组中PAR-2表达强度及统计学分析, 结果如表1及图1.

2.2 透射电镜观察两组肠黏膜细胞完整性及紧密连接的变化 对照组可见细胞完好, 胞质丰富, 绒毛较多, 胞膜完整, 未见到细胞连接, 胞质内线粒体、溶酶体结构清晰, 胞核呈圆形, 染色质

## ■创新盘点

本文将肠易激综合征与MC的PAR-2及紧密连接蛋白相结合,阐述肠易激综合征的发病机制。

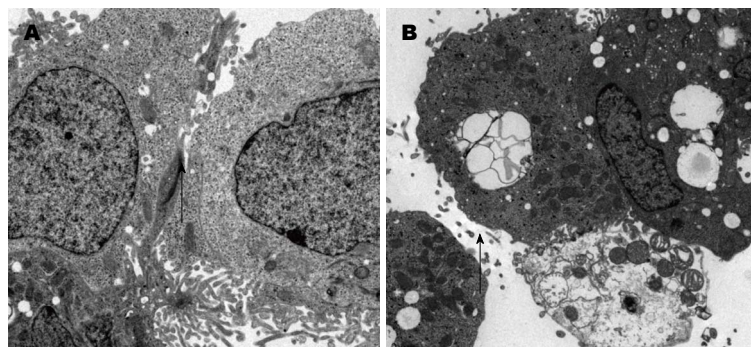


图2 透射电镜观察两组肠黏膜细胞. A: 对照组(标尺 = 1 μm); B: IBS-D组(标尺 = 2 μm).

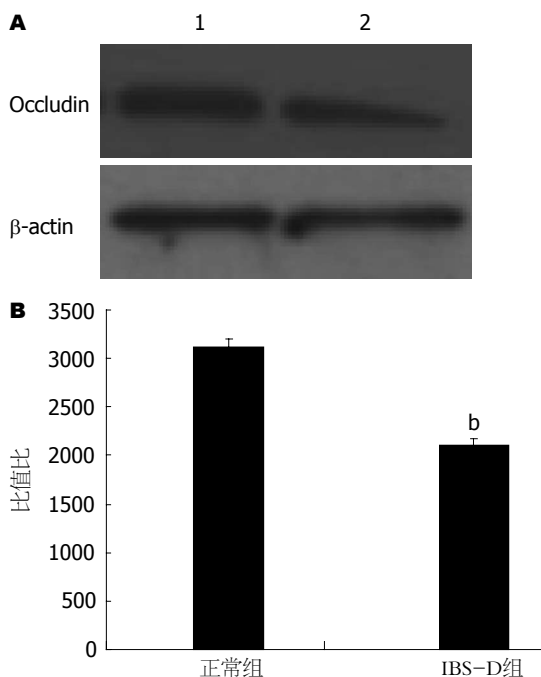


图3 Occludin蛋白表达情况. A: Western blot结果. 1: 正常组Occludin蛋白的表达情况; 2: IBS-D组Occludin蛋白的表达情况; B: Occludin蛋白/β-actin蛋白表达的柱状图.  
<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常组( $F = 35.076$ ).

以异染色质为主,核圆形或不规整,核仁明显,核膜结构完好(图2A). IBS-D组可见细胞明显受损,胞质内细胞器空泡化明显,部份胞质水肿,绒毛脱落或有缺失,内质网扩张,细胞器有变性,可见髓鞘样小体,细胞间隙有增宽现象(图2B).

2.3 Western blot IBS-D组与正常对照组比较, Occludin蛋白减少明显,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )(图3).

### 3 讨论

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)的病因和发病机制迄今还不清楚. 目前有文献认为IBS-D患者结肠黏膜存在低度炎症<sup>[17]</sup>, 各种原因如遗传因素<sup>[18]</sup>、感染<sup>[19]</sup>、食物过敏<sup>[20]</sup>、肠道菌群紊乱<sup>[21]</sup>等均导致肠易激综合征,黏膜

组织内存在免疫细胞活化,包括淋巴细胞、MC等,特别是感染后IBS患者中MC增多表现更明显<sup>[22,23]</sup>. 肠道中的MC是既具有免疫活性,又能分泌多种介质的重要的免疫细胞. MC位于黏膜血管、淋巴和神经附近,是肠道主要的抗原感受器,参与肠黏膜的免疫调节. 当某种抗原刺激机体免疫系统,可引起感觉神经末梢兴奋以及信号传递,并诱导机体产生IgE抗体,抗原和抗体结合可引起MC活化、脱颗粒,并释放多种生物活性介质如类胰蛋白酶、组胺、5-羟色胺等.

蛋白酶激活受体(protease activated receptors, PARs)属于与G蛋白相偶联,有7个跨膜单位的受体家族,目前发现的PARs家族成员共4个,其中PAR-2为胰酶受体. PAR-2可被胰蛋白酶样蛋白水解酶剪切激活,类胰蛋白酶是MC自分泌颗粒中的一种重要成分,在MC被激活时释放出来,肥大细胞分泌的类胰蛋白酶(trypsin)可激活PAR-2<sup>[24]</sup>. PAR-2激活后产生广泛促炎效应,一方面,PAR-2的激活可以引起伤害感受神经元的过度兴奋,释放兴奋性神经递质,导致内脏敏感性的增加. 另一方面,PAR-2激活后可破坏结肠黏膜屏障的完整性,肠黏膜对肠腔内细菌及各种蛋白酶通透性增加,导致结肠炎症持续加重,这种肠黏膜紧密连接的破坏依赖于肌球蛋白轻链激酶的活化<sup>[25]</sup>. 紧密连接蛋白主要位于细胞连接最顶端,由多种紧密连接蛋白分子组成,其中最重要的是跨膜蛋白Occludin. Occludin是最先分离出来的TJ跨膜蛋白,免疫电镜显示Occludin定位在TJ上,是TJ的主要功能蛋白,对于屏障功能的维持和紧密连接的完整性具有重要作用.

何韶衡等<sup>[26,27]</sup>发现PAR-2激动剂可高效激活人结肠MC,诱导其释放类胰蛋白酶和组胺,MC可通过其分泌的类胰蛋白酶激活自身或邻近MC的PAR-2,对脱颗粒信号进行自我放大,从而放大炎症反应. Jacob等<sup>[28]</sup>的研究证实,在应激和炎症状态下,MC释放的类胰蛋白酶可激活结肠



细胞上的PAR-2, 从而增加细胞间隙通透性。

本研究结果显示: 免疫组织化学检测IBS-D组肥大细胞的表达明显高于正常组肥大细胞的表达, 且差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 与Cenac等和Buhner等<sup>[29,30]</sup>的研究报道相似, 免疫组织化学检查显示IBS-D组PAR-2蛋白的表达明显高于正常组, 且差异有统计学意义( $P<0.05$ )。透射电镜显示IBS-D组细胞间隙较正常组增宽。Western blot的结果显示IBS-D组Occludin蛋白的表达明显低于正常组, 且差异有统计学意义( $P<0.05$ )。研究结果与研究思路一致。

故本研究提示IBS-D患者肥大细胞过表达、激活后可刺激PAR-2活化, 通过PAR-2进一步损伤细胞间紧密连接。

#### 4 参考文献

- 1 Gulewitsch MD, Enck P, Schwille-Kiuntke J, Weimer K, Schlarb AA. Rome III criteria in parents' hands: pain-related functional gastrointestinal disorders in community children and associations with somatic complaints and mental health. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 1223-1229 [PMID: 24002016]
- 2 Cenac N, Coelho AM, Nguyen C, Compton S, Andrade-Gordon P, MacNaughton WK, Wallace JL, Hollenberg MD, Bunnett NW, Garcia-Villar R, Bueno L, Vergnolle N. Induction of intestinal inflammation in mouse by activation of proteinase-activated receptor-2. *Am J Pathol* 2002; 161: 1903-1915 [PMID: 12414536 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64466-5]
- 3 Gecse K, Róka R, Ferrier L, Leveque M, Eutamene H, Cartier C, Ait-Belgnaoui A, Rosztóczy A, Izbéki F, Fioramonti J, Wittmann T, Bueno L. Increased faecal serine protease activity in diarrhoeic IBS patients: a colonic luminal factor impairing colonic permeability and sensitivity. *Gut* 2008; 57: 591-599 [PMID: 18194983 DOI: 10.1136/gut.2007.140210]
- 4 宋红丽, 吕飒, 马力, 李颖, 刘沛. TNF- $\alpha$ 影响肠黏膜上皮细胞间紧密连接蛋白的表达. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1303-1306
- 5 Furuse M, Fujita K, Hiiragi T, Fujimoto K, Tsukita S. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 1998; 141: 1539-1550 [PMID: 9647647 DOI: 10.1083/jcb.141.7.1539]
- 6 Martin-Padura I, Lostaglio S, Schneemann M, Williams L, Romano M, Fruscella P, Panzeri C, Stoppacciaro A, Ruco L, Villa A, Simmons D, Dejana E. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *J Cell Biol* 1998; 142: 117-127 [PMID: 9660867 DOI: 10.1083/jcb.142.1.117]
- 7 Furuse M, Hirase T, Itoh M, Nagafuchi A, Yonemura S, Tsukita S, Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *J Cell Biol* 1993; 123: 1777-1788 [PMID: 8276896 DOI: 10.1083/jcb.123.6.1777]
- 8 Hirase T, Staddon JM, Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Itoh M, Furuse M, Fujimoto K, Tsukita S, Rubin LL. Occludin as a possible determinant of tight junction permeability in endothelial cells. *J Cell Sci* 1997; 110 (Pt 14): 1603-1613 [PMID: 9247194]
- 9 Saitou M, Ando-Akatsuka Y, Itoh M, Furuse M, Inazawa J, Fujimoto K, Tsukita S. Mammalian occludin in epithelial cells: its expression and subcellular distribution. *Eur J Cell Biol* 1997; 73: 222-231 [PMID: 9243183]
- 10 Fujimoto K. Freeze-fracture replica electron microscopy combined with SDS digestion for cytochemical labeling of integral membrane proteins. Application to the immunogold labeling of intercellular junctional complexes. *J Cell Sci* 1995; 108 (Pt 11): 3443-3449 [PMID: 8586656]
- 11 Chen YH, Lu Q, Goodenough DA, Jeansonne B. Nonreceptor tyrosine kinase c-Yes interacts with occludin during tight junction formation in canine kidney epithelial cells. *Mol Biol Cell* 2002; 13: 1227-1237 [PMID: 11950934 DOI: 10.1091/mbc.01-08-0423]
- 12 Nusrat A, Chen JA, Foley CS, Liang TW, Tom J, Cromwell M, Quan C, Mersny RJ. The coiled-coil domain of occludin can act to organize structural and functional elements of the epithelial tight junction. *J Biol Chem* 2000; 275: 29816-29822 [PMID: 10887180 DOI: 10.1074/jbc.M002450200]
- 13 刘理. 紧密连接的分子基础及其调控. *国外医学·生理病理科学与临床分册* 1999; 19: 75-78
- 14 Berkes J, Viswanathan VK, Savkovic SD, Hecht G. Intestinal epithelial responses to enteric pathogens: effects on the tight junction barrier, ion transport, and inflammation. *Gut* 2003; 52: 439-451 [PMID: 12584232 DOI: 10.1136/gut.52.3.439]
- 15 Longstreth GF, Thompson WG, Chey WD, Houghton LA, Mearin F, Spiller RC. Functional bowel disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1480-1491 [PMID: 16678561 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.061]
- 16 Abraham WM. Trypsin: potential role in airway inflammation and remodeling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2002; 282: L193-L196 [PMID: 11792623]
- 17 Chadwick VS, Chen W, Shu D, Paulus B, Bethwaite P, Tie A, Wilson I. Activation of the mucosal immune system in irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2002; 122: 1778-1783 [PMID: 12055584 DOI: 10.1053/gast.2002.33579]
- 18 Gonsalkorale WM, Perrey C, Pravica V, Whorwell PJ, Hutchinson IV. Interleukin 10 genotypes in irritable bowel syndrome: evidence for an inflammatory component? *Gut* 2003; 52: 91-93 [PMID: 12477767 DOI: 10.1136/gut.52.1.91]
- 19 鞠辉, 张小芳, 刘希双, 魏良洲. 感染后与非感染后肠易激综合征患者结肠黏膜SP与IL-2、IFN- $\gamma$ 表达的相关性. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3116-3120
- 20 Smout A, Azpiroz F, Coremans G, Dapigny M, Collins S, Müller-Lissner S, Pace F, Stockbrügger R, Vatn M, Whorwell P. Potential pitfalls in the differential diagnosis of irritable bowel syndrome. *Digestion* 2000; 61: 247-256 [PMID: 10878451 DOI: 10.1159/000007765]
- 21 Barbara G, Corinaldesi R. Probiotics: could they turn out to be ineffective in irritable bowel syndrome? *Dig Liver Dis* 2000; 32: 302-304 [PMID: 11515627 DOI: 10.1016/S1590-8658(00)80022-5]
- 22 Bercik P, Verdu EF, Collins SM. Is irritable bowel syndrome a low-grade inflammatory bowel disease? *Gastroenterol Clin North Am* 2005; 34: 235-245, vi-vii [PMID: 15862932 DOI: 10.1016/j.gtc.2005.02.007]

#### ■应用要点

本研究分析腹泻型肠易激综合征患者的升结肠黏膜中MC表达、PAR2蛋白及Occludin蛋白表达的变化, 探讨MC、PAR2、Occludin与IBS-D关系, 为研究IBS-D的发病机制和临床治疗提供理论依据。



## ■同行评价

本文将肠易激综合征与MC的PAR-2及紧密连接蛋白想结合,简要阐述肠易激综合征的发病机制,研究颇有新意。

- 23 Spiller RC. Inflammation as a basis for functional GI disorders. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2004; 18: 641-661 [PMID: 15324705 DOI: 10.1016/j.bpg.2004.04.002]
- 24 谢华, 何韵衡, 郑坚. 蛋白酶抑制剂对肥大细胞类胰蛋白酶分泌的影响. *免疫学杂志* 2002; 18: 284-287
- 25 Cenac N, Garcia-Villar R, Ferrier L, Larauche M, Vergnolle N, Bunnett NW, Coelho AM, Fioramonti J, Bueno L. Proteinase-activated receptor-2-induced colonic inflammation in mice: possible involvement of afferent neurons, nitric oxide, and paracellular permeability. *J Immunol* 2003; 170: 4296-4300 [PMID: 12682265]
- 26 何韶衡, 谢华, 何永松. 蛋白酶激活受体2(PAR-2)激动剂对肥大细胞释放类胰蛋白酶的影响. *生理学报* 2002; 54: 531-534
- 27 何韶衡, 谢华. 蛋白酶激活受体2激动剂对肥大细胞释放组胺的影响. *免疫学杂志* 2004; 20: 263-266
- 28 Jacob C, Yang PC, Darmoul D, Amadesi S, Saito T, Cottrell GS, Coelho AM, Singh P, Grady EF, Perdue M, Bunnett NW. Mast cell tryptase controls paracellular permeability of the intestine. Role of protease-activated receptor 2 and beta-arrestins. *J Biol Chem* 2005; 280: 31936-31948 [PMID: 16027150 DOI: 10.1074/jbc.M506338200]
- 29 Cenac N, Andrews CN, Holzhausen M, Chapman K, Cottrell G, Andrade-Gordon P, Steinhoff M, Barbara G, Beck P, Bunnett NW, Sharkey KA, Ferraz JG, Shaffer E, Vergnolle N. Role for protease activity in visceral pain in irritable bowel syndrome. *J Clin Invest* 2007; 117: 636-647 [PMID: 17304351 DOI: 10.1172/JCI29255]
- 30 Buhner S, Li Q, Vignali S, Barbara G, De Giorgio R, Stanghellini V, Cremon C, Zeller F, Langer R, Daniel H, Michel K, Schemann M. Activation of human enteric neurons by supernatants of colonic biopsy specimens from patients with irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 2009; 137: 1425-1434 [PMID: 19596012 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.005]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

# IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展

何文敏, 苏毅

何文敏, 苏毅, 遵义医学院附属医院感染科 贵州省遵义市 563000

何文敏, 遵义医学院附属医院感染科研究生, 主要从事慢性乙型肝炎及肝硬化的诊治。

贵州省遵义市科技计划基金资助项目, No. 遵市科合社字 (2011)32

作者贡献分布: 本文综述由何文敏完成; 苏毅审核。

通讯作者: 苏毅, 教授, 主任医师, 563000, 贵州省遵义市大连路 149号, 遵义医学院附属医院感染科。suyizmc@yahoo.com.cn  
电话: 0852-8608070

收稿日期: 2013-11-01 修回日期: 2013-12-03

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, hepatitis B virus-related liver cirrhosis and cirrhosis with abdominal infection

Wen-Min He, Yi Su

Wen-Min He, Yi Su, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563000, Guizhou Province, China

Supported by: the Science and Technology Plan Funded Projects of Zunyi, Guizhou Province, No. 2011-32

Correspondence to: Yi Su, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Zunyi 563000, Guizhou Province, China. suyizmc@yahoo.com.cn

Received: 2013-11-01 Revised: 2013-12-03

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

### Abstract

Hepatitis B is a global contagious disease, posing a serious threat to human health. However, its pathogenic mechanisms and how it ultimately leads to the formation of cirrhosis are not fully understood. Elucidating the progression of hepatitis B and the mechanism responsible for liver cirrhosis formation can help develop novel antiviral treatment and anti-fibrosis therapy. In recent years, great progress has been made in understanding the pathogenesis of chronic hepatitis and liver cirrhosis and their treatment. Cytokines have become a research hotspot in this field. Emerging evidence suggests that a variety of cytokines in the liver

have a quite significant role in the progressive process of HBV. Cytokines mainly mediate cell-cell interactions in paracrine, feedback or other manners to participate in the pathogenesis of chronic hepatitis B, cirrhosis and cirrhosis with infection. In recent years, many studies suggest that serum interleukin-10 (IL-10) and IL-17 levels are correlated with the development and prognosis of chronic hepatitis B, liver cirrhosis and cirrhosis with infection. In this paper, we review the progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, liver cirrhosis and cirrhosis with infection.

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

Key Words: Hepatitis B; Liver cirrhosis; Infection; Cytokines; Interleukin 10; Interleukin 17

He WM, Su Y. Progress in research of IL-10 and IL-17 in chronic hepatitis B, hepatitis B virus-related liver cirrhosis and cirrhosis with abdominal infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 333-339 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/333.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.333>

### 摘要

乙型肝炎是全球性的传染性疾病, 严重威胁着人类健康。但其致病机制及最终形成肝硬化的机制尚不完全清楚。阐明乙型肝炎病情进展及肝硬化形成的机制成为抗病毒及抗纤维化治疗的重要依据之一。近年来慢性乙型肝炎及肝硬化的发生机制及治疗取得了很大进展, 细胞因子成为研究的热点。新出现的证据表明肝内多种细胞因子在乙型肝炎的进行性发展过程中有很重要的作用, 细胞因子多通过旁分泌形式介导细胞-细胞相互作用或通过反馈作用自身等形式参与慢性乙型肝炎、肝硬化以及肝硬化合并感染的过程。近年来诸多研究认为血清白介素-10(interleukin 10, IL-10)和IL-17水平的高低与慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝硬化合并感染的发生发展及预后有关, 本文就IL-10和IL-17对于慢性乙型肝炎、乙型

### ■背景资料

慢性乙型肝炎是全球性的传染性疾病, 严重威胁着人类健康。但其致病机制及最终形成肝硬化的机制尚不完全清楚。肝内多种细胞因子如白介素-10(interleukin 10, IL-10)和IL-17分别代表抗炎因子与促炎因子在乙型肝炎的进行性发展过程中被认为有很重要作用。

### ■同行评议者

白浪, 副教授, 四川大学华西医院感染性疾病中心

## ■ 研发前沿

目前主要认为慢性乙型肝炎的发病机制主要与机体对乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)免疫耐受有关,随着病情发展,肝脏的抗炎和促炎反应失衡,最终导致肝硬化甚至肝硬化合并腹腔感染。

肝炎肝硬化及肝硬化合并感染目前的研究情况进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 慢性乙型肝炎; 肝硬化; 感染; 细胞因子; 白介素-10; 白介素-17

**核心提示:** 在慢性乙型肝炎的发生及发展中,白介素-10(interleukin-10, IL-10)抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)的分化成熟导致乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染慢性化。IL-10抑制炎症因子的分泌减轻肝损伤,但是这不利于机体对病毒的清除。而IL-17介导感染HBV后的抗病毒反应,但是会造成严重的肝功能异常,病情加重。

何文敏, 苏毅. IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化以及肝硬化合并腹腔感染中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 333-339 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/333.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.333>

## 0 引言

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是全球性的公共卫生问题,也是我国最常见的传染性疾病之一,严重危害人民健康。根据2006年全国乙型肝炎流行病学调查结果,我国1-59岁一般人群中HBsAg携带率为7.18%<sup>[1]</sup>,处于乙型肝炎的中发区。感染HBV时的年龄是导致临床转归各异的最主要因素。我国HBV感染多发生在胎儿期或婴幼儿时期,大多数为母婴传播,由于其免疫系统不成熟,80%发展成为慢性无症状携带者(chronic asymptomatic carriers, AsC);儿童感染HBV后多表现为亚临床和轻度慢性乙型肝炎;青少年及成人感染HBV则大部分能够自动痊愈并产生抗体,呈一过性急性肝炎经过。

乙型肝炎肝硬化是慢性乙型肝炎发展过程中的重要阶段,一般认为,乙型肝炎肝硬化的形成主要与肝脏Kupffer细胞和肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSC)有关。Kupffer细胞是定居于肝血窦的单核巨噬细胞,参与机体的固有免疫反应。激活的Kupffer细胞在清除HBV病毒和产生细胞因子导致肝损伤的同时,分泌促纤维生成因子参与肝硬化的始动环节。当肝脏受到炎症损伤时,位于肝细胞和肝血窦内皮细胞间隙的肝星状细胞被激活<sup>[2]</sup>,从而合成大量细胞外基质<sup>[3]</sup>,促进肝硬化的发生发展。无论是Kupffer细胞还是肝星状细胞,他们通过不同的激活途径最后合成同一种物质,即转化生长因子 $\beta$ 1(transforming

growth factor  $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)。TGF- $\beta$ 1在肝硬化的发生机制中至关重要<sup>[4,5]</sup>。TGF- $\beta$ 1既能进一步激活HSC及单核细胞、血小板的旁分泌使TGF- $\beta$ 1持续增高,形成TGF- $\beta$ 1和HSC的正反馈,又能抑制肝细胞炎症反应,刺激大量细胞外基质合成并抑制其降解,成为介导肝硬化的启动因子。肝脏发生炎症应答的同时,体内多种细胞因子如白介素家族也分泌活跃,大量产生的抗炎促炎因子,在与TGF- $\beta$ 1的共同作用下,促进了肝硬化的进行性发展。肝硬化合并感染以自发性细菌性腹膜炎(spontaneous bacterial peritonitis, SBP)最多见,是肝硬化失代偿期患者最常见的并发症之一。其原因可能与肝硬化时门静脉压力增高、肠道细菌移位及入侵、机体免疫功能减弱等有关,以致引起菌血症及腹腔感染。但其具体发生机制尚不完全清楚。最近,两种新的细胞因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)和IL-17被广泛关注,IL-10作为一种抗炎因子,在减轻炎症应答的同时可能引起感染慢性化,与之相反,IL-17是Th17细胞产生的炎性因子,与体内各种炎症的发生发展密切相关。现就这两种细胞因子与慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝硬化合并腹腔感染的研究现状作一综述。

## 1 IL-10的来源及生物学作用

IL-10属于调节性T细胞亚群分泌的细胞因子<sup>[5]</sup>,主要由Th2细胞分泌。肥大细胞、巨噬细胞、树突状细胞、NK细胞等固有免疫细胞以及CD8<sup>+</sup>T细胞、B细胞等适应性免疫细胞均可分泌IL-10<sup>[6]</sup>。肝内IL-10主要来自巨噬细胞、T细胞和Kupffer细胞。

IL-10最初被定义为细胞因子合成抑制因子(cytokine synthesis inhibiting factor, CSIF)<sup>[7]</sup>,他通过与细胞膜上的特异性受体结合从而发挥生物学活性。IL-10能够促进B细胞增殖分化和IgE类抗体生成,介导体液免疫反应。IL-10能够激活肥大细胞和嗜酸性粒细胞,并促进他们增殖分化,参与速发型超敏反应。IL-10除了能够介导机体免疫反应外,其主要的生物学活性是免疫抑制作用。作为一种重要的抗炎因子,IL-10对T细胞、单核细胞、巨噬细胞以及中性粒细胞都有着免疫抑制作用。具体表现在以下几个方面:(1)抑制抗原特异性T细胞的激活从而抑制白细胞募集反应;(2)抑制Th1细胞分泌细胞因子及相关功能;(3)抑制单核细胞NO、细胞毒性T细胞(cytotoxic T cells, CTL)分化因子及其他共刺激



分子的产生; (4)抑制多种炎症细胞因子, 主要有干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )、肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、IL-2和粒细胞-单核细胞集落刺激因子(granulocyte-monocyte colony stimulating factor, GM-CSF)的产生. 通过以上途径, IL-10抑制机体细胞免疫反应. 此外, IL-10还可以抑制NK细胞的活性<sup>[8]</sup>, 调节固有免疫反应, 从而对急性慢性炎症都有一定程度的控制作用. 近年来, 很多研究发现, IL-10在自身免疫性疾病、败血症<sup>[9]</sup>、器官移植、心血管疾病、肿瘤等疾病中表达增高, 表明IL-10在这些疾病中也起着重要的作用.

## 2 IL-10的免疫耐受机制

IL-10属于Th2细胞因子, 在炎症过程中起着负性免疫调控作用<sup>[10,11]</sup>. 而促使乙型肝炎感染慢性化的主要原因, 则是IL-10拥有使机体耐受某些病原体的能力. IL-10诱导机体免疫耐受, 主要是通过抑制树突状细胞(dendritic cell, DC)的功能来实现的<sup>[12,13]</sup>. DC细胞膜表面存在大量的主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) II类分子、共刺激分子和黏附分子, 摄取抗原并将抗原肽-MHC II类分子复合物呈递给初始T细胞, 激活初始T细胞并促进其增殖. DC是目前发现的抗原提呈功能最强的一类抗原提呈细胞(antigen presenting cells, APC). 同时, DC还是特异性免疫应答的主要诱导细胞和始动者, 是决定免疫细胞是活化还是耐受状态的关键因素<sup>[14]</sup>. DC通过参与胸腺细胞的阴性选择介导T细胞的中枢耐受. 未成熟DC主要诱导机体的外周耐受. 有研究证明, IL-10可以抑制DC的成熟<sup>[15]</sup>, IL-10能作用于DC成熟过程的早期阶段, 抑制多种刺激分子或炎症信号(如TNF、IL-1)的表达, 影响DC的成熟分化, 这种抑制作用的大小与IL-10的剂量成正比<sup>[16]</sup>. 经IL-10处理后的DC进入外周淋巴组织后, 不能产生足够的信号刺激T细胞活化, 这些DC虽然携带自身抗原, 由于不表达共刺激分子, 反而促使T细胞无反应, 引起自身耐受. 另外, 未成熟DC诱导的无能状态的T细胞表面的细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)分子表达增加, 在体外通过细胞接触的方式抑制其他抗原特异性T细胞的增殖<sup>[16]</sup>. 不仅如此, 未成熟DC和抑制性DC亚群还可以通过诱导调节性T细胞来清除参与免疫应答的T细胞, 或者直接分泌IL-10、TGF- $\beta$ 等因子下调参与免疫应答的T

细胞, 达到形成和维持外周耐受的目的.

有研究表明, 刺激DC高度表达免疫抑制性受体, 降低免疫活化受体, 从而使DC表面正负性刺激信号的平衡改变也可能是IL-10诱导免疫耐受的分子机制之一<sup>[14]</sup>. 此外, IL-10可以通过抑制活化的T细胞后分泌IL-12、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ , 从而抑制迟发型变态反应<sup>[17]</sup>, 诱导外周免疫耐受. 还有研究表明, IL-10可以协同NKT细胞诱导免疫耐受<sup>[18-21]</sup>, 其具体机制尚不清楚.

## 3 IL-17的分泌及免疫学作用

IL-17是一种重要的促炎症细胞因子<sup>[22,23]</sup>, 由效应性T细胞亚群即激活的CD4<sup>+</sup>记忆T细胞产生, 主要由Th17细胞分泌, 也可以由CD8<sup>+</sup> T细胞、 $\gamma\delta$ T的细胞、自然杀伤T细胞、中性粒细胞和嗜酸粒细胞等产生<sup>[24]</sup>. IL-17的免疫学作用主要是通过与其受体结合来实现的, IL-17受体广泛分布于机体各种细胞表面. 当机体受到外界抗原刺激时, TGF- $\beta$ 和IL-6诱导未致敏的Th0细胞向Th17细胞分化<sup>[25,26]</sup>, 在此基础上, IL-23促进Th17细胞分泌IL-17, IL-17与受体结合后, 可刺激成纤维细胞表达人成纤维母细胞黏附分子ICAM-1, 促进细胞间黏附, 进行信号传递; IL-17能够强烈激活基质细胞产生IL-6、IL-8等炎症细胞因子, 诱导表皮细胞和内皮细胞等细胞分泌中性粒细胞趋化因子<sup>[27]</sup>, 促进中性粒细胞的趋化和激活; 同时, IL-17可诱导B细胞活化, 并促进T细胞增殖, 从而介导机体的特异性免疫反应; IL-17可以刺激成纤维细胞分泌GM-CSF, 促使骨髓的髓系前体产生巨噬细胞、粒细胞和DC, 进一步促进机体免疫应答的发生发展.

在上述过程中, IL-17最大的特点是能够被炎症因子诱导产生, 而后促进更多炎症因子的分泌增强, 这些因子作为激动剂再一次作用于IL-17, 更加扩大其活性, 构成了IL-17活化的正反馈调节. IL-23作为同样重要的促炎因子, 是诱导IL-17分泌的关键细胞因素<sup>[28]</sup>, 在缺乏IL-23的小鼠体内, Th17细胞几乎不能被发现. 这是因为Th17细胞的产生虽然不是由IL-23决定, 但是没有IL-23, Th17细胞几乎不能存活及进一步被刺激增加<sup>[29]</sup>. 另外, IL-17能够刺激髓系树突状细胞的分化成熟, 还可诱导TNF- $\alpha$ 、膜辅蛋白(membrane cofactor protein, MCP)-1, 诱导型NO合酶(inducible NO synthase, iNOS), 白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)和前列腺素E2等的释放, 这些因子在炎症反应、免疫应答和

### ■ 相关报道

近年来大量研究报道关于IL-10和IL-17在HBV感染后分别在不同病程与健康对照组的血清水平变化, 均无一例外的表明分别作为抗炎因子和促炎因子的它们与慢性乙型肝炎的发病机制密切相关.

## ■创新盘点

本文通过对IL-10、IL-17这两种细胞因子与慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化和肝硬化合并腹腔感染这3个重要病程相关的发病机制做一个全面系统并具有连续性的综述,便于对比参照。

造血分化中具有重要的作用<sup>[30]</sup>。研究发现, IL-17与炎性反应性肠病、银屑病、慢性阻塞性肺病<sup>[31]</sup>、炎症性皮肤病、自身免疫病、哮喘等多种疾病关系密切。

## 4 IL-17的肝损伤机制

HBV感染后的肝损伤是指由机体抗病毒反应所导致的, 以大量炎性细胞浸润、肝实质细胞变性坏死为特征的肝细胞免疫性损伤。作为一种强致炎因子, IL-17与HBV感染后的肝脏炎性损伤有着密切关系, 大部分的乙型肝炎患者肝内IL-17水平与血清谷丙转氨酶和病毒载量呈正相关<sup>[32]</sup>。正常情况下, 肝脏的抗炎和促炎反应处于平衡状态。HBV感染人体后, 引发机体产生强烈的免疫应答。IL-17主要通过以下途径导致肝损伤: IL-17激活多种促炎因子的表达, 促进中性粒细胞募集反应, 肝脏局部炎症细胞浸润导致肝炎性损伤; IL-17诱导基质金属蛋白酶的产生, 促使组织细胞通透性增加, 导致肝细胞炎性损伤甚至裂解死亡; IL-17激活NKT细胞通过细胞毒作用直接杀伤被HBV感染的肝实质细胞, 造成肝损伤<sup>[33]</sup>; IL-17在肝脏抗病毒反应早期升高, 在炎症过程中诱导细胞因子链下游B淋巴细胞刺激因子等细胞因子的大量产生, 是肝损伤的直接原因<sup>[34]</sup>。

## 5 IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎、乙型肝炎肝硬化及肝硬化合并感染中的作用

IL-10是一种强有力的免疫和炎症抑制因子, 同时也是导致慢性乙型肝炎的重要因素。王少扬等、Arnaud等及Wasmuth等<sup>[35-37]</sup>认为IL-10的产生可能影响HBV感染者的临床转归, 高水平IL-10不利于HBV的清除, 可能与HBV感染慢性化有关。张磊等<sup>[38]</sup>通过对慢性乙型肝炎及乙型肝炎肝硬化患者外周血CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg细胞的检测, 发现其水平平均高于健康对照组, 而慢性乙型肝炎组与肝硬化组无明显统计学差异, 而CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg细胞能产生IL-10, 从而可以推测IL-10与HBV慢性感染有着密切关系。这与许文龙等<sup>[39]</sup>的研究结果一致。Li等<sup>[40]</sup>研究发现在慢性乙型肝炎患者中, HBcAg在介导Th17细胞参与免疫应答的同时刺激IL-10的分泌, 他们还发现IL-10通过下调维甲酸相关核孤儿受体 $\gamma$ t(retinoid-related orphan nuclear receptor  $\gamma$ t, ROR $\gamma$ t)抑制HBsAg特异性Th17细胞的发展, 并且, IL-10作用于未成熟的DC从而诱导T细胞无

能, 减弱了细胞免疫对病毒的清除作用, 这可能是HBV感染慢性化的主要途径。然而, 从另一方面来说, Erhardt等<sup>[41]</sup>认为IL-10作为诱导慢性肝炎免疫耐受的核心因子, 对免疫炎症性肝损伤拥有潜在的治疗价值。

相反的, IL-17作为一种促炎因子, 与慢性乙型肝炎的炎症反应都关系密切。季伟等<sup>[42]</sup>研究发现IL-17在慢性乙型肝炎及肝硬化患者的表达是增高的, 并且其血清水平与乙型肝炎的严重程度密切相关, 提示IL-17参与了慢性乙型肝炎患者肝脏炎症的发生。同样的, 任劲松等<sup>[43]</sup>通过检测慢性乙型肝炎患者外周血IL-17水平, 认为IL-17与慢性乙型肝炎的发病有关, 并且, IL-17的血清浓度与肝损伤程度呈正相关。赵丽等<sup>[44]</sup>也认为Th17细胞与慢性乙型肝炎的发病机制密切相关。宋春辉等<sup>[45]</sup>认为Th17细胞反应下降导致IL-17分泌减少, 在一定程度上可能下调肝脏炎症反应, 但机体的抗病毒反应也可能同时减弱; 当体液免疫应答低下, IL-10等抗炎因子生成减少, 不能产生足够的抗体中和病毒, 从而可能无法抑制肝脏受到炎性损伤。如何找到一个平衡点, 使得肝组织有足够浓度的促炎因子介导抗病毒反应的同时, 对肝脏不造成炎性损伤, 仍需要大量的临床研究进行探讨。

当慢性肝病发展到肝硬化阶段, IL-10与其他炎性因子在促进肝纤维化和肝细胞的炎性损伤也起到重要作用。李晨等<sup>[46]</sup>发现在肝硬化患者尤其是失代偿期肝硬化患者外周血IL-10水平明显高于健康对照组, 并且肝硬化病情越严重, 这种增高越明显。提示IL-10参与了肝纤维化的发生发展。孙彤等<sup>[47]</sup>研究表明内源性IL-10可以减少炎性细胞与肝窦内皮细胞的黏附及限制局部炎症因子的活性, 从而降低HBV感染对肝脏引起的损害, 对肝脏有一定的保护作用。田小平等<sup>[48]</sup>认为IL-6、IL-18、IL-10可以作为辅助诊断肝硬化的指标, 抑制IL-6和IL-18的活性并加强IL-10的作用, 可能能够有效防止慢性乙型肝炎肝硬化。卢林等<sup>[49]</sup>实验验证IL-10水平的进行性升高可能诱导单核细胞免疫缺陷, 从而促使患者预后不良。

杜文军等<sup>[50]</sup>发现IL-17血清水平在肝硬化组较慢性乙型肝炎组显著升高, 差异有统计学意义, 认为IL-17在肝纤维化的发生发展中具有重要作用。Sparna等和Qin等<sup>[51,52]</sup>发现在肝硬化患者外周血IL-17水平与透明质酸、层黏连蛋白、III型胶原等肝纤维化指标呈正相关, 提示IL-17

可能参与了肝纤维化的发病机制. 陈晓黎等和Chen等<sup>[53,54]</sup>认为IL-17参与了肝硬化的发生, 且其水平越高, 肝硬化及肝损伤越严重. 陈捷等<sup>[55]</sup>通过检测慢性乙型肝炎患者外周血IL-17、IL-10的水平, 分析其与相应肝功能指标及HBV DNA的关系, 认为IL-17可用来预测肝硬化的进展程度. Du等<sup>[56]</sup>也认为IL-17水平随着肝硬化的严重程度呈上升趋势, 推测IL-17可能促进肝星状细胞和成纤维细胞增殖, 从而决定肝脏的纤维化程度, 但其具体机制还需进一步调查.

SBP是肝硬化失代偿期最常见的感染, Rodriguez-Ramos等<sup>[57]</sup>发现肝硬化合并SBP时腹水IL-10和IL-18水平高于血清, 这可能与SBP发生时腹水中含有大量中性粒细胞促使的炎症反应及抗炎反应有关, 同时提示IL-10参与了SBP的发生机制. 杜兰霞等<sup>[58]</sup>通过对肝硬化腹水合并SBP组与不合并SBP组比较后发现, SBP组腹水IL-10水平低于不合并SBP组, 而炎症因子IL-18则高于不合并SBP组, 表明了SBP中抗炎因子处于弱势, 这可能是导致SBP发生的重要原因. 从上可以得出, SBP并发症的发生是一种机体免疫反应与抑制炎症反应不平衡的表现, IL-10在这一炎症与抗炎过程中起着核心作用. 相对而言, IL-17与SBP之间的关系国内外文献鲜有报道, 大部分研究<sup>[59-61]</sup>指出IL-6是SBP发病机制中占主导地位的炎症因子. 由于IL-6可在IL-17的作用下被激活, 并可刺激IL-17的产生, 我们可以设想IL-17在SBP中也可能起到一定的作用, 但其具体意义还需通过研究进一步证实.

## 6 结论

IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎的进行性发展中起着重要作用. IL-10通过抑制DC的分化成熟, 促使免疫反应信号传导通路中断, 从而介导机体的免疫耐受, 导致HBV感染慢性化. 同时, IL-10通过直接抑制多种免疫细胞的活性, 减少炎症因子的分泌, 从而降低肝脏的炎症反应, 减轻肝损伤, 这种抗炎作用贯穿于乙型肝炎后肝硬化及肝硬化合并腹腔感染的整个过程中, 但是这不利于机体对病毒的清除. 而IL-17介导机体感染HBV后的抗病毒反应, 无论是慢性乙型肝炎、乙型肝炎后肝硬化, 还是肝硬化合并腹腔感染过程中, 都通过对一系列炎症因子的激活, 对HBV有强大的杀灭作用, 但是会造成严重的肝细胞坏死, 肝功能下降, 病情加重. 目前, 慢性乙型肝炎的致病机制仍未完全阐明, 临床早

期诊断慢性乙型肝炎并及时抗病毒对阻止肝纤维化的发生及发展具有重要意义. 急慢性肝炎的发病与机体炎性反应和抗炎反应的失衡有关. 越来越多证据表明, 对于IL-10和IL-17的作用机制的研究可能有助于慢性乙型肝炎相关病程的治疗新方案的提出. 然而在IL-10和IL-17被作为新的干预靶点治疗慢性乙型肝炎及肝硬化之前, 还有很多IL-10和IL-17在肝脏中牵涉的其他作用有待进一步的研究, 从而为慢性乙型肝炎的防治和优化治疗提供更加全面的理论依据.

## 7 参考文献

- 1 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病分会. 慢性乙型肝炎防治指南. 中国临床医生 2012; 40: 66-78
- 2 Mannaerts I, Nuytten NR, Rogiers V, Vanderkerken K, van Grunsven LA, Geerts A. Chronic administration of valproic acid inhibits activation of mouse hepatic stellate cells in vitro and in vivo. *Hepatology* 2010; 51: 603-614 [PMID: 19957378 DOI: 10.1002/hep.23334]
- 3 Wells RG. Cellular sources of extracellular matrix in hepatic fibrosis. *Clin Liver Dis* 2008; 12: 759-68, viii [PMID: 18984465 DOI: 10.1016/j.cld.2008.07.008]
- 4 Li H, Zheng HW, Chen H, Xing ZZ, You H, Cong M, Jia JD. Hepatitis B virus particles preferably induce Kupffer cells to produce TGF- $\beta$ 1 over pro-inflammatory cytokines. *Dig Liver Dis* 2012; 44: 328-333 [PMID: 22177317 DOI: 10.1016/j.dld.2011.11.005]
- 5 Alatrakchi N, Kozziel M. Regulatory T cells and viral liver disease. *J Viral Hepat* 2009; 16: 223-229 [PMID: 19222744 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2009.01081.x]
- 6 郭锦锦, 孙万邦. IL-10受体及其信号转导研究进展. 临床医学工程 2010; 19: 135-137
- 7 Sabat R, Grütz G, Warszawska K, Kirsch S, Witte E, Wolk K, Geginat J. Biology of interleukin-10. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 331-344 [PMID: 21115385 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2010.09.002]
- 8 Naundorf S, Schröder M, Höflich C, Suman N, Volk HD, Grütz G. IL-10 interferes directly with TCR-induced IFN-gamma but not IL-17 production in memory T cells. *Eur J Immunol* 2009; 39: 1066-1077 [PMID: 19266486 DOI: 10.1002/eji.200838773]
- 9 Kasten KR, Muenzer JT, Caldwell CC. Neutrophils are significant producers of IL-10 during sepsis. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 393: 28-31 [PMID: 20097159 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.01.066]
- 10 黄英, 文剑, 王清波, 顾小军. 肝细胞肝癌患者血清IL-18、IL-10变化的分析. 江苏医药 2012; 38: 1516-1518
- 11 Zeng L, O'Connor C, Zhang J, Kaplan AM, Cohen DA. IL-10 promotes resistance to apoptosis and metastatic potential in lung tumor cell lines. *Cytokine* 2010; 49: 294-302 [PMID: 20034810 DOI: 10.1016/j.cyt.2009.11.015]
- 12 Racanelli V, Rehermann B. The liver as an immunological organ. *Hepatology* 2006; 43: S54-S62 [PMID: 16447271 DOI: 10.1002/hep.21060]
- 13 Jarnicki AG, Lysaght J, Todryk S, Mills KH. Suppression of antitumor immunity by IL-10 and TGF- $\beta$ -producing T cells infiltrating the growing tumor: influence of tumor environment on the

## ■应用要点

通过本文可较全面的了解IL-10和IL-17在慢性乙型肝炎的发生及发展中的作用机制, 有助于慢性乙型肝炎相关病程的治疗新方案提出.



# 同行评价

本文引用了近年来本领域的较新的一些文献,书写规范,体现了本领域内近年来的最新进展,对本领域的科研工作,尤其是结合临床的科研工作有很好的提示意义,值得临床医生学习。

- induction of CD4+ and CD8+ regulatory T cells. *J Immunol* 2006; 177: 896-904 [PMID: 16818744]
- 14 刘峥嵘, 张敏, 黎伟明, 周浩, 邹萍. IL-10诱导小鼠树突状细胞耐受的分子机制. *中国病理生理杂志* 2008; 24: 374-378
- 15 Sato K, Yamashita N, Baba M, Matsuyama T. Modified myeloid dendritic cells act as regulatory dendritic cells to induce anergic and regulatory T cells. *Blood* 2003; 101: 3581-3589 [PMID: 12511411 DOI: 10.1182/blood-2002-09-2712]
- 16 高苏俊, 季晓辉. 树突状细胞研究新突破-诱导免疫耐受. *医学综述* 2006; 12: 905-907
- 17 方航荣, 邱明链, 刘景辛, 陈丽红, 黄爱民. IL-10基因修饰的树突状细胞诱导大鼠肝移植免疫耐受的实验研究. *实用医学杂志* 2012; 28: 2705-2708
- 18 王远涛, 王伟刚, 王钢, 周洪澜, 高宝山, 安伟. NKT细胞通过IL-10参与诱导小鼠心脏移植免疫耐受. *中国实验诊断学* 2011; 16: 1373-1375
- 19 Oh K, Kim S, Park SH, Gu H, Roopenian D, Chung DH, Kim YS, Lee DS. Direct regulatory role of NKT cells in allogeneic graft survival is dependent on the quantitative strength of antigenicity. *J Immunol* 2005; 174: 2030-2036 [PMID: 15699132]
- 20 Jiang X, Kojo S, Harada M, Ohkohchi N, Taniguchi M, Seino KI. Mechanism of NKT cell-mediated transplant tolerance. *Am J Transplant* 2007; 7: 1482-1490 [PMID: 17511678 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2007.01827.x]
- 21 Haeryfar SM, Lan Z, Leon-Ponte M, Duffy KR, Ge W, Liu W, Mele T, Garcia B, Wang H. Prolongation of cardiac allograft survival by rapamycin and the invariant natural killer T cell glycolipid agonist OCH. *Transplantation* 2008; 86: 460-468 [PMID: 18698251 DOI: 10.1097/TP.0b013e3181806b72]
- 22 Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, Nambu A, Ishigame H, Kakuta S, Sudo K, Iwakura Y. IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis. *J Immunol* 2006; 177: 566-573 [PMID: 16785554]
- 23 Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and type 17 helper T cells. *N Engl J Med* 2009; 361: 888-898 [PMID: 19710487 DOI: 10.1056/NEJM-ra0707449]
- 24 林芳, 王慧芬. Th17细胞相关细胞因子的研究进展. *医学综述* 2009; 15: 1000-1003
- 25 Mangan PR, Harrington LE, O'Quinn DB, Helms WS, Bullard DC, Elson CO, Hatton RD, Wahl SM, Schoeb TR, Weaver CT. Transforming growth factor-beta induces development of the T(H)17 lineage. *Nature* 2006; 441: 231-234 [PMID: 16648837 DOI: 10.1038/nature04754]
- 26 Veldhoen M, Hocking RJ, Atkins CJ, Locksley RM, Stockinger B. TGFbeta in the context of an inflammatory cytokine milieu supports de novo differentiation of IL-17-producing T cells. *Immunity* 2006; 24: 179-189 [PMID: 16473830 DOI: 10.1016/j.immuni.2006.01.001]
- 27 汪美华, 章幼奕, 吴月平, 邹美银, 陈琳, 朱勇根, 沈娟, 李雪梅, 黄松平. 乙型肝炎肝硬化患者血清中Th17相关细胞因子表达的临床意义. *中华病毒学杂志* 2012; 2: 211-215
- 28 Xia L, Tian D, Huang W, Zhu H, Wang J, Zhang Y, Hu H, Nie Y, Fan D, Wu K. Upregulation of IL-23 expression in patients with chronic hepatitis B is mediated by the HBx/ERK/NF-kB pathway. *J Immunol* 2012; 188: 753-764 [PMID: 22174449 DOI: 10.4049/jimmunol.1101652]
- 29 Harrington LE, Mangan PR, Weaver CT. Expanding the effector CD4 T-cell repertoire: the Th17 lineage. *Curr Opin Immunol* 2006; 18: 349-356 [PMID: 16616472 DOI: 10.1016/j.coi.2006.03.017]
- 30 孙创斌, 胡晋红, 朱全刚, 刘继勇, 刘艳霞. 药物作用新靶点: 白细胞介素17及其受体. *国际药学研究杂志* 2008; 35: 169-172
- 31 陈颖, 陈曲波. Th17细胞在炎症疾病中的作用. *国际检验医学杂志* 2009; 30: 1176-1180
- 32 Zhang JY, Zhang Z, Lin F, Zou ZS, Xu RN, Jin L, Fu JL, Shi F, Shi M, Wang HF, Wang FS. Interleukin-17-producing CD4(+) T cells increase with severity of liver damage in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2010; 51: 81-91 [PMID: 19842207 DOI: 10.1002/hep.23273]
- 33 屠毅, 张立煌. NKT细胞在病毒性肝炎中的作用. *国外医学·流行病学传染病学分册* 2005; 32: 211-214
- 34 彭辉, 陈维贤, 陈敏. IL-17与B淋巴细胞刺激因子在原发性胆汁性肝硬化患者中的表达及临床意义. *临床检验杂志* 2011; 29: 254-256
- 35 王少扬, 孙顺来, 郑青, 马卫闻, 刘海周. IL-10启动子多态性对慢性HBV感染者病情发展的关联性. *现代免疫学* 2010; 30: 342-345
- 36 Arnaud V, Li J, Wang Y, Fu X, Mengzhi S, Luo X, Hou X, Dessein H, Jie Z, Xin-Ling Y, He H, McManus DP, Li Y, Dessein A. Regulatory role of interleukin-10 and interferon-gamma in severe hepatic central and peripheral fibrosis in humans infected with *Schistosoma japonicum*. *J Infect Dis* 2008; 198: 418-426 [PMID: 18582197 DOI: 10.1086/588826]
- 37 Wasmuth HE, Kunz D, Yagmur E, Timmer-Stranghoner A, Vidacek D, Siewert E, Bach J, Geier A, Purucker EA, Gressner AM, Matern S, Lammert F. Patients with acute on chronic liver failure display "sepsis-like" immune paralysis. *J Hepatol* 2005; 42: 195-201 [PMID: 15664244 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.10.019]
- 38 张磊, 谷甸娜, 陈永平, 郑明华. 慢性乙型肝炎患者、乙型肝炎肝硬化患者外周血CD4 CD25调节性T细胞的水平及意义. *医学研究杂志* 2011; 40: 50-55
- 39 许文龙, 张国祥, 王红旗. 慢性乙型肝炎患者外周血IL-1β、mIL-2R、IL-10的检测及意义. *中华医院感染学杂志* 2009; 19: 742-744
- 40 Li J, Wu W, Peng G, Chen F, Bai M, Zheng M, Chen Z. HBcAg induces interleukin-10 production, inhibiting HBcAg-specific Th17 responses in chronic hepatitis B patients. *Immunol Cell Biol* 2010; 88: 834-841 [PMID: 20498672 DOI: 10.1038/icb.2010.63]
- 41 Erhardt A, Biburger M, Papadopoulos T, Tiegs G. IL-10, regulatory T cells, and Kupffer cells mediate tolerance in concanavalin A-induced liver injury in mice. *Hepatology* 2007; 45: 475-485 [PMID: 17256743 DOI: 10.1002/hep.21498]
- 42 季伟, 王惠芬, 冯传前, 鞠连才, 赵敏, 貌盼勇. 慢性乙型肝炎患者血清及外周血单个核细胞培养上清白细胞介素-10的检测及临床意义. *中华传染病杂志* 1999; 7: 211-213
- 43 任劲松, 潘修成, 李丽, 冯霞, 薄娟娟, 辛杰晶, 陈朋. 慢性乙型肝炎患者外周血Th17细胞和IL-17检测及其临床意义. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 4264-4267
- 44 赵丽, 王绮夏, 邱德凯, 沈镭, 彭延申, 陈晓宇, 马雄. Th17细胞相关因子在慢性乙型肝炎肝组织中的表达. *胃肠病学* 2010; 15: 326-329
- 45 宋春辉, 张纪元, 石峰, 王玉, 陈黎明, 王福生. 恩替卡韦治疗慢性乙型肝炎患者免疫功能变化的研究. *国际流行病学传染病学杂志* 2011; 38: 82-86

- 46 李晨, 邢少军, 段学章, 胡瑾华, 柳芳芳, 王慧芬, 万谟彬. 乙型肝炎肝硬化患者外周血调节性T细胞频率及血清IL-1 $\beta$ 、IL-6和IL-10水平的变化. 实用肝脏病杂志 2012; 15: 244-246
- 47 孙彤, 陈凯红, 裴豪, 胡敏涛. 康艾注射液对代偿期肝硬化患者多种细胞因子的影响. 中西医结合肝病杂志 2012; 22: 210-214
- 48 田小平, 朱崇尧. 慢性乙型肝炎患者血清IL-6、IL-10、IL-18水平与HA、PCII浓度相关性的研究. 淮海医药 2004; 22: 87-89
- 49 卢林, 曾令伟, 秦波, 兰淑青. 重型肝炎患者外周血3项水平变化及临床意义. 检验医学与临床 2012; 9: 2667-2670
- 50 杜文军, 陈士俊, 邢直直, 秦来英. IL-17在慢性乙型肝炎患者血清中的表达及其与肝炎肝硬化的相关性研究. 中国肝脏病杂志 2008; 1: 28-30
- 51 Sparna T, Rétey J, Schmich K, Albrecht U, Naumann K, Gretz N, Fischer HP, Bode JG, Merfort I. Genome-wide comparison between IL-17 and combined TNF- $\alpha$ /IL-17 induced genes in primary murine hepatocytes. *BMC Genomics* 2010; 11: 226 [PMID: 20374638 DOI: 10.1186/1471-2164-11-226]
- 52 Qin LY, DU WJ, Liu KH, Wang C, Chen SJ. [Research on the relationship of intrahepatic expression of IL-17 and liver cirrhosis in chronic hepatitis B patients]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2009; 17: 221-222 [PMID: 19335988]
- 53 陈晓黎, 吴玮, 侯青顺, 刘富会. T细胞亚群及IL-17与慢性HBV感染结局的关系. 中国医疗前沿 2012; 7: 1-2
- 54 Chen H, Zhang D, Wang S, Wang X, Yang C. Significance of correlation between interferon- $\gamma$  and soluble intercellular adhesion molecule-1 and interleukin-17 in hepatitis B virus-related cirrhosis. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 608-613 [PMID: 23796976 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.05.010]
- 55 陈捷, 王兰兰, 付阳, 罗俐梅, 廖云, 李思阔, 蔡蓓, 李壹. IL-17、IL-23、TGF- $\beta$ 和IL-10在乙型肝炎病毒感染中的表达分析. 免疫学杂志 2012; 28: 231-236
- 56 Du WJ, Zhen JH, Zeng ZQ, Zheng ZM, Xu Y, Qin LY, Chen SJ. Expression of interleukin-17 associated with disease progression and liver fibrosis with hepatitis B virus infection: IL-17 in HBV infection. *Diagn Pathol* 2013; 8: 40 [PMID: 23448394 DOI: 10.1186/1746-1596-8-40]
- 57 Rodríguez-Ramos C, Galan F, Díaz F, Elvira J, Martín-Herrera L, Girón-González JA. Expression of proinflammatory cytokines and their inhibitors during the course of spontaneous bacterial peritonitis. *Dig Dis Sci* 2001; 46: 1668-1676 [PMID: 11508666 DOI: 10.1023/A:1010645302750]
- 58 杜兰霞, 褚燕君, 贾百灵, 陈香宇. IL-10、IL-18和内毒素在肝硬化患者自发性细菌性腹膜炎中的作用. 世界华人消化杂志 2011; 19: 850-854
- 59 张崴, 张世兰, 王海滨. 肝硬化腹水患者血浆降钙素原与TNF- $\alpha$ 和IL-6临床价值比较. 中华传染病杂志 2003; 21: 47-49
- 60 张莉, 浦俭斌, 王晓春, 唐晶, 杨根妹. 肝炎肝硬化合并自发性细菌性腹膜炎患者TNF- $\alpha$ 和IL-6检测的临床意义. 山东医药 2011; 51: 93-95
- 61 观晓辉. 内毒素、一氧化氮、白细胞介素-6在肝硬化并原发性腹膜炎中的临床意义. 国际医药卫生导报 2005; 11: 14-15

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 肠道微生物在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用

卢伟娜, 冯丽英

## ■背景资料

伴随着全球范围内肥胖以及与胰岛素抵抗相关疾病的不断增加, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)成为越来越严重的慢性肝病, 其发病机制目前尚未完全明确, 并且尚无有效治疗。

卢伟娜, 冯丽英, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

卢伟娜, 主要从事非酒精性脂肪性肝病的研究。

作者贡献分布: 卢伟娜与冯丽英对此文贡献均等; 本综述写作由卢伟娜完成; 冯丽英负责审核与修改。

通讯作者: 冯丽英, 教授, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科. hysfly888@163.com  
电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-05-27 修回日期: 2013-08-22

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

## Role of gut microbiota in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease

Wei-Na Lu, Li-Ying Feng

Wei-Na Lu, Li-Ying Feng, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Li-Ying Feng, Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. hysfly888@163.com  
Received: 2013-05-27 Revised: 2013-08-22

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

## Abstract

A close anatomical and functional interplay exists between the gut and liver, named "gut-liver axis", which has been associated with the pathogenesis of some diseases. Intestinal bacteria play a key role in the maintenance of gut-liver axis health. Altered intestinal bacterial flora, increased intestinal permeability and gut-associated endotoxemia will damage the normal relationship between the liver and intestine, which in turn leads to a variety of liver disease. Thus, modulation of the gut microbiota may represent a new way to treat or prevent chronic liver disease. Studies have showed that gut microflora plays a significant role in the development of nonalcoholic fatty liver disease. This review summarizes the recent studies highlighting the role of the intestinal microflora in the development of NAFLD.

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

Key Words: Gut microbiota; Gut-liver axis; Nonalcoholic fatty liver disease; Probiotics

Lu WN, Feng LY. Role of gut microbiota in pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 340-344 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/340.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.340>

## 摘要

肝脏和肠道不仅解剖学上而且在生物学功能上存在密切联系, 即所谓“肠-肝轴”学说, 其对某些疾病的影响越来越受到关注, 其中肠道菌群在维持肠-肝轴的平衡方面起着重要作用。肠道菌群紊乱、肠道黏膜通透性改变、肠源性内毒素血症, 这将破坏肝脏与肠道之间的正常关系进而导致多种肝脏疾病的发生, 进而调整肠微生物成为一种治疗或预防慢性肝病的新手段。有研究表明其在非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生发展中起到了重要作用, 这里就肠道微生物对NAFLD的作用做一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肠道微生物; 肠-肝轴; 非酒精性脂肪性肝病; 益生菌

**核心提示:** 肠道菌群紊乱、小肠细菌过度生长、肠黏膜屏障受损、细菌移位所形成肠源性内毒素血症, 通过介导肝脏炎症反应, 促进非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease)的发生和发展。

卢伟娜, 冯丽英. 肠道微生物在非酒精性脂肪性肝病发病中的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 340-344 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/340.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.340>

## 0 引言

近年来, 随着生活方式及饮食结构改变, 非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)在世界范围内的诊断率不断上升, 同时也是我国越来越严重的慢性肝病问题, 且发病

## ■同行评议者

高泽立, 副教授, 周浦医院消化科, 上海交大医学院九院周浦分院; 金山, 主任医师, 内蒙古医学院附属医院普通外科; 方今女, 教授, 延边大学医学院预防医学教研部



率不断升高并有低龄化趋势. 尽管提出了较为经典“二次打击”学说<sup>[1-3]</sup>, 关于NAFLD的发病机理仍尚未完全阐明, 随着研究进展, 肠道微生物在NAFLD的发病中的作用越来越受到关注.

## 1 肠道微生物

胃肠道尤其是大肠, 有着人体最大数量的细菌. 最近数据估计肠道微生物至少由500-1000种不同的种类组成, 含有 $10^{13}$ - $10^{14}$ 个细菌<sup>[4]</sup>. 肠微生物是种类迥异的细菌在质和量上不断变化的一种动态混合<sup>[5]</sup>. 饮食习惯、生活方式、年龄、宿主基因类型和抗生素的使用都可能影响肠微生物的组成<sup>[6]</sup>. 正常情况下, 宿主和肠道微生物在进化过程中形成了一种相适应的共生关系.

肠道微生物的主要功能包含保护宿主抵御外来微生物、维持肠黏膜免疫系统平衡、保护肠道屏障完整性、参与新陈代谢活动及营养促进<sup>[7-9]</sup>. 但是, 肠道菌群在很多疾病的发展中起到很大影响, 包括肝脏疾病. 大量的动物实验已证实, 肠道微生物、肠黏膜及免疫系统三者之间的失衡在NAFLD的发生发展中起着重要作用.

肠道菌群改变包括微生物的失衡、小肠细菌过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO)及释放到循环当中的肠道来源的产物, 也被称为病原相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), 例如细菌脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)、肽聚糖、脂蛋白类等; 肝脏通过特定的Toll样受体(Toll-like receptors, TLRs)识别PAMPs<sup>[10]</sup>. 健康肝脏包含低水平的TLRs mRNA以及相应的受体分子(例如: CD14、MD-2及MyD88), 表明肝脏低表达TLR信号分子将有助于对肠道来源的TLR配体的高耐受性<sup>[11]</sup>. 因此, TLRs是将肠道菌群失调、肠源性内毒素血症及肝脏损伤联系起来的重要纽带<sup>[12]</sup>.

## 2 肠-肝轴

肝脏与肠道在解剖上和功能上有着紧密联系, 在胚胎发育过程中, 肝脏通过胚胎前肠与肠道建立了直接输入和输出关系即门静脉系统和胆道系统<sup>[13]</sup>, 二者间共同的胚胎起源, 可以解释在若干炎症和感染性肠病中观察到的肝胆的改变, 例如炎症性肠病患者常合并原发性硬化性胆管炎或者自身免疫性肝炎的发生<sup>[14,15]</sup>.

肝脏通过门静脉系统接收从肠道来源的大部分血液, 同时肠道静脉血液中富含的物质(包

含细菌及细菌产物)会激活肝脏的功能, 反过来, 肝脏通过分泌胆汁和胆汁肝肠循环影响肠道的功能. 肠道微生物产生的乙醇、氨和乙醛等, 这些物质一般通过肝脏进行代谢, 可以调节枯否细胞活性和细胞因子的产生<sup>[16]</sup>. 肠道微生物在质和量上的变化导致肠道黏膜通透性的增加和细菌移位, 肠源性内毒素血症的发生, 而脂多糖是革兰氏阴性菌外膜的主要成分, 在多种慢性肝病的门静脉和/或体循环中均有所增加<sup>[17]</sup>.

肝脏包含大量的免疫细胞发挥天然及适应性免疫应答, 通过引起耐受与炎症反应来应对细菌移位的影响. 细菌和细菌产物激活了肝脏内巨噬细胞-枯否细胞, 通过核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)调节机制, 激发细胞因子如肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的释放, 从而触发特定的细胞内信号转导通路<sup>[18]</sup>. 同时, 肝脏也随之发生形态和功能上变化, 诱发急性炎症反应, 释放活性氧代谢物、蛋白酶和其他酶类, 进一步加重肝脏损害<sup>[19]</sup>.

## 3 肠道微生物与NAFLD

**3.1 NAFLD概述** NAFLD是目前全世界最常见的慢性肝病, 包括单纯脂肪肝和非酒精性脂肪肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)以及随之发展的并发症. NASH可以分为两类: 原发NASH(与肥胖、2型糖尿病和高血脂相关的代谢综合征有关)和继发NASH(发生于空-回肠的旁路手术后, 迅速的体质量减轻, 完全的肠外营养、药物、严重的营养不良等)<sup>[20-22]</sup>. 最新理论表明, 因为单纯性脂肪肝在大多数患者身上是一种良性过程, 所以NASH可能是与之有着不同发病机制的一种独立的疾病. 众多因素中, 尤其是肠道来源和脂肪组织产生的物质, 共同作用最终导致肝脏的炎症<sup>[23]</sup>.

**3.2 肠道菌群与肥胖** NAFLD的发病与肥胖及胰岛素抵抗密切相关, 被认为是代谢综合征在肝脏上的表现. 肠道微生物已经被证明可以影响脂肪储存和能量代谢, 因而在胰岛素抵抗和相关代谢疾病的发展上起着直接作用<sup>[24-26]</sup>. 肥胖人群比瘦人有更少的拟杆菌和更多的厚壁菌, 最近的证据显示肠微生物群直接影响从肠道吸收的卡路里的比例<sup>[27]</sup>.

**3.3 肠道菌群与肝病相关的证据** 早在80多年前, 患有慢性肝病的患者身上首次发现肠微生物群的改变. 肠道菌群紊乱, 尤其是小肠细菌过度生长发生在很大比例的慢性肝病患者身上<sup>[2]</sup>.

**■ 研发前沿**  
“肠-肝轴”学说在NAFLD发病过程中的作用越来越受到重视, 肠道菌群在维持其平衡方面起着重要作用.

### ■相关报道

Miele等发现在NAFLD患者中同时存在肠黏膜通透性增加和小肠细菌过度生长(small intestinal bacterial overgrowth, SIBO),并且SIBO水平与脂肪变性的严重程度有关;Li报道在给高脂喂养的ob/ob小鼠补充益生菌后,肝脏的脂肪变及炎症减轻。

支持肠-肝轴在NASH发病机制中作用的证据在过去十年中慢慢积累<sup>[28]</sup>。首先,NASH被认为是病态肥胖患者为了减轻体重在行空肠-回肠旁路手术后一种常见并发症<sup>[29]</sup>;其次,NASH还被报道发生在有着空肠憩室病和肠道细菌过度增长的人身上<sup>[30]</sup>;另外,各种表现为肠道细菌过度增长的老鼠实验都存在与NASH的相似的肝脏损坏。无论在老鼠实验还是在全胃肠外营养,进行肠道旁路手术后患者上,口服抗生素后肝脏的脂肪变性程度均得到了改善,这一发现也支持了肠道细菌在NASH发病机制中的作用<sup>[31]</sup>。

肝脏和肠道不仅解剖学上而且在生物学功能上存在密切联系,即所谓“肠-肝轴”学说,肠-肝轴在NAFLD的发病中起着重要作用,通过肠道微生物和宿主免疫系统的对话调节炎症、胰岛素抵抗和肠道通透性。微生物菌群有助于维持肠上皮细胞正常的生物形学和功能。肠道细菌通过以下机制参与了NASH的发生<sup>[32]</sup>:(1)增加肠腔内源性乙醇的产生;(2)调节食物胆碱的新陈代谢(用于极低密度脂蛋白合成和肝脏脂质输出);(3)调节胆汁酸的代谢;(4)通过影响食物能量促进肥胖发生;(5)调节肠道通透性、减轻炎症和免疫反应,LPS的产生。

**3.4 SIBO、肠道通透性与NASH** 肠道黏膜是免疫系统与外环境之间的主要界面,宿主与肠道黏膜表面菌群的对话在免疫系统的良好发展上起重要作用。肠上皮间的紧密连接在维持肠道屏障完整性起着重要作用。SIBO发现于患有NAFLD的患者身上,并已发现与脂肪变性的严重程度有关<sup>[16,33]</sup>。但是,SIBO和NASH之间发展的机制尚未被完全阐述,肠道通透性在这个过程中似乎起了主要作用。Thuy等<sup>[34]</sup>近来发现,NAFLD的患者血液中内毒素和血浆纤溶酶原激活物抑制剂-1(plasminogen activator inhibitor 1, PAI-1)的水平,以及TLR4和PAI-1 mRNA在肝脏表达与对照组相比高很多。另外,Miele等<sup>[35]</sup>最新研究发现,人类NAFLD的发生是与肠道通透性的增高和SIBO的发生有关。这些均说明了菌群和宿主在肠上皮上的失衡不仅导致了肠道屏障的改变而且促进了细菌移位,进入门静脉加重了肝损伤。为了支持这一理论,口服抗生素如多黏菌素B和甲硝唑,在动物试验及人体已经被证实可以降低脂肪变性的程度<sup>[36,37]</sup>。

**3.5 肠源性内毒素血症与NASH** 由于特定的饮食条件,肠微生物群的变化导致了肠道通透性的增加,肠源性内毒素血症发生,进而引发炎症

和代谢紊乱。在动物实验中,高脂饲料影响细菌种类,有利于革兰氏阴性菌和/或革兰氏阳性菌增长,促发了内毒素血症。内生的LPS通过依赖脂蛋白的机制从肠腔内运输到靶细胞,当他结合到特定的TLRs时,导致促炎症细胞因子的分泌。已经表明TLR2、TLR4和TLR9在NASH的发展中起作用<sup>[38,39]</sup>。TLR4突变的老鼠给予蛋氨酸-胆碱缺乏的饮食会导致损害减少以及脂质堆积,这是一个关于NASH众所周知的实验<sup>[40]</sup>。相反的,蛋氨酸-胆碱缺乏的饮食在TLR2缺乏的老鼠中诱发了NASH<sup>[41]</sup>。Miura等<sup>[42]</sup>最近证实给予胆碱氨基酸缺乏饮食形成的NASH的鼠类实验上,TLR9能识别细菌未甲基化的CpG DNA,也在NAFLD的发病中起着重要作用。

## 4 调节肠微生物群——一种新的治疗方法

NAFLD缺乏有效的治疗手段。肠道微生物在该疾病发病机制上的作用为预防和治疗NASH提供了新的方法。

益生菌是有活性的微生物,口服适量的益生菌对宿主健康有益<sup>[43]</sup>。市售的主要益生菌是乳酸杆菌、链球菌和双歧杆菌<sup>[44]</sup>。益生菌可以通过抑制细菌黏附、侵袭肠上皮,保护肠道通透性,防止细菌移位;产生抗菌肽类,减轻炎症和刺激宿主免疫,从而保护肝脏的健康<sup>[45,46]</sup>。益生菌的生物活性依赖于抗炎介质调节NF- $\kappa$ B通路,抑制促炎因子,包括干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )和TNF- $\alpha$ 的产生<sup>[47]</sup>。因此,益生菌为治疗肝脏损伤提供了一个新的途径,促进宿主健康。若干动物实验已经证实补充益生菌可以减轻NASH的发生发展<sup>[48,49]</sup>。在给予高脂饮食喂养的ob/ob小鼠,服用VSL#3(经冷冻干燥、多种活菌制成的益生菌)后,改善了肝脏病理学的表现及胰岛素抵抗,减轻了脂肪肝变和炎症的程度,降低了血清转氨酶水平。我们最近发现饮食中添加乳酸菌F19,可以通过恢复肠微生物群和肠屏障功能减少LPS水平、减轻氧化应激和代谢引起的肝脏损伤<sup>[50]</sup>。最近针对经肝组织活检确诊为NAFLD的患者进行的临床研究表明补充保加利亚乳杆菌和嗜热链球菌能降低肝脏转氨酶水平<sup>[51]</sup>,这些研究均支持了益生菌在治疗NAFLD上的潜在价值。

## 5 结论

微生物菌群有助于维持肠上皮细胞正常的生物形学和功能。当免疫调节受损或肠屏障功能损

坏, 肠道细菌可能会通过激活先天的和适应性的免疫应答导致各种急性或慢性肝病的发生。因此调整肠微生物群成为了一种治疗或预防各类肝病的新手段。但是, 若干问题仍然有待解决, (1)导致肝脏损坏的具体肠道细菌的有哪些? (2)这些细菌是否与肝脏疾病的进程有关? (3)不同的微生物菌群如何影响肠道正常的完整性? (4)由肠微生物群紊乱导致相关的肝脏疾病的具体免疫反应是什么? 这些问题的解决, 将为更好的了解肠微生物菌群和肝脏疾病之间的联系提供有力的证据, 并将可能为预防和治疗肝脏疾病提供新方案。

## 6 参考文献

- Marshall JC. The gut as a potential trigger of exercise-induced inflammatory responses. *Can J Physiol Pharmacol* 1998; 76: 479-484 [PMID: 9839072]
- Compare D, Coccoli P, Rocco A, Nardone OM, De Maria S, Carteni M, Nardone G. Gut-liver axis: the impact of gut microbiota on non alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22: 471-476 [PMID: 22546554 DOI: 10.1016/j.numecd.2012.02.007]
- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102]
- Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512-519 [PMID: 12583961]
- Abt MC, Artis D. The intestinal microbiota in health and disease: the influence of microbial products on immune cell homeostasis. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 496-502 [PMID: 19770652 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328331b6b4]
- O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7: 688-693 [PMID: 16819463]
- Wells JM, Rossi O, Meijerink M, van Baarlen P. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108 Suppl 1: 4607-4614 [PMID: 20826446 DOI: 10.1073/pnas.1000092107]
- Cani PD, Delzenne NM. The role of the gut microbiota in energy metabolism and metabolic disease. *Curr Pharm Des* 2009; 15: 1546-1558 [PMID: 19442172]
- Othman M, Agüero R, Lin HC. Alterations in intestinal microbial flora and human disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2008; 24: 11-16 [PMID: 18043226]
- Seki E, Brenner DA. Toll-like receptors and adaptor molecules in liver disease: update. *Hepatology* 2008; 48: 322-335 [PMID: 18506843 DOI: 10.1002/hep.22306]
- Mencin A, Kluwe J, Schwabe RF. Toll-like receptors as targets in chronic liver diseases. *Gut* 2009; 58: 704-720 [PMID: 19359436 DOI: 10.1136/gut.2008.156307]
- Kirpich IA, McClain CJ. Probiotics in the treatment of the liver diseases. *J Am Coll Nutr* 2012; 31: 14-23 [PMID: 22661622]
- Zaret KS. Regulatory phases of early liver development: paradigms of organogenesis. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 499-512 [PMID: 12094228]
- Su L, Wang JH, Cong X, Wang LH, Liu F, Xie XW, Zhang HH, Wang JH, Fei R, Liu YL. Intestinal immune barrier integrity in rats with nonalcoholic hepatic steatosis and steatohepatitis. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 306-311 [PMID: 22340564]
- Broomé U, Olsson R, Löf L, Bodemar G, Hultcrantz R, Danielsson A, Prytz H, Sandberg-Gertzén H, Wallerstedt S, Lindberg G. Natural history and prognostic factors in 305 Swedish patients with primary sclerosing cholangitis. *Gut* 1996; 38: 610-615 [PMID: 8707097]
- Nagata K, Suzuki H, Sakaguchi S. Common pathogenic mechanism in development progression of liver injury caused by non-alcoholic or alcoholic steatohepatitis. *J Toxicol Sci* 2007; 32: 453-468 [PMID: 18198478]
- Han DW. Intestinal endotoxemia as a pathogenetic mechanism in liver failure. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 961-965 [PMID: 12439906]
- Bilzer M, Roggel F, Gerbes AL. Role of Kupffer cells in host defense and liver disease. *Liver Int* 2006; 26: 1175-1186 [PMID: 17105582]
- Jirillo E, Caccavo D, Magrone T, Piccigallo E, Amati L, Lembo A, Kalis C, Gumenscheimer M. The role of the liver in the response to LPS: experimental and clinical findings. *J Endotoxin Res* 2002; 8: 319-327 [PMID: 12537690]
- Bedogni G, Gastaldelli A, Manco M, De Col A, Agosti F, Tiribelli C, Sartorio A. Relationship between fatty liver and glucose metabolism: a cross-sectional study in 571 obese children. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2012; 22: 120-126 [PMID: 20880682 DOI: 10.1016/j.numecd.2010.05.003]
- Succurro E, Arturi F, Grebbiale A, Iorio F, Fiorentino TV, Andreozzi F, Sciacqua A, Hribal ML, Perticone F, Sesti G. One-hour post-load plasma glucose levels are associated with elevated liver enzymes. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21: 713-718 [PMID: 21764272 DOI: 10.1016/j.numecd.2011.02.002]
- Abete I, Goyenechea E, Zulet MA, Martínez JA. Obesity and metabolic syndrome: potential benefit from specific nutritional components. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2011; 21 Suppl 2: B1-15 [PMID: 21764273 DOI: 10.1016/j.numecd.2011.05.001]
- Tilg H, Moschen AR. Evolution of inflammation in nonalcoholic fatty liver disease: the multiple parallel hits hypothesis. *Hepatology* 2010; 52: 1836-1846 [PMID: 21038418]
- Abu-Shanab A, Quigley EM. The role of the gut microbiota in nonalcoholic fatty liver disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 691-701 [PMID: 21045794 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.172]
- Turnbaugh PJ, Ley RE, Mahowald MA, Magrini V, Mardis ER, Gordon JL. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. *Nature* 2006; 444: 1027-1031 [PMID: 17183312]
- Bäckhed F, Ding H, Wang T, Hooper LV, Koh GY, Nagy A, Semenkovich CF, Gordon JL. The gut microbiota as an environmental factor that regulates fat storage. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 15718-15723 [PMID: 15505215]
- Ley RE, Turnbaugh PJ, Klein S, Gordon JL. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature* 2006; 444: 1022-1023 [PMID: 17183309]
- Vanni E, Bugianesi E. The gut-liver axis in nonalcoholic fatty liver disease: Another pathway to insulin

## ■创新盘点

本文应用肠-肝轴学说, 从肠道微生物、肠道黏膜及宿主的免疫系统3个方面阐述NAFLD可能的发病机制。



## ■同行评价

本文密切联系临床,紧扣当前脂肪肝病研究热点,选题得当,具有一定指导意义。

- resistance? *Hepatology* 2009; 49: 1790-1792 [PMID: 19475679 DOI: 10.1002/hep.23036]
- 29 Machado MV, Cortez-Pinto H. Gut microbiota and nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Hepatol* 2012; 11: 440-449 [PMID: 22700625]
- 30 Nazim M, Stamp G, Hodgson HJ. Non-alcoholic steatohepatitis associated with small intestinal diverticulosis and bacterial overgrowth. *Hepatogastroenterology* 1989; 36: 349-351 [PMID: 2516007]
- 31 Solga SF, Diehl AM. Non-alcoholic fatty liver disease: lumen-liver interactions and possible role for probiotics. *J Hepatol* 2003; 38: 681-687 [PMID: 12713883]
- 32 Aron-Wisnewsky J, Gaborit B, Dutour A, Clement K. Gut microbiota and non-alcoholic fatty liver disease: new insights. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19: 338-348 [PMID: 23452163 DOI: 10.1111/1469-0691.12140]
- 33 Diamant M, Blaak EE, de Vos WM. Do nutrient-gut-microbiota interactions play a role in human obesity, insulin resistance and type 2 diabetes? *Obes Rev* 2011; 12: 272-281 [PMID: 20804522 DOI: 10.1111/j.1467-789X.2010.00797.x]
- 34 Thuy S, Ladurner R, Volynets V, Wagner S, Strahl S, Königsrainer A, Maier KP, Bischoff SC, Bergheim I. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. *J Nutr* 2008; 138: 1452-1455 [PMID: 18641190]
- 35 Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877-1887 [PMID: 19291785 DOI: 10.1002/hep.22848]
- 36 Pappo I, Becovier H, Berry EM, Freund HR. Polymyxin B reduces cecal flora, TNF production and hepatic steatosis during total parenteral nutrition in the rat. *J Surg Res* 1991; 51: 106-112 [PMID: 1907698]
- 37 Drenick EJ, Fisler J, Johnson D. Hepatic steatosis after intestinal bypass--prevention and reversal by metronidazole, irrespective of protein-calorie malnutrition. *Gastroenterology* 1982; 82: 535-548 [PMID: 6797866]
- 38 Szabo G, Velayudham A, Romics L, Mandrekar P. Modulation of non-alcoholic steatohepatitis by pattern recognition receptors in mice: the role of toll-like receptors 2 and 4. *Alcohol Clin Exp Res* 2005; 29: 140S-145S [PMID: 16344599]
- 39 Miura K, Seki E, Ohnishi H, Brenner DA. Role of toll-like receptors and their downstream molecules in the development of nonalcoholic fatty liver disease. *Gastroenterol Res Pract* 2010; 2010: 362847 [PMID: 21274430 DOI: 10.1155/2010/362847]
- 40 Rivera CA, Adegboyega P, van Rooijen N, Tagalicud A, Allman M, Wallace M. Toll-like receptor-4 signaling and Kupffer cells play pivotal roles in the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2007; 47: 571-579 [PMID: 17644211]
- 41 Rivera CA, Gaskin L, Allman M, Pang J, Brady K, Adegboyega P, Pruitt K. Toll-like receptor-2 deficiency enhances non-alcoholic steatohepatitis. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 52 [PMID: 20509914 DOI: 10.1186/1471-230X-10-52]
- 42 Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, Schnabl B, Aoyama T, Ohnishi H, Olefsky JM, Brenner DA, Seki E. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 323-34.e7 [PMID: 20347818 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.052]
- 43 Nardone G, Rocco A. Probiotics: a potential target for the prevention and treatment of steatohepatitis. *J Clin Gastroenterol* 2004; 38: S121-S122 [PMID: 15220676]
- 44 Iacono A, Raso GM, Canani RB, Calignano A, Meli R. Probiotics as an emerging therapeutic strategy to treat NAFLD: focus on molecular and biochemical mechanisms. *J Nutr Biochem* 2011; 22: 699-711 [PMID: 21292470 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2010.10.002]
- 45 Cesaro C, Tiso A, Del Prete A, Cariello R, Tuccillo C, Cotticelli G, Del Vecchio Blanco C, Loguercio C. Gut microbiota and probiotics in chronic liver diseases. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 431-438 [PMID: 21163715 DOI: 10.1016/j.dld.2010.10.015]
- 46 Frazier TH, DiBaise JK, McClain CJ. Gut microbiota, intestinal permeability, obesity-induced inflammation, and liver injury. *J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 14S-20S [PMID: 21807932 DOI: 10.1177/0148607111413772]
- 47 Li Z, Yang S, Lin H, Huang J, Watkins PA, Moser AB, Desimone C, Song XY, Diehl AM. Probiotics and antibodies to TNF inhibit inflammatory activity and improve nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2003; 37: 343-350 [PMID: 12540784]
- 48 Ewaschuk J, Endersby R, Thiel D, Diaz H, Backer J, Ma M, Churchill T, Madsen K. Probiotic bacteria prevent hepatic damage and maintain colonic barrier function in a mouse model of sepsis. *Hepatology* 2007; 46: 841-850 [PMID: 17659579]
- 49 Ma X, Hua J, Li Z. Probiotics improve high fat diet-induced hepatic steatosis and insulin resistance by increasing hepatic NKT cells. *J Hepatol* 2008; 49: 821-830 [PMID: 18674841 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.05.025]
- 50 Nardone G, Compare D, Liguori E, Di Mauro V, Rocco A, Barone M, Napoli A, Lapi D, Iovene MR, Colantuoni A. Protective effects of Lactobacillus paracasei F19 in a rat model of oxidative and metabolic hepatic injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010; 299: G669-G676 [PMID: 20576921 DOI: 10.1152/ajpgi.00188.2010]
- 51 Aller R, De Luis DA, Izaola O, Conde R, Gonzalez Sagrado M, Primo D, De La Fuente B, Gonzalez J. Effect of a probiotic on liver aminotransferases in nonalcoholic fatty liver disease patients: a double blind randomized clinical trial. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 1090-1095 [PMID: 22013734]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# DNA甲基转移酶与胰腺癌关系的研究进展

廖国良, 肖卫东

廖国良, 肖卫东, 南昌大学第一附属医院普通外科二病区 江西省南昌市 330006

廖国良, 硕士, 主要从事肝胆胰疾病的基础与临床研究.

江西省自然科学基金资助项目, No. 2010GZY0316

作者贡献分布: 本文综述由廖国良完成; 肖卫东审校.

通讯作者: 肖卫东, 副主任医师, 330006, 江西省南昌市永外正街17号, 南昌大学第一附属医院普通外科二病区.

frankxwd@126.com

收稿日期: 2013-10-17 修回日期: 2013-11-24

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-28

## DNA methyltransferases and pancreatic cancer

Guo-Liang Liao, Wei-Dong Xiao

Guo-Liang Liao, Wei-Dong Xiao, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangxi Province, No. 2010GZY0316

Correspondence to: Wei-Dong Xiao, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, 17 Yongwai Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. frankxwd@126.com

Received: 2013-10-17 Revised: 2013-11-24

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-28

## Abstract

Abnormal methylation of the promoter of suppressor genes plays an important role in the occurrence and development of pancreatic cancer. The degree of methylation is closely related to the activity of DNA methyltransferases. MicroRNAs (miRNAs) are a group of endogenous, small non-coding RNA that can regulate DNA methylation (DNA methylation can also regulate miRNAs) and affect the occurrence of pancreatic cancer. In recent years, demethylation drugs or RNA interference have been widely used to study the pathogenesis and targeted therapy of pancreatic cancer, and are expected to become effective means of treatment for pancreatic cancer. This article will give a review of the functions of DNA methyltransferases and the relationship between DNA methyltransferases and pancreatic cancer.

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

Key Words: DNA methyltransferases; DNA methylation; Pancreatic cancer; RNA interference

Liao GL, Xiao WD. DNA methyltransferases and pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 345-349  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/345.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.345>

## 摘要

抑癌基因启动子异常甲基化在胰腺癌的发生、发展过程中起着重要作用. 而甲基化程度与DNA甲基转移酶的活性密切相关. microRNAs(miRNAs)是内源性非编码的单链小分子RNA, 与DNA甲基化之间存在着复杂的互相调控的机制, 从而影响胰腺癌的发生. 近年来, 去甲基化药物或RNA干扰技术已广泛应用于胰腺癌发病机制及其基因靶向治疗的研究, 并取得了较大进展, 有望成为胰腺癌的治疗有效手段. 本文就DNA甲基转移酶的功能及其与胰腺癌关系的相关研究进展进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: DNA甲基转移酶; DNA甲基化; 胰腺癌; RNA干扰

**核心提示:** 胰腺癌是一种常见的消化系恶性肿瘤, 抑癌基因启动子异常甲基化在其发生、发展过程中起着重要作用. 而DNA甲基转移酶和MicroRNAs在胰腺癌中异常表达, 且两者之间存在着复杂的互相调控的机制, 从而影响胰腺癌的发生. 近年来, 去甲基化药物或RNA干扰技术已广泛应用于胰腺癌发病机制及其基因靶向治疗的研究, 并取得了较大进展, 有望成为胰腺癌治疗的有效手段.

廖国良, 肖卫东. DNA甲基转移酶与胰腺癌关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 345-349 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/345.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.345>

## 0 引言

胰腺癌是一种常见的侵袭性很强的消化系恶性

## ■背景资料

胰腺癌是一种常见的具有侵袭性的恶性肿瘤, 因其发病隐匿, 早期诊断困难, 预后差, 严重影响人类健康. 目前临床治疗中根治性切除治疗胰腺癌是最有效的手段, 但其疗效仍不理想. 因此, 当前胰腺癌的诊治形势依然十分严峻, 深入研究胰腺癌的发病机制及积极寻求有效的治疗方法提高患者生存率和改善预后十分必要.

## ■同行评议者

陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

## ■ 研发前沿

近年来研究发现, 抑癌基因启动子异常甲基化在胰腺癌的发生、发展过程中起着重要作用。而甲基化程度与DNA甲基转移酶的活性密切相关。通过调控这些基因的表达可有效地改变甲基化状态, 影响胰腺癌的发生、发展及预后。而去甲基化药物及RNA干扰技术的问世无疑为胰腺癌发病机制及靶向治疗带来了崭新的契机。

肿瘤, 因其发病隐匿, 早期诊断困难, 预后差, 严重影响人类健康<sup>[1,2]</sup>。目前认为胰腺癌的发生是一个多基因、多因素、多阶段共同作用的过程, 其中DNA甲基化等表观遗传学改变起着重要作用<sup>[3-5]</sup>。DNA甲基化是由DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)催化完成, 甲基化程度受DNMT的活性及其表达的影响。有研究表明, 胰腺癌中普遍存在着DNMT的异常表达, 而这种表达的差异与胰腺癌的发生、发展及预后密切相关。MicroRNAs(miRNAs)是内源性非编码的单链小分子RNA, 在多种肿瘤细胞中异常表达, 并且与DNA甲基化两者之间也存在着复杂的互相调控的机制。应用去甲基化药物或RNA干扰技术沉默DNA甲基转移酶是目前研究甲基化在胰腺癌发病机制中的热点, 可能为胰腺癌提供一个新的治疗方法。本文就DNA甲基转移酶的功能及其与胰腺癌关系的相关研究进展进行综述。

## 1 DNA甲基转移酶的成员及功能

DNA甲基化是在DNA甲基转移酶的催化下, 由S-腺苷甲硫氨酸提供甲基将之转移到胞嘧啶鸟嘌呤(CpG)中的5'-胞嘧啶, 使之甲基化为5'-甲基胞嘧啶的过程<sup>[6]</sup>。目前研究发现的DNMTs家族主要包括以下5个成员: DNMT1、DNMT2、DNMT3a、DNMT3b和DNMT3L, 其中DNMT1起着维持甲基化的作用<sup>[7-9]</sup>, DNMT2被认为在体外缺乏甲基化转移酶的活性, DNMT3a和DNMT3b则催化从头甲基化, DNMT3L虽然没有催化活性, 但却是从头甲基化必不可少的, 他可以通过直接刺激作用而提高DNMT3a和DNMT3b的甲基转移酶活性<sup>[10,11]</sup>。

## 2 DNA甲基转移酶在胰腺癌中的表达

胰腺癌的发生是一个复杂过程, 包括原癌基因激活和抑癌基因失活。越来越多的研究表明, 抑癌基因启动子高甲基化所致的基因失活与胰腺癌的发生、发展密切相关<sup>[12-16]</sup>。DNA甲基转移酶是催化甲基化过程唯一的酶系, 其活性与甲基化状态相关, 他们在胰腺癌肿瘤组织或细胞的异常表达, 是癌细胞的一个特征性的早期分子改变, 与肿瘤的发生、发展及预后关系密切<sup>[17]</sup>。目前有关胰腺癌的DNMT研究主要集中在DNMT1、DNMT3a和DNMT3b, 如He等<sup>[18]</sup>研究显示在胰腺癌组织中DNMT1和DNMT3a都呈高表达, 且其表达受转录因子GLI1调控, 这可能为胰腺癌的早期诊断和分子水平治疗提供新

的靶点。Peng等<sup>[19,20]</sup>研究报道, 在胰腺内无明显组织学改变及炎症的组织、有炎症的组织、上皮内瘤变和浸润性导管癌组织中DNMT1蛋白的表达水平呈依次增加, 且DNMT1高表达预示着患者预后不良。Wang等<sup>[21]</sup>研究发现, DNMT1的高表达与胰腺癌神经浸润、肿瘤分化和肿瘤的TNM分期密切相关, 可能会成为胰腺癌新的预后标志物和潜在的治疗靶点。张允历等<sup>[22]</sup>一些国内学者的相关研究也得到了类似的结论。Zhang等<sup>[23]</sup>研究显示在胰腺癌发展进程中DNMTs(主要是DNMT1、DNMT3a、DNMT3b三者)mRNA的表达水平呈逐步上升, 并且与肿瘤的大小、TNM分期、慢性胰腺炎史、生存率和预后有关。王丽华等<sup>[24]</sup>研究报道, 在胰腺癌组织中DNMT3b mRNA及蛋白表达量显著高于癌旁组织和正常胰腺组织, DNMT3b mRNA表达与临床分期、肿瘤分化程度和淋巴结转移密切相关, 而DNMT3b蛋白表达与肿瘤的部位、淋巴结转移有关, DNMT3b mRNA和蛋白表达均与年龄、性别、神经浸润、肿瘤大小、血CEA和CA199浓度无关。

## 3 DNA甲基转移酶与胰腺癌microRNA

MicroRNAs(miRNAs)是一类由Dicer酶从折叠的70-100个核苷酸的发夹状转录前体RNAs(pre-microRNAs)上切割得到的长度为19-25个核苷酸的单链RNA。他通过与靶基因mRNA上的靶序列互补配对结合, 在转录后水平上对基因的表达进行负调控, 导致mRNA的降解或翻译抑制, 从而抑制基因表达<sup>[25,26]</sup>。近年的研究发现, miRNAs在多种人类肿瘤中异常表达, 且与DNA甲基转移酶有重要关系。如在结直肠癌的研究中, Toyota等<sup>[27]</sup>通过DNA甲基转移酶抑制剂(5-Aza-dC)或单敲除结直肠癌HCT116细胞株中DNMT1和DNMT3b基因后发现主要调控p53基因的miR-34b和miR-34c表达沉默。在非小细胞肺癌的研究中, Fabbri等<sup>[28]</sup>发现DNMT3a/b是miR-29的靶基因, 且DNMT3a/b与miR-29a、b和c的表达水平呈负相关。而原本在非小细胞肺癌中低表达的miR-29高表达后可以直接下调靶基因DNMT3a/3b的表达, 从而降低抑癌基因甲基化水平, 抑制肿瘤的发生。大量研究报道, 胰腺癌组织中有多种miRNA异常表达, 如miR-196a、miR-190、miR-186、miR-221、miR-222、miR-200b、miR-15b和miR-95等表达上调<sup>[29-31]</sup>, 而let-7<sup>[32]</sup>, miR-96、miR-132、



miR-217<sup>[33]</sup>, miR-375、miR-148a/b<sup>[34]</sup>等表达下调, 其异常表达与肿瘤的形成、发展及预后密切相关. Hanoun等<sup>[35]</sup>研究发现, 在胰腺癌中miR-148a呈低表达, 经5-Aza-dC处理后其编码区甲基化水平下降, miR-148a表达显著上调并可作为胰腺癌和慢性胰腺炎鉴别诊断的辅助指标. 有研究显示, 将表达miR-148a的质粒pcDNA3.1/pri-miR-148a转染胰腺癌AsPC-1细胞后能下调*DNMT1*基因mRNA和蛋白表达水平, 并抑制该细胞的增殖, 促进细胞凋亡. 因此, 可以推测DNMT可以通过调节抑癌基因甲基化状态来调控miRNAs的表达, 而miRNA也可以通过调控DNMT的表达使抑癌基因甲基化发生改变, 影响肿瘤的发生、发展, 两者之间存在着复杂的互相调控的机制.

#### 4 DNA甲基转移酶与胰腺癌靶向治疗

RNA干扰是一种全新的基因阻断技术, 其作用机制是通过ds-RNA(double-stranded RNA, 双链RNA)特异性降解靶基因mRNA, 从而达到转录后基因沉默(posttranscriptional gene silencing, PTGS)作用<sup>[36-38]</sup>. 运用RNA干扰技术特异性的沉默DNMT表达, 改变甲基化状态, 目前在研究基因和蛋白的功能、肿瘤的靶向治疗等方面得到广泛的应用<sup>[39,40]</sup>. 徐岷等<sup>[41,42]</sup>通过RNA干扰靶向性沉默胰腺癌PaTu8988细胞*DNMT1*基因, 结果显示干扰后*DNMT1* mRNA及其蛋白表达水平、DNMT1活性明显低于对照组, 且DNMT活性与*DNMT1* mRNA表达呈正相关. 而*hMLH-1*基因CpG位点的8个甲基化减少到1个甲基化. 同时肿瘤细胞停止在细胞周期的S期, 细胞的增殖被抑制并凋亡. 肖卫东等<sup>[43,44]</sup>研究结果显示RNA干扰*DNMT1*和/或*DNMT3b*基因后, 其mRNA及蛋白表达量均显著降低, 且胰腺癌BxPC-3细胞生长受抑制, 并能诱导细胞凋亡. 同时研究还表明DNMT1单干扰的抑癌作用优于DNMT3b单干扰, 而DNMT1和DNMT3b双重干扰无明显的协同效应, 提示DNMT1和/或DNMT3b是胰腺癌去甲基化治疗的有效靶点.

DNA甲基转移酶抑制剂能够特异性抑制DNMT活性, 通过降低抑癌基因CpG岛甲基化水平, 从而激活抑癌基因, 抑制肿瘤细胞的增殖, 促进其凋亡, 达到治疗肿瘤的目的. Oghamian等<sup>[45]</sup>对761例ApcMin<sup>+</sup>、Trp53<sup>-/-</sup>和减效基因*DNMT1*三重杂交的小鼠胰腺腺癌模型研究显示, 经DNA甲基转移酶抑制剂(5-Aza-CdR)处理

后肿瘤负荷(而不是肿瘤的大小)及其恶性程度随DNMT1表达水平下降而显著降低, 第1次在体内研究中显示了减少DNMT水平对胰腺肿瘤发展的影响, 为胰腺癌的靶向治疗提供了方向. 但有研究发现运用DNA甲基转移酶抑制剂治疗可导致癌基因表达上调, 增强肿瘤细胞的侵袭力, 具有毒性作用和致突变性<sup>[46]</sup>. Zebularine是一种化学稳定性好、可口服的胞苷类似物, 对DNMT的抑制具有高选择性, 且细胞毒性低. 他可全部消除DNMT1的效应, 部分消除DNMT3a和DNMT3b的作用, 抑制DNA甲基化, 有效持久地抑制胰腺导管细胞癌Cf-Pac-1中p16的表达, 从而抑制肿瘤细胞增殖, 促进其凋亡<sup>[47,48]</sup>.

大量研究已表明运用去甲基化药物或RNA干扰技术沉默胰腺癌*DNMT*基因表达能降低DNMT活性, 从而降低胰腺癌抑癌基因启动子甲基化水平, 抑制癌细胞增殖、促进细胞凋亡, 发挥其抑癌作用. 但Ting等<sup>[49]</sup>研究发现, 沉默*DNMT1*基因后, 结肠癌SW48细胞、膀胱癌T24细胞内仍维持了DNA高甲基化状态. Hagemann等<sup>[50]</sup>研究发现RNA干扰*DNMT3b*后, 其表达下调能够抑制结肠癌HCT116细胞增殖和迁移, 并促进细胞凋亡, 但这种抗肿瘤效益与启动子CpG岛去甲基化无明显关系. 这说明DNMTs家族成员在不同类型肿瘤DNA甲基化中的作用和抑癌机制各不相同, 且各种酶之间的相互关系也不尽相同.

#### 5 结论

目前研究表明DNMT的异常表达在抑癌基因启动子甲基化和miRNA表达过程中扮演者重要角色, 与胰腺癌的发生、发展和预后有着密切联系. DNMT参与的DNA甲基化可以调控miRNA在胰腺癌中的表达, 而miRNA可以通过调控DNMT的表达使抑癌基因启动子甲基化发生改变, 从而影响胰腺癌的发生. 虽然DNA甲基化和miRNA的研究不断深入, 但对两者相互调控的机制及其参与胰腺癌发病的机制尚不明确, 有待进一步研究. 目前去甲基化药物在肿瘤的治疗中显示了一定成效, 但因不良反应尤其细胞毒性大, 限制了他的应用, 而RNA干扰以其高效、高特异性、高稳定性和可传播、可遗传性等优点为研究DNMT的功能及其与miRNA相互调控关系以及胰腺癌DNA甲基化机制等方面提供了新的方法和途径, 其在肿瘤的基因治疗方面的应用也取得了良好效果, 有望成为胰腺癌

#### ■ 相关报道

近年来国内外大量研究发现, DNMT在胰腺癌中呈高表达, 通过去甲基化药物或RNA干扰特异性抑制DNMT活性, 能够降低抑癌基因CpG岛甲基化水平, 从而激活抑癌基因, 抑制肿瘤细胞的增殖, 促进其凋亡, 达到治疗肿瘤的目的.

## ■创新盘点

本文搜集了大量关于DNMT在胰腺癌研究中的最新进展,并从4方面分别进行阐述,从而为未来胰腺癌发病机制及靶向治疗相关研究奠定可靠的理论基础。

基因治疗的有效手段,其未来的研究前景更为广阔。

## 6 参考文献

- Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- Hackert T, Büchler MW, Werner J. Current state of surgical management of pancreatic cancer. *Cancers (Basel)* 2011; 3: 1253-1273 [PMID: 24212660 DOI: 10.3390/cancers3011253]
- Omura N, Goggins M. Epigenetics and epigenetic alterations in pancreatic cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2009; 2: 310-326 [PMID: 19158989]
- Dauksa A, Gulbinas A, Barauskas G, Pundzius J, Oldenburg J, El-Maarri O. Whole blood DNA aberrant methylation in pancreatic adenocarcinoma shows association with the course of the disease: a pilot study. *PLoS One* 2012; 7: e37509 [PMID: 22629410 DOI: 10.1371/journal.pone.0037509]
- 王霞, 王晖, 张啸. 胰腺癌中表观遗传修饰研究进展. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1141-1146
- Hackett JA, Surani MA. DNA methylation dynamics during the mammalian life cycle. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 2013; 368: 20110328 [PMID: 23166392 DOI: 10.1098/rstb.2011.0328]
- Jurkowska RZ, Jurkowski TP, Jeltsch A. Structure and function of mammalian DNA methyltransferases. *Chembiochem* 2011; 12: 206-222 [PMID: 21243710 DOI: 10.1002/cbic.201000195]
- Egger G, Jeong S, Escobar SG, Cortez CC, Li TW, Saito Y, Yoo CB, Jones PA, Liang G. Identification of DNMT1 (DNA methyltransferase 1) hypomorphs in somatic knockouts suggests an essential role for DNMT1 in cell survival. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 14080-14085 [PMID: 16963560 DOI: 10.1073/pnas.0604602103]
- Song J, Teplova M, Ishibe-Murakami S, Patel DJ. Structure-based mechanistic insights into DNMT1-mediated maintenance DNA methylation. *Science* 2012; 335: 709-712 [PMID: 22323818 DOI: 10.1126/science.1214453]
- Denis H, Ndlovu MN, Fuks F. Regulation of mammalian DNA methyltransferases: a route to new mechanisms. *EMBO Rep* 2011; 12: 647-656 [PMID: 21660058 DOI: 10.1038/embor.2011.110]
- Suetake I, Shinozaki F, Miyagawa J, Takeshima H, Tajima S. DNMT3L stimulates the DNA methylation activity of Dnmt3a and Dnmt3b through a direct interaction. *J Biol Chem* 2004; 279: 27816-27823 [PMID: 15105426 DOI: 10.1074/jbc.M400181200]
- Vincent A, Omura N, Hong SM, Jaffe A, Eshleman J, Goggins M. Genome-wide analysis of promoter methylation associated with gene expression profile in pancreatic adenocarcinoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4341-4354 [PMID: 21610144 DOI: 10.1158/1078-0432]
- Zhao G, Qin Q, Zhang J, Liu Y, Deng S, Liu L, Wang B, Tian K, Wang C. Hypermethylation of HIC1 Promoter and Aberrant Expression of HIC1/SIRT1 Might Contribute to the Carcinogenesis of Pancreatic Cancer. *Ann Surg Oncol* 2013; 20 Suppl 3: 301-311 [PMID: 22552606 DOI: 10.1245/s10434-012-2364-9]
- Gao J, Song J, Huang H, Li Z, Du Y, Cao J, Li M, Lv S, Lin H, Gong Y. Methylation of the SPARC gene promoter and its clinical implication in pancreatic cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 28 [PMID: 20338068 DOI: 10.1186/1756-9966-29-28]
- Zhang L, Gao J, Li Z, Gong Y. Neuronal pentraxin II (NPX2) is frequently down-regulated by promoter hypermethylation in pancreatic cancers. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2608-2614 [PMID: 22806544 DOI: 10.1007/s10620-012-2202-8]
- Sato N, Fukushima N, Hruban RH, Goggins M. CpG island methylation profile of pancreatic intraepithelial neoplasia. *Mod Pathol* 2008; 21: 238-244 [PMID: 18157091 DOI: 10.1038/modpathol.3800991]
- Arai E, Kanai Y, Ushijima S, Fujimoto H, Mukai K, Hirohashi S. Regional DNA hypermethylation and DNA methyltransferase (DNMT) 1 protein overexpression in both renal tumors and corresponding nontumorous renal tissues. *Int J Cancer* 2006; 119: 288-296 [PMID: 16453286 DOI: 10.1002/ijc.21807]
- He S, Wang F, Yang L, Guo C, Wan R, Ke A, Xu L, Hu G, Xu X, Shen J, Wang X. Expression of DNMT1 and DNMT3a are regulated by GLI1 in human pancreatic cancer. *PLoS One* 2011; 6: e27684 [PMID: 22110720 DOI: 10.1371/journal.pone.0027684]
- Peng DF, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kosuge T, Hirohashi S. Increased DNA methyltransferase 1 (DNMT1) protein expression in precancerous conditions and ductal carcinomas of the pancreas. *Cancer Sci* 2005; 96: 403-408 [PMID: 16053511 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2005.00071.x]
- Peng DF, Kanai Y, Sawada M, Ushijima S, Hiraoka N, Kitazawa S, Hirohashi S. DNA methylation of multiple tumor-related genes in association with overexpression of DNA methyltransferase 1 (DNMT1) during multistage carcinogenesis of the pancreas. *Carcinogenesis* 2006; 27: 1160-1168 [PMID: 16537562 DOI: 10.1093/carcin/bgi361]
- Wang W, Gao J, Man XH, Li ZS, Gong YF. Significance of DNA methyltransferase-1 and histone deacetylase-1 in pancreatic cancer. *Oncol Rep* 2009; 21: 1439-1447 [PMID: 19424621 DOI: 10.3892/or.00000372]
- 张尤历, 徐岷, 高道键, 张玉琦, 高军, 杜奕奇, 龚燕芳, 满晓华, 李兆申. DNA甲基转移酶1在胰腺癌组织中的表达及其临床意义. *中华胰腺病杂志* 2010; 10: 415-417
- Zhang JJ, Zhu Y, Zhu Y, Wu JL, Liang WB, Zhu R, Xu ZK, Du Q, Miao Y. Association of increased DNA methyltransferase expression with carcinogenesis and poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Clin Transl Oncol* 2012; 14: 116-124 [PMID: 22301400 DOI: 10.1007/s12094-012-0770-x]
- 王丽华, 李兆申, 李淑德, 杜奕奇, 高军, 龚燕芳, 满晓华, 胡先贵. 甲基转移酶3B基因在胰腺癌中的表达. *中华胰腺病杂志* 2009; 9: 374-376
- Bartel DP. MicroRNAs: target recognition and regulatory functions. *Cell* 2009; 136: 215-233 [PMID: 19167326 DOI: 10.1016/j.cell.2009.01.002]
- Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 597-610 [PMID: 20661255 DOI: 10.1038/nrg2843]
- Toyota M, Suzuki H, Sasaki Y, Maruyama R, Imai K, Shinomura Y, Tokino T. Epigenetic silencing of microRNA-34b/c and B-cell translocation gene 4 is associated with CpG island methylation in colorectal cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 4123-4132 [PMID: 18519671 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-0325]

- 28 Fabbri M, Garzon R, Cimmino A, Liu Z, Zanesi N, Callegari E, Liu S, Alder H, Costinean S, Fernandez-Cymering C, Volinia S, Guler G, Morrison CD, Chan KK, Marcucci G, Calin GA, Huebner K, Croce CM. MicroRNA-29 family reverts aberrant methylation in lung cancer by targeting DNA methyltransferases 3A and 3B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 15805-15810 [PMID: 17890317 DOI: 10.1073/pnas.0707628104]
- 29 Zhang Y, Li M, Wang H, Fisher WE, Lin PH, Yao Q, Chen C. Profiling of 95 microRNAs in pancreatic cancer cell lines and surgical specimens by real-time PCR analysis. *World J Surg* 2009; 33: 698-709 [PMID: 19030927 DOI: 10.1007/s00268-008-9833-0]
- 30 Lee EJ, Gusev Y, Jiang J, Nuovo GJ, Lerner MR, Frankel WL, Morgan DL, Postier RG, Brackett DJ, Schmittgen TD. Expression profiling identifies microRNA signature in pancreatic cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1046-1054 [PMID: 17149698 DOI: 10.1002/ijc.22394]
- 31 Szafranska AE, Davison TS, John J, Cannon T, Sipos B, Maghnouj A, Labourier E, Hahn SA. MicroRNA expression alterations are linked to tumorigenesis and non-neoplastic processes in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Oncogene* 2007; 26: 4442-4452 [PMID: 17237814 DOI: 10.1038/sj.onc.1210228]
- 32 Torrisani J, Bournet B, du Rieu MC, Bouisson M, Souque A, Escourrou J, Buscail L, Cordelier P. let-7 MicroRNA transfer in pancreatic cancer-derived cells inhibits in vitro cell proliferation but fails to alter tumor progression. *Hum Gene Ther* 2009; 20: 831-844 [PMID: 19323605 DOI: 10.1089/hum.2008.134]
- 33 Szafranska-Schwarzbach AE, Adai AT, Lee LS, Conwell DL, Andruss BF. Development of a miRNA-based diagnostic assay for pancreatic ductal adenocarcinoma. *Expert Rev Mol Diagn* 2011; 11: 249-257 [PMID: 21463235 DOI: 10.1586/erm.11.10]
- 34 Zhang L, Jamaluddin MS, Weakley SM, Yao Q, Chen C. Roles and mechanisms of microRNAs in pancreatic cancer. *World J Surg* 2011; 35: 1725-1731 [PMID: 21222121 DOI: 10.1007/s00268-010-0952-z]
- 35 Hanoun N, Delpu Y, Suriawinata AA, Bournet B, Bureau C, Selves J, Tsongalis GJ, Dufresne M, Buscail L, Cordelier P, Torrisani J. The silencing of microRNA 148a production by DNA hypermethylation is an early event in pancreatic carcinogenesis. *Clin Chem* 2010; 56: 1107-1118 [PMID: 20431052 DOI: 10.1373/clinchem.2010.144709]
- 36 Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811 [PMID: 9486653 DOI: 10.1038/35888]
- 37 Bantounas I, Phylactou LA, Uney JB. RNA interference and the use of small interfering RNA to study gene function in mammalian systems. *J Mol Endocrinol* 2004; 33: 545-557 [PMID: 15591019 DOI: 10.1677/jme.1.01582]
- 38 Paroo Z, Liu Q, Wang X. Biochemical mechanisms of the RNA-induced silencing complex. *Cell Res* 2007; 17: 187-194 [PMID: 17310219 DOI: 10.1038/sj.cr.7310148]
- 39 Davidson BL, McCray PB. Current prospects for RNA interference-based therapies. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 329-340 [PMID: 21499294 DOI: 10.1038/nrg2968]
- 40 Pecot CV, Calin GA, Coleman RL, Lopez-Berestein G, Sood AK. RNA interference in the clinic: challenges and future directions. *Nat Rev Cancer* 2011; 11: 59-67 [PMID: 21160526 DOI: 10.1038/nrc2966]
- 41 Xu M, Gao J, Du YQ, Gao DJ, Zhang YQ, Li ZS, Zhang YL, Gong YF, Xu P. Reduction of pancreatic cancer cell viability and induction of apoptosis mediated by siRNA targeting DNMT1 through suppression of total DNA methyltransferase activity. *Mol Med Rep* 2010; 3: 699-704 [PMID: 21472302 DOI: 10.3892/mmr.00000320]
- 42 徐岷, 张允万, 高道健, 张玉琦, 李兆申, 高军, 杜奕奇, 龚燕芳, 吴洪玉, 高飞. 靶向性沉默DNMT1基因对胰腺癌细胞DNA甲基化的影响. *中华胰腺病杂志* 2012; 12: 234-237
- 43 肖卫东, 李勇, 邹叶青, 李学明, 蔡军, 曾林山. DNMT1和DNMT3b基因干扰对胰腺癌BxPC-3细胞增殖和凋亡的影响. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 19-22
- 44 肖卫东, 李勇, 李学明, 蔡军, 曾林山, 胡伟. RNA干扰DNMT1基因对胰腺癌细胞BxPC-3增殖的影响及相关机制. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3397-3401
- 45 Oghamian S, Sodir NM, Bashir MU, Shen H, Cullins AE, Carroll CA, Kundu P, Shibata D, Laird PW. Reduction of pancreatic acinar cell tumor multiplicity in Dnmt1 hypomorphic mice. *Carcinogenesis* 2011; 32: 829-835 [PMID: 21362628 DOI: 10.1093/carcin/bgr039]
- 46 Sato N, Fukushima N, Matsubayashi H, Iacobuzio-Donahue CA, Yeo CJ, Goggins M. Aberrant methylation of Reprimo correlates with genetic instability and predicts poor prognosis in pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer* 2006; 107: 251-257 [PMID: 16752411 DOI: 10.1002/cncr.21977]
- 47 Neureiter D, Zopf S, Leu T, Dietze O, Hauser-Kronberger C, Hahn EG, Herold C, Ocker M. Apoptosis, proliferation and differentiation patterns are influenced by Zebularine and SAHA in pancreatic cancer models. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 103-116 [PMID: 17190770 DOI: 10.1080/00365520600874198]
- 48 Yoo CB, Valente R, Congiatu C, Gavazza F, Angel A, Siddiqui MA, Jones PA, McGuigan C, Marquez VE. Activation of p16 gene silenced by DNA methylation in cancer cells by phosphoramidate derivatives of 2'-deoxyzebularine. *J Med Chem* 2008; 51: 7593-7601 [PMID: 19006382 DOI: 10.1021/jm8005965]
- 49 Ting AH, Jair KW, Schuebel KE, Baylin SB. Differential requirement for DNA methyltransferase 1 in maintaining human cancer cell gene promoter hypermethylation. *Cancer Res* 2006; 66: 729-735 [PMID: 16424002 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1537]
- 50 Hagemann S, Kuck D, Stresemann C, Prinz F, Brueckner B, Mund C, Mumberg D, Sommer A. Antiproliferative effects of DNA methyltransferase 3B depletion are not associated with DNA demethylation. *PLoS One* 2012; 7: e36125 [PMID: 22563479 DOI: 10.1371/journal.pone.0036125]

## 同行评价

本文综述DNA甲基转移酶在胰腺癌的发生和发展中的作用, DNA甲基转移酶是目前研究甲基化在胰腺癌发病机制中的热点, 可能为胰腺癌的治疗提供一个新的方法, 有一定的科学意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子

李慧明, 余英豪

## ■背景资料

结直肠癌是世界上常见的恶性肿瘤之一, 而转移性结直肠癌患者的生存率明显下降。近年来, 随着西妥昔单抗等分子靶向治疗药物的应用, 患者的生存期得到了显著改善。但目前对于这些分子靶点的确切作用, 以及肿瘤生长对这些分子的依赖性认识并不充分, 如何有效地选择适合靶向治疗患者至关重要。

李慧明, 余英豪, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科 福建省福州市 350025

李慧明, 主要从事肿瘤病理学方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由李慧明完成; 余英豪审校。

通讯作者: 余英豪, 教授, 主任医师, 350025, 福建省福州市西二环北路156号, 中国人民解放军南京军区福州总医院病理科。yuyinghao0808@126.com

电话: 0591-83717703

收稿日期: 2013-08-14 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Key molecules in targeted therapies for metastatic colorectal cancer

Hui-Ming Li, Ying-Hao Yu

Hui-Ming Li, Ying-Hao Yu, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, Fuzhou 350025, Fujian Province, China  
Correspondence to: Ying-Hao Yu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Command of Chinese PLA, 156 Xierhuan North Road, Fuzhou 350025, Fujian Province, China. yuyinghao0808@126.com

Received: 2013-08-14 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

Colorectal cancer (CRC) is one of the most common malignant tumors, and the survival rate of metastatic CRC (mCRC) decreased obviously compared with non-metastatic CRC. In recent years, the application of molecular targeted drugs, such as cetuximab and bevacizumab, has significantly improved the survival of mCRC patients. However, the precise role of the molecular targets in colorectal cancer, as well as the dependence of tumor growth on these molecules are not fully understood. Therefore, patient selection and prediction of treatment effects remain problematic. In this paper, we will review the biological characteristics of key molecules in targeted therapies for mCRC, such as vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR), KRAS, BRAF and phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K), the correlation between their mutational status and treatment, and the potential predictive/prognostic biomarkers.

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

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

**Key Words:** mCRC; Targeted therapy; Biomarker; Vascular endothelial growth factor receptor; KRAS; TOPK

Li HM, Yu YH. Key molecules in targeted therapies for metastatic colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 350-358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/350.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.350>

## 摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是世界上常见的恶性肿瘤之一, 而转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者的生存率明显下降。近年来, 随着西妥昔单抗、贝伐单抗等分子靶向治疗药物的应用, mCRC患者的生存期得到了显著改善。但我们对于这些分子靶点在结直肠癌中的确切作用, 以及肿瘤生长对这些分子的依赖性认识并不充分。因此, 对于如何选择患者以及预测疗效仍有疑问。本文对mCRC靶向治疗中血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor receptor, VEGFR)、KRAS、BRAF、磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI3K)等关键分子的生物学特性及其突变状态与治疗的相关性, 及可能的预测/预后标志物进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** mCRC; 靶向治疗; 分子标志物; 血管内皮生长因子受体; KRAS; TOPK

**核心提示:** 除了表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor receptor)等已应用于临床治疗的靶点外, 一些新的靶向治疗预测/预后标志物同样备受关注, 如T细胞来源蛋白激酶(T-cell-originated protein kinase)、乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase)、CD133、单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism)等, 可能成为今后靶向治疗研究热点。

李慧明, 余英豪. 转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 350-358 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/350.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.350>

## 0 引言

全世界每年大约有100万新诊断的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)病例, 而年死亡率将近50万<sup>[1]</sup>. 我国的CRC发病率也呈逐年上升趋势, 且部分病例在诊断时已发生转移. 在过去的20年间, 分子靶向治疗药物的发展使得不能切除的转移性结直肠癌(metastatic colorectal cancer, mCRC)患者中位生存期从大约3-6 mo增加到24-28 mo<sup>[2]</sup>. 贝伐单抗是第一个成功用于治疗mCRC的靶向药物, 其以血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)为靶点, 通过阻止配体与同源VEGF受体(VEGFRs)的结合, 从而抑制VEGF信号. 另一类靶向药物, 如西妥昔单抗和帕尼单抗, 则是以表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)为靶点, 通过与细胞外表面EGFR区域结合, 阻断EGFR信号转导, 来抑制细胞生长、增殖、侵犯/转移和血管生成的下游过程. 虽然肿瘤的靶向药物治疗迅速发展, 但我们对于这些潜在靶点分子水平的认识并不充分, 影响着对患者的选择. 例如当临床有效的靶向药物作为单一治疗药物时, 仅<20%的mCRC患者显效<sup>[3]</sup>. 很明显, 个体化的治疗是有必要的. CRC作为一种异质性疾病, 在同一细胞内通路的下游分子中可以有不同的突变状态, 而不同的突变也可发生在同一肿瘤中. 因此, 肿瘤治疗中靶向药物的疗效与特定的分子改变, 如VEGF、EGFR、CD133等有密切联系.

## 1 血管内皮生长因子受体

已经证实血管生成过程是mCRC结局的一个关键因素. 研究显示原发性CRC中高血管密度与疾病复发和转移有密切联系<sup>[4]</sup>. 许多细胞信号网能够介导肿瘤相关的血管生成, 其中VEGF通路是研究新型分子抑制剂的主要焦点. 很多实体瘤, 包括CRC中VEGF都有过表达, 而VEGF的表达水平与转移性肿瘤的发展以及存活期有直接关系<sup>[5]</sup>. VEGFRs(VEGFR-1、VEGFR-2、VEGFR-3)各自的活化导致了下游各种不同基因的激活, 包括AKT通路和ERK通路<sup>[6]</sup>. VEGF通路不仅调节血管生成和血管通透性, 同时在细胞生长、迁移、侵犯以及细胞凋亡抑制中起重要

作用<sup>[7]</sup>.

贝伐单抗作为抗VEGFR单克隆抗体, 早在2004年就被FDA批准与5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-Fu)等肿瘤化疗药物联合用于mCRC的一线 and 二线治疗. 一项随机三期临床试验已经证实化疗药物联合贝伐单抗使用与其单独应用相比, 能更好地改善mCRC患者的总生存期及其转归<sup>[8]</sup>. 许多研究显示, VEGF高表达提示预后不良, 但其不能预测抗血管生成药物包括贝伐单抗的疗效. 尽管对许多候选血管生成标志物进行了研究, 并没有发现能够监测血管生成或预测抗血管生成药物疗效的临床标志物.

最近, Shin等<sup>[9]</sup>评估了贝伐单抗对体内外肿瘤生长以及VEGF信号的抑制作用, 并且应用流式细胞术对内皮细胞中可能作为药效标志物的VEGFR2磷酸化作用及其下游信号进行研究. 同时对接以贝伐单抗为基础的化疗治疗的mCRC患者体内的标志物进行了验证. 结果发现在体外试验中, 贝伐单抗抑制人脐静脉内皮细胞与VEGF信号减弱有关, 尤其是贝伐单抗抑制VEGF诱导的VEGFR2, AKT和细胞外信号调节激酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)的磷酸化作用. 在体内试验中, 贝伐单抗抑制了异种移植肿瘤的生长, 并减弱了VEGF诱导的AKT和ERK的磷酸化作用. 通过流式细胞术测定的mCRC患者循环VEGFR2<sup>+</sup> pAKT<sup>+</sup>和VEGFR2<sup>+</sup> pERK<sup>+</sup>细胞中位百分数比健康对照组高出大约3倍. 24例接受贝伐单抗治疗患者中, 18例患者循环VEGFR2<sup>+</sup> pAKT<sup>+</sup>细胞减少, 反映VEGFR2信号受损. 同时, 这些数据提示循环VEGFR2<sup>+</sup> pAKT<sup>+</sup>细胞比例的改变可能是抗血管生成药物疗效的标志物, 在决定药物剂量和服药日程上有价值.

## 2 表皮生长因子受体

EGFR是一种受体酪氨酸激酶, 属于erbB家族, 又被称为HER-1或ErbB-1. 其通过与配体结合, 激活细胞内信号转导途径, 导致细胞增殖、分化和抑制细胞凋亡. 许多肿瘤如肾细胞癌、胰腺癌、非小细胞肺癌及CRC细胞表面EGFR呈过表达<sup>[10]</sup>.

抗EGFR抗体西妥昔单抗和帕尼单抗通过阻止配体诱导的EGFR酪氨酸激酶活化, 来抑制PI3K/AKT以及RAS/MAP2K(即MEK)/MAPK1/3(即ERK2/1)信号转导通路下游分子的激活, 从而抑制细胞增殖和诱导细胞凋亡. CRC

## ■ 研发前沿

目前, 以VEGF和EGFR为靶点的靶向治疗已经应用于转移性结直肠癌, 其中KRAS、BRAF等基因突变对于筛选患者和预测靶向治疗疗效具有重要意义, 但仅一部分患者能从这些靶向治疗中获益, 因此, 寻找新的合适的预测/预后标志物对靶向治疗至关重要.

## ■相关报道

Zlobec等研究TOPK在有KRAS、BRAF基因改变的散发性、遗传性和转移性CRC患者中的预后和预测价值, 结果提示在对抗EGFR药物有阳性反应的mCRC患者中, TOPK可能是一个有价值的预后不良指标, 而Pohl等研究结果提示CD133是接受以贝伐单抗为基础标准一线治疗的mCRC患者一个预测标志物, 这些新的标志物可能对更好地筛选接受靶向治疗的患者具有重要意义。

中一系列被认为与EGFR依赖性增强有关的遗传学和生物学特性与EGFR单抗疗效的提高有关。EGFR基因拷贝数的增加与肿瘤对西妥昔单抗和帕尼单抗的反应相关<sup>[11-13]</sup>, 而对西妥昔单抗的敏感程度则与EGFR的两个配体外调蛋白(epiregulin, EREG)和双调蛋白(amphiregulin, AREG)的mRNA表达水平成比例<sup>[14,15]</sup>。此外, 据Deng<sup>[16]</sup>和Goldstein等<sup>[17]</sup>报道, III、IV期患者转移淋巴结中有EGFR表达者, 趋向生存期更短, 提示EGFR在转移淋巴结中的表达比在原发或远处转移部位肿瘤中的表达更能准确预测生存率。另有数据显示磷酸化MAP2K1和磷酸化RPS6K的表达可能与接受西妥昔单抗治疗的mCRC患者无进展生存期的缩短有关<sup>[18]</sup>。更多综合数据表明EGFR信号转导通路中编码关键下游效应分子的基因发生突变是对EGFR单抗产生原发性耐药的原因<sup>[19]</sup>。尽管抗EGFR药物的靶点是EGFR, 但EGFR自身并不是临床疗效很好的预测因子, 而EGFR依赖的2条信号通路RAS-RAF-MAPK和PI3K-PTEN-AKT的分子变异对靶向药物疗效的预测可能更有指导意义<sup>[20]</sup>。

**2.1 KRAS** KRAS属于RAS基因家族(KRAS、NRAS和HRAS), 编码一种鸟嘌呤核苷酸结合蛋白, 是配体结合的EGFR的重要效应分子, 也是通过BRAF-MAPK通路的主要信号。KRAS可以通过与其催化亚基直接作用而激活PI3K。大约32%-40%的CRC患者存在KRAS基因突变, 而85%-90%的突变发生在12或13位密码子, 其余的发生在第61位(5%)及146位(5%)密码子上<sup>[21,22]</sup>。这些突变使得GTP酶失活, 导致肿瘤相关的KRAS蛋白积聚于活化的GTP结合构象中。

CRYSTAL随机研究的回顾性分析显示, KRAS基因突变状态与客观疗效、无进展生存期、总生存期之间有密切联系<sup>[23]</sup>。而Allegra等<sup>[21]</sup>的回顾性研究证实KRAS基因突变是预测EGFR单抗耐药的指标。这一发现使得mCRC的个体化治疗进入实施。现要求对所有接受西妥昔单抗或帕尼单抗治疗的mCRC患者治疗前都进行KRAS基因第12、13位密码子上的7个基因突变位点状态检测<sup>[19]</sup>。De Roock等<sup>[22]</sup>研究显示第12、61位密码子突变对西妥昔单抗疗效具有不利影响, 而146位密码子突变则不影响疗效, 且该密码子突变与其他KRAS突变同时发生, 表明其可能不是重要的致癌密码子。在一项对大量化疗抵抗患者的回顾性兼探索性分析中发现, KRAS G13D突变与西妥昔单抗治疗在获得更好的总

生存期和无进展生存期上呈正相关, 但G13D突变的化疗抵抗mCRC患者是否具有西妥昔单抗治疗的潜在有益因素, 仍有待进一步的前瞻性随机试验证实<sup>[24]</sup>。然而仍有50%-65%的野生型KRAS肿瘤患者对EGFR单抗产生抵抗, 因此, 对于预测性生物标志物的探索仍将继续。

在KRAS突变的群体中, 肿瘤细胞MAPK1/3信号的最终水平取决于肿瘤的其他特性。就这一点而言, 细胞中存在的双特异性磷酸酶(dual specificity phosphatase, DUSP)和sprouty(SPRY)同源物负反馈通路可以减弱KRAS突变肿瘤中MAPK1/3信号的输出<sup>[23]</sup>。Pratilas等<sup>[25]</sup>指出DUSP和SPRY的表达与肿瘤的MAP2K依赖性有关, 同样, De Roock等<sup>[23]</sup>研究显示在KRAS突变的群体中, DUSP4的表达与对西妥昔单抗的敏感性之间具有相关性。DUSP4 mRNA高表达的KRAS突变CRC患者在接受西妥昔单抗治疗后, 其无进展生存期和总生存期比DUSP4低表达的患者明显增加。

**2.2 BRAF** BRAF是RAF基因家族(BRAF、ARAF1、RAF1)中的一员, 编码一种丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 该激酶可以帮助信号从RAS转导至MEK1/2, 是RAS-RAF-MEK-ERK-MAPK信号通路重要的转导因子, 参与调控细胞生长、分化和凋亡等多种生物学事件。大约15%的CRC中存在BRAF基因突变<sup>[26]</sup>, 而其中>95%为BRAF蛋白激酶激活域中的V600E突变, 但信号的改变是否由V600E突变引起还不清楚。研究发现KRAS和BRAF突变在CRC中是相互排斥的<sup>[22]</sup>, 提示他们发生于不同类型的肿瘤, 并可能有不同的结果。BRAF突变肿瘤和KRAS突变肿瘤在组织学和临床特征上的不同<sup>[27]</sup>, 同样提示肿瘤亚型突变的特异性。此外, BRAF基因突变与CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP)和微卫星不稳定性有关, 而KRAS基因突变则更常见于低CpG岛甲基化表型和微卫星稳定的肿瘤<sup>[27]</sup>。

大部分研究表明, 在化疗抵抗的情况下, BRAF基因突变的mCRC患者对西妥昔单抗或帕尼单抗没有反应<sup>[12]</sup>, BRAF基因突变是西妥昔单抗疗效的独立预测因素<sup>[28]</sup>。此外, Di Nicolantonio等<sup>[26]</sup>对113例西妥昔单抗和帕尼单抗耐药的mCRC患者进行检测, 发现30%-40%有KRAS突变, 而野生型KRAS患者中有14%存在BRAF V600E突变。有BRAF突变的患者对这两种药存在耐药, 且生存率较其他患者明显降低<sup>[29]</sup>。



CRYSTAL研究报道<sup>[23]</sup>, *BRAF*基因突变与接受西妥昔单抗联合化疗治疗或单一化疗治疗的野生型*KRAS*患者的不良预后有关, 提示*BRAF*基因突变可能是一个重要的预后因素, 而在一线治疗中应用生物制剂也许能够改善行化疗治疗的*BRAF*突变患者的不良预后。

**2.3 PI3K** PI3Ks是一个脂酶家族, 根据不同的结构和对底物的选择分为3类。当生长因子与其同源RTK相结合, PI3K家族中的IA类即开始活化, RTK包括ERBB家族、血小板衍化生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)和胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth-factor-1 receptor, IGF1R)。IA类分子为异二聚体, 由调节亚基(p85)和催化亚基(p110)组成。结直肠癌中大约15%-18%有p110 $\alpha$ 同种型(由PIK3CA编码)突变<sup>[30]</sup>, 而>80%的PIK3CA突变发生在9号外显子(60%-65%)或20号外显子(20%-25%)<sup>[22]</sup>。PIK3CA基因突变可与*KRAS*或*BRAF*基因突变同时存在<sup>[22,31]</sup>。

最近一个欧洲联盟提出仅PIK3CA的20号外显子突变与野生型*KRAS*肿瘤的西妥昔单抗低反应性有关<sup>[22]</sup>。与野生型PIK3CA基因相比, 9号外显子突变不影响疗效, 而20号外显子突变预示预后不良<sup>[22]</sup>。由于PIK3CA第20号外显子突变发生率低, 因此还需进一步研究来证实。Sartore-Bianchi等<sup>[32]</sup>报道PIK3CA突变与EGFR单抗治疗的低反应性有关, 但他们的研究群组比Prenen等的包含更多的20号外显子突变和更少的9号外显子突变, 而Prenen等<sup>[33]</sup>认为PIK3CA突变状态与对西妥昔单抗的反应性没有相关性。

总的来说, PIK3CA突变与野生型*KRAS* I-III期CRC的癌症特异性存活率更低有关<sup>[34]</sup>, 但9号外显子和20号外显子还没有被完全独立开来进行研究, 因此还需进行更多的研究来确定PIK3CA第9号外显子和20号外显子突变的预后作用。

**2.4 PTEN** 始于PI3K的信号可以被同源性磷酸酶张力蛋白(PTEN)抑制。PTEN可以通过多种机制失活, 包括PTEN基因突变(平均突变率为5%, 在高频率微卫星不稳定的肿瘤中突变率更高)、10q23号染色体上等位基因的缺失(23%)以及PTEN起始区甲基化(19.9%存在于高频率微卫星不稳定的结直肠癌中, 2.2%存在于低频率微卫星不稳定中)<sup>[35]</sup>。

CRC中PTEN缺失的作用还不完全明确。Loupakis等<sup>[36]</sup>认为转移灶中PTEN缺失可能是预

测对西妥昔单抗联合伊立替康治疗产生抵抗的指标。研究发现PTEN缺失与*KRAS*、*BRAF*、*PIK3CA*突变及EGFR多体性同时存在。有报道PTEN<sup>+</sup>/*KRAS*<sup>-</sup>的mCRC患者较其他患者无进展生存期更长, 提示联合检测PTEN缺失和*KRAS*突变状态有助于筛选EGFR单抗有反应的mCRC患者<sup>[36]</sup>。然而, 另一些研究显示, 当*KRAS*为野生型时, 仅*BRAF*突变是西妥昔单抗疗效的独立预测指标, 而PTEN缺失并不能作为预测西妥昔单抗疗效的标志物<sup>[28]</sup>。此外, PTEN缺失在原组织和转移组织中表达并不一致。由于目前对于检测PTEN表达并没有标准化方法, 因此还需进一步的研究来确定其意义。

**2.5 AKT和MAPK** AKT和MAPK是EGFR信号通路下游分子。有研究者提出EGFR异常激活也许与AKT和MAPK的活化有关<sup>[37]</sup>。事实上, 已经在非小细胞肺癌患者中发现EGFR下游蛋白如磷酸化AKT能够预测TKIs的反应性<sup>[38]</sup>。然而, 在CRC中还没有足够的研究确定其在决定EGFR靶向药物抵抗或敏感性中的作用。

近期, Scartozzi等<sup>[39]</sup>对72例接受伊立替康和西妥昔单抗治疗的mCRC患者进行检测, 分析原发肿瘤组织和转移组织中磷酸化AKT和MAPK表达, 及其与接受伊立替康-西妥昔单抗治疗的*KRAS*野生型患者总体结局的关系。结果显示: (1)在原发肿瘤组织中, AKT表达阳性(31例, 43%)与阴性(41例, 57%)无进展生存期(progression free survival, PFS)分别为2.4 mo和6.5 mo( $P = 0.0006$ ), 总生存期(overall survival, OS)分别为7.8 mo和26.7 mo( $P < 0.0001$ ), 反应率(response rate, RR)没有显著差异。而MAPK阳性表达(32例, 44%)与阴性表达(40例, 56%)的RR、PFS和OS没有显著差异; (2)在可用于分析的37例转移肿瘤组织中, AKT阳性23例(62%), 阴性14例(38%)。AKT表达与RR的关系(9% vs 58%,  $P = 0.004$ ), PFS(2.3 mo vs 9.2 mo,  $P < 0.0001$ ), OS(6.1 mo vs 26.7 mo,  $P < 0.0001$ )。MAPK阳性20例(54%), 阴性17例(46%)。MAPK与RR关系(10% vs 47%,  $P = 0.002$ ), PFS(2.3 mo vs 8.6 mo,  $P < 0.0001$ ), OS(7.8 mo vs 26 mo,  $P = 0.0004$ )。提示转移组织中AKT和MAPK的表达状态可预测接受伊立替康-西妥昔单抗治疗的*KRAS*野生型患者的临床结局。

另外, 研究者还发现在原发肿瘤组织与转移组织中, 有10例AKT和11例MAPK表达状态前后不一致。已经有研究提出CRC中一些关键分

#### ■创新盘点

本文较全面的综述了目前转移性结直肠癌靶向治疗的关键分子, 包括熟知的*KRAS*、*BRAF*等分子, 以及最近研究发现的一些新的可能成为预测/预后标志物的分子, 如TOPK、LDH、CD133、SNP等。

## ■应用要点

本文较全面的综述了目前转移性结直肠癌靶向治疗的关键分子,尤其是对新的可能成为今后靶向治疗研究热点的预测/预后标志物的综述。

子如*KRAS*、*BRAF*的突变状态从原发部位到转移部位几乎不改变<sup>[40]</sup>,相反,其他生物标志物如EGFR、PTEN等可以有显著差异<sup>[36,41]</sup>,提示这种表达差异可能具有调节EGFR靶向抗体活性的生物效应,因此在pAKT和pMAPK表达的mCRC中,针对这些分子的靶向治疗也许比抗EGFR治疗更合适。

## 3 一些新的靶向治疗的预测/预后标志物

尽管目前*KRAS*基因突变状态可以用来筛选不适合抗EGFR治疗的患者,但如何从野生型*KRAS*患者中选择对抗EGFR治疗有效的患者仍是一个难题。而临床观察显示即使没有*KRAS*基因突变,大约40%-70%的患者也不能从抗EGFR抗体应用中获益。因此寻找合适的预测/预后标志物对靶向治疗至关重要。最近研究发现一些新的可能成为预测/预后标志物的分子。

**3.1 TOPK** 在2000年,Abe等<sup>[42]</sup>研究发现ERK/MAPK通路一个新的成员-T细胞来源蛋白激酶(T-cell-originated protein kinase, TOPK),也称为PDZ结合激酶。TOPK具有MAPKK样蛋白特性,涉及P38MAPK和JNK信号,可能具有细胞特异性<sup>[43]</sup>。其在高度增生的正常组织,胎儿组织和体外多种肿瘤中过度表达,而抑制TOPK能够引起乳腺和黑素瘤细胞系的凋亡<sup>[44]</sup>。

最近,Zlobec等<sup>[45]</sup>研究TOPK在有*KRAS*、*BRAF*基因改变的散发性、遗传性和转移性CRC患者中的预后和预测价值,发现在45例接受抗EGFR药物治疗的*KRAS*和*BRAF*野生型mCRC患者中,TOPK染色弥漫表达的患者具有显著不良的预后。此外,TOPK的表达似乎不随PTEN状态而改变,并且其在*KRAS*或*BRAF*野生型患者中的不利影响与这些分子的表达无关。这些结果提示在对抗EGFR药物有阳性反应的mCRC患者中,TOPK可能是一个有价值的预后不良指标。

**3.2 乳酸脱氢酶(lactate dehydrogenase, LDH)** 在结直肠癌中,已经证实LDH-5过度表达与转移风险的增加有显著关联,而高LDH血清水平则提示有更差的预后<sup>[46,47]</sup>。但LDH在接受抗血管生成治疗的患者中的作用还存在争议。

最近Scartozzi等<sup>[48]</sup>研究治疗前LDH水平作为接受以贝伐单抗为基础一线治疗的mCRC患者疗效的预测因子,结果发现220例mCRC患者(对照组接受单一化疗138例,实验组接受贝伐单抗联合化疗治疗82例),对照组高LDH水平和低LDH水平中位PFS分别为4.2 mo和8 mo( $P =$

0.0003),中位OS分别为19.6 mo和34.9 mo( $P = 0.0014$ )。贝伐单抗组高LDH和低LDH水平部分反应分别为14例(58%)和8例(14%)( $P = 0.0243$ ),中位PFS分别为7.3 mo和8.5 mo( $P = 0.2$ ),中位OS分别为22 mo和26.6 mo( $P = 0.7$ )。显示高LDH水平与更差的预后有关,而贝伐单抗也许能够改善高LDH水平组患者的临床结局。同时,反应率的提高提示LDH可能具有预测因子的作用。但确切的结论还需进一步的研究证实。

**3.3 CD133 肿瘤干细胞(cancer stem cell, CSC)** 假设提出仅有部分肿瘤细胞与肿瘤发生、发展和化疗抵抗有关。CSC与正常干细胞有许多共同的特征,包括自我更新能力和稳态控制能力,因此,CSC具有维持肿瘤生长和产生更多异常分化祖细胞的潜能<sup>[49,50]</sup>。CD133,一种跨膜蛋白,已被一些研究小组用于分离结直肠癌中CSC,并在体内、体外实验中证实其与肿瘤生长和进展有关<sup>[51-53]</sup>。

最近Pohl等<sup>[54]</sup>研究假设*CD133*基因表达水平和种系变更能够预测接受5-Fu,奥沙利铂和贝伐单抗一线治疗的mCRC患者临床结局,对*CD133*基因表达水平和VEGF及VEGFR之间是否存在联系进行了研究,通过定量实时PCR检测54例mCRC患者肿瘤内*CD133*基因表达水平,并应用PCR-限制性片段长度多态性检测91例患者基因组DNA的3种*CD133*种系变更。结果显示与*CD133*低基因表达水平相比(7.76,  $RR = 38\%$ ,  $P = 0.003$ ),高基因表达水平(>7.76)具有显著提高的反应率( $RR = 86\%$ ),并独立于VEGF或VEGFR表达水平。*CD133*基因表达水平与VEGF和VEGFR mRNA水平密切相关[VEGFR-1( $P < 0.01$ )、-2和-3( $P < 0.05$ )]。这些结果提示CD133是接受以贝伐单抗为基础标准一线治疗的mCRC一个预测标志物。但这只是初步的研究数据,进一步的确认还需进行大规模的前瞻性研究。

**3.4 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)** 研究发现,分析胚系DNA遗传变异可能是预测mCRC患者接受化疗联合贝伐单抗治疗疗效的新方法。而SNPs则是遗传变异的代表,并且对于VEGF系统而言,SNPs同样也是相关生物标志物<sup>[55]</sup>。众所周知,VEGF系统对于血管生成十分重要,尤其是VEGF-A可能影响血管的结构和功能,包括化疗药物向肿瘤细胞的传递<sup>[56]</sup>。

新近,Hansen等<sup>[55]</sup>研究SNPs在VEGF系统中可能的预测价值。对218例接受贝伐单抗联合

化疗治疗的mCRC患者治疗前血液样本进行分析, 并对治疗效果进行评估。通过PCR分析出5种SNP位于*VEGF-A*基因, 1种在*VEGFR-1*基因, 3种位于*VEGFR-2*基因。结果显示: 在36%CC基因型、40%CA基因型和56%AA基因型患者中观察到客观疗效,  $P = 0.048$ 。而具有C等位基因(包括CC和CA基因型)的患者和具有纯合子A等位基因(AA)的患者反应率也有明显差异, 分别为39%和56%,  $P = 0.015$ 。剩余的SNPs与反应率没有关系。提示VEGFR-1 319 C/A SNP可能是接受贝伐单抗联合化疗治疗的mCRC患者一个潜在的预测指标。而具有A等位基因的患者似乎具有更高的反应率。但结果还需进一步得到确认。

#### 4 结论

分子靶向治疗是未来肿瘤治疗的趋势, 如何更合理的选择治疗方案和靶向治疗药物, 实现个体化治疗成为研究的焦点。*KRAS*突变状态作为对EGFR单抗产生抵抗的预测因子, 已经应用于mCRC的临床治疗中, 但这仅仅是一个开始, 寻找有效的预测/预后标志物对于肿瘤的靶向治疗至关重要。不久的将来将致力于通过确定肿瘤关键信号基因的突变状态来实现mCRC患者的个体化抗肿瘤治疗。

#### 5 参考文献

- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
- Gallagher DJ, Kemeny N. Metastatic colorectal cancer: from improved survival to potential cure. *Oncology* 2010; 78: 237-248 [PMID: 20523084 DOI: 10.1159/000315730]
- Ciardiello F, Tortora G. EGFR antagonists in cancer treatment. *N Engl J Med* 2008; 358: 1160-1174 [PMID: 18337605 DOI: 10.1056/NEJMra0707704]
- Takahashi Y, Tucker SL, Kitadai Y, Koura AN, Bucana CD, Cleary KR, Ellis LM. Vessel counts and expression of vascular endothelial growth factor as prognostic factors in node-negative colon cancer. *Arch Surg* 1997; 132: 541-546 [PMID: 9161399 DOI: 10.1001/archsurg.1997.01430290087018]
- Ellis LM, Takahashi Y, Liu W, Shaheen RM. Vascular endothelial growth factor in human colon cancer: biology and therapeutic implications. *Oncologist* 2000; 5 Suppl 1: 11-15 [PMID: 10804085 DOI: 10.1634/theoncologist.5-suppl\_1-11]
- Fan F, Wey JS, McCarty MF, Belcheva A, Liu W, Bauer TW, Somcio RJ, Wu Y, Hooper A, Hicklin DJ, Ellis LM. Expression and function of vascular endothelial growth factor receptor-1 on human colorectal cancer cells. *Oncogene* 2005; 24: 2647-2653 [PMID: 15735759 DOI: 10.1038/sj.onc.1208246]
- Epstein RJ. VEGF signaling inhibitors: more pro-apoptotic than anti-angiogenic. *Cancer Metastasis Rev* 2007; 26: 443-452 [PMID: 17786538]
- Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figuer A, Wong R, Koski S, Lichinitser M, Yang TS, Rivera F, Couture F, Sirzén F, Cassidy J. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2013-2019 [PMID: 18421054 DOI: 10.1200/JCO.2007.14.9930]
- Shin SJ, Hwang JW, Ahn JB, Rha SY, Roh JK, Chung HC. Circulating vascular endothelial growth factor receptor 2/pAkt-positive cells as a functional pharmacodynamic marker in metastatic colorectal cancers treated with antiangiogenic agent. *Invest New Drugs* 2013; 31: 1-13 [PMID: 22539090 DOI: 10.1007/s10637-012-9817-7]
- Zlobec I, Vuong T, Hayashi S, Haegert D, Tornillo L, Terracciano L, Lugli A, Jass J. A simple and reproducible scoring system for EGFR in colorectal cancer: application to prognosis and prediction of response to preoperative brachytherapy. *Br J Cancer* 2007; 96: 793-800 [PMID: 17311026]
- Personeni N, Fieuws S, Piessevaux H, De Hertogh G, De Schutter J, Biesmans B, De Roock W, Capoen A, Debiec-Rychter M, Van Laethem JL, Peeters M, Humblet Y, Van Cutsem E, Tejpar S. Clinical usefulness of EGFR gene copy number as a predictive marker in colorectal cancer patients treated with cetuximab: a fluorescent in situ hybridization study. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 5869-5876 [PMID: 18794099 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-0449]
- Laurent-Puig P, Cayre A, Manceau G, Buc E, Bachet JB, Lecomte T, Rougier P, Lievre A, Landi B, Boige V, Ducreux M, Ychou M, Bibeau F, Bouché O, Reid J, Stone S, Penault-Llorca F. Analysis of PTEN, BRAF, and EGFR status in determining benefit from cetuximab therapy in wild-type KRAS metastatic colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5924-5930 [PMID: 19884556 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.6796]
- Sartore-Bianchi A, Moroni M, Veronese S, Carnaghi C, Bajetta E, Luppi G, Sobrero A, Barone C, Cascinu S, Colucci G, Cortesi E, Nichelatti M, Gambacorta M, Siena S. Epidermal growth factor receptor gene copy number and clinical outcome of metastatic colorectal cancer treated with panitumumab. *J Clin Oncol* 2007; 25: 3238-3245 [PMID: 17664472]
- Jacobs B, De Roock W, Piessevaux H, Van Oirbeek R, Biesmans B, De Schutter J, Fieuws S, Vandesompele J, Peeters M, Van Laethem JL, Humblet Y, Penault-Llorca F, De Hertogh G, Laurent-Puig P, Van Cutsem E, Tejpar S. Amphiregulin and epiregulin mRNA expression in primary tumors predicts outcome in metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5068-5074 [PMID: 19738126 DOI: 10.1200/JCO.2008.21.3744]
- Tabernero J, Cervantes A, Rivera F, Martinelli E, Rojo F, von Heydebreck A, Macarulla T, Rodriguez-Braun E, Eugenia Vega-Villegas M, Senger S, Ramos FJ, Roselló S, Celik I, Stroh C, Baselga J, Ciardiello F. Pharmacogenomic and pharmacoproteomic studies of cetuximab in metastatic colorectal cancer: biomarker analysis of a phase I dose-escalation study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1181-1189 [PMID: 20100964 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.6043]
- Deng Y, Kurland BF, Wang J, Bi J, Li W, Rao S, Lan P, Lin T, Lin E. High epidermal growth factor receptor expression in metastatic colorectal can-

#### ■同行评价

本文对转移性结直肠癌靶向治疗中的关键分子进行综述, 选题结合临床, 题目新颖, 综述全面, 论述客观, 体现当今本领域研究前沿及热点, 难点, 分析得当。



- cer lymph nodes may be more prognostic of poor survival than in primary tumor. *Am J Clin Oncol* 2009; 32: 245-252 [PMID: 19451802 DOI: 10.1097/COC.0b013e3181891326]
- 17 Goldstein NS, Armin M. Epidermal growth factor receptor immunohistochemical reactivity in patients with American Joint Committee on Cancer Stage IV colon adenocarcinoma: implications for a standardized scoring system. *Cancer* 2001; 92: 1331-1346 [PMID: 11571750]
  - 18 Perkins G, Lièvre A, Ramacci C, Méatchi T, de Reynies A, Emile JF, Boige V, Tomasic G, Bachet JB, Bibeau F, Bouché O, Penault-Llorca F, Merlin JL, Laurent-Puig P. Additional value of EGFR downstream signaling phosphoprotein expression to KRAS status for response to anti-EGFR antibodies in colorectal cancer. *Int J Cancer* 2010; 127: 1321-1331 [PMID: 20049837 DOI: 10.1002/ijc.25152]
  - 19 Bardelli A, Siena S. Molecular mechanisms of resistance to cetuximab and panitumumab in colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1254-1261 [PMID: 20100961 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.6116]
  - 20 Baldus SE, Schaefer KL, Engers R, Hartleb D, Stoecklein NH, Gabbert HE. Prevalence and heterogeneity of KRAS, BRAF, and PIK3CA mutations in primary colorectal adenocarcinomas and their corresponding metastases. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 790-799 [PMID: 20103678 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2446]
  - 21 Allegra CJ, Jessup JM, Somerfield MR, Hamilton SR, Hammond EH, Hayes DF, McAllister PK, Morton RF, Schilsky RL. American Society of Clinical Oncology provisional clinical opinion: testing for KRAS gene mutations in patients with metastatic colorectal carcinoma to predict response to anti-epidermal growth factor receptor monoclonal antibody therapy. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2091-2096 [PMID: 19188670 DOI: 10.1200/JCO.2009.21.9170]
  - 22 De Roock W, Claes B, Bernasconi D, De Schutter J, Biesmans B, Fountzilias G, Kalogeras KT, Kotoula V, Papamichael D, Laurent-Puig P, Penault-Llorca F, Rougier P, Vincenzi B, Santini D, Tonini G, Cappuzzo F, Frattini M, Molinari F, Saletti P, De Dosso S, Martini M, Bardelli A, Siena S, Sartore-Bianchi A, Tabernero J, Macarulla T, Di Fiore F, Gangloff AO, Ciardiello F, Pfeiffer P, Qvortrup C, Hansen TP, Van Cutsem E, Piesseaux H, Lambrechts D, Delorenzi M, Tejpar S. Effects of KRAS, BRAF, NRAS, and PIK3CA mutations on the efficacy of cetuximab plus chemotherapy in chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer: a retrospective consortium analysis. *Lancet Oncol* 2010; 11: 753-762 [PMID: 20619739 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70130-3]
  - 23 De Roock W, De Vriendt V, Normanno N, Ciardiello F, Tejpar S. KRAS, BRAF, PIK3CA, and PTEN mutations: implications for targeted therapies in metastatic colorectal cancer. *Lancet Oncol* 2011; 12: 594-603 [PMID: 21163703 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70209-6]
  - 24 De Roock W, Jonker DJ, Di Nicolantonio F, Sartore-Bianchi A, Tu D, Siena S, Lamba S, Arena S, Frattini M, Piesseaux H, Van Cutsem E, O'Callaghan CJ, Khambata-Ford S, Zalcberg JR, Simes J, Karapetis CS, Bardelli A, Tejpar S. Association of KRAS p.G13D mutation with outcome in patients with chemotherapy-refractory metastatic colorectal cancer treated with cetuximab. *JAMA* 2010; 304: 1812-1820 [PMID: 20978259 DOI: 10.1001/jama.2010.1535]
  - 25 Pratilas CA, Taylor BS, Ye Q, Viale A, Sander C, Solit DB, Rosen N. (V600E)BRAF is associated with disabled feedback inhibition of RAF-MEK signaling and elevated transcriptional output of the pathway. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 4519-4524 [PMID: 19251651 DOI: 10.1073/pnas.0900780106]
  - 26 Di Nicolantonio F, Martini M, Molinari F, Sartore-Bianchi A, Arena S, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. Wild-type BRAF is required for response to panitumumab or cetuximab in metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5705-5712 [PMID: 19001320 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.0786]
  - 27 Roth AD, Tejpar S, Delorenzi M, Yan P, Fiocca R, Klingbiel D, Dietrich D, Biesmans B, Bodoky G, Barone C, Aranda E, Nordlinger B, Cisar L, Labianca R, Cunningham D, Van Cutsem E, Bosman F. Prognostic role of KRAS and BRAF in stage II and III resected colon cancer: results of the translational study on the PETACC-3, EORTC 40993, SAKK 60-00 trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: 466-474 [PMID: 20008640 DOI: 10.1200/JCO.2009.23.3452]
  - 28 Tol J, Dijkstra JR, Klomp M, Teerenstra S, Dommerholt M, Vink-Börger ME, van Cleef PH, van Krieken JH, Punt CJ, Nagtegaal ID. Markers for EGFR pathway activation as predictor of outcome in metastatic colorectal cancer patients treated with or without cetuximab. *Eur J Cancer* 2010; 46: 1997-2009 [PMID: 20413299 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.03.036]
  - 29 Barault L, Charon-Barra C, Jooste V, de la Vega MF, Martin L, Roignot P, Rat P, Bouvier AM, Laurent-Puig P, Faivre J, Chapusot C, Piard F. Hypermethylator phenotype in sporadic colon cancer: study on a population-based series of 582 cases. *Cancer Res* 2008; 68: 8541-8546 [PMID: 18922929 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1171]
  - 30 Nosho K, Kawasaki T, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Zepf D, Yan L, Longtine JA, Fuchs CS, Ogino S. PIK3CA mutation in colorectal cancer: relationship with genetic and epigenetic alterations. *Neoplasia* 2008; 10: 534-541 [PMID: 18516290]
  - 31 Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Nichelatti M, Molinari F, De Dosso S, Saletti P, Martini M, Cipani T, Marrapese G, Mazzucchelli L, Lamba S, Veronese S, Frattini M, Bardelli A, Siena S. Multi-determinants analysis of molecular alterations for predicting clinical benefit to EGFR-targeted monoclonal antibodies in colorectal cancer. *PLoS One* 2009; 4: e7287 [PMID: 19806185 DOI: 10.1371/journal.pone.0007287]
  - 32 Sartore-Bianchi A, Martini M, Molinari F, Veronese S, Nichelatti M, Artale S, Di Nicolantonio F, Saletti P, De Dosso S, Mazzucchelli L, Frattini M, Siena S, Bardelli A. PIK3CA mutations in colorectal cancer are associated with clinical resistance to EGFR-targeted monoclonal antibodies. *Cancer Res* 2009; 69: 1851-1857 [PMID: 19223544 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2466]
  - 33 Prenen H, De Schutter J, Jacobs B, De Roock W, Biesmans B, Claes B, Lambrechts D, Van Cutsem E, Tejpar S. PIK3CA mutations are not a major determinant of resistance to the epidermal growth factor receptor inhibitor cetuximab in metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 3184-3188 [PMID: 19366826 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-08-2961]

- 34 Ogino S, Nosho K, Kirkner GJ, Shima K, Irahara N, Kure S, Chan AT, Engelman JA, Kraft P, Cantley LC, Giovannucci EL, Fuchs CS. PIK3CA mutation is associated with poor prognosis among patients with curatively resected colon cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1477-1484 [PMID: 19237633 DOI: 10.1200/JCO.2008.18.6544]
- 35 Goel A, Arnold CN, Niedzwiecki D, Carethers JM, Dowell JM, Wasserman L, Compton C, Mayer RJ, Bertagnolli MM, Boland CR. Frequent inactivation of PTEN by promoter hypermethylation in microsatellite instability-high sporadic colorectal cancers. *Cancer Res* 2004; 64: 3014-3021 [PMID: 15126336]
- 36 Loupakakis F, Pollina L, Stasi I, Ruzzo A, Scartozzi M, Santini D, Masi G, Graziano F, Cremolini C, Rulli E, Canestrari E, Funel N, Schiavon G, Petrini I, Magnani M, Tonini G, Campani D, Floriani I, Cascinu S, Falcone A. PTEN expression and KRAS mutations on primary tumors and metastases in the prediction of benefit from cetuximab plus irinotecan for patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 2622-2629 [PMID: 19398573 DOI: 10.1200/JCO.2008.20.2796]
- 37 Fischel JL, Formento P, Milano G. Epidermal growth factor receptor double targeting by a tyrosine kinase inhibitor (Iressa) and a monoclonal antibody (Cetuximab). Impact on cell growth and molecular factors. *Br J Cancer* 2005; 92: 1063-1068 [PMID: 15756277]
- 38 Han SW, Hwang PG, Chung DH, Kim DW, Im SA, Kim YT, Kim TY, Heo DS, Bang YJ, Kim NK. Epidermal growth factor receptor (EGFR) downstream molecules as response predictive markers for gefitinib (Iressa, ZD1839) in chemotherapy-resistant non-small cell lung cancer. *Int J Cancer* 2005; 113: 109-115 [PMID: 15386420]
- 39 Scartozzi M, Giampieri R, Maccaroni E, Mandolesi A, Biagetti S, Alfonsi S, Giustini L, Loretelli C, Faloppi L, Bittoni A, Bianconi M, Del Prete M, Bearzi I, Cascinu S. Phosphorylated AKT and MAPK expression in primary tumours and in corresponding metastases and clinical outcome in colorectal cancer patients receiving irinotecan-cetuximab. *J Transl Med* 2012; 10: 71 [PMID: 22490361 DOI: 10.1186/1479-5876-10-71]
- 40 Italiano A, Hostein I, Soubeyran I, Fabas T, Benchimol D, Evrard S, Gugenheim J, Becouarn Y, Brunet R, Fonck M, François E, Saint-Paul MC, Pedeutour F. KRAS and BRAF mutational status in primary colorectal tumors and related metastatic sites: biological and clinical implications. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 1429-1434 [PMID: 20049644 DOI: 10.1245/s10434-009-0864-z]
- 41 Scartozzi M, Bearzi I, Berardi R, Mandolesi A, Fabris G, Cascinu S. Epidermal growth factor receptor (EGFR) status in primary colorectal tumors does not correlate with EGFR expression in related metastatic sites: implications for treatment with EGFR-targeted monoclonal antibodies. *J Clin Oncol* 2004; 22: 4772-4778 [PMID: 15570078]
- 42 Abe Y, Matsumoto S, Kito K, Ueda N. Cloning and expression of a novel MAPKK-like protein kinase, lymphokine-activated killer T-cell-originated protein kinase, specifically expressed in the testis and activated lymphoid cells. *J Biol Chem* 2000; 275: 21525-21531 [PMID: 10781613]
- 43 Matsumoto S, Abe Y, Fujibuchi T, Takeuchi T, Kito K, Ueda N, Shigemoto K, Gyo K. Characterization of a MAPKK-like protein kinase TOPK. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 325: 997-1004 [PMID: 15541388]
- 44 Simons-Evelyn M, Bailey-Dell K, Toretsky JA, Ross DD, Fenton R, Kalvakolanu D, Rapoport AP. PBK/TOPK is a novel mitotic kinase which is upregulated in Burkitt's lymphoma and other highly proliferative malignant cells. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 825-829 [PMID: 11783945]
- 45 Zlobec I, Molinari F, Kovac M, Bihl MP, Altermatt HJ, Diebold J, Frick H, Germer M, Horcic M, Montani M, Singer G, Yurtsever H, Zettl A, Terracciano L, Mazzucchelli L, Saletti P, Frattini M, Heinemann K, Lugli A. Prognostic and predictive value of TOPK stratified by KRAS and BRAF gene alterations in sporadic, hereditary and metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2010; 102: 151-161 [PMID: 19935791 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605452]
- 46 Koukourakis MI, Giatromanolaki A, Simopoulos C, Polychronidis A, Sivridis E. Lactate dehydrogenase 5 (LDH5) relates to up-regulated hypoxia inducible factor pathway and metastasis in colorectal cancer. *Clin Exp Metastasis* 2005; 22: 25-30 [PMID: 16132575]
- 47 Wu XZ, Ma F, Wang XL. Serological diagnostic factors for liver metastasis in patients with colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4084-4088 [PMID: 20731024]
- 48 Scartozzi M, Giampieri R, Maccaroni E, Del Prete M, Faloppi L, Bianconi M, Galizia E, Loretelli C, Belvedere L, Bittoni A, Cascinu S. Pre-treatment lactate dehydrogenase levels as predictor of efficacy of first-line bevacizumab-based therapy in metastatic colorectal cancer patients. *Br J Cancer* 2012; 106: 799-804 [PMID: 22315053 DOI: 10.1038/bjc.2012.17]
- 49 Ferrandina G, Petrillo M, Bonanno G, Scambia G. Targeting CD133 antigen in cancer. *Expert Opin Ther Targets* 2009; 13: 823-837 [PMID: 19530986 DOI: 10.1517/14728220903005616]
- 50 Pohl A, Lurje G, Kahn M, Lenz HJ. Stem cells in colon cancer. *Clin Colorectal Cancer* 2008; 7: 92-98 [PMID: 18501067 DOI: 10.3816/CCC.2008.n.012]
- 51 O'Brien CA, Pollett A, Gallinger S, Dick JE. A human colon cancer cell capable of initiating tumour growth in immunodeficient mice. *Nature* 2007; 445: 106-110 [PMID: 17122772]
- 52 Ricci-Vitiani L, Lombardi DG, Pilozzi E, Biffoni M, Todaro M, Peschle C, De Maria R. Identification and expansion of human colon-cancer-initiating cells. *Nature* 2007; 445: 111-115 [PMID: 17122771]
- 53 Puglisi MA, Sgambato A, Saulnier N, Rafanelli F, Barba M, Boninsegna A, Piscaglia AC, Lauritano C, Novi ML, Barbaro F, Rinninella E, Campanale C, Giuliente F, Nuzzo G, Alfieri S, Doglietto GB, Cittadini A, Gasbarrini A. Isolation and characterization of CD133+ cell population within human primary and metastatic colon cancer. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2009; 13 Suppl 1: 55-62 [PMID: 19530513]
- 54 Pohl A, El-Khoueiry A, Yang D, Zhang W, Lurje G, Ning Y, Winder T, Hu-Lieskoven S, Iqbal S, Danenberg KD, Kahn M, Teo JL, Shriki J, Stebbing J, Lenz HJ. Pharmacogenetic profiling of CD133 is associated with response rate (RR) and progression-free survival (PFS) in patients with metastatic colorectal cancer (mCRC), treated with bevacizumab-based chemotherapy. *Pharmacogenomics J* 2013; 13: 173-180 [PMID: 22231565 DOI: 10.1038/tpj.2011.61]

- 55 Hansen TF, Christensen Rd, Andersen RF, Garm Spindler KL, Johnsson A, Jakobsen A. The predictive value of single nucleotide polymorphisms in the VEGF system to the efficacy of first-line treatment with bevacizumab plus chemotherapy in patients with metastatic colorectal cancer: results from the Nordic ACT trial. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 715-720 [PMID: 22139032 DOI: 10.1007/s00384-011-1382-6]
- 56 Jain RK. Normalization of tumor vasculature: an emerging concept in antiangiogenic therapy. *Science* 2005; 307: 58-62 [PMID: 15637262]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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



# 括约肌间瘘管结扎术治疗复杂性肛瘘

邓超, 金黑鹰

邓超, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

金黑鹰, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科 江苏省南京市 210001

邓超, 南京中医药大学中医肛肠外科专业在读研究生, 主要从事大肠癌、痔疮、肛瘘、肛裂、慢性便秘、溃疡及克罗恩病等的外科治疗。

作者贡献分布: 本文由邓超与金黑鹰共同完成; 金黑鹰审校。

通讯作者: 金黑鹰, 副主任医师, 210001, 江苏省南京市秦淮区金陵路1号, 江苏省南京市中医药大学第三附属医院肛肠科。jinheiying@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-04-17 修回日期: 2013-07-06

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

## Ligation of intersphincteric fistula tract for treatment of complex anal fistula

Chao Deng, Hei-Ying Jin

Chao Deng, the First Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Hei-Ying Jin, Department of Colorectal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hei-Ying Jin, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Qinhua District, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. jinheiying@yahoo.com.cn

Received: 2013-04-17 Revised: 2013-07-06

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

## Abstract

Ligation of intersphincteric fistula tract (LIFT) is a novel surgical procedure for complex fistula, especially transsphincteric fistula which was first proposed by Thailand doctor Rojanasakul. This sphincter-saving procedure has a high success rate, and more importantly, a very low continence rate. Recent clinical research of LIFT has showed that its efficacy varies greatly. In this article, we will review the recent advances in research on ligation of intersphincteric fistula tract for complex anal fistula.

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

Key Words: Complex fistula; Ligation of intersh-

pincteric fistula tract; Continence rate; Success rate

Deng C, Jin HY. Ligation of intersphincteric fistula tract for treatment of complex anal fistula. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 359-363 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.359>

## 摘要

括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)是治疗复杂性肛瘘,特别是经括约肌肛瘘的新术式。2007年由泰国医生Rojanasakul首次提出,其优势在于早期治愈率高,且肛门失禁率为零,而且完全保留括约肌。近几年来, LIFT手术的临床研究表明其疗效差异较大。本文试对LIFT手术的临床研究现状作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 复杂性肛瘘; 括约肌间瘘管结扎术; 失禁率; 治愈率

**核心提示:** 括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)能较好解决上述问题,但其长期临床疗效还有待研究。本文综述自LIFT术出现以来的相关文献报道,对LIFT术的优势有了初步认识,但目前报道的多为单个中心的小量病例报道,因此需要多中心随机对照研究对LIFT手术的有效性和安全性作出准确的评价。

邓超, 金黑鹰. 括约肌间瘘管结扎术治疗复杂性肛瘘. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 359-363 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/359.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.359>

## 0 引言

肛瘘是肛肠科中一种常见而又十分棘手的疾病,对于大部分简单性肛瘘<sup>[1,2]</sup>,肛瘘切开术即可获效,而对于复杂性肛瘘<sup>[1,2]</sup>而言,则需要更好的处理好治愈、复发与肛门失禁等并发症之间的矛盾<sup>[3]</sup>。传统的瘘管切开术在肛瘘治疗的肛门失禁率在0%-44%<sup>[4,5]</sup>。切割挂线术在治疗肛瘘的肛

## ■背景资料

在治疗复杂性肛瘘手术中,引流挂线肛门失禁率低,但是复发率高,且缺少循证医学的支持,直肠黏膜瓣、纤维蛋白胶和AFP技术治疗肛瘘导致肛门失禁的风险低,但复发率相对较高,且对术者技术要求较高。

## ■同行评议者

薛东波,教授,哈尔滨医科大学附属第一医院

## ■ 研发前沿

括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)作为全括约肌保留手术,其最大的优势在于很大程度上减少术后肛门失禁率,但LIFT术对经括约肌肛瘘的治愈率差异较大,并且LIFT术易于形成括约肌间瘘,且并不能提高直肠黏膜瓣推移术的疗效。此外,除低位经括约肌瘘外,LIFT术对于其他类型肛瘘(如括约肌上瘘、直肠阴道瘘等)的治疗效果如何也缺乏有效数据,无法判断其对各型肛瘘具体疗效。

失禁率较高<sup>[6-9]</sup>,特别是高位复杂性肛瘘<sup>[10,11]</sup>。而在保留括约肌的术式中,生物蛋白胶与传统的切割挂线术相比,其失禁率低<sup>[12,13]</sup>。但是临床报道的治愈率差异很大<sup>[14-16]</sup>。在高位肛瘘中治愈率低<sup>[15-18]</sup>。在长期的随访中其复发率上升<sup>[19,20]</sup>。而肛瘘栓的治愈率在24%-92%<sup>[21,22]</sup>。Soltani等<sup>[23]</sup>进行的一项系统分析认为直肠黏膜推移瓣对肛腺源性肛瘘的治愈率和肛门失禁率为80.8%、13.2%。对于直肠阴道瘘来说,直肠黏膜推移瓣及肛瘘栓的效果也不理想<sup>[22,24-26]</sup>。括约肌间瘘管结扎术(ligation of intersphincteric fistula tract, LIFT)是由泰国医生Rojanasakul等<sup>[27]</sup>2007年首次提出,其原理是肛腺感染是肛瘘发生的始动因素,将括约肌间瘘管结扎后切断了肛腺感染和复发的源头;在手术时切开括约肌间沟、定位括约肌间瘘管、结扎括约肌间瘘管,切除远端瘘管,搔刮外侧瘘管坏死组织,从而切断肛腺感染源头,清除坏死组织以达到治愈肛瘘的效果<sup>[27,28]</sup>。

## 1 LIFT手术的适应证

LIFT手术适应证文献报道最多的是经括约肌肛瘘,在泰国医生Rojanasakul<sup>[27]</sup>首次使用LIFT手术治疗经括约肌肛瘘的研究中,最长随访半年,其治愈率在94.4%。其后的临床研究中,LIFT治疗经括约肌肛瘘、括约肌间肛瘘、括约肌上肛瘘的临床报道中,治愈率存在较大差异<sup>[29,30]</sup>。对于复发性肛瘘、曾接受过肛瘘手术的肛瘘患者,其经LIFT手术后,与初次接受LIFT手术患者相比而言治愈率降低,但是其术后无明显肛门失禁<sup>[29-31]</sup>。对于行LIFT手术失败的患者,对其后的再次手术治疗不会产生负面影响,对于此类患者而言,LIFT手术是相对安全有效的<sup>[29,32]</sup>。

## 2 LIFT手术禁忌证

LIFT术要求肛瘘管道条索清晰明确,急性脓肿和炎症期为禁忌证。非肛腺源性的复杂性肛瘘如克罗恩病引起的肛瘘<sup>[33,34]</sup>,特别是直肠阴道瘘不宜行LIFT术<sup>[35-38]</sup>。一般认为,LIFT手术治疗的复发率在8%-40%,但是没有特别严重的并发症<sup>[30,31,39]</sup>,而且在临床文献报道中,其失禁率几乎为0,2012年,Han等<sup>[31]</sup>报道中,5%出现轻度肛门失禁症状。

## 3 LIFT手术的治疗效果

2007年泰国医生Rojanasakul等<sup>[27]</sup>运用LIFT手术,治疗18例肛瘘患者,随访半年时间,94.4%(17/18)

患者愈合,5.6%(1/18)患者未愈合,平均愈合时间为4 wk,未出现肛门失禁症状,他的报道表明括约肌间肛瘘结扎术治疗经括约肌肛瘘是安全有效的,同时保留了肛门括约肌和肛门功能,而且无肛门失禁症状出现。2010年,Bleier等<sup>[29]</sup>回顾性报道了39例经括约肌肛瘘或括约肌上肛瘘患者经LIFT手术,随访一年半,90%(35/39)随访完全,74%(29/39)患者有手术史,术后20 wk,57%(20/35)患者瘘管完全关闭,术后无肛门失禁症状出现。2010年,Ellis等<sup>[36]</sup>提出了BioLIFT术式,采用生物补片对外瘘管进行填塞,利用生物材料在两瘘管断端间形成一个物理屏障,且该材料具有一定的抗感染能力,无排斥性,能与宿主结构很好融合,从而提高手术的成功率,减少愈合时间,研究涉及31例肛瘘患者,随访至少1年,94%(29/31)患者临床痊愈,其潜在的缺点仍然是操作繁琐,并在括约肌间需进行广泛的游离,且价格昂贵。2011年,Tan等<sup>[30]</sup>回顾性分析了93例肛瘘患者,平均随访23 wk(1-85 wk),其中7例治疗失败,6例复发,平均愈合时间为4 wk,13例未愈合的患者经再次LIFT手术1年后愈合率为78%;7例治疗失败的患者中,4例患者内口未愈,3例为括约肌间的创伤,6例复发的患者中,平均复发时间为LIFT术后22 wk,超声内镜显示内外口间的括约肌间瘘管创伤显著,治疗未愈的患者经过再次的LIFT、肛瘘切开术或者推移瓣手术后均愈合,说明早期未愈的LIFT手术患者可接受再次的手术治疗后得到很好的结果,而且不出现肛门失禁现象。2012年,Mushaya等<sup>[32]</sup>报道了前期经引流挂线患者行LIFT手术的复杂性肛瘘患者(克罗恩病患者除外),并与直肠推移瓣手术进行对比,在引流挂线结束后,25例LIFT手术患者及14例推移瓣手术患者术后6 mo内均未出现复发及脓肿出现,19 mo内,8%(2/25)LIFT手术患者出现复发,7%(1/14)推移瓣手术患者出现复发,7%(1/14)推移瓣手术患者出现轻度肛门失禁。引流挂线后行LIFT手术与推移瓣手术相比在复发率方面无明显差异,但LIFT手术后无肛门失禁。2012年,Abcarian等<sup>[43]</sup>报道了40例不宜行低位肛瘘切开术的经括约肌肛瘘患者,经LIFT手术后平均随访18周,74%患者痊愈,初次接受LIFT手术患者初次治愈率为90%,说明LIFT手术的愈合率与患者的曾经的肛瘘手术史有关。2012年,Han等<sup>[31]</sup>研究了21例经BioLIFT联合肛瘘栓的经括约肌肛瘘患者,术后未见严重并发症,平均随访

表 1 LIFT手术治疗肛瘘的疗效回顾

作者	年份	研究类型	n	分类	术前手术史(%)	愈合率(%)	复发率(%)	失禁率(%)	随访时间
Rojanasakul <sup>[27]</sup>	2007	前瞻性	18	经括约肌肛瘘	n.a	94.4		0	6 mo
Bleier <sup>[29]</sup>	2010	前瞻性	39	经括约肌、括约肌上	74	57		0	20 wk
Ellis <sup>[36]</sup>	2010	回顾性	31	复杂性肛瘘	n.a	94		0	1 yr
Abouljian <sup>[43]</sup>	2011	回顾性	25	高位经括约肌肛瘘	n.a	68		0	24(8-52) wk
Ooi <sup>[44]</sup>	2012	回顾性	25	复杂性肛瘘	40	68	28	0	22(3-43) wk
Sileri <sup>[33]</sup>	2011	前瞻性	18	复杂性肛瘘	n.a	83	17	0	4 mo
Mushaya等 <sup>[32]</sup>	2012	回顾性	25	复杂性肛瘘	n.a	92	8	0	19 mo
Abcarian等 <sup>[41]</sup>	2012	回顾性	40	经括约肌肛瘘	n.a	74		0	18 wk
van Onkelen等 <sup>[40]</sup>	2012	回顾性	22	低位经括约肌肛瘘	n.a	82		0	19.5 mo
Wallin等 <sup>[45]</sup>	2012	回顾性	93	经括约肌肛瘘	32	40		5	19 mo
Han等 <sup>[31]</sup>	2012	回顾性	21	经括约肌肛瘘	n.a	95		0	14(12-15) mo
Lehmann等 <sup>[46]</sup>	2013	回顾性	17	经括约肌肛瘘	100	65	40	0	16(5-27) mo
Liu等 <sup>[42]</sup>	2013	回顾性	38	经括约肌肛瘘	n.a	61		0	26(3-44) mo

n.a: No available.

14 mo, 愈合率为95%(20/21), 5%(1/21)出现轻度肛门失禁, Wexner评分为: 2013年Liu等<sup>[42]</sup>回顾性分析了38例经LIFT手术的肛瘘患者, 平均随访26 mo, 68%(26/38)的患者随访时间长于12 mo, 总体初次愈合率为61%(23/38), 随访12 mo以上患者初次愈合率为62%(16/26); 治疗失败的15例患者中, 80%(12/15)为症状持续或者6 mo内失败, 20%(3/15)为治疗6 mo后失败; 术后无肛门失禁出现, 并且瘘管程度与愈合率成负相关(OR = 0.55, 95%CI: 0.34-0.88,  $P = 0.11$ ). 对于LIFT手术治疗肛瘘的疗效回顾总结如表1.

#### 4 结论

LIFT手术在治疗复杂性肛瘘的结果是较为理想的, 特别是对于瘘管较为清楚的经括约肌肛瘘结果更为理想, 术后发生肛门失禁的可能性较低, 手术简单, 简便易行, 便于推广, 具有较好的应用前景<sup>[23,27]</sup>; 但是目前报道的多为单个中心的小量病例报道, 缺乏较好设计的临床研究, 因此需要多中心的随机对照研究对LIFT手术的有效性和安全性作出准确的评价.

#### 5 参考文献

- 1 Parks AG, Gordon PH, Hardcastle JD. A classification of fistula-in-ano. *Br J Surg* 1976; 63: 1-12 [PMID: 1267867]
- 2 Vasilevsky CA. Anorectal abscess and fistula. In: David E, editor. *The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery*. 2nd ed. New York: Springer, 2011: 219-244
- 3 Whiteford MH, Kilkenney J, Hyman N, Buie WD,

- Cohen J, Orsay C, Dunn G, Perry WB, Ellis CN, Rakinic J, Gregorczyk S, Shellito P, Nelson R, Tjandra JJ, Newstead G. Practice parameters for the treatment of perianal abscess and fistula-in-ano (revised). *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1337-1342 [PMID: 15933794]
- van Koperen PJ, Wind J, Bemelman WA, Bakx R, Reitsma JB, Slors JF. Long-term functional outcome and risk factors for recurrence after surgical treatment for low and high perianal fistulas of cryptoglandular origin. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1475-1481 [PMID: 18626715]
- Cavanaugh M, Hyman N, Osler T. Fecal incontinence severity index after fistulotomy: a predictor of quality of life. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 349-353 [PMID: 12068193]
- Vasilevsky CA, Gordon PH. Results of treatment of fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1985; 28: 225-231 [PMID: 3979223]
- Ritchie RD, Sackier JM, Hodde JP. Incontinence rates after cutting seton treatment for anal fistula. *Colorectal Dis* 2009; 11: 564-571 [PMID: 19175623 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01713.x]
- Isbister WH, Al Sanea N. The cutting seton: an experience at King Faisal Specialist Hospital. *Dis Colon Rectum* 2001; 44: 722-727 [PMID: 11357036]
- Hämäläinen KP, Sainio AP. Cutting seton for anal fistulas: high risk of minor control defects. *Dis Colon Rectum* 1997; 40: 1443-1446; discussion 1447 [PMID: 9407983]
- Parks AG, Stitz RW. The treatment of high fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 1976; 19: 487-499 [PMID: 964106]
- Van Tets WF, Kuijpers JH. Seton treatment of perianal fistula with high anal or rectal opening. *Br J Surg* 1995; 82: 895-897 [PMID: 7648099]
- Sentovich SM. Fibrin glue for all anal fistulas. *J Gastrointest Surg* 2001; 5: 158-161 [PMID: 11331478]
- Lindsey I, Smilgin-Humphreys MM, Cunningham C, Mortensen NJ, George BD. A randomized, controlled trial of fibrin glue vs. conventional treatment for anal fistula. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 1608-1615

#### ■ 相关报道

2007年泰国学者Rojanasakul等设计了经括约肌间瘘管结扎术(LIFT)治疗肛瘘, 这种手术方法为全括约肌保留术式, 经初步临床观察, 治愈率为94.4%, 且无肛门功能受损症状. LIFT术受到众多学者的广泛关注, 近年来国外许多学者采用这种方法进行肛瘘治疗, 但疗效差异较大, 复发原因不明, 对LIFT适应证也存在一定的争议.



## ■创新盘点

LIFT术的设计思路是将括约肌间处的瘻管结扎切除, 这样不仅关闭了粪便残渣进入肛痿的通道, 而且也消除了括约肌间的感染源。从括约肌间沟入手进行操作, 对肛门内外括约肌都没有损失, 从而保护肛门功能。

- [PMID: 12473883]
- 14 Adams T, Yang J, Kondylis LA, Kondylis PD. Long-term outlook after successful fibrin glue ablation of cryptoglandular transsphincteric fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2008; 51: 1488-1490 [PMID: 18612689 DOI: 10.1007/s10350-008-9405-2]
  - 15 Patrlj L, Kocman B, Martinac M, Jadrijevic S, Sosa T, Sebecic B, Brkljacic B. Fibrin glue-antibiotic mixture in the treatment of anal fistulae: experience with 69 cases. *Dig Surg* 2000; 17: 77-80 [PMID: 10720836]
  - 16 Dietz DW. Role of fibrin glue in the management of simple and complex fistula in ano. *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 631-632 [PMID: 16773756]
  - 17 Zmora O, Neufeld D, Ziv Y, Tulchinsky H, Scott D, Khaikin M, Stepansky A, Rabau M, Koller M. Prospective, multicenter evaluation of highly concentrated fibrin glue in the treatment of complex cryptogenic perianal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 2167-2172 [PMID: 16258708]
  - 18 Witte ME, Klaase JM, Gerritsen JJ, Kummer EW. Fibrin glue treatment for simple and complex anal fistulas. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1071-1073 [PMID: 17629041]
  - 19 Sentovich SM. Fibrin glue for anal fistulas: long-term results. *Dis Colon Rectum* 2003; 46: 498-502 [PMID: 12682544]
  - 20 Cintron JR, Park JJ, Orsay CP, Pearl RK, Nelson RL, Sone JH, Song R, Abcarian H. Repair of fistulas-in-ano using fibrin adhesive: long-term follow-up. *Dis Colon Rectum* 2000; 43: 944-949; discussion 944-949 [PMID: 10910240]
  - 21 Garg P, Song J, Bhatia A, Kalia H, Menon GR. The efficacy of anal fistula plug in fistula-in-ano: a systematic review. *Colorectal Dis* 2010; 12: 965-970 [PMID: 19438881 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2009.01933.x]
  - 22 O'Connor L, Champagne BJ, Ferguson MA, Oran-gio GR, Schertzer ME, Armstrong DN. Efficacy of anal fistula plug in closure of Crohn's anorectal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1569-1573 [PMID: 16998638]
  - 23 Soltani A, Kaiser AM. Endorectal advancement flap for cryptoglandular or Crohn's fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 486-495 [PMID: 20305451 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181ce8b01]
  - 24 Ruffolo C, Scarpa M, Bassi N, Angriman I. A systematic review on advancement flaps for rectovaginal fistula in Crohn's disease: transrectal vs transvaginal approach. *Colorectal Dis* 2010; 12: 1183-1191 [PMID: 19674019 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2009.02029.x]
  - 25 Zhu YF, Tao GQ, Zhou N, Xiang C. Current treatment of rectovaginal fistula in Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 963-967 [PMID: 21448347 DOI: 10.3748/wjg.v17.i8.963]
  - 26 Hannaway CD, Hull TL. Current considerations in the management of rectovaginal fistula from Crohn's disease. *Colorectal Dis* 2008; 10: 747-755; discussion 755-756 [PMID: 18462243 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2008.01552.x]
  - 27 Rojanasakul A, Pattanaarun J, Sahakitrungruang C, Tantiphlachiva K. Total anal sphincter saving technique for fistula-in-ano; the ligation of intersphincteric fistula tract. *J Med Assoc Thai* 2007; 90: 581-586 [PMID: 17427539]
  - 28 Rojanasakul A. LIFT procedure: a simplified technique for fistula-in-ano. *Tech Coloproctol* 2009; 13: 237-240 [PMID: 19636496 DOI: 10.1007/s10151-009-0522-2]
  - 29 Bleier JL, Moloo H, Goldberg SM. Ligation of the intersphincteric fistula tract: an effective new technique for complex fistulas. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 43-46 [PMID: 20010349 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181bb869f]
  - 30 Tan KK, Tan IJ, Lim FS, Koh DC, Tsang CB. The anatomy of failures following the ligation of intersphincteric tract technique for anal fistula: a review of 93 patients over 4 years. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 1368-1372 [PMID: 21979180 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31822bb55e]
  - 31 Han JG, Yi BQ, Wang ZJ, Zheng Y, Cui JJ, Yu XQ, Zhao BC, Yang XQ. Ligation of the intersphincteric fistula tract plus a bioprosthetic anal fistula plug (LIFT-Plug): a new technique for fistula-in-ano. *Colorectal Dis* 2013; 15: 582-586 [PMID: 23067044 DOI: 10.1111/codi.12062]
  - 32 Mushaya C, Bartlett L, Schulze B, Ho YH. Ligation of intersphincteric fistula tract compared with advancement flap for complex anorectal fistulas requiring initial seton drainage. *Am J Surg* 2012; 204: 283-289 [PMID: 22609079 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.10.025]
  - 33 Sileri P, Franceschilli L, Angelucci GP, D'Ugo S, Milito G, Cadeddu F, Selvaggio I, Lazzaro S, Gaspari AL. Ligation of the intersphincteric fistula tract (LIFT) to treat anal fistula: early results from a prospective observational study. *Tech Coloproctol* 2011; 15: 413-416 [PMID: 22076690 DOI: 10.1007/s10151-011-0779-0]
  - 34 Penninckx F, Moneghini D, D'Hoore A, Wyndaele J, Coremans G, Rutgeerts P. Success and failure after repair of rectovaginal fistula in Crohn's disease: analysis of prognostic factors. *Colorectal Dis* 2001; 3: 406-411 [PMID: 12790939 DOI: 10.1046/j.1463-1318.2001.00274.x]
  - 35 Andreani SM, Dang HH, Grondona P, Khan AZ, Edwards DP. Rectovaginal fistula in Crohn's disease. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 2215-2222 [PMID: 17846837 DOI: 10.1007/s10350-007-9057-7]
  - 36 Ellis CN. Outcomes with the use of bioprosthetic grafts to reinforce the ligation of the intersphincteric fistula tract (BioLIFT procedure) for the management of complex anal fistulas. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1361-1364 [PMID: 20847616 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181ec4470]
  - 37 Pajares JA, Hernández L, Menchén P, Menchén L. Duodenopancreatic fistula complicating upper gastrointestinal Crohn's disease: successful treatment with infliximab. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 1863-1864 [PMID: 19436276 DOI: 10.1038/ajg.2009.180]
  - 38 Musaev KhN. [Surgical treatment of rectovaginal fistulae]. *Khirurgiia* (Mosk) 2009; (9): 55-58 [PMID: 19770825]
  - 39 Löffler T, Welsch T, Mühl S, Hinz U, Schmidt J, Kienle P. Long-term success rate after surgical treatment of anorectal and rectovaginal fistulas in Crohn's disease. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 521-526 [PMID: 19172284 DOI: 10.1007/s00384-009-0638-x]
  - 40 van Onkelen RS, Gosselink MP, Schouten WR. Ligation of the intersphincteric fistula tract in low transsphincteric fistulae: a new technique to avoid fistulotomy. *Colorectal Dis* 2013; 15: 587-591 [PMID: 22974372 DOI: 10.1111/codi.12030]
  - 41 Abcarian AM, Estrada JJ, Park J, Corning C,

- Chaudhry V, Cintron J, Prasad L, Abcarian H. Ligation of intersphincteric fistula tract: early results of a pilot study. *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 778-782 [PMID: 22706130 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318255ae8a]
- 42 Liu WY, Aboulian A, Kaji AH, Kumar RR. Long-term results of ligation of intersphincteric fistula tract (LIFT) for fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 343-347 [PMID: 23392149 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318278164c]
- 43 Aboulian A, Kaji AH, Kumar RR. Early result of ligation of the intersphincteric fistula tract for fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 289-292 [PMID: 21304298 DOI: 10.1007/DCR.0b013e318203495d]
- 44 Ooi K, Skinner I, Croxford M, Faragher I, McLaughlin S. Managing fistula-in-ano with ligation of the intersphincteric fistula tract procedure: the Western Hospital experience. *Colorectal Dis* 2012; 14: 599-603 [PMID: 21831102 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2011.02723.x]
- 45 Wallin UG, Mellgren AF, Madoff RD, Goldberg SM. Does ligation of the intersphincteric fistula tract raise the bar in fistula surgery? *Dis Colon Rectum* 2012; 55: 1173-1178 [PMID: 23044679 DOI: 10.1097/DCR.0b013e318266edf3]
- 46 Lehmann JP, Graf W. Efficacy of LIFT for recurrent anal fistula. *Colorectal Dis* 2013; 15: 592-595 [PMID: 23320466 DOI: 10.1111/codi.12104]

## ■同行评价

本文举例充分, 具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 健脾解毒方对人结肠癌HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤的作用及Caspase3表达的影响

张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽

## ■背景资料

在西方国家, 结肠癌无论发病率或死亡率均排列第3位, 2009年我国肿瘤登记地区恶性肿瘤中, 结肠癌的发病率位居第3位, 死亡率位居第5位, 中药治疗具有增加放、化疗疗效及减轻其不良反应的优势, 受到越来越多的重视。

张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽, 上海中医药大学附属普陀医院中医肿瘤科 上海市 200062

张瑞娟, 主治医师, 主要从事中医药治疗肿瘤的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81073105

上海市科学技术委员会基金资助项目, No. 10ZR1427300

作者贡献分布: 此课题由范忠泽与许建华设计; 研究过程由张瑞娟操作完成; 研究所用试剂及分析工具由孙珏与赵成根提供; 数据分析由张瑞娟与余倩云完成; 本论文写作由张瑞娟与余倩云完成。

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

ptyutcm@163.com

电话: 021-22233902

收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-11-23

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Effects of Jianpi Jiedu decoction on tumor growth and Caspase3 expression in HCT116/L-OHP colon cancer xenografts in nude mice

Rui-Juan Zhang, Qian-Yun Yu, Jian-Hua Xu, Jue Sun, Cheng-Gen Zhao, Zhong-Ze Fan

Rui-Juan Zhang, Qian-Yun Yu, Jian-Hua Xu, Jue Sun, Cheng-Gen Zhao, Zhong-Ze Fan, Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200062, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81073105; and the Shanghai Science and Technology Committee Funded Projects, No.10ZR1427300

Correspondence to: Zhong-Ze Fan, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Putuo Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 164 Lanxi Road, Shanghai 200062, China. ptyutcm@163.com

Received: 2013-11-05 Revised: 2013-11-23

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To observe whether Jianpi Jiedu decoction and oxaliplatin (L-OHP) have a synergistic effect on human colon cancer HCT116/L-OHP xenografts in nude mice and to explore the underlying mechanism.

**METHODS:** A xenograft tumor model was established using L-OHP-resistant human colon cancer HCT116 cells in nude mice. Mice were randomly divided into a control group, a L-OHP

group, a Jianpi Jiedu decoction group, a low dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group, and a high dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group. During the treatment process, the long and short diameters of tumors were measured to calculate tumor volume according to the formula and depict tumor growth curve. After treatment, the tumor weight was measured to calculate tumor inhibition rate and tumor weight inhibition rate. The expression level of Caspase 3 in tumor xenografts was detected using immunohistochemistry and Western blot.

**RESULTS:** Tumor volume and tumor weight were significantly lower in the high dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group ( $995.54 \text{ mm}^3 \pm 87.26 \text{ mm}^3$ ;  $0.85 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$ ) and low dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group ( $1318.32 \text{ mm}^3 \pm 100.68 \text{ mm}^3$ ;  $1.06 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}$ ) than in the Jianpi Jiedu decoction group ( $1967.83 \text{ mm}^3 \pm 178.83 \text{ mm}^3$ ;  $1.71 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$ ) and L-OHP group ( $1698.46 \text{ mm}^3 \pm 147.61 \text{ mm}^3$ ;  $1.56 \text{ g} \pm 0.12 \text{ g}$ ) ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Tumor inhibition rate and tumor weight inhibition rate were significantly higher in the high dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group (55.63%; 56.85%) and low dose Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP group (41.25%; 46.19%) than in the Jianpi Jiedu decoction group (12.30%; 13.20%) and L-OHP group (24.31%; 20.81%) ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP significantly increased the expression of Caspase3 protein in tumor xenografts in nude mice compared to other groups ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Jianpi Jiedu decoction plus L-OHP can inhibit tumor growth of xenografts in nude mice and increase the efficacy of L-OHP possibly by up-regulating the expression of Caspase 3 to promote apoptosis.

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

**Key Words:** Jianpi Jiedu decoction; Colon carcinoma; Apoptosis; Caspase3

## ■同行评议者

李康, 教授, 广东药学院药科学院药物分析教研室



Zhang RJ, Yu QY, Xu JH, Sun J, Zhao CG, Fan ZZ. Effects of Jianpi Jiedu decoction on tumor growth and Caspase3 expression in HCT116/L-OHP colon cancer xenografts in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 364-370 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/364.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.364>

## 摘要

**目的:** 观察中药健脾解毒方对人结肠癌HCT116/奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)裸鼠皮下移植瘤化疗的增效作用, 初步探讨其增效的作用机制。

**方法:** 建立人结肠癌耐奥沙利铂细胞株HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤模型, 随机分为空白组、奥沙利铂组、健脾解毒方组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。治疗中测量肿瘤的长径和短径, 根据公式计算瘤体体积, 描绘瘤体生长曲线, 治疗结束后称取瘤质量, 公式计算瘤体抑制率和瘤质量抑制率; 免疫组织化学, Western blot技术检测皮下移植瘤Caspase3的表达。

**结果:** 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量( $995.54 \text{ mm}^3 \pm 87.26 \text{ mm}^3$ ;  $0.85 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$ )及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量( $1318.32 \text{ mm}^3 \pm 100.68 \text{ mm}^3$ ;  $1.06 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}$ )明显低于单用健脾解毒方组( $1967.83 \text{ mm}^3 \pm 178.83 \text{ mm}^3$ ;  $1.71 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$ )或奥沙利铂组( $1698.46 \text{ mm}^3 \pm 147.61 \text{ mm}^3$ ;  $1.56 \text{ g} \pm 0.12 \text{ g}$ ), 有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ); 同时健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(55.63%; 56.85%)及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(41.25%; 46.19%)明显高于单用健脾解毒方组(12.30%; 13.20%)或奥沙利铂组(24.31%; 20.81%), 有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ ); 健脾解毒方联合奥沙利铂组均可上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达, 有统计学意义( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。

**结论:** 健脾解毒方联合奥沙利铂能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的生长, 增加奥沙利铂的疗效, 其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 健脾解毒方; 结肠癌; 凋亡; 半胱天冬酶3

**核心提示:** 健脾解毒方具有益气健脾、理气解毒之功效, 长期用于胃癌、大肠癌的治疗, 具有改

善患者临床症状、提高生活质量的作用, 本实验显示健脾解毒方联合奥沙利铂能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的生长, 增加奥沙利铂的疗效, 其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡有关。

张瑞娟, 余倩云, 许建华, 孙珏, 赵成根, 范忠泽. 健脾解毒方对人结肠癌HCT116/L-OHP裸鼠皮下移植瘤的作用及Caspase3表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 364-370 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/364.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.364>

## 0 引言

在西方国家, 结直肠癌无论发病率或死亡率均排列第3位, 男性发病率和死亡率仅次于前列腺癌和肺癌, 女性发病率和死亡率仅次于乳腺癌和肺癌<sup>[1]</sup>。2009年我国肿瘤登记地区恶性肿瘤中, 结直肠癌的发病率位居第3位, 死亡率位居第5位<sup>[2]</sup>。目前治疗方式有手术、化疗、放疗、靶向治疗、基因治疗、中药治疗等, 中药治疗具有增加放、化疗疗效及减轻其不良反应的优势<sup>[3]</sup>。健脾解毒方具有益气健脾、理气解毒之功效, 长期用于胃癌、大肠癌的治疗, 具有改善患者临床症状、提高生活质量的作用<sup>[4,5]</sup>。本实验建立人结肠癌耐奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)细胞株HCT116/L-OHP的皮下移植瘤模型, 观察健脾解毒方联合奥沙利铂对瘤体的影响, 为进一步明确其疗效和作用机制提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结肠癌耐奥沙利铂细胞株HCT116/L-OHP为实验室本课题组前期自行诱导, 培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养液(含青霉素、链霉素各100 U/mL)中, 37%、50 mL/L CO<sub>2</sub>饱和湿度培养箱中常规培养, 培养体系中加入终浓度为5 μg/mL的L-OHP以维持耐药性, 实验在停用L-OHP培养2 wk后取处于对数生长期的细胞经MTT法检测, 对L-OHP的耐药倍数达8.15倍。♂, Balb/c裸小鼠60只, 4-6周龄, 购自上海西普尔-必凯实验动物有限公司, 动物许可证号为: SCXK(沪): 2008-0016。常规饲养于上海中医药大学附属普陀医院SPF级动物实验室[动物实验室许可证号: SYXK(沪)2008-0055]。二氧化碳恒温培养箱(CELL240型), 德国贺利氏公司; 倒置显微镜, 日本Olympus公司; 眼科剪、眼科弯镊, 上海器材厂; 950 mL/L乙醇(分析纯), 上海振兴化工厂; 奥沙利铂, 江苏恒瑞医药股份有限公司;

## ■ 研发前沿

Caspase3是Caspase家族成员中的关键效应酶, 是细胞凋亡的执行蛋白。近年来, Caspase3与结直肠癌的发病关系引起许多学者的高度重视, 同时健脾解毒方治疗结直肠癌的作用机制是否与调控Caspase3有关, 这些都是目前亟待解决的课题。

## ■相关报道

曾浩然等发现,在正常结肠黏膜、结肠腺瘤及结肠癌组织中,Caspase3的表达阳性率依次降低,说明Caspase3表达缺失在正常结肠黏膜异常增生及癌变的过程中发挥着作用。Larmouret等对结肠癌组织Caspase3研究显示,其表达缺失同结肠癌的分化程度相关。

甲醇(分析纯),上海振兴化工厂;EDTA, Sigma公司;Caspase3多克隆抗体, Proteintech Group; 辣根过氧化物酶标记山羊抗兔IgG(H+L), 上海博谷生物科技有限公司。健脾解毒方由生黄芪30 g、党参15 g、生白术15 g、八月札24 g、薏苡仁30 g、野葡萄藤30 g、红藤30 g、猪苓24 g, 由上海中医药大学中药学院水提制备浸膏粉, 1 g浸膏粉含生药6.06 g, 本实验体内给药根据人与小鼠等效剂量换算公式<sup>[6]</sup>, 健脾解毒方低剂量组为6.71 g/kg, 健脾解毒方高剂量组为13.42 g/kg。

## 1.2 方法

1.2.1 皮下移植瘤的建立: 取对数生长期HCT116/L-OHP细胞, 将细胞用0.25%胰蛋白酶(trypsin)消化后收集到离心管中, 然后用磷酸缓冲液(PBS)分别制成浓度为 $2 \times 10^6$ /mL的细胞悬液。取4-6周龄 $\delta$ , Balb/c, 裸鼠6只, 体重 $20 \pm 2$  g。常规消毒裸鼠右前肢的腋部皮下, 用1 mL微量注射器及23号针头吸取HCT116/L-OHP单细胞悬液, 确定针头位于裸小鼠右前肢的腋部皮下后, 注入0.2 mL制备好的单细胞悬液, 术毕酒精棉球压迫穿刺点半分钟, 隔离鼠笼内SPF条件下, 恒温恒湿饲养。经过12-20 d, 待皮下肿瘤生长至直径约100-200 mm左右, 选择肿瘤生长旺盛且无破溃的荷瘤鼠, 作为供瘤鼠, 脱颈椎处死, 皮肤予1%碘伏、750 mL/L乙醇消毒, 小心用眼科剪剪开皮肤, 沿移植瘤包膜小心剥离皮下肿瘤组织, 将剥离的移植瘤块于无菌条件下, 生理盐水冲洗表面的血污, 去除坏死组织和纤维组织, 将瘤体剪碎至 $1 \text{ mm}^3$ 大小的组织块, 在超净工作台下用20号套管针接种于裸小鼠右侧前肢腋部皮下。

1.2.2 分组及给药方式: 当肿瘤生长至 $150-300 \text{ mm}^3$ 左右时, 选择瘤体生长良好、无自发出血坏死、瘤周无感染病灶的荷瘤鼠50只为实验模型, 分别将上述造模裸鼠随机分为5组, 每组10只, 分别是: A: 空白组: 腹腔注射蒸馏水, 每周一、三、五各1次; 生理盐水灌胃, 每周一、二、三、四、五各1次; B: 奥沙利铂组: 腹腔注射奥沙利铂5 mg/kg, 每周一、三、五各1次; 生理盐水灌胃, 每周一、二、三、四、五各1次; C: 健脾解毒方组: 健脾解毒方高剂量13.42 g/kg灌胃, 每周一、二、三、四、五各1次; 腹腔注射蒸馏水, 每周一、三、五各1次; D: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组: 健脾解毒方低剂量6.71 g/kg灌胃, 每周一、二、三、四、五各1次; 腹腔注射奥沙利铂5 mg/kg, 每周一、三、五各1次; E: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组: 健脾解毒

毒方高剂量13.42 g/kg灌胃, 每周一、二、三、四、五各1次; 腹腔注射奥沙利铂5 mg/kg, 每周一、三、五各1次。各组给药时间均为4 wk。

1.2.3 肿瘤瘤体抑制率计算: 从接种瘤体第1周开始用游标卡尺测量肿瘤体积, 描绘各组肿瘤生长曲线及计算瘤体抑制率。肿瘤体积 $V = 1/2ab^2$ (a、b分别表示肿瘤的长径和短径); 肿瘤瘤体抑制率 = [(对照组平均瘤体体积-给药组平均瘤体体积)/对照组平均瘤体体积]  $\times 100\%$ 。

1.2.4 肿瘤瘤质量抑制率计算: 治疗结束后处死裸小鼠, 迅速剥离瘤体, 称取瘤质量, 计算肿瘤瘤质量抑制率。肿瘤瘤质量抑制率 = [(对照组平均瘤质量-给药组平均瘤质量)/对照组平均瘤质量]  $\times 100\%$ 。

1.2.5 免疫组织化学SP法检测皮下移植瘤Caspase3的表达: 移植瘤组织经甲醛固定, 石蜡包埋, 4  $\mu\text{m}$ 厚连续切片。每例标本切片3张用于免疫组织化学染色, 免疫组织化学采用链霉素抗生物素蛋白-过氧化物酶(SP)法。Caspase3免疫组织化学染色阳性判断标准: 背景清亮, 细胞质或/和细胞核着棕黄色颗粒者为阳性细胞。免疫组织化学阳性细胞阳性度强弱用Image Proplus 6.0数码医学图像分析系统定量分析测定, 每张切片在200倍光镜下随机观察3个具有代表性的视野, 避开非特异性染色区, 以积分光密度值(IA/AREA)来表示。

1.2.6 Western blot方法检测Caspase3的表达: 皮下移植瘤组织称重后, 细胞裂解液(1 mL裂解液中加入PMSF 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , 蛋白酶抑制剂5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ , DTT 5  $\mu\text{L}/\text{mL}$ )抽提细胞总蛋白, 采用试剂盒进行蛋白的定量。制备10%SDS聚丙烯酰胺凝胶, 待胶凝固后, 上样加至分离胶孔中, 边缘孔加入Marker, 电泳, 半干转膜, 转好的膜放入封闭液中封闭, 加入一抗, 孵育过夜, 洗膜, 二抗孵育2 h, 洗膜, 显色, 用凝胶成像系统记录结果。Western blot蛋白定量分析用Image J图像处理软件分析测定, 以目标A值与内参A值的比值来表示。

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计学软件进行统计学分析, 各组数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 方差齐性检验后, 采用单因素方差分析, 组间两两比较采用SNK-*q*检验, 检验标准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤体积和瘤体抑制率的影响 各组随着时间的延长, 肿瘤体积

表 1 各组裸鼠给药前后瘤体体积及瘤体抑制率比较 ( $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	给药前(mm <sup>3</sup> )	给药后(mm <sup>3</sup> )	瘤体抑制率(%)
空白组	210.78 $\pm$ 20.12	2243.88 $\pm$ 200.52 <sup>df</sup>	—
奥沙利铂组	208.16 $\pm$ 19.23	1698.46 $\pm$ 147.61 <sup>bf</sup>	24.31
健脾解毒方组	198.52 $\pm$ 16.40	1967.83 $\pm$ 178.83 <sup>cf</sup>	12.30
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	209.71 $\pm$ 12.98	1318.32 $\pm$ 100.68 <sup>bce</sup>	41.25
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	212.56 $\pm$ 19.34	995.54 $\pm$ 87.26 <sup>bd</sup>	55.63

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 奥沙利铂组; <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

表 2 各组裸鼠给药后瘤体质量及瘤体质量抑制率比较 ( $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	瘤质量(g)	瘤质量抑制率(%)
空白组	1.97 $\pm$ 0.09 <sup>df</sup>	—
奥沙利铂组	1.56 $\pm$ 0.12 <sup>bf</sup>	20.81
健脾解毒方组	1.71 $\pm$ 0.11 <sup>bf</sup>	13.20
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	1.06 $\pm$ 0.07 <sup>bde</sup>	46.19
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	0.85 $\pm$ 0.06 <sup>bd</sup>	56.85

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 空白组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 奥沙利铂组; <sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

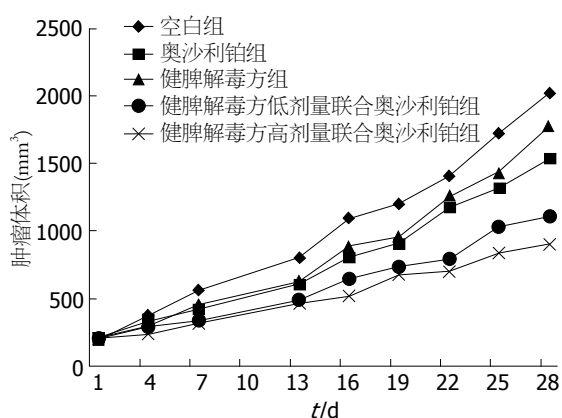


图 1 各组裸鼠瘤体体积的生长曲线。

均增加, 但治疗结束后, 肿瘤体积由大到小为: 空白组、健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组; 瘤体抑制率由高到低为: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、奥沙利铂组、健脾解毒方组, 提示健脾解毒方能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的生长, 并且联合用药可以增加L-OHP的疗效(表1, 图1)。

2.2 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤质量及瘤质量抑制率的影响 各组裸鼠皮下移植瘤瘤质量由

大到小为: 空白组、健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组; 瘤质量抑制率由高到低为: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、奥沙利铂组、健脾解毒方组, 提示健脾解毒方能抑制裸鼠结肠癌皮下移植瘤的瘤质量, 并且联合用药可以增加L-OHP的疗效(表2)。

### 2.3 健脾解毒方对裸鼠皮下移植瘤Caspase3的影响

2.3.1 免疫组织化学结果显示: 免疫组织化学结果显示健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达均高于空白组; 而健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组和健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组Caspase3蛋白的表达均高于L-OHP组, 提示健脾解毒方可以上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达, 通过协同L-OHP促进细胞凋亡而增加疗效(表3, 图2)。

2.3.2 Western blot结果: 结果显示健脾解毒方组、奥沙利铂组、健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组、健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达均高于空白组; 而健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组和健脾解毒

### ■创新盘点

本实验采用结肠癌Oxaliplatin(L-OHP)耐药细胞HCT116/L-OHP建立裸鼠皮下移植瘤模型, 观察中药健脾解毒方对人结肠癌裸鼠皮下移植瘤化疗的增效作用及对Caspase3蛋白的影响, 初步探讨其增效的作用机制。



## ■应用要点

本研究证实健脾解毒方可协同L-OHP增加疗效,其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡,本实验为中药治疗肿瘤的作用机制提供实验理论依据。

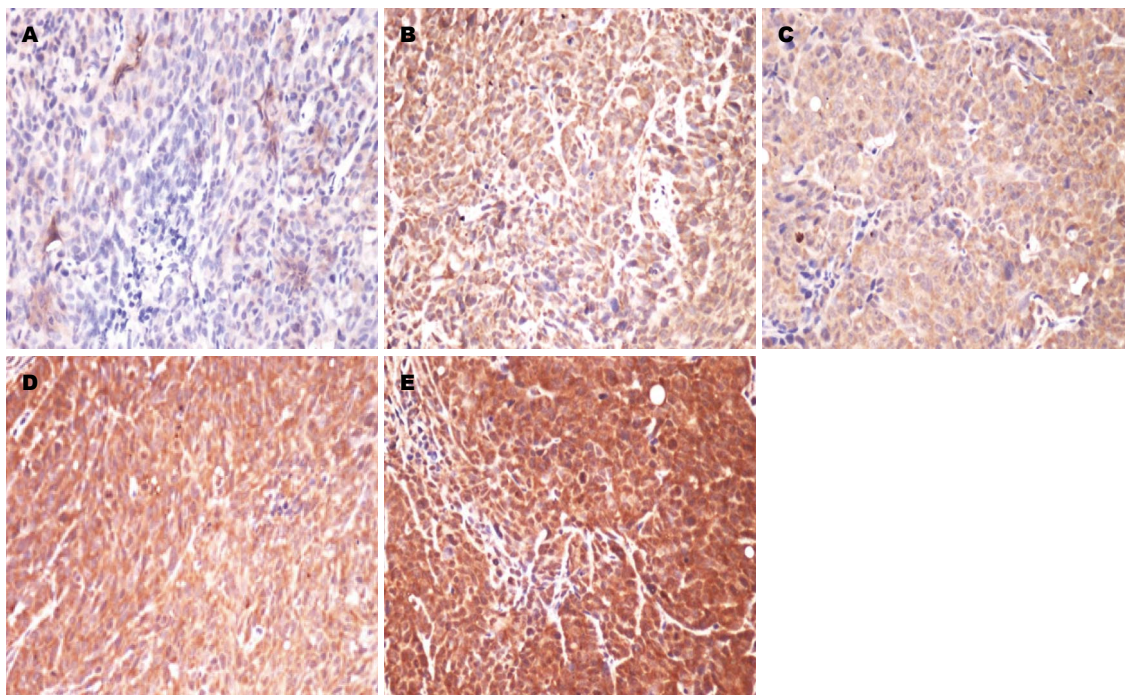


图2 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达(SP法×200)。A: 空白组; B: 奥沙利铂组; C: 健脾解毒方组; D: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组; E: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

表3 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达 (SP法×200)

分组	积分光密度值(I4/AREA)
空白组	0.00003300 ± 0.000002008 <sup>df</sup>
奥沙利铂组	0.06104333 ± 0.006085834 <sup>bf</sup>
健脾解毒方组	0.03190767 ± 0.000733508 <sup>acf</sup>
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	0.09773533 ± 0.004860125 <sup>bce</sup>
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	0.12683300 ± 0.036383126 <sup>bd</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 空白组; <sup>c</sup>*P*<0.05, <sup>d</sup>*P*<0.01 vs 奥沙利铂组; <sup>e</sup>*P*<0.05, <sup>f</sup>*P*<0.01 vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

表4 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达 (Western blot)

分组	蛋白相对表达量
空白组	0.498849 ± 0.03 <sup>df</sup>
奥沙利铂组	0.6741536 ± 0.04 <sup>bf</sup>
健脾解毒方组	0.6352034 ± 0.03 <sup>af</sup>
健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组	1.219087 ± 0.08 <sup>bde</sup>
健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组	1.378966 ± 0.1 <sup>bd</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05, <sup>b</sup>*P*<0.01 vs 空白组; <sup>c</sup>*P*<0.01 vs 奥沙利铂组; <sup>e</sup>*P*<0.05, <sup>f</sup>*P*<0.01 vs 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

方高剂量联合奥沙利铂组Caspase3蛋白的表达均高于L-OHP组,提示健脾解毒方可以上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达,通过协同L-OHP促进细胞凋亡而增加疗效(表4,图3,4)。

### 3 讨论

近年来,我国结直肠癌的发病率逐年升高,结直肠癌的5年生存率一直徘徊在50%左右,手术后仍有40%-50%患者出现复发转移,化疗就

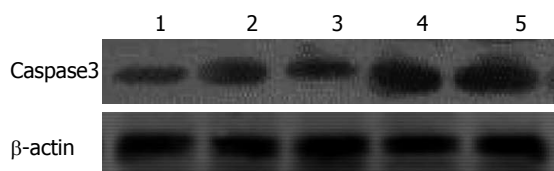


图3 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达(Western blot). 1: 空白组; 2: 奥沙利铂组; 3: 健脾解毒方组; 4: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组; 5: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

成为治疗结直肠癌的主要手段<sup>[7]</sup>。奥沙利铂是继卡铂、顺铂后的第3代铂类抗肿瘤药, 2012年美国国家综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)肿瘤学临床实践指南仍指出奥沙利铂是目前治疗结肠癌化疗的标准药物<sup>[8]</sup>。健脾解毒方由生黄芪、党参、生白术、八月札、薏苡仁、野葡萄藤、红藤、猪苓组成, 全方具有健脾理气、燥湿解毒之功, 临床应用健脾解毒方对晚期结直肠癌以L-OHP联合5-氟尿嘧啶(5-Fu)、甲酰四氢叶酸钙(CF)的FOLF-FOX4方案化疗有增加近期疗效, 提高生活质量, 减少不良反应的作用, 对化疗取得部分缓解的患者有延长中位生存期的作用, 研究组的中位生存期为13.6 mo, 而对照组为10.2 mo( $P<0.05$ ); 研究组的1年生存率也优于对照组, 分别为80.9%和50.0%( $P<0.05$ )<sup>[4]</sup>。

Caspase3是属于半胱氨酸蛋白酶家族成员, 在1994年由Fernandez-Ahemri等在Jurkat T细胞系克隆到的一种编码分子量为32 kDa的半胱氨酸蛋白酶而称之为CPP32(cysteine protease protein 32)基因, 在1996年被命名为Caspase3<sup>[9]</sup>。Caspase家族蛋白酶的激活在细胞凋亡过程中起着重要作用, 而Caspase3是Caspase家族成员中的关键效应酶, 他是细胞凋亡的执行蛋白, 因此与细胞凋亡关系十分密切, 参与多种因素诱导的细胞凋亡。细胞凋亡现象的发生可以通过细胞外途径接受细胞外环境中肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)、Fas等细胞凋亡信号的激活, 使线粒体释放细胞色素C, 或直接作用Caspase3引起细胞凋亡级联反应诱导凋亡, 或者细胞内的死亡信号, 如DNA损伤、三磷酸腺苷(adenosine triphosphate, ATP)耗竭等均可导致线粒体释放细胞色素C, 与半胱天冬酶9(Caspase9)酶原结合形成凋亡复合物, Caspase9被激活, 激活下游的Caspase3使细胞凋亡<sup>[10,11]</sup>。Caspase3广泛表达于正常人体组织及肺癌、胃癌、大肠癌、壶腹癌、乳腺癌等多种肿瘤组织中<sup>[12-16]</sup>。有研究发现, 在

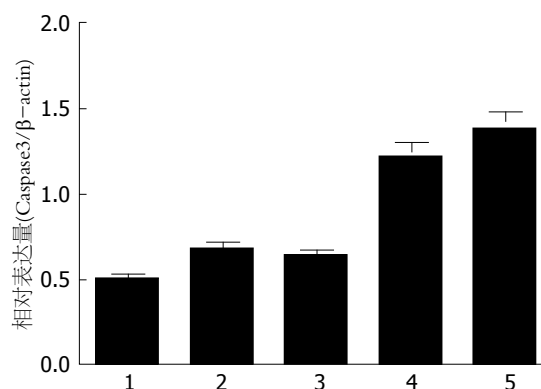


图4 各组裸鼠皮下移植瘤Caspase3蛋白表达(Western blot). 1: 空白组; 2: 奥沙利铂组; 3: 健脾解毒方组; 4: 健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组; 5: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组。

#### ■同行评价

本研究采用健脾解毒方治疗结直肠癌并取得一定进展, 具有一定的理论和临床应用价值。

正常结肠黏膜、结肠腺瘤及结肠癌组织中, Caspase3的表达阳性率依次降低, 说明Caspase3表达缺失在正常结肠黏膜异常增生及癌变的过程中发挥着重要作用<sup>[17,18]</sup>。并且通过对结肠癌组织Caspase3蛋白表达研究显示, Caspase3蛋白的表达缺失同结肠癌的分化程度相关<sup>[19]</sup>。

本实验应用健脾解毒方联合L-OHP对裸鼠人结肠癌耐L-OHP细胞HCT116/L-OHP的皮下移植瘤模型给予干预处理, 结果表明: 健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量( $995.54 \text{ mm}^3 \pm 87.26 \text{ mm}^3$ ;  $0.85 \text{ g} \pm 0.06 \text{ g}$ )及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体体积和瘤质量( $1318.32 \text{ mm}^3 \pm 100.68 \text{ mm}^3$ ;  $1.06 \text{ g} \pm 0.07 \text{ g}$ )明显低于单用健脾解毒方组( $1967.83 \text{ mm}^3 \pm 178.83 \text{ mm}^3$ ;  $1.71 \text{ g} \pm 0.11 \text{ g}$ )或奥沙利铂组( $1698.46 \text{ mm}^3 \pm 147.61 \text{ mm}^3$ ;  $1.56 \text{ g} \pm 0.12 \text{ g}$ ), 有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ); 同时健脾解毒方高剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(55.63%; 56.85%)及健脾解毒方低剂量联合奥沙利铂组的瘤体抑制率和瘤质量抑制率(41.25%; 46.19%)明显高于单用健脾解毒方组(12.30%; 13.20%)或奥沙利铂组(24.31%; 20.81%), 有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ); 健脾解毒方联合奥沙利铂组均可上调裸鼠皮下移植瘤组织Caspase3蛋白的表达, 有统计学意义( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ )。结果提示健脾解毒方可协同L-OHP增加疗效, 其增效的机制是通过上调Caspase3的表达而促进细胞凋亡, 本实验为中药治疗肿瘤的作用机制提供了实验理论依据。

#### 4 参考文献

- 1 Jemal A, Siegel R, Ward E, Hao Y, Xu J, Murray T,

- Thun MJ. Cancer statistics, 2008. *CA Cancer J Clin* 2008; 58: 71-96 [PMID: 18287387 DOI: 10.3322/CA.2007.0010]
- 2 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 2-12
  - 3 张贝克, 白松. 大肠癌治疗进展. *中国老年保健医学* 2013; 11: 42-45
  - 4 张勇, 许建华, 孙珏, 朱晏伟, 李朝衡, 鲍文磊, 梁芳, 孙晓文, 郭刚. 健脾解毒方联合FOLFOX4方案治疗晚期结肠直肠癌临床研究. *环球中医药* 2010; 3: 117-120
  - 5 张晓晓, 孙珏, 许建华, 张勇, 梁芳, 盛艺明, 李炜. 健脾解毒汤联合化疗对胃癌术后患者的影响. *上海中医药杂志* 2012; 46: 78-79, 94
  - 6 黄继汉, 黄晓晖, 陈志扬, 郑青山, 孙瑞元. 药理试验中动物间和动物与人体间的等效剂量换算. *中国临床药理学与治疗学* 2004; 9: 1069-1072
  - 7 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
  - 8 潘海霞, 任刚, 胡洪林, 邓春美, 邓颖, 朱学强, 杨兰, 敖睿, 刘浩. FOLFOX4方案治疗晚期大肠癌近期疗效分析. *实用医院临床杂志* 2008; 5: 65-67
  - 9 Suzuki A, Iwasaki M, Wagai N. Involvement of cytoplasmic serine proteinase and CPP32 subfamily in the molecular machinery of caspase 3 activation during Fas-mediated apoptosis. *Exp Cell Res* 1997; 233: 48-55 [PMID: 9184075 DOI: 10.1006/excr.1997.3546]
  - 10 Stennicke HR, Jürgensmeier JM, Shin H, Devaux Q, Wolf BB, Yang X, Zhou Q, Ellerby HM, Ellerby LM, Bredesen D, Green DR, Reed JC, Froelich CJ, Salvesen GS. Pro-caspase-3 is a major physiologic target of caspase-8. *J Biol Chem* 1998; 273: 27084-27090 [PMID: 9765224 DOI: 10.1074/jbc.273.42.27084]
  - 11 Anichini A, Mortarini R, Sensi M, Zanon M. APAF-1 signaling in human melanoma. *Cancer Lett* 2006; 238: 168-179 [PMID: 16095810 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.06.034]
  - 12 Zhao Y, Li XJ, Sui X, Tang XJ, Qin H, Ren H. [Expression and significance of PCNA and Caspase-3 in the tissue of lung cancer]. *Xibao Yu fenzi Mianyixue Zazhi* 2010; 26: 154-156 [PMID: 20230677]
  - 13 Xiao LJ, Zhao S, Zhao EH, Zheng X, Gou WF, Takano Y, Zheng HC. Clinicopathological and prognostic significance of Ki-67, caspase-3 and p53 expression in gastric carcinomas. *Oncol Lett* 2013; 6: 1277-1284 [PMID: 24179508 DOI: 10.3892/ol.2013.1532]
  - 14 刘轩, 李荣, 郭守俊, 曾红学. Bag-1和Caspase-3在大肠癌中的表达及临床意义. *实用癌症杂志* 2012; 27: 562-564
  - 15 Xue D, Zuo K, Li X, Zhang T, Chen H, Cheng Y, Chen Y. Expression and prognostic significance of livin, caspase-3, and ki-67 in the progression of human ampullary carcinoma. *Appl Immunohistochem Mol Morphol* 2013; 21: 525-531 [PMID: 23343959 DOI: 10.1097/PAL.0b013e31827da412]
  - 16 dos Passos FS, Cuenca RM, Malafaia O, Ribas-Filho JM, Czeckzo NG, Nassif PA, Ribas CA. [Cytophotometric expressions of CASPASE-3 and CD-34 in breast cancer]. *Rev Col Bras Cir* 2009; 36: 406-412 [PMID: 20069152 DOI: 10.1590/S0100-69912009000500008]
  - 17 曾浩然, 刘学勇, 陈德志, 张红欣, 程敏, 张山, 万祖安. Caspase-3基因在大肠癌、大肠腺瘤中的表达及其与细胞凋亡的关系. *中国厂矿医学* 2008; 21: 515
  - 18 董晓彤, 黄莹, 李巍, 单伟颖, 郑继宁, 陈健. Caspase3、Bcl-2的表达在结肠癌诊断中的临床意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 3281-3285
  - 19 Larmonier CB, Arnould L, Larmonier N, Baumann S, Moutet M, Saint-Giorgio V, Pance A, Jeannin JF. Kinetics of tumor cell apoptosis and immune cell activation during the regression of tumors induced by lipid A in a rat model of colon cancer. *Int J Mol Med* 2004; 13: 355-361 [PMID: 14767564]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# NBI诊断Barrett食管伴特殊肠化生的临床价值

齐艳荣, 高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 王邦茂

齐艳荣, 天津医科大学 天津大港油田总医院消化科 天津市 300280

高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 天津大港油田总医院消化科 天津市 300280

王邦茂, 天津总医院消化科 天津市 300052

齐艳荣, 主治医师, 主要从事消化内科和消化内镜的研究.

作者贡献分布: 此课题由王邦茂与齐艳荣设计; 研究过程由齐艳荣、高建新及钱晶瑶完成; 数据处理由王文静与贾卫江完成; 论文写作由齐艳荣完成.

通讯作者: 王邦茂, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道52号, 天津总医院消化科, gi.tmuh@sohu.com

收稿日期: 2013-10-07 修回日期: 2013-11-11

接受日期: 2013-11-19 在线出版日期: 2014-01-28

## Narrow-band imaging endoscopy for diagnosis of specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus

Yan-Rong Qi, Jian-Xin Gao, Jing-Yao Qian, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia, Bang-Mao Wang

Yan-Rong Qi, Tianjin Medical University, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China

Jian-Xin Gao, Jing-Yao Qian, Wen-Jing Wang, Wei-Jiang Jia, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China

Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Correspondence to: Bang-Mao Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 52 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. gi.tmuh@sohu.com

Received: 2013-10-07 Revised: 2013-11-11

Accepted: 2013-11-19 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the role of narrow-band imaging (NBI) endoscopy in diagnosis of specialized intestinal metaplasia (SIM) in Barrett's esophagus (BE).

**METHODS:** From January to December 2012, a total of 47 patients endoscopically diagnosed with BE were enrolled. They underwent both ordinary endoscopy and NBI endoscopy. The image quality of the two kinds of endoscopies was compared. The pit patterns and capillary forms of BE were observed by narrow-band imaging

system with magnifying endoscopy (NBI-ME). The BE mucosal pit pattern was classified based on Goda type and biopsies from the abnormal regions were taken. The detection rate of SIM was calculated.

**RESULTS:** Visualization of squamo-columnar epithelium and observation of pit patterns and epithelium capillary by NBI were much clearer than by ordinary endoscopy. The accuracy, sensitivity and specificity of NBI based on Goda type for diagnosis of SIM were 92%, 85% and 94%, respectively.

**CONCLUSION:** NBI can not only capture the optimal images of BE, but also show the pit pattern and capillary form. NBI can improve the detection rate of SIM.

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

**Key Words:** Narrow-band imaging; Barrett's esophagus; Specialized intestinal metaplasia

Qi YR, Gao JX, Qian JY, Wang WJ, Jia WJ, Wang BM. Narrow-band imaging endoscopy for diagnosis of specialized intestinal metaplasia in Barrett's esophagus. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 371-374 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/371.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.371>

## 摘要

**目的:** 探讨内镜窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)对诊断Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)伴特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)的临床应用价值.

**方法:** 选择2012-01/2012-12经胃镜检查诊断为内镜BE的患者47例, 按普通内镜、NBI顺序进行观察, 对图像的清晰度进行比较; 放大观察BE黏膜的腺管开口形态及浅表毛细血管结构形态, 并对腺管开口形态进行Goda分型, 于改变最显著部位取活检进行病理检查, 将诊断结果与最终病理诊断结果进行对比分析, 统计SIM检出率.

**结果:** 两者对鳞-柱状上皮交界处病变轮廓、BE

## ■背景资料

近年来, 食管腺癌发病率逐年上升, 预后差, Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)伴特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)作为其公认的癌前病变, 越来越受到关注, 如何早期发现及干预成为研究热点. 内镜窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)作为一种新兴技术, 在临床中显示出了优越性, 有望成为替代传统四象限法的方法之一.

## ■同行评议者

戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

## ■ 研发前沿

本文研究提示NBI对BE病变轮廓、黏膜腺管开口及浅表毛细血管结构形态显示更加清晰,能进一步提高BE伴SIM的检出率。但目前国内NBI,尤其是NBI-ME的临床应用时间相对较短,缺乏大规模的临床随机对照试验,且NBI-ME下BE的血管形态分类尚无统一标准,其临床价值尚需进一步大样本研究。

黏膜的腺管开口形态及毛细血管结构的显示有统计学差异,NBI明显优于普通内镜。NBI下根据Goda分型,其IV型及V型检出SIM的准确性、敏感性、特异性分别达92%、85%及94%。

**结论:** NBI对病变轮廓、BE黏膜腺管开口及浅表毛细血管结构形态显示更加清晰,能提高SIM的检出率,具有良好的临床实用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 内镜窄带成像技术; Barrett食管; 肠上皮化生

**核心提示:** 本研究对Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)病灶在普通白光模式及内镜窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)模式下观察,发现NBI对病变轮廓、BE黏膜腺管开口及浅表毛细血管结构形态显示更加清晰,能提高特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)的检出率,且操作简便,患者痛苦减少,具有良好的临床实用价值。

齐艳荣, 高建新, 钱晶瑶, 王文静, 贾卫江, 王邦茂. NBI诊断Barrett食管伴特殊肠化生的临床价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 371-374 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/371.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.371>

## 0 引言

Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)是由英国胸外科医生Norman Barrett于1950年首先报告提出,并以他的名字命名。BE是指食管下段的复层鳞状上皮被单层柱状上皮替代的一种病理现象,伴或不伴肠上皮化生,而特殊肠上皮化生(specialized intestinal metaplasia, SIM)属于食管腺癌(esophageal adenocarcinoma, EAC)的癌前病变。随着EAC发病率的逐年升高,做为其明确危险因素BE伴SIM的发病率也呈上升趋势<sup>[1]</sup>。因此早期发现早期干预对降低EAC的发病率具有重要意义<sup>[2]</sup>。

内镜窄带成像技术(narrow band imaging, NBI)是一种近年来使用的新兴内镜下成像诊断技术,本研究对内镜诊断为BE的患者先后行普通内镜模式及NBI模式进行观察,并与病理结果对比,旨在探讨NBI在BE伴SIM诊断中的临床应用价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2012-01/2012-12经胃镜检查诊断为BE患者47例,其中男30例,女17例,年龄23-70岁,中位年龄51岁。根据BE形态分型:岛型(39处),舌型(16处),全周型(1处)。所有患者均采用

用日本奥林巴斯公司生产的OLYMPUS GIF-H260Z放大内镜及CV-260SL电子处理器和CLV-260SL NBI氙气冷光源系统进行检查。

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备:** 检查前禁食6-8 h,向患者详细了解病史及检查原因,解释操作过程,尽量消除患者的紧张心理,所有患者均签署特殊检查知情同意书。排除标准:食管狭窄、食管下段癌、贲门癌累及食管下段及贲门癌术后等。进镜前常规服用盐酸利多卡因胶浆10 mL做咽喉部局部麻醉。

**1.2.2 操作步骤:** 患者由一名高年资内镜医师进行操作,首先完成普通胃镜全程检查,记录结果并保存图像。完毕后将内镜置于食管下端鳞-柱状上皮交界处,按照普通内镜模式、NBI模式进行观察:(1)BE与正常食管交界处,对图像清晰度进行评分;(2)放大观察BE腺管开口形态与毛细血管结构,顺序为:普通内镜放大、窄带成像联合放大内镜(narrow band imaging system with magnifying endoscopy, NBI-ME);(3)对BE上皮的腺管开口进行分型,于改变最异常的部位进行定向取检,与病理结果进行对比。

**1.2.3 对图像的评价:** 由操作医师和另一名内镜医师共同对图片进行分析,对鳞-柱状上皮交界处轮廓、BE病灶腺管开口形态、毛细血管结构清晰度进行评分:看不清:1分;模糊可见:2分;较清晰:3分;非常清晰:4分。腺管开口类型采用Goda分型<sup>[3]</sup>。BE黏膜的腺管开口形态及毛细血管结构形态分为5型:1型圆点或椭圆形,2型为长分支形,3型为指状或叶片状绒毛样形,4型为脑回形,5型为不规则形。血管形态分为I-V型:I型为蜂窝状,II型为藤状,III型为卷曲状,IV型为常青藤型,V型为不规则形。

**1.2.4 常规内镜BE诊断标准:** 食管胃交界处齿状线明显上移或消失,即食管黏膜被橘红色柱状上皮黏膜代替。其形态可为全周型、舌型和岛型。经病理学证实,活检组织中存在柱状上皮即可确诊BE<sup>[4]</sup>。

**统计学处理** 统计分析采用SPSS13.0统计软件进行分析,统计学方法采用 $\chi^2$ 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 NBI与普通内镜图像清晰度比较** NBI与普通内镜图像相比,两者对鳞-柱状上皮交界处病变轮廓、BE黏膜的腺管开口形态及毛细血管结构的显示差异有统计学意义( $P<0.01$ ),NBI明显优

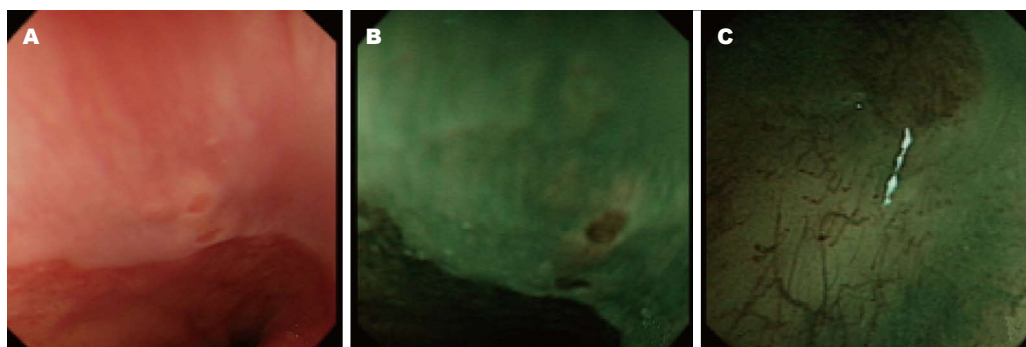


图1 岛型Barrett食管不同模式内镜下的表现. A: 普通白光模式. 食管右侧壁齿状线近端可见2处岛状橘红色黏膜. B: 内镜窄带成像技术模式. 褐色区域是可疑病变, 而正常黏膜, 则表现为绿色. 病灶清晰显示; C: 窄带成像联合放大内镜模式. 可清晰显示腺管开口形态及浅表毛细血管结构形态.

#### ■ 相关报道

NBI内镜自2004年被Hamamoto等首次用于BE诊断以来, 其在诊断BE方面的优势日渐明显. 许多文献报道了NBI对BE诊断的优越性. 另外, 也有一些文献报道了FICE、复方碘染色、乙酸染色等检查对BE的诊断价值.

表1 内镜窄带成像技术与普通内镜图像清晰度比较 (n)

观察项目及检查方法	1分	2分	3分	4分	总分
鳞柱状上皮交界处					
普通内镜	3	24	20	0	111
内镜窄带成像技术	0	0	3	44	185
腺管开口形态					
普通内镜放大	6	41	0	0	88
窄带成像联合放大内镜	0	0	23	24	165
毛细血管结构					
普通内镜放大	3	43	1	0	92
窄带成像联合放大内镜	0	0	23	24	165

于普通内镜(表1).

2.2 NBI与普通内镜发现BE病灶数目比较 根据BE黏膜形态可分为岛型、舌型和全周型, 47例由普通内镜模式诊断为BE患者, 发现56处病灶, 其中岛型39处, 舌型16处, 全周型1处; 而转换为NBI模式后, 发现了78处病灶, 其中岛型58处, 舌型19处, 全周型1处. 在不同类型的病灶中, 岛型病灶在NBI模式下的检出率明显高于普通内镜 ( $P<0.05$ ), 且清晰度明显高于普通内镜模式(图1).

2.3 NBI-ME模式下腺管开口形态与病理检出SIM关系 根据Goda分型将BE上皮腺管开口分为5型, 47例BE患者中 I 型6例, II型11例, 这两型中均未发现SIM, III型17例, 其中2例病理检出SIM, IV型8例, 病理检出SIM6例, V型5例, 病理证实均存在SIM, 结果显示IV型及V型腺管开口检出SIM的准确性为92%, 特异性及敏感性分别为94%及85%, 阳性预测值、阴性预测值分别为85%、94%, 阳性似然比、阴性似然比分别为14.4和0.

### 3 讨论

BE病理分为3型: 胃底型、贲门型和肠上皮化生

型. 而特殊肠化生型(SIM)又称为III型肠化生或不完全小肠化生型, 表面有微绒毛和隐窝, 杯状细胞是其特征性细胞. 多项研究显示, BE伴SIM与EAC关系密切, 是与EAC高度相关的癌前病变<sup>[5,6]</sup>. 我国是食管癌的高发区, 其中鳞状细胞癌约占90%, 少数为EAC, 后者多起源于BE或食管异位胃黏膜的柱状上皮<sup>[7]</sup>. BE作为一种公认的癌前病变, 其EAC发生率较正常人高30-50倍<sup>[8]</sup>. 近年来, 在一些西方国家, 胃贲门部及食管下段腺癌的发病率明显增加, 病死率高, 且预后极差, 其5年生存仅为13%左右<sup>[9,10]</sup>. 研究发现, BE癌变通常经历SIM-低度异型增生-高度异型增生-原位癌-浸润性腺癌<sup>[11,12]</sup>. 故早期诊治BE伴SIM至关重要.

长期以来把常规内镜加病理活检, 做为诊断BE的主要方法, 传统的四象限活检法是诊断和监测BE的主要标准<sup>[13]</sup>. 但此法存在取材部位盲目、活检数目过多、重复活检后出血影响视野观察等缺点, 从而影响其活检的精确度, 且随机取样, 存在取样误差, 故诊断价值有限<sup>[14]</sup>. 为提高BE检出率, 以往还经常采用色素内镜检查, 如复方碘溶液染色, 但因碘溶液含乙醇, 会刺激黏膜, 可能导致胸骨后疼痛、不适、化学性食管炎、喉炎、支气管肺炎<sup>[15]</sup>, 而且对于食管入口、颈段食管及下咽部均无法应用碘染色观察, 因而它的应用受到限制. 而NBI则无上述弊端.

NBI利用滤光器对红、绿、蓝3种不同波长的光进行窄化, 仅留下415、540和600 nm波长的窄带光波, 使光线主要集中在黏膜表层, 降低了光的散射, 使图像更加清晰. 由于血红蛋白吸收的波长在415 nm左右, 所以蓝光可以很好地被血红蛋白吸收, 从而能更清晰地显示消化道黏膜表面的微细腺管形态及微血管形态<sup>[16]</sup>. NBI内镜自2004年被Kuznetsov等<sup>[17]</sup>首次用于BE诊断以来, 其



### ■同行评价

本文详细阐述了BE的分型及镜下表现,尤其是BE伴SIM, NBI模式显示了其优越性,提高了临床对该病的认识,对提高检出率,降低食管腺癌(esophageal adenocarcinoma)发病率起到积极作用。

在诊断BE方面的优势日渐明显。NBI操作简便,通过一个按钮即可与普通内镜进行模式转换。在本研究中,我们对47例BE患者进行普通内镜及NBI模式观察,通过对比发现, NBI模式对鳞柱状上皮交界处轮廓的清晰度明显优于普通内镜, NBI-ME能更清晰观察到BE黏膜腺管开口形态及浅表毛细血管结构形态,具有绝对优势, 指导镜下靶向活检, 明显提高BE伴SIM的检出率, IV型及V型腺管开口检出SIM的准确性为92%, 特异性及敏感性分别为94%及85%。这与Singh等<sup>[18]</sup>通过前瞻对照研究得出的结论相似。另据Singh等<sup>[19]</sup>文献报道, NBI-ME对重度异型增生及早期癌变病灶的识别也具优势, 其敏感性可达94%-100%, 而特异性为76%-99%, 此类病灶会出现腺管开口形态和毛细血管结构形态的不规则改变。

总之, NBI不需染料即可实现对病变部位的“电子染色”, 无色素内镜的合并症, 能更清晰地显示黏膜表面形态和微血管结构, 结合放大功能对病变的微细结构进行更细致的观察, 进一步提高了BE伴SIM的检出率, 在临床实践中势必会得到越来越广泛的应用。本研究的病例数较少, 且为开放性研究, 尚需进一步的样本量更大、设计更加良好的研究予以证实。目前国内NBI, 尤其是NBI-ME的临床应用时间相对较短, 缺乏大规模的临床随机对照试验, 且NBI-ME下BE的血管形态分类尚无统一标准, 其临床价值尚需进一步大样本研究。

### 4 参考文献

- Zhang Y. Epidemiology of esophageal cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5598-5606 [PMID: 24039351 DOI: 10.3748/wjg.v19.i34.5598]
- 史学森, 王立金, 郝慧菁, 王丽娟, 张永玉, 马春玉. 反流性食管炎、Barrett食管和食管腺癌的研究. *胃肠病学* 2010; 15: 233-236
- Goda K, Tajiri H, Ikegami M, Urashima M, Nakayoshi T, Kaise M. Usefulness of magnifying endoscopy with narrow band imaging for the detection of specialized intestinal metaplasia in columnar-lined esophagus and Barrett's adenocarcinoma. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 36-46 [PMID: 17185078 DOI: 10.1016/j.gie.2006.03.938]
- 中华医学会消化病学分会. Barrett食管诊治共识. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 421
- Wu X, Ajani JA, Gu J, Chang DW, Tan W, Hildebrandt MA, Huang M, Wang KK, Hawk E. MicroRNA expression signatures during malignant progression from Barrett's esophagus to esophageal adenocarcinoma. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 196-205 [PMID: 23466817 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-12-0276]
- De Palma GD. Management strategies of Barrett's esophagus. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6216-6225 [PMID: 23180941 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6216]
- 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 北京人民卫生出版社, 2010: 376-377
- 甄云飞, 曲海霞, 王清. Ghrelin在食管腺癌、Barrett's食管黏膜中的表达. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 781-783
- Wang KK, Sampliner RE. Updated guidelines 2008 for the diagnosis, surveillance and therapy of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 788-797 [PMID: 18341497 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2008.01835.x]
- Switzer-Taylor V, Schlup M, Lübcke R, Livingstone V, Schultz M. Barrett's esophagus: a retrospective analysis of 13 years surveillance. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1362-1367 [PMID: 18205769 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05311.x]
- Zhang HY, Spechler SJ, Souza RF. Esophageal adenocarcinoma arising in Barrett esophagus. *Cancer Lett* 2009; 275: 170-177 [PMID: 18703277 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.07.006]
- Pohl H, Wrobel K, Bojarski C, Voderholzer W, Sonnenberg A, Rösch T, Baumgart DC. Risk factors in the development of esophageal adenocarcinoma. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 200-207 [PMID: 23247577 DOI: 10.1038/ajg.2012.387]
- Ajumobi A, Bahjri K, Jackson C, Griffin R. Surveillance in Barrett's esophagus: an audit of practice. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1615-1621 [PMID: 19669878 DOI: 10.1007/s10620-009-0917-y]
- Yantiss RK. Diagnostic challenges in the pathologic evaluation of Barrett esophagus. *Arch Pathol Lab Med* 2010; 134: 1589-1600 [PMID: 21043812 DOI: 10.1043/2009-0547-RAR1.1]
- Ide E, Carneiro FO, Frazão MS, Chaves DM, Salum RA, de Moura EG, Sakai P, Ceconello I, Maluf-Filho F. Endoscopic Detection of Early Esophageal Squamous Cell Carcinoma in Patients with Achalasia: Narrow-Band Imaging versus Lugol's Staining. *J Oncol* 2013; 2013: 736756 [PMID: 23935622 DOI: 10.1155/2013/736756]
- Savarino E, Corbo M, Dulbecco P, Gemignani L, Giambruno E, Mastracci L, Grillo F, Savarino V. Narrow-band imaging with magnifying endoscopy is accurate for detecting gastric intestinal metaplasia. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 2668-2675 [PMID: 23674874 DOI: 10.3748/wjg.v19.i17.2668]
- Kuznetsov K, Lambert R, Rey JF. Narrow-band imaging: potential and limitations. *Endoscopy* 2006; 38: 76-81 [PMID: 16429359 DOI: 10.1055/s-003-1239-z]
- Singh R, Karageorgiou H, Owen V, Garsed K, Fortun PJ, Fogden E, Subramaniam V, Shonde A, Kaye P, Hawkey CJ, Ragunath K. Comparison of high-resolution magnification narrow-band imaging and white-light endoscopy in the prediction of histology in Barrett's oesophagus. *Scand J Gastroenterol* 2009; 44: 85-92 [PMID: 18821132 DOI: 10.1080/00365520802400818]
- Singh R, Mei SC, Sethi S. Advanced endoscopic imaging in Barrett's oesophagus: a review on current practice. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4271-4276 [PMID: 22090782 DOI: 10.3748/wjg.v17.i38.4271]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术疗效对比的Meta分析

王晓骏, 张铸, 孙清超

王晓骏, 张铸, 孙清超, 新疆医科大学第一附属医院胸外科  
新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

王晓骏, 住院医师, 主要从事食管癌的治疗。

作者贡献分布: 本文设计、研究过程由王晓骏、张铸及孙清超  
操作完成; 数据分析及写作由王晓骏完成; 张铸审校。

通讯作者: 张铸, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌  
鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院胸外科。  
zhangzhuxj@163.com

电话: 0991-4361528

收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-12-05

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-01-28

## Combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy versus open esophagectomy for esophageal cancer: A systematic review and meta-analysis

Xiao-Jun Wang, Zhu Zhang, Qing-Chao Sun

Xiao-Jun Wang, Zhu Zhang, Qing-Chao Sun, Department  
of Thoracic Surgery, the First Affiliated Hospital of  
Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang  
Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Zhu Zhang, Professor, Chief Physi-  
cian, Department of Thoracic Surgery, the First Affiliated  
Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan  
Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Re-  
gion, China. zhangzhuxj@163.com

Received: 2013-10-23 Revised: 2013-12-05

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effects of combined tho-  
racoscopic-laparoscopic esophagectomy (TLE)  
versus open esophagectomy (OE) in the man-  
agement of esophageal cancer.

**METHODS:** Eligible studies were identified  
from electronic databases including Medline,  
Embase, OVID, Cochrane Library, Springerlink,  
CNKI, WanFang Data and VIP. We screened the  
retrieved literature according to the inclusion  
and exclusion criteria and performed a Meta-  
analysis with the software RevMan 5.2 after  
identification of the relevant data.

**RESULTS:** A total of 1448 patients from 14 stud-  
ies were included for the analysis, including 735  
patients who underwent TLE and 713 patients  
who underwent OE. TLE was associated with  
less blood loss, fewer respiratory complications  
and shorter length of hospital stay. However,  
TLE had longer operative time. There was no  
significant difference in the incidence of anas-  
tomotic leak or the number of lymph nodes  
harvested ( $P > 0.05$  for both) between the two  
groups.

**CONCLUSION:** TLE for esophageal cancer of-  
fers results as good as or better than those with  
open esophagectomy. TLE is associated with  
reduced perioperative complications and short-  
ened length of hospital stay.

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

**Key Words:** Esophageal cancer; Esophagectomy;  
Thoracoscopy; Laparoscopy; Meta-analysis

Wang XJ, Zhang Z, Sun QC. Combined thoracoscopic-  
laparoscopic esophagectomy versus open esophagectomy  
for esophageal cancer: A systematic review and meta-  
analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 375-382  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/375.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.375>

## 摘要

**目的:** 采用Meta分析的方法对胸腹腔镜联合  
下食管癌切除术和开放手术的疗效和安全性  
进行对比, 为更广泛的临床应用提供证据。

**方法:** 检索Medline、EMbase、OVID、  
Cochrane Library、Springerlink、中国知识  
资源总库、万方数据库、维普数据库, 检索时间  
为建库至2013-03。收集胸腹腔镜联合下食管  
癌切除术和开放手术疗效对比的相关文献, 按  
纳入与排除标准筛选文献并对纳入文献进行  
质量评价, 采用RevMan5.2软件进行分析。

**结果:** 共纳入14篇文献, 病例数合计为1448例,

## ■背景资料

目前食管癌治疗  
的最佳方式是以  
外科手术为主的  
综合性治疗, 然而  
传统的开放手术  
创伤大、围手术  
期并发症的发生  
率以及死亡率较  
高。近几年随着国  
内外微创外科技  
术的不断发展, 食  
管癌微创切除术  
在很多医院开展,  
特别是胸腹腔镜  
联合下的食管癌  
切除术, 但由于食  
管癌手术的复杂  
性, 尤其是在胸腹  
腔镜联合下的微  
创食管癌手术能  
否达到肿瘤治疗  
的原则, 以及围手  
术期并发症等方  
面仍存在争议。因  
此, 本研究通过对  
国内外的胸腹腔  
镜联合下食管癌  
切除术和传统开  
放手术治疗食管  
癌的研究进行系  
统评价, 以探讨胸  
腹腔镜联合下食  
管癌切除术的疗  
效和安全性。

## ■同行评议者

张志坚, 教授, 福州  
总医院消化内科

## ■ 研发前沿

对于食管癌微创手术,一直是国内外诸多研究中心研究的热点,特使是我国是食管癌的高发国家,国内对于食管癌微创手术仍存在争议。但随着微创技术的不断发展,如达芬奇机器人手术系统、3D腹腔镜等新事物的出现,微创外科的前景一片光明。但是新事物的出现到广泛的临床应用需要一定的时间去证明其实用性、疗效及安全性。

其中胸腹腔镜联合食管癌切除术组735例,开放手术组713例。分析结果显示在主要观察指标中腹腔镜组术中出血量比开放组少(WMD = -144.72, 95%CI: -199.78--89.67,  $P < 0.05$ ),淋巴结清扫数目(WMD = -0.14, 95%CI: -2.61-2.33,  $P = 0.91$ )及吻合口瘘发生率(OR = 0.93, 95%CI: 0.63-1.37,  $P = 0.70$ )的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在次要观察指标的分析结果中,腹腔镜组在术后住院天数及呼吸系统总体并发症均优于开放组( $P < 0.05$ ),但手术时间仍长于开放组( $P < 0.05$ ),其余指标两组间均无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**结论:** 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术相比可以达到相同的疗效,同时在减少术后住院天数及围手术期并发症上更有优势,未来将有趋势替代开放手术,成为食管癌手术的常规方式。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管癌; 食管癌切除术; 胸腔镜; 腹腔镜; Meta分析

**核心提示:** 本研究通过对比胸腹腔镜联合手术与开放手术相比,认为胸腹腔镜联合食管癌切除术可以达到传统开放手术相同的疗效,并在术中出血量、围手术期并发症、术后住院天数等方面占有优势。虽然其具有操作复杂性高、学习曲线长的难点,但仍然是未来食管癌手术发展的方向,将有趋势替代传统的开放手术,成为食管癌手术的常规方式。

王晓骏, 张铸, 孙清超. 胸腹腔镜联合下食管癌切除术与开放手术疗效对比的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 375-382 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/375.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.375>

## 0 引言

食管癌治疗的最佳方式是以外科手术为主的综合性治疗,然而传统的开放手术创伤大、围手术期并发症的发生率以及死亡率较高。近几年随着国内外微创外科技术的不断进展,食管癌微创切除术(minimally invasive esophagectomy, MIE)在很多医院开展,特别是胸腹腔镜联合下的食管癌切除术,但由于食管癌手术的复杂性,尤其是在胸腹腔镜联合下的微创食管癌手术能否达到肿瘤治疗的原则以及围手术期并发症等方面仍存在争议<sup>[1]</sup>。因此,本研究通过对国内外的胸腹腔镜联合下食管癌切除术和传统开放手

术治疗食管癌的研究进行系统评价,以探讨胸腹腔镜联合下食管癌切除术的疗效和安全性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 计算机检索Medline、EMbase、OVID、Cochrane Library、Springerlink、中国知识资源总库、万方数据库、维普数据库。检索时间为建库至2013-03。英文检索词为“esophagectomy、oesophagectomy、thoracoscopy、laparoscopy、thoracoscopy、minimally invasive、esophagus、oesophagus、esophageal、oesophageal、cancer、carcinoma”,中文检索词为“食管癌、食管肿瘤、食管癌切除术、胸腔镜、腹腔镜、胸腹腔镜”。按确定的纳入、排除标准进行筛选。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入与排除标准:** 纳入标准: (1)研究类型: 公开发表的随机对照试验和非随机对照试验(如: 病例对照试验、队列研究等), 限中英文文献, 无论是否采用盲法; (2)研究对象: 经术前病理组织学诊断的食管癌以及高级别上皮内瘤变; (3)干预措施: 研究组MIE组进行胸腹腔镜联合下食管癌切除术, 对照组Open组进行传统开放食管癌手术; 若文献中不能获得原始数据, 但根据其他相关指标可获得结果者也纳入研究。排除标准: (1)综述、讲座、文摘、述评类文献; (2)无法获得全文的文献、重复发表的文献、非临床研究的文献、无对照研究的文献; (3)研究对象含多源性肿瘤无法手术治疗, 手术未行食管癌切除术, 微创手术中转开放手术、单纯腹腔镜或者胸腔镜者辅以开放手术。

**1.2.2 数据提取:** 提取研究者、研究类型、发表时间、患者人数、年龄、性别、术中出血量、淋巴结清扫数目、手术时间、平均住院天数、ICU停留时间、平均术后住院天数、围手术期死亡率(术后30 d内)、术后并发症等信息。

**1.2.3 文献质量评价:** 由两位研究者独立阅读所获文献题目和摘要, 在排除明显不符合纳入标准的试验后, 对可能符合纳入标准的试验阅读全文, 以确定是否符合纳入标准。而后交叉核对, 如有分歧则通过讨论解决或由第3位研究者决定其是否纳入。依据Cochrane系统评价员手册文献质量评价方法评价纳入研究质量, 判断是否存在偏倚: (1)随机方法是否正确; (2)是否做到分配隐藏, 分配隐藏是否充分; (3)是否实施盲法, 盲法实施对象为试验对象, 医务人员还是结



表 1 纳入文献的质量评价

纳入文献	研究设计	随机方法	分配隐藏	盲法	失访/退出	ITT分析	基线可比性	诊断标准
Parameswaran等 <sup>[2]</sup> , 2009	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Pham等 <sup>[3]</sup> , 2010	队列研究	不清楚	无	无	未报道	无	是	金标准
陈保富等 <sup>[4]</sup> , 2010	病例对照	非随机	无	无	无	无	是	金标准
Hamouda等 <sup>[5]</sup> , 2010	队列研究	非随机	无	无	无	无	是	金标准
Schoppmann等 <sup>[6]</sup> , 2010	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Safraneek等 <sup>[7]</sup> , 2010	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Mehran等 <sup>[8]</sup> , 2011	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
Gao等 <sup>[9]</sup> , 2011	队列研究	不清楚	无	单盲	未报道	无	是	金标准
Lee等 <sup>[10]</sup> , 2011	病例对照	非随机	无	无	未报道	无	是	金标准
Biere等 <sup>[11]</sup> , 2012	队列研究	电脑随机化法	无	无	无	有	是	金标准
Sihag等 <sup>[12]</sup> , 2012	队列研究	不清楚	无	无	未报道	无	是	金标准
郭明等 <sup>[13]</sup> , 2012	队列研究	不清楚	无	无	无	无	是	金标准
吴奇勇等 <sup>[14]</sup> , 2012	队列研究	不清楚	无	无	未报道	无	是	金标准
Parameswaran等 <sup>[15]</sup> , 2013	队列研究	非随机	无	无	无	无	是	金标准

诊断标准中金标准为术前病理组织学诊断。

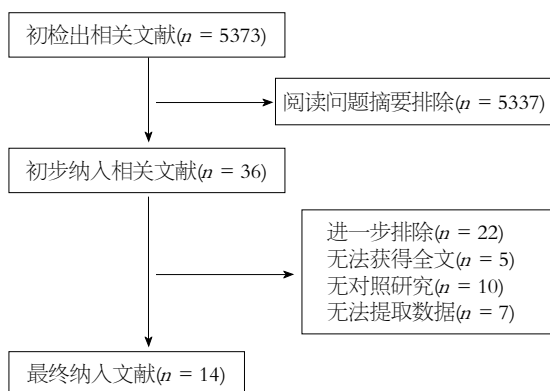


图 1 文献检索流程及结果图。

果测量者; (4)是否描述退出试验及失访的情况, 如有失访或退出是否采用意向治疗(intention-to-treat, ITT)分析; (5)基线可比性是否一致; (6)诊断标准是否是金标准。

**统计学处理** 统计软件采用RevMan5.2软件。异质性分析采用 $\chi^2$ 检验, 若纳入研究具有临床同质性且 $P>0.1$ 、 $I^2\leq 50\%$ 时, 表明统计学异质性较小, 可采用固定效应模型(fixed-effects model)合并分析; 当 $P\leq 0.1$ 、 $I^2>50\%$ 时, 统计学异质性较大, 需分析异质性来源, 进行亚组分析。若无确切异质性原因时, 可考虑使用随机效应模型(random-effects model)分析。如果研究存在明显临床异质性时, 仅做描述性研究。二分类变量采用优势比(odds ratio, OR), 对度量衡单位相同的连续性变量采用加权均数差值(weighted mean difference, WMD), 对度量衡单位不相同的连续

性变量采用标准化均数差值(standard mean difference, SMD), 均以95%CI表示。发表偏倚采用STATA12.0软件进行Egger法和Begg法分析, 并以Begg's漏斗图表示, 当 $P\leq 0.1$ 时, 表示存在显著性统计学偏倚。

## 2 结果

**2.1 文献检索** 初检获得相关文献5373篇, 经阅读文题摘要后排除5337篇。初步纳入相关文献36篇, 5篇因各种原因无法获得全文, 10篇无对照研究, 7篇无法提取相关数据。最终纳入14篇文献, 中文文献3篇, 英文文献11篇(图1)。

**2.2 纳入文献的质量评价** 对纳入的14篇文献进行质量评价, 具体评价结果如表1。

**2.3 纳入文献的基本数据** 纳入的14篇文献的基本信息和病例的一般情况如表2、3。

### 2.4 统计分析

**2.4.1 主要观察指标:** (1)淋巴结清扫数目: 纳入的所有研究中有9个研究报道了淋巴结清扫数目, 根据分析, 9个研究的数据均予采纳, 其中TLE组共497例, OE组共546例, 各研究间异质性显著( $P<0.00001$ ,  $I^2 = 94\%$ )。采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示: WMD = -0.14, 95%CI: -2.61-2.33,  $P = 0.91$ , 两组间差异无统计学意义(图2); (2)术中出血量: 纳入的所有研究中有10个研究报道了术中出血量, 根据分析, 10个研究的数据均予采纳, 其中TLE组共587例, OE组共582例, 各研究间异质性显著( $P<0.00001$ ,  $I^2 =$

### ■相关报道

Sgourakis等在2010年发表的相关文献, 也同样针对食管癌微创手术做了系统评价, 是一个基于多中心的大样本的研究。其在对术后生存率的分析比较全面, 对手术后的中长期疗效做了系统的评价, 更有利于客观评价食管癌微创手术的疗效。

## ■创新盘点

本研究采纳的文献多为近2-3年发表的文献,时效性比较新,同时本文纳入文献数量、样本数量比较多。本文采用的观察指标较多,客观、系统地对两种手术方式的疗效及安全性做了综合、全面的评价。

表 2 纳入研究的基本信息 (1)

纳入文献	发表时间	<i>n</i>		年龄(岁)		性别(男/女, <i>n</i> )	
		TLE	OE	TLE	OE	TLE	OE
Parameswaran等 <sup>[2]</sup>	2009	50	30	67(47-81)	68(47-81)	45/5	21/9
Pham等 <sup>[3]</sup>	2010	44	46	63 ± 8.6	61 ± 10.7	41/3	33/13
陈保富等 <sup>[4]</sup>	2010	67	38	61 ± 7.0	38 ± 6.0	45/22	25/13
Hamouda等 <sup>[5]</sup>	2010	26	24	62	60 <sup>1</sup>	25/1	23/1
Schoppmann等 <sup>[6]</sup>	2010	31	31	61.5(35.7-74.8)	58.6(33.7-76.8)	25/6	21/10
Safranek等 <sup>[7]</sup>	2010	41	46	64(41-74)	60(44-77)	25/16	38/8
Mehran等 <sup>[8]</sup>	2011	44	44	61(42-79)	62.5(38-83)	43/1	40/4
Gao等 <sup>[9]</sup>	2011	96	78	58.46 ± 7.28	59.04 ± 6.36	89/7	70/8
Lee等 <sup>[10]</sup>	2011	30	64	59.73 ± 10.32	56.58 ± 11.60	30/0	61/3
Biere等 <sup>[11]</sup>	2012	59	56	62(34-75)	62(42-75)	43/16	46/10
Sihag等 <sup>[12]</sup>	2012	38	76	61.4 ± 8.1	63.3 ± 9.3	29/9	61/15
郭明等 <sup>[13]</sup>	2012	111	110	57.3 ± 11.8	60.8 ± 12.4	68/43	72/38
吴奇勇等 <sup>[14]</sup>	2012	62	51	52.8 ± 5.6	51.1 ± 4.8	50/12	39/12
Parameswaran等 <sup>[15]</sup>	2013	36	19	64(45-84)	64(51-77)	24/12	15/4

<sup>1</sup>本组数据为中位数年龄。TLE: 胸腹腔镜联合手术组, 为本研究试验组。OE: 开放手术组, 为本研究对照组。

表 3 纳入研究的基本信息 (2)

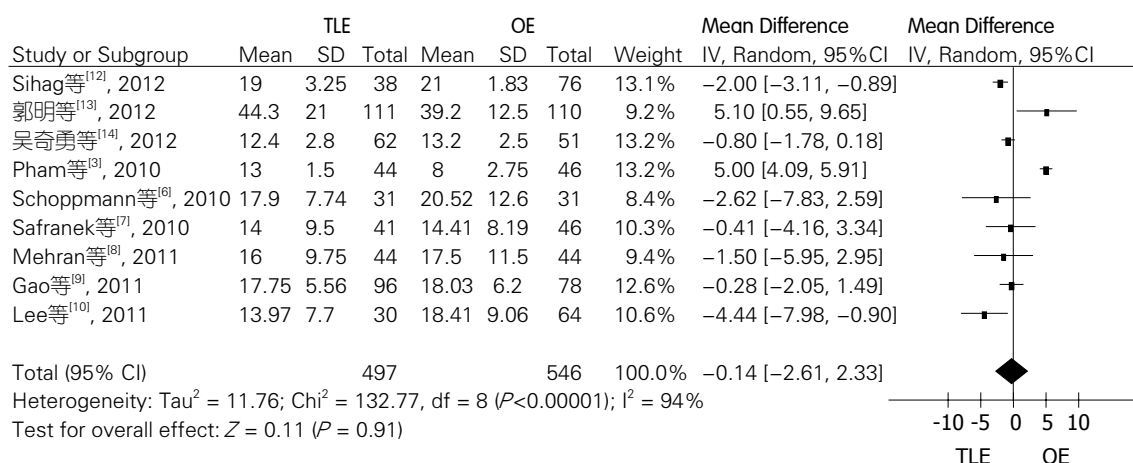
纳入文献	术前临床分期(0/Ⅰ/Ⅱ/Ⅲ/Ⅳ/x <sup>1</sup> )		肿瘤部位(上段/中段/下段 <sup>2</sup> )	
	TLE	OE	TLE	OE
Parameswaran等 <sup>[2]</sup>	6/5/16/23/4/0	1/7/9/13/2/0	未报道	未报道
Pham等 <sup>[3]</sup>	0/6/14/18/2/0	0/7/13/18/1/0	未报道	未报道
陈保富等 <sup>[4]</sup>	未报道	未报道	11/36/20	9/17/12
Hamouda等 <sup>[5]</sup>	未报道	未报道	未报道	未报道
Schoppmann等 <sup>[6]</sup>	0/9/9/11/0/2	0/3/16/11/0/1	未报道	未报道
Safranek等 <sup>[7]</sup>	未报道	未报道	1/7/33	0/1/45
Mehran等 <sup>[8]</sup>	0/11/12/16/0/5	0/9/12/20/0/3	未报道	未报道
Gao等 <sup>[9]</sup>	0/8/46/42/0/0	0/6/34/38/0/0	9/72/15	6/55/17
Lee等 <sup>[10]</sup>	2/3/11/12/2/0	7/17/25/14/1/0	6/24	9/55 <sup>3</sup>
Biere等 <sup>[11]</sup>	未报道	未报道	1/26/32	3/22/31
Sihag等 <sup>[12]</sup>	4/15/10/9/0/0	8/19/26/23/0/0	未报道	未报道
郭明等 <sup>[13]</sup>	0/24/7/80/0/0	0/31/5/74/0/0 <sup>4</sup>	13/78/20	7/76/27
吴奇勇等 <sup>[14]</sup>	0/13/42/7/0/0	0/10/37/4/0/0	4/47/11	3/41/7
Parameswaran等 <sup>[15]</sup>	6/6/13/10/0/0	0/0/8/11/0/0	未报道	未报道

<sup>1</sup>为术前无法评估分期; <sup>2</sup>下段组包含下段食管癌及胃食管交接处癌; <sup>3</sup>本组数据为上段食管癌与中、下段食管癌的病例数分组; <sup>4</sup>本组数据中Ⅱ期为ⅡA期, Ⅲ期包含了ⅡB期和Ⅲ期。

97%)。采用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示: WMD = -144.72, 95%CI: -199.78--89.67,  $P < 0.00001$ , 两组间差异有统计学意义(图3); (3) 术后吻合口瘘发生率: 纳入的所有14个研究中均报道了术后吻合口漏发生率, 根据分析, 14个研究的数据均予采纳, 其中TLE组共735例, OE组共713例, 各研究间无异质性( $P = 0.13$ ,  $I^2 = 31\%$ )。采用固定效应模型进行Meta分析, 结果显

示: OR = 0.93, 95%CI: 0.63-1.37,  $P = 0.70$ , 两组间差异无统计学意义(图4)。

2.4.2 次要观察指标: 对手术时间、平均住院天数、ICU停留时间、术后住院天数、围手术期死亡率、吻合口狭窄、胃排空障碍、术后二次手术、乳糜胸、喉返神经损伤、心律失常、呼吸系统并发症、肺部感染、胸腔积液、肺栓塞、呼吸衰竭16项次要观察指标进行Meta分析,



### 应用要点

本研究采用的今年国内外的临床研究文献, 旨在探讨胸腹腔镜联合下食管癌切除术的疗效和安全性, 为广大临床医师提供循证医学的依据。虽然其具有操作复杂性高、学习曲线长的难点, 但仍然是未来食管癌手术发展的方向, 将有趋势替代传统的开放手术, 成为食管癌手术的常规方式。

图 2 两组淋巴结清扫数目比较的Meta分析.

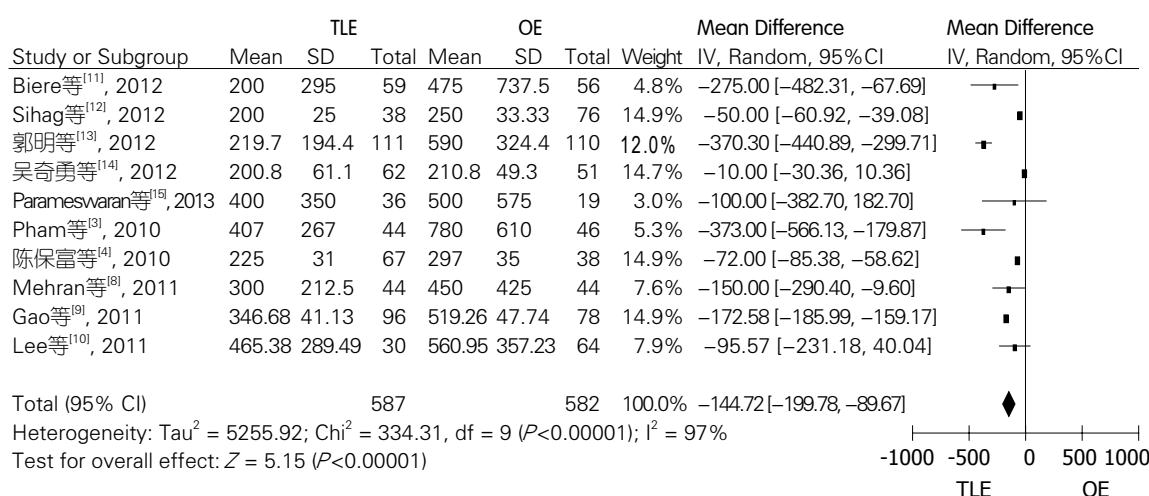


图 3 两组术中出血量比较的Meta分析.

结果显示, 腔镜组在术后住院天数及呼吸系统总体并发症均优于开放组( $P < 0.05$ ), 但手术时间仍长于开放组( $P < 0.05$ ), 其余13项指标两组间均无统计学意义( $P > 0.05$ , 表4)。

**2.4.3 发表偏倚:** 发表偏倚导致Meta分析纳入文献不完全, 不能真实反应待评价问题的真实情况。目前最常用的偏倚检测方法有倒漏斗图法和失安全系数法, 但两者不能对发表偏倚进行量化检测。而Begg法和Egger法则可对偏倚进行量化检测。本文在以淋巴结清扫数目为主要观察指标的研究中, Egger's检验 $P = 0.803$ , Begg's检验 $P = 1.000$ 。同时在Begg's漏斗图中未发现明显不对称, 表明未存在明显的发表偏倚(图5)。

## 3 讨论

食管癌手术方式包括传统的开放手术, 如颈胸腹三切口食管癌切除术、Ivor-Lewis术、Mckeown

术、左侧开胸手术等以及近年来单一胸腔镜或者腹腔镜辅助食管癌切除术。但开放手术创伤大, 围手术期并发症发生率较高始终是无法解决的问题。随着微创外科的不断发展, 广大外科医师已经意识到除了手术的临床结果, 还需要越来越重视手术本身给患者带来的创伤, 尽可能减小手术对机体的创伤是现代外科手术的一种理念和趋势, 也更符合患者生理和心理的需求。目前, 胸腹腔镜联合下食管癌切除术在很多医学中心积极开展, 并逐渐成为关注的热点。

本研究发现胸腹腔镜组与开放组相比, 在术中出血量、术后住院天数及呼吸系统总体并发症上占有明显优势。腔镜的放大作用可以充分显示解剖结构, 减少甚至避免术中对临近脏器的损伤。同时, 小切口减少了创面的出血, 减少了术后并发症的发生, 利于患者术后康复, 大大减少了术后住院天数。食管癌手术的疗效很大



## ■同行评价

这是一篇关于食管癌手术治疗方式Meta分析的文章, 纳入及剔除的标准是比较完善的, 方法科学, 结果可靠, 结论客观, 讨论部分展开得不错。但观察指标可以在延伸一些, 如对麻醉的要求和术中各项指标的影响, 是一篇不错的Meta分析, 对于临床准备开展此项的医生有较大的帮助。

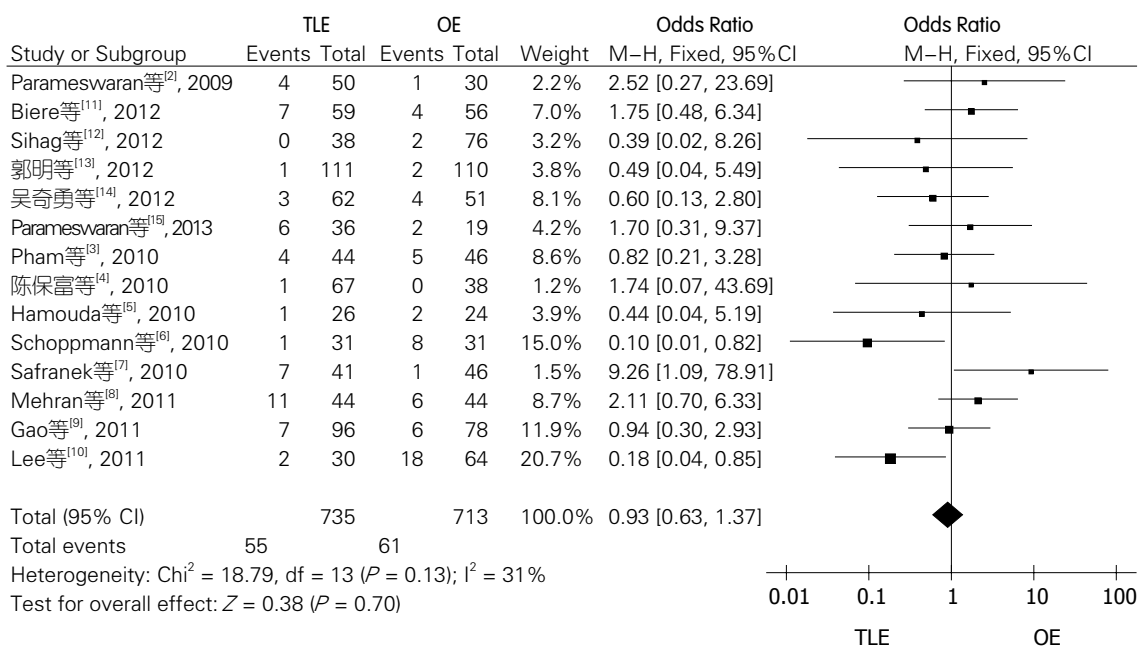


图4 两组术后吻合口瘘发生率比较的Meta分析。

表4 两组16项次要观察指标的比较

评价指标	纳入文献数	n	异质性检验	WMD/OR(95%CI)	合并效应量
手术时间	14	1398	$P < 0.00001$ , $I^2 = 97\%$	53.70(28.29, 79.11)	$Z = 4.14$ , $P < 0.0001$
平均住院天数	7	696	$P < 0.00001$ , $I^2 = 83\%$	-2.43(-5.69, 0.83)	$Z = 1.46$ , $P = 0.14$
ICU 停留时间	7	843	$P < 0.0001$ , $I^2 = 82\%$	0.15(-0.23, 0.53)	$Z = 0.76$ , $P = 0.45$
术后住院天数	4	533	$P < 0.0001$ , $I^2 = 87\%$	-1.33(-2.59, -0.07)	$Z = 2.07$ , $P = 0.04$
围手术期死亡率	8	757	$P = 0.85$ , $I^2 = 0\%$	0.75(0.34, 1.66)	$Z = 0.70$ , $P = 0.48$
呼吸系统并发症	9	882	$P = 0.008$ , $I^2 = 61\%$	0.43(0.21, 0.86)	$Z = 2.37$ , $P = 0.02$
喉返神经损伤	9	997	$P = 0.007$ , $I^2 = 62\%$	0.90(0.28, 2.86)	$Z = 0.19$ , $P = 0.85$
乳糜胸	9	840	$P = 0.80$ , $I^2 = 0\%$	0.86(0.41, 1.80)	$Z = 0.40$ , $P = 0.69$
二次手术	6	507	$P = 0.41$ , $I^2 = 1\%$	0.88(0.49, 1.58)	$Z = 0.43$ , $P = 0.67$
心律失常	7	698	$P = 0.18$ , $I^2 = 33\%$	0.88(0.55, 1.40)	$Z = 0.55$ , $P = 0.58$
吻合口狭窄	4	439	$P = 0.08$ , $I^2 = 56\%$	2.02(0.71, 5.74)	$Z = 1.33$ , $P = 0.18$
胃排空障碍	5	628	$P = 0.14$ , $I^2 = 43\%$	0.59(0.26, 1.33)	$Z = 1.27$ , $P = 0.20$
肺部感染	5	822	$P = 0.05$ , $I^2 = 49\%$	0.59(0.28, 1.25)	$Z = 1.38$ , $P = 0.17$
胸腔积液	5	426	$P = 0.09$ , $I^2 = 50\%$	0.42(0.08, 2.21)	$Z = 1.03$ , $P = 0.30$
肺栓塞	4	399	$P = 0.61$ , $I^2 = 0\%$	0.46(0.11, 1.82)	$Z = 1.11$ , $P = 0.27$
呼吸衰竭	3	256	$P = 0.41$ , $I^2 = 0\%$	0.54(0.15, 2.03)	$Z = 0.91$ , $P = 0.36$

程度与淋巴结清扫数目有关<sup>[16]</sup>, 随着手术技术的进步, 全腔镜手术完全可以达到开放手术相同的疗效, 本研究发现两组在淋巴结清扫数目上并无差异。在术后呼吸系统总体并发症的发生率上, 腔镜组比开放组占有优势, 微创操作能减少对心肺的干扰及避免了膈肌切开, 并保持了胸廓和腹部的完整性, 减轻了疼痛, 使各种炎症因子分泌减少, 痰量随之减少, 同时由于创伤小, 患者可以配合咳嗽咳痰, 对术后呼吸功能影响较小<sup>[17]</sup>。但腔镜组手术时间仍长于开放组, 可能

由于各研究中术者的水平存在差异以及学习曲线问题, 初期时间较长。但随着微创技术的不断发展, 临床医师的手术操作水平的不断提高, 这种差异将不断缩小, 手术时间将会大大缩短。

本研究纳入的14篇文献中有11篇英文文献, 质量高低不等, 提示纳入文献存在语种偏倚、选择性偏倚、实施偏倚和测量偏倚。纳入文献对外科治疗的远期疗效报道不完全, 影响了本研究测量指标评价的全面性。一些研究纳入病例数较少, 降低了检验效能。虽然通过多种途径

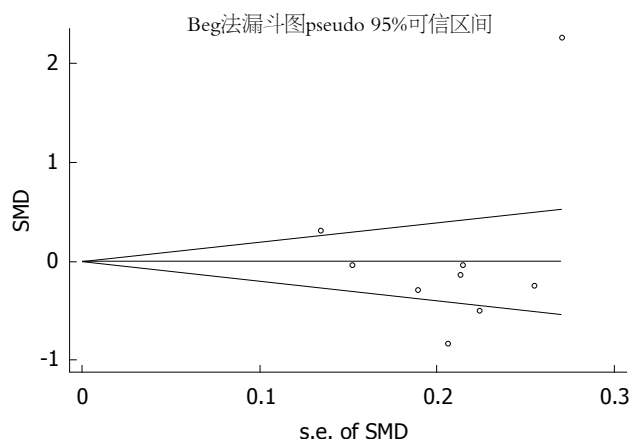


图 5 两组淋巴结清扫数目比较的漏斗图. SMD: 标准化均数差值; s.e. of SMD: 标准化均数差的标准误.

从多个数据库进行检索并进行2次检索, 但是一些文献由于种种原因未能发表或者未能获得全文, 所以未纳入研究. 纳入大部分文献的研究对象在50-221例之间, 未达到循证医学大样本的研究要求. 因此基于这些小样本量的研究得出的结论需谨慎对待, 未来新研究发表时可能会改变此结果.

总之, 胸腹腔镜联合食管癌切除术可以达到传统开放手术相同的疗效, 并在术中出血量、围手术期并发症、术后住院天数等方面占有优势. 虽然其具有操作复杂性高、学习曲线长的难点, 但仍然是未来食管癌手术发展的方向, 将有趋势替代传统的开放手术, 成为食管癌手术的常规方式. 最后也希望能有更多的基于大样本、多中心的、长期的研究来进一步证明其优势、疗效和安全性等问题.

#### 4 参考文献

- 1 Wu PC, Posner MC. The role of surgery in the management of oesophageal cancer. *Lancet Oncol* 2003; 4: 481-488 [PMID: 12901962 DOI: 10.1016/S1470-2045(03)01167-7]
- 2 Parameswaran R, Veeramootoo D, Krishnadas R, Cooper M, Berrisford R, Wajed S. Comparative experience of open and minimally invasive esophago-gastric resection. *World J Surg* 2009; 33: 1868-1875 [PMID: 19609827 DOI: 10.1007/s00268-009-0116-1]
- 3 Pham TH, Perry KA, Dolan JP, Schipper P, Sukumar M, Sheppard BC, Hunter JG. Comparison of perioperative outcomes after combined thoracoscopic-laparoscopic esophagectomy and open Ivor-Lewis esophagectomy. *Am J Surg* 2010; 199: 594-598 [PMID: 20466101 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2010.01.005]
- 4 陈保富, 朱成楚, 王春国, 马德华, 林江, 张波, 孔敏. 胸腹腔镜联合手术与开放手术治疗食管癌的同期临床对照研究. *中华外科杂志* 2010; 48: 1206-1209
- 5 Hamouda AH, Forshaw MJ, Tsigrits K, Jones GE, Noorani AS, Rohatgi A, Botha AJ. Perioperative outcomes after transition from conventional to minimally invasive Ivor-Lewis esophagectomy in a specialized center. *Surg Endosc* 2010; 24: 865-869 [PMID: 19730947 DOI: 10.1007/s00464-009-0679-9]
- 6 Schoppmann SF, Prager G, Langer FB, Riegler FM, Kabon B, Fleischmann E, Zacherl J. Open versus minimally invasive esophagectomy: a single-center case controlled study. *Surg Endosc* 2010; 24: 3044-3053 [PMID: 20464423 DOI: 10.1007/s00464-010-1083-1]
- 7 Safranek PM, Cubitt J, Booth MI, Dehn TC. Review of open and minimal access approaches to oesophagectomy for cancer. *Br J Surg* 2010; 97: 1845-1853 [PMID: 20922782 DOI: 10.1002/bjs.7231]
- 8 Mehran R, Rice D, El-Zein R, Huang JL, Vaporciyan A, Goodyear A, Mehta A, Correa A, Walsh G, Roth J, Swisher S, Hofstetter W. Minimally invasive esophagectomy versus open esophagectomy, a symptom assessment study. *Dis Esophagus* 2011; 24: 147-152 [PMID: 21040152 DOI: 10.1111/j.1442-2050]
- 9 Gao Y, Wang Y, Chen L, Zhao Y. Comparison of open three-field and minimally-invasive esophagectomy for esophageal cancer. *Interact Cardiovasc Thorac Surg* 2011; 12: 366-369 [PMID: 21186282 DOI: 10.1510/icvts.2010.258632]
- 10 Lee JM, Cheng JW, Lin MT, Huang PM, Chen JS, Lee YC. Is there any benefit to incorporating a laparoscopic procedure into minimally invasive esophagectomy? The impact on perioperative results in patients with esophageal cancer. *World J Surg* 2011; 35: 790-797 [PMID: 21327605 DOI: 10.1007/s00268-011-0955-4]
- 11 Biere SS, van Berge Henegouwen MI, Maas KW, Bonavina L, Rosman C, Garcia JR, Gisbertz SS, Klinkenbijn JH, Hollmann MW, de Lange ES, Bonjer HJ, van der Peet DL, Cuesta MA. Minimally invasive versus open oesophagectomy for patients with oesophageal cancer: a multicentre, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2012; 379: 1887-1892 [PMID: 22552194 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60516-9]
- 12 Sihag S, Wright CD, Wain JC, Gaissert HA, Lanuti M, Allan JS, Mathisen DJ, Morse CR. Comparison of perioperative outcomes following open versus minimally invasive Ivor Lewis oesophagectomy at a single, high-volume centre. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012; 42: 430-437 [PMID: 22345284 DOI: 10.1093/ejcts/ezs031]
- 13 郭明, 胡蒙, 孙晓雁, 雷云宏, 杨清杰, 叶东青. 全胸腔镜联合非气腹腹腔镜辅助食管癌根治术与常规手术的对比研究. *中国微创外科杂志* 2012; 12: 53-56
- 14 吴奇勇, 童继春, 王勇, 翟光地, 袁卫东, 毛小亮, 张明, 张科, 陈栋, 朱征, 袁凯, 袁俊强. 胸、腹腔镜联合手术治疗食管癌的临床对比. *中国微创外科杂志* 2012; 12: 1107-1109

- 15 Parameswaran R, Titcomb DR, Blencowe NS, Berisford RG, Wajed SA, Streets CG, Hollowood AD, Krysztopik R, Barham CP, Blazeby JM. Assessment and comparison of recovery after open and minimally invasive esophagectomy for cancer: an exploratory study in two centers. *Ann Surg Oncol* 2013; 20: 1970-1977 [PMID: 23306956 DOI: 10.1245/s10434-012-2848-7]
- 16 Zhang HL, Chen LQ, Liu RL, Shi YT, He M, Meng XL, Bai SX, Ping YM. The number of lymph node metastases influences survival and International Union Against Cancer tumor-node-metastasis classification for esophageal squamous cell carcinoma. *Dis Esophagus* 2010; 23: 53-58 [PMID: 19392846 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2009.00971.x]
- 17 Craig SR, Leaver HA, Yap PL, Pugh GC, Walker WS. Acute phase responses following minimal access and conventional thoracic surgery. *Eur J Cardiothorac Surg* 2001; 20: 455-463 [PMID: 11509263 DOI: 10.1016/S1010-7940(01)00841-7]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

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

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



# 替吉奥或氟尿嘧啶联合顺铂治疗晚期食管癌疗效和安全性的比较

庞丽娜, 王峰, 何伟, 周然, 曹蕾, 樊青霞

庞丽娜, 王峰, 何伟, 周然, 曹蕾, 樊青霞, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省郑州市 450052

庞丽娜, 在读硕士, 主要从事食管癌的基础与临床研究.

作者贡献分布: 此课题由樊青霞与王峰设计; 研究过程由庞丽娜、王峰、何伟、周然及曹蕾操作完成; 数据整理与分析由庞丽娜完成; 本论文写作由樊青霞与庞丽娜完成.

通讯作者: 樊青霞, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号院, 郑州大学第一附属医院肿瘤科1病区. fqx2243@126.com

电话: 0371-66295533

收稿日期: 2013-11-05 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Efficacy and safety of S-1 or fluorouracil combined with cisplatin in treatment of advanced esophagus cancer

Li-Na Pang, Feng Wang, Wei He, Ran Zhou, Lei Cao, Qing-Xia Fan

Li-Na Pang, Feng Wang, Wei He, Ran Zhou, Lei Cao, Qing-Xia Fan, Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Qing-Xia Fan, Professor, Chief Physician, Doctoral Supervisors, Department of Medical Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. fqx2243@126.com

Received: 2013-11-05 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of S-1 plus cisplatin in the treatment of patients with advanced esophagus cancer.

**METHODS:** Fifty-seven patients with advanced esophagus cancer were randomly divided into either an observation group ( $n = 28$ ) or a control group ( $n = 29$ ). The observation group was treated with S-1 capsule 100 mg/d [if the body surface area (BSA) is  $< 1.5 \text{ m}^2$ ] or 120 mg/d (if the BSA was not less than  $1.5 \text{ m}^2$ ), twice daily for 14 d and cisplatin 75 mg/ $\text{m}^2$  intravenously from days 1-3. The control group was treated

with leucovorin (LV) 200 mg/ $\text{m}^2$  and fluorouracil (5-FU) 600 mg/ $\text{m}^2$  intravenously from days 1-5, and cisplatin just the same as the observation group. Chemotherapy was repeated every 21 d. Curative effect was evaluated every 2 cycles. Clinical effect, adverse reactions, time to progression (TTP) and overall survival (OS) were observed and compared between the two groups.

**RESULTS:** The response rate and disease control rate were significantly higher in the observation group than in the control group (55.6% vs 27.6%,  $P < 0.05$ ; 81.5% vs 55.2%,  $P < 0.05$ ). The incidences of thrombocytopenia and liver function damage in the observation group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$  for both). There were no statistically significant difference in the incidences of nausea and vomiting, oral mucositis or hand-foot syndrome between the two groups. The median TTP and OS were significantly longer in the observation group than in the control group (7 mo vs 6 mo, 12 mo vs 9 mo,  $P < 0.05$  for both).

**CONCLUSION:** Compared to fluorouracil combined with cisplatin, S-1 plus cisplatin can increase short-term effect and prolong survival period in patients with advanced esophagus cancer, and most of the toxicities can be tolerated. S-1 plus cisplatin may become the first choice instead of FP for advanced esophagus cancer.

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

**Key Words:** Advanced esophagus cancer; Combined chemotherapy; Tegafur gimeracil oteracil potassium capsules; Cisplatin; Fluorouracil

Pang LN, Wang F, He W, Zhou R, Cao L, Fan QX. Efficacy and safety of S-1 or fluorouracil combined with cisplatin in treatment of advanced esophagus cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 383-388 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/383.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.383>

## ■背景资料

我国食管癌患者约半数确诊时已是晚期, 治疗以全身化疗为主的综合治疗. 传统的化疗药物因不良反应大、缓解周期短等原因使临床使用受限制. 替吉奥使结直肠癌、胃癌患者从中获益, 但在食管癌中研究应用较少.

## ■同行评议者

姜春萌, 教授, 主任, 大连医科大学附属第二医院消化科

## ■ 研发前沿

目前替吉奥成为食管癌内科治疗的研究热点, 本文对比标准治疗方案顺铂联合氟尿嘧啶, 新药替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌取得更显著的近期疗效, 同时也增加了生存时间, 且不良反应可耐受。

## 摘要

**目的:** 观察替吉奥(S-1)联合顺铂(cisplatin, DDP)方案(S-1+DDP, SP方案)治疗晚期食管癌的疗效及安全性。

**方法:** 57例入组患者被随机分为2组, 观察组28例采用替吉奥加顺铂治疗, 替吉奥100 mg/d[体表面积(body surface area, BSA)<1.5 m<sup>2</sup>者]或120 mg/d(BSA>1.5 m<sup>2</sup>者), 2次/d于早晚餐后顿服, 连服14 d后停药7 d; DDP 75 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注d1-3. 对照组29例采用氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)联合顺铂(FP方案)治疗, 亚叶酸钙(leucovorin, LV)200 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注d1-5, 5-FU 600 mg/m<sup>2</sup>, 连续静滴d1-5; DDP 75 mg/m<sup>2</sup>, 静脉滴注d1-3. 以上化疗方案21 d为1个周期, 每2个周期评价疗效. 观察并比较临床疗效、不良反应、疾病进展时间(time to progression, TTP)及生存期(overall survival, OS)等指标。

**结果:** 观察组和对照组总有效率 = 完全缓解(complete remission, CR)+部分缓解(partial remission, PR), 分别为55.6%和27.6%, 两组比较差异有显著性( $P<0.05$ ). 临床获益率[CR+PR+疾病稳定(stable disease, SD)]分别为81.5%和55.2%, 两组比较差异有显著性( $P<0.05$ ). 不良反应方面观察组血小板减少及肝功能损害的发生率高于对照组, 两组比较差异有显著性( $P<0.05$ ), 恶心呕吐、口腔黏膜炎及手足综合征等不良反应差异均无统计学意义. 中位无疾病进展生存时间观察组和对照组分别为7 mo和6 mo; 中位生存时间两组分别为12 mo和9 mo, 差异均有显著性( $P<0.05$ ).

**结论:** 替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效和延长生存期, 不良反应可耐受, 可替代标准FP方案成为治疗晚期食管癌的首选。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 晚期食管癌; 联合化疗; 替吉奥; 顺铂; 氟尿嘧啶

**核心提示:** 替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效, 增加生存时间. 同时也增加了血液系统毒性及肝损害的可能, 但绝大部分不良反应以轻中度为主, 且均为可逆性, 患者耐受性好, 依从性高, 临床实用价值高. 为广大临床医师提供了新的选择。

庞丽娜, 王峰, 何伟, 周然, 曹蕾, 樊青霞. 替吉奥或氟尿嘧啶

联合顺铂治疗晚期食管癌疗效和安全性的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 383-388 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/383.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.383>

## 0 引言

中国是食管癌的高发国家, 据国际癌症研究署统计, 2008年我国食管癌的新发病比例占世界的53.82%, 同期死亡比例占51.92%<sup>[1]</sup>. 我国食管癌患者约半数确诊时已是晚期, 治疗为以全身化疗为主的综合治疗<sup>[2]</sup>. 传统的化疗药物, 如氟尿嘧啶、阿霉素等因不良反应大、缓解周期短等原因使临床使用受限制. 近年来, 新药替吉奥胶囊的问世, 使得结直肠癌、胃癌患者从中获益, 但在食管癌中应用较少, 国内宋子琰等<sup>[3]</sup>采用吉西他滨联合替吉奥治疗晚期食管癌疗效肯定, 但骨髓抑制发生率较高. 本文为探索晚期食管癌患者在替吉奥联合顺铂方案治疗中是否获益, 对我院2011-01/2011-12收治的晚期食管癌患者57例随机分为观察组和对照组, 观察组28例采用国产替吉奥胶囊联合顺铂顺铂(cisplatin, DDP)方案(S-1+DDP, SP方案)治疗, 对照组29例采用标准方案顺铂联合氟尿嘧啶(DDP+5-FU, FP方案)治疗, 观察并比较两组在临床疗效、不良反应、疾病进展时间(time to progression, TTP)及生存期(overall survival, OS)等指标方面的差异. 现将观察搜集的结果分析报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 晚期食管癌患者57例, 其中男43例, 女14例, 男女比例为3.07:1. 年龄分布范围为36-78岁, 平均年龄为59岁. 病理类型均为鳞癌(表1).

### 1.2 方法

**1.2.1 入组标准:** (1)经病理学或细胞学诊断确诊的晚期食管癌患者, 具有可测量的肿瘤病灶; (2)KPS评分 $\geq 70$ 分; (3)预计生存期 $> 3$  mo; (4)血常规、肝肾功能、电解质、心电图、心脏彩超均在正常范围. 无活动性出血、穿孔, 无合并第二肿瘤, 无合并其他化疗禁忌的疾病; (5)复治病例出现复发或转移等进展倾向, 且本次治疗距此前最后一次治疗间隔时间 $> 4$  wk.

**1.2.2 治疗:** 本研究经过我院科研伦理委员会批准, 对所有符合入组条件的患者均事先签署知情同意书, 采用计算机产生随机数的方法随机分为观察组和对照组. 观察组28例采用替吉

表 1 两组患者的一般情况 (n)

临床资料	观察组	对照组	P值
性别			0.490
男	20	23	
女	8	6	
年龄(岁)			0.689
≤60	15	14	
>60	13	15	
分化程度			0.797
高分化	9	7	
中分化	12	14	
低分化	7	8	
KPS评分(分)			0.670
≤80	3	2	
>80	25	27	
既往治疗情况			0.672
初治	17	16	
复治	11	13	

奥联合顺铂方案, 具体方法为: 体表面积(body surface area, BSA) $<1.5 \text{ m}^2$ 者, 替吉奥60、40 mg分别于早晚餐后顿服; BSA $>1.5 \text{ m}^2$ 者, 替吉奥60 mg/次, 2次/d, 早晚餐后顿服, 连服14 d后停药7 d. DDP 75 mg/ $\text{m}^2$ , 静脉滴注d1-3. 对照组: DDP 75 mg/ $\text{m}^2$ , 静脉滴注d1-3; 亚叶酸钙(leucovorin, LV) 200 mg/ $\text{m}^2$ , 静脉滴注d1-5, 氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)600 mg/ $\text{m}^2$ , 连续静滴d1-5. 顺铂应用期间给予水化、碱化及利尿药物应用. 化疗药物应用期间给予地塞米松、苯海拉明、托烷司琼、甲氧氯普胺等药物应用, 以减少可能出现的消化系反应. 治疗期间每周复查血常规、肝肾功能, 若出现II度以上的骨髓抑制, 给予粒细胞集落刺激因子或白介素11等生物制剂对症治疗, 白细胞 $<1.0 \times 10^9/\text{L}$ 、血小板 $<30 \times 10^9/\text{L}$ 时应停止应用以上化疗药物, 立即给予升血、预防感染及出血等对症治疗. 每周期用药之前均应复查血常规、肝肾功能、电解质、心脏彩超及心电图. 以上化疗方案21 d为1个周期, 每2个周期评价疗效, 具体方法为胸腹部CT、浅表淋巴结彩超、上消化道造影和肿瘤标志物, 评价有效或稳定者化疗4-6个周期. 所有病例均进行安全性评定. 定期随访1年以上, 对失访病例或死亡病例均说明原因.

1.2.3 评价标准: 近期疗效按WHO推荐的实体瘤客观疗效标准分为完全缓解(complete remission, CR)、部分缓解(partial remission, PR)、稳定(sta-

ble disease, SD)和疾病进展(progressive disease, PD). 有效率(response rate, RR)为CR+PR, 临床获益率为CR+PR+SD. 不良反应按抗癌药物急性与亚急性毒性表现及分级标准分为0-IV度.

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计学软件进行数据处理, 计数资料率的比较采用 $\chi^2$ 检验, 对于不符合 $\chi^2$ 检验标准的则采用Fisher确切概率法. 应用Kaplan-Meier法比较两组的生存期并绘制生存曲线.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 一般情况 观察组及对照组在年龄、性别、病理类型、分化程度及KPS评分等方面差异均无统计学意义, 即基线具有可比性(表1). 另外, 为探讨使用白介素11或粒细胞集落刺激因子等生物制剂对化疗疗效是否产生影响, 将两组患者按使用生物制剂与否分为2组, 并对其进行统计学分析, 结果显示差异没有显著性( $P = 0.706 > 0.05$ ). 57例患者共完成238个周期化疗(平均周期数为4.2). 观察组中1例复诊患者化疗第一周期即出现不可耐受的消化系反应, 主要为持续腹泻, 经积极治疗后症状消失. 但因患者拒绝继续任何治疗于5 mo后死于疾病进展. 观察组中1例患者化疗4周期后出现IV度骨髓抑制(血小板数目 $= 13 \times 10^9/\text{L}$ ), 经纠正后给予S-1减量应用并完成6周期化疗. 余患者均未再出现严重的不良反应.

2.2 近期疗效 因观察组中1例患者中断治疗, 故目前可评价近期疗效的病例数为56例(SP组27例, FP组29例). 总有效率(CR+PR)观察组为55.6%, 对照组为27.6%, 两组比较差异有显著性( $\chi^2 = 4.519, P = 0.034 < 0.05$ ). 临床获益率(CR+PR+SD)观察组为81.5%, 对照组为55.2%, 两组比较差异有显著性( $P = 0.035 < 0.05$ , 表2).

2.3 不良反应 主要不良反应为消化系反应及骨髓抑制. 观察组血小板减少及肝功能损害的发生率高于对照组, 两组比较差异有显著性( $P < 0.05$ ). 恶心呕吐、口腔黏膜炎、白细胞减少及手足综合征等不良反应两组比较差异均无统计学意义. 不良反应经对症处理或停药后可消失, 均为可逆性反应. 本研究没有化疗相关性死亡事件发生(表3).

2.4 生存结果 随访1年以上, 观察组和对照组mTTP分别为7 mo和6 mo( $\chi^2 = 10.201, P = 0.001 < 0.05$ ), 两组的中位生存时间分别为12 mo和9 mo( $\chi^2 = 4.006, P = 0.045 < 0.05$ ), 两组比较均

## ■ 相关报道

Shirasaka详实报道了口服化疗药物替吉奥胶囊的临床应用价值及前景. 国内宋子琰等采用吉西他滨联合替吉奥治疗晚期食管癌疗效肯定, 但骨髓抑制发生率较高, 且未设计平行对照组.



## ■创新盘点

本文在前人的基础上结合临床实践,采用随机对照实验的方法进行研究,观察组和对照组除治疗方案不同之外,一般情况均具有可比性,使得结果更加详实可信。同时更为新药替吉奥在食管癌中的应用提供了科学依据。

表 2 两组近期临床疗效比较 (n)

分组	n	CR	PR	SD	PD	有效率(%)	临床获益率(%)
观察组	27	1	14	7	5	55.6	81.5
对照组	29	0	8	8	13	27.6	55.3

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 疾病进展。

表 3 两组不良反应比较 (n)

不良反应	观察组(SP方案组)			对照组(FP方案组)			P值
	0度	I-II	III-IV	0度	I-II	III-IV	
恶心呕吐	6	19	3	4	21	4	0.775
口腔黏膜炎	17	9	2	13	11	5	0.398
腹泻	20	7	1	16	10	3	0.396
白细胞减少	11	13	4	9	17	3	0.696
血小板减少	12	14	2	22	6	1	0.025
肝功能损害	15	13	0	23	6	0	0.039
手足综合征	16	11	1	16	13	0	0.790
色素沉着	9	14	5	7	16	6	0.850

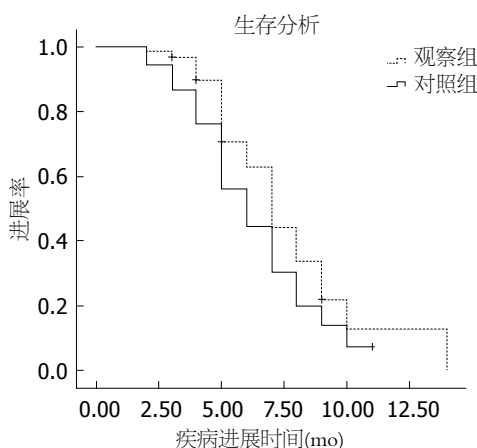


图 1 两组患者疾病进展时间比较。

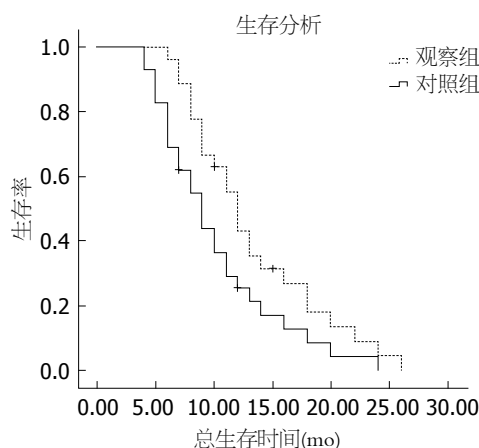


图 2 两组患者生存曲线。

具有统计学差异(图1, 2)。

## 3 讨论

全身化疗自六七十年代开始应用于食管癌治疗以来, 现已成为该疾病重要的治疗手段<sup>[4]</sup>。目前认为治疗晚期食管癌的一线方案为顺铂联合5-FU<sup>[5]</sup>; FP方案具有有效率低、中位生存期短及不良反应大等劣势<sup>[6]</sup>; 主要因为5-FU静脉滴注半衰期较短, 从而大大影响了抗肿瘤效果; 为增加其作用时间临床上常采用持续滴注的方式, 但也因此出现了不良反应大、实际采用受限制等的难题。故目前寻找安全有效的替代方案是迫切需要解决的问题。替吉奥作为一种口服氟尿嘧啶

衍生物类抗肿瘤复方制剂, 其主要成分为替加氟(Tegafur, FT)、吉美嘧啶(Gimeracil, CDHP)和奥替拉西(Potassium oxonate, Oxo)。FT口服吸收后经细胞色素P-450酶转化成活性产物氟尿嘧啶, CDHP通过抑制其分解代谢中的二氢嘧啶脱氢酶而延长药物体内作用时间, 而Oxo通过阻断氟尿嘧啶的磷酸化而使其集中分布于胃肠道。同时有研究表明, Oxo还具有降低氟尿嘧啶引起的胃肠道不良反应的作用<sup>[7-10]</sup>。另外口服给药方式简便易行, 患者易于接受。实验研究表明FT的化疗指数是FU的2倍, 毒性则是FU的1/7-1/4<sup>[11]</sup>。由此可见, 替吉奥已经从理论上成功克服了静脉滴注氟尿嘧啶的上述不足。

本临床试验结果显示, FP方案组有效率为27.6%, 临床获益率为55.3%, 中位无疾病进展生存期为6 mo, 中位生存时间为9 mo, 结果与既往文献报道的相近<sup>[12,13]</sup>。SP方案组有效率为55.6%, 临床获益率为81.5%, 中位无疾病进展生存期为7 mo, 中位生存时间为12 mo, 以上数据均较对照组有显著的增加, 且差异均具有统计学意义, 表明替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效和生存期。不良反应方面, 两组主要不良反应均为消化系反应与骨髓抑制, 且大多为轻到中度。两组在消化系反应、手足综合征及色素沉着等不良反应方面比较差异均无显著性, 提示SP方案组不增加以上不良反应。消化系反应的出现主要与使用顺铂有关, 另外, 部分患者术后消化系重建, 复治患者多次内科治疗史也可能加重消化系反应。但SP方案组血小板下降程度较对照组加重, 且差异具有显著性, 这可能与口服给药时间长、作用持久有关。肝功能损害较对照组亦有所增加, 且差异具有统计学意义。原因或为吉美嘧啶抑制其分解代谢酶活性, 导致氟尿嘧啶灭活减少, 蓄积于肝脏产生肝损害<sup>[14]</sup>。另外或与部分患者同时患有脂肪肝、肝炎或肝转移相关。故广大临床工作者使用SP方案时应注意监测血象和肝功能, 以防化疗相关性事件的发生。

本研究采用随机对照的实验方法, 入组患者在年龄、性别、病理类型、分化程度及KPS评分等方面均具有可比性。观察组和对照组患者在使用白介素11或粒细胞集落刺激因子等生物制剂与否方面差异无统计学意义( $P = 0.706 > 0.05$ ), 提示差异没有显著性, 不会对本研究结果造成干扰, Saitoh等<sup>[15]</sup>观察了单用白介素11及其联用3种抗癌药物时对肺癌细胞增殖的影响, 结果显示白介素11可成功防治血小板减少而不改变化疗药物的抗癌活性。上述各方面均尽可能减少了实验误差或偏移, 增加了结果的可信度。

总之, 替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效, 增加生存时间。同时也增加了血液系统毒性及肝损害, 但绝大部分不良反应以轻中度为主, 且均为可逆性, 患者耐受性好, 依从性高, 临床实用价值高。可替代FP方案成为治疗晚期食管癌的首选方案。

#### 4 参考文献

1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, For-

- man D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 van Meerten E, Eskens FA, van Gameren EC, Doorn L, van der Gaast A. First-line treatment with oxaliplatin and capecitabine in patients with advanced or metastatic oesophageal cancer: a phase II study. *Br J Cancer* 2007; 96: 1348-1352 [PMID: 17437008]
- 3 宋子琰, 郑义同, 卞宝祥. 吉西他滨联合替吉奥治疗晚期食管癌的临床观察. *肿瘤基础与临床* 2011; 24: 293-295
- 4 孙燕, 石远凯. 临床肿瘤内科手册. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 470-471
- 5 Yamazaki K, Hironaka S, Boku N, Yasui H, Fukutomi A, Yoshino T, Onozawa Y, Hasuike N, Inui T, Yamaguchi Y, Ono H. A retrospective study of second-line chemotherapy for unresectable or recurrent squamous cell carcinoma of the esophagus refractory to chemotherapy with 5-fluorouracil plus platinum. *Int J Clin Oncol* 2008; 13: 150-155 [PMID: 18463960 DOI: 10.1007/s10147-007-0738-y]
- 6 任鹏, 于振涛. 晚期食管癌的姑息治疗. *中国肿瘤临床* 2013; 10: 604-607
- 7 Shirasaka T. Development history and concept of an oral anticancer agent S-1 (TS-1): its clinical usefulness and future vistas. *Jpn J Clin Oncol* 2009; 39: 2-15 [PMID: 19052037 DOI: 10.1093/jjco/hyn127]
- 8 Koizumi W, Boku N, Yamaguchi K, Miyata Y, Sawaki A, Kato T, Toh Y, Hyodo I, Nishina T, Furu-hata T, Miyashita K, Okada Y. Phase II study of S-1 plus leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer. *Ann Oncol* 2010; 21: 766-771 [PMID: 19828562 DOI: 10.1093/annonc/mdp371]
- 9 Yoshisue K, Hironaga K, Yamaguchi S, Yamamoto A, Nagayama S, Kawaguchi Y. Reduction of 5-fluorouracil (5-FU) gastrointestinal (GI) toxicity resulting from the protection of thymidylate synthase (TS) in GI tissue by repeated simultaneous administration of potassium oxonate (Oxo) in rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2000; 46: 51-56 [PMID: 10912578 DOI: 10.1007/s00280000123]
- 10 Yoshisue K, Masuda H, Matsushima E, Ikeda K, Nagayama S, Kawaguchi Y. Tissue distribution and biotransformation of potassium oxonate after oral administration of a novel antitumor agent (drug combination of tegafur, 5-chloro-2,4-dihydroxypyridine, and potassium oxonate) to rats. *Drug Metab Dispos* 2000; 28: 1162-1167 [PMID: 10997934]
- 11 Diaz-Canton E, Pazdur R. Preoperative combined oral UFT plus leucovorin and radiation therapy for rectal cancer. *Oncology (Williston Park)* 1997; 11: 58-60 [PMID: 9348571]
- 12 Enzinger PC, Ilson DH, Kelsen DP. Chemotherapy in esophageal cancer. *Semin Oncol* 1999; 26: 12-20 [PMID: 10566606]
- 13 Bleiberg H, Conroy T, Paillot B, Lacave AJ, Blijham G, Jacob JH, Bedenne L, Namer M, De Besi P, Gay F, Collette L, Sahmoud T. Randomised phase II study of cisplatin and 5-fluorouracil (5-FU) versus cisplatin alone in advanced squamous cell oesophageal cancer. *Eur J Cancer* 1997; 33: 1216-1220 [PMID: 9301445 DOI: 10.1016/S0959-8049(97)00088-9]
- 14 葛博建, 高湘湘, 顾寄树, 谭清河. 替吉奥胶囊联合多西他赛治疗晚期食管癌临床疗效观察. *实用临床医药杂志* 2011; 17: 102-104

#### ■应用要点

本研究表明替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌可显著提高近期疗效和延长生存期, 不良反应可耐受, 可替代标准氟尿嘧啶联合顺铂方案成为治疗晚期食管癌的首选。

## ■同行评价

本文通过对替吉奥或氟尿嘧啶联合顺铂治疗晚期食管癌的比较,显示出替吉奥联合顺铂治疗晚期食管癌的显著疗效及良好的安全性。对于晚期食管癌的内科治疗具有重要的实际意义,为扩大新药替吉奥的应用范围有重要的探索价值。

- 15 Saitoh M, Taguchi K, Momose K, Suga K, Yamazaki N, Ono C, Suzuki T, Takeuchi O, Yasuda S, Miyata K. Recombinant human interleukin-11 improved carboplatin-induced thrombocytopenia without af-

fecting antitumor activities in mice bearing Lewis lung carcinoma cells. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 161-166 [PMID: 11862431 DOI: 10.1007/s00280-001-0387-1]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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



# 江苏不同地区胃疾病相关幽门螺杆菌差异蛋白质的比较

叶振宇, 李军成, 邢春根

叶振宇, 李军成, 邢春根, 苏州大学附属第二医院普通外科  
江苏省苏州市 215004

叶振宇, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤与胰腺疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由叶振宇撰写; 实验由叶振宇、李军成及邢春根共同完成。

通讯作者: 李军成, 主任医师, 215004, 江苏省苏州市姑苏区三香路1055号, 苏州大学附属第二医院普通外科。

jchenglee@sina.com

电话: 0512-67784796

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-12-02

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

## Proteomic analysis of *Helicobacter pylori* from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu

Zhen-Yu Ye, Jun-Cheng Li, Chun-Gen Xing

Zhen-Yu Ye, Jun-Cheng Li, Chun-Gen Xing, Department of Surgery, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Jun-Cheng Li, Chief Physician, Department of Surgery, the Second Affiliated Hospital of Soochow University, 1055 Sanxiang Road, Gusu District, Suzhou 215004, Jiangsu Province, China. Jchenglee@sina.com

Received: 2013-11-18 Revised: 2013-12-02

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To perform a proteomic analysis of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu.

**METHODS:** *H. pylori* strains were isolated from the endoscopic biopsy specimens of gastric mucosa of patients with gastritis or gastric cancer from areas of high (Taizhou) and low (Suzhou) incidence of gastric cancer, and whole-cell proteins of *H. pylori* were extracted and characterized by 2-dimensional electrophoresis (DE). Different protein spots were analyzed using PDQuest analysis software, identified by electrospray ionization quadrupole time-of-flight mass spectrometry (ESI-Q-TOF-MS), and searched using the Mascot database.

**RESULTS:** Nine differentially expressed pro-

teins were identified, including four up-regulated in gastric cancer (superoxide dismutase, urease subunit alpha, chaperone protein dnaK and DNA-directed RNA polymerase subunit alpha), two up-regulated in chronic gastritis (urease subunit alpha and nucleoside diphosphate kinase), and three only expressed in strains from one region (S-ribosyl homocysteine lyase, inorganic pyrophosphatase and  $60 \times 10^3$  chaperonin).

**CONCLUSION:** There are proteomic differences between *H. pylori* isolates from patients with gastritis and gastric cancer in areas of high and low incidents of gastric cancer. The protein spots overexpressed in gastric cancer in the area with high incidence of gastric cancer are more than those in the area with low incidence of gastric cancer.

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

**Key Words:** Gastric cancer; Chronic gastritis; *Helicobacter pylori*; Protein

Ye ZY, Li JC, Xing CG. Proteomic analysis of *Helicobacter pylori* from patients with different gastric diseases in different regions of Jiangsu. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 389-393 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/389.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.389>

## 摘要

**目的:** 鉴定、比较江苏地区胃癌高、低发区胃癌与慢性胃炎相关幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)差异表达蛋白质。

**方法:** 选取江苏省泰州市(胃癌高发区)和苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养出的*H. pylori*, 提取蛋白质后通过双向凝胶电泳进行分离, 使用PDQuest软件对蛋白质点进行分析和比较, 通过四极杆飞行时间电喷雾串联质谱对差异蛋白质点进行鉴定, 并通过Mascot数据库检索。

**结果:** 所选*H. pylori*菌株总蛋白进行双向凝胶

## ■背景资料

幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染与胃癌和慢性胃炎等的发病与病情进展过程有紧密联系, 不同地区人群差异和*H. pylori*菌株差异均为导致*H. pylori*感染致病结局不同的主要因素。已有文献报道分析, 胃癌和慢性胃炎发病的相关*H. pylori*菌株蛋白也有一定的差异。

## ■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

## ■ 研发前沿

现阶段,多个资料研究结果显示,*H. pylori*与胃癌、慢性胃炎、消化性溃疡等胃肠道疾病的发病及病情进展有密切相关性。然而,关于该方面的明确的致病机制还没有准确报道。

电泳后获得优质2-DE图谱,经Q-TOP鉴定为1号(巯基过氧化物酶)、3号(超氧化物歧化酶)、4号(尿素酶 $\alpha$ )、5号(核苷二磷酸激酶)、8号(分子伴侣dnaK)、9号(S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶)、13号(无机焦磷酸酶)、14号(DNA引导的RNA聚合酶 $\alpha$ )和16号(分子伴侣 $60 \times 10^3$ )9个差异蛋白质点,其中3号、4号、8号和14号蛋白质点在胃癌菌株中均为高表达,1号和5号蛋白质点在慢性胃炎菌株中均为高表达,9号、13号和16号蛋白质点仅在一个地区存在差异表达。

**结论:**胃癌高、低发区胃癌及相应地区慢性胃炎*H. pylori*蛋白质比较存在一定差异,但其中2/3的差异蛋白质是一致的,胃癌高发区*H. pylori*差异蛋白质高表达多于低发区,表明*H. pylori*在不同胃癌发病区致病机制相似,但在胃癌高发区作用强于低发区。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃癌;慢性胃炎;幽门螺杆菌;蛋白质

**核心提示:** 本研究以我国江苏省泰州市(胃癌高发区)和苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养出的幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*)菌株作为研究对象,通过蛋白质组学分析比较两地区差异蛋白质表达。

叶振宇, 李军成, 邢春根. 江苏不同地区胃疾病相关幽门螺杆菌差异蛋白质的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 389-393  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/389.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.389>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)由Marshall等<sup>[1]</sup>首次从胃黏膜中分离出,并开展了关于*H. pylori*基因组成等方面的研究。现阶段,多个资料研究结果显示,*H. pylori*与胃癌、慢性胃炎、消化性溃疡等胃肠道疾病的发病及病情进展有密切相关性。然而,关于该方面的明确的致病机制还没有准确报道<sup>[2]</sup>。蛋白质组学技术在该方面,有着自己的独特优势<sup>[3]</sup>。我院采用该技术对江苏地区胃炎患者的*H. pylori*临床菌株差异蛋白进行比较研究,为*H. pylori*致胃癌的致病机制及胃癌防治提供理论依据,报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究所采用的*H. pylori*菌株来自2012-08/2013-08江苏省泰州市(胃癌高发区)和

苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养。

### 1.2 方法

**1.2.1 样本*H. pylori*分离培养:** 将胃黏膜活检组织进行充分的研磨,制备得到匀浆,然后将其进行接种,所选培养基为哥伦比亚琼脂培养基,培养条件选取为5%O<sub>2</sub>、10%CO<sub>2</sub>、85%N<sub>2</sub>(微需氧环境),经培养72 h后,进行形态学、快速尿素酶以及革兰染色油镜观察鉴定,确定为符合本研究所需*H. pylori*菌株后,于-80℃低温保存待检<sup>[4]</sup>。

**1.2.2 蛋白提取:** 在室温下将待检*H. pylori*菌株进行解冻,混匀保存液。取500  $\mu$ L *H. pylori*菌株,由接种环进行均匀接种,所选培养基为固体选择性培养基。所选培养条件为37℃微需氧环境,培养时间为72 h。将菌苔刮下使用PBS洗涤,将洗涤悬浮液离心后弃去上清液。将沉淀置于EP管中,并加入细菌裂解液(尿素8 mol/L、DTT 65 mmol/L、PMSF 1 mmol、CHAPS 4%、两性电解质0.2%)混匀,混合液在冰浴环境下超声破碎,在室温下放置0.5 h后离心1 h,取上清液分装入EP管<sup>[5]</sup>。取其中1管采用BCA方法使用蛋白质定量试剂盒进行蛋白质定量。

**1.2.3 双向凝胶电泳:** 等电聚焦:使用17 cm线性胶条,上样量:每胶120  $\mu$ g,聚焦仪程序设置为:50 V, 12 h; 250 V, 30 min; 1000 V, 1 h; 10000 V, 5 h; 10000 V, 70000伏小时; 500 V, 1 h。取出胶条,将其放于平衡缓冲液 I (含DTT 0.02 g/mL)和平衡缓冲液 II (含碘乙酰胺 0.025 g/mL)中,分别进行震荡平衡,时间为15 min,转至浓度为12%的聚丙烯酰胺凝胶<sup>[6]</sup>。电泳:每胶10 mA, 30 min; 每胶30 mA, 5 h。银染后使用DUOSCANT 1200扫描仪进行扫描,使用ImageMaster 5.0版图像分析软件与手工操作结合进行分析,得到差异表达蛋白质点,经胰酶将切取的蛋白质点进行胶内酶解<sup>[7]</sup>。

**1.2.4 质谱鉴定:** 经四极杆飞行时间电喷雾串联质谱对差异蛋白质点进行鉴定,经毛细管液相色谱梯度洗脱进行脱盐,然后进行上样分析,上样量为1.4  $\mu$ L<sup>[8]</sup>。二级质谱获得的图谱采用Max-Ent3软件处理,对该肽段氨基酸序列进行鉴定。从Mascot细菌数据库中得到检索结果<sup>[9]</sup>。

**统计学处理** 从Mascot细菌数据库中得出检索结果。

## 2 结果

**2.1 *H. pylori*菌株蛋白质双向凝胶电泳(two-**

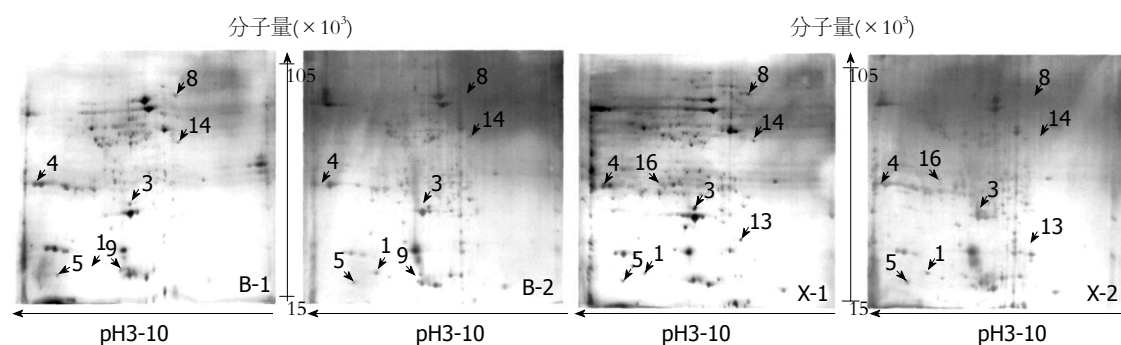


图1 有代表性的总蛋白2-DE图谱. 箭头表示差异表达的蛋白质点.

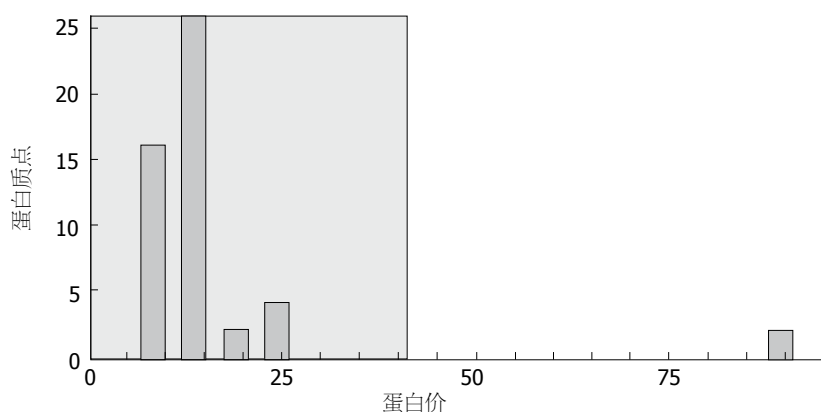


图2 13号蛋白质点的Mascot搜索结果.

dimensional gel electrophoresis, 2-DE)图谱的建立. 在同一条件下对本组胃癌和慢性胃炎患者*H. pylori*菌株总蛋白进行双向凝胶电泳分离, 在银染显色后可以得到背景清晰、分辨率高及重复性良好的2-DE图谱. 经PDQuest软件分析显示, 获得的每张2-DE图谱有蛋白质点300个左右, 多数蛋白质点位置和丰度具有一致性, 主要分布于pH4-8范围内. 经PDQuest软件结合手工进行成组分析比较可选出差异表达的蛋白质点(图1), 将这些蛋白质点进行质谱分析.

图1中显示图谱中共有9个差异蛋白质点, 包括1、3、4、5、8、9、13、14和16号. 9个差异蛋白质点中1、3、4、5、8和14号蛋白质点在泰州和苏州均存在一致性差异表达, 其中3、4、8和14号蛋白质点在胃癌菌株中均为高表达, 但在相应地区慢性胃炎菌株中4、8和14号蛋白质点均不表达, 3号蛋白质点低表达; 1和5号蛋白质点再慢性胃炎菌株中均为高表达, 但在相应地区胃癌菌株中1号蛋白质点不表达或低表达, 5号蛋白质点低表达. 9个差异蛋白质点中9、13和16号蛋白质点仅在一个地区存在差异表达. 其中9号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现

在苏州地区, 13和16号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现在泰州地区; 在相应地区慢性胃炎菌株中9和13号蛋白质点不表达, 16号蛋白质点低表达.

**2.2 蛋白质鉴定** 经Q-TOP对差异蛋白质进行鉴定, 检索SWISS-PROT和NCBI蛋白质数据库(表1). 1号蛋白质点为巯基过氧化物酶, 3号蛋白质点为超氧化物歧化酶, 4号蛋白质点为尿素酶 $\alpha$ , 5号蛋白质点为核苷二磷酸激酶, 8号蛋白质点为分子伴侣dnaK, 9号蛋白质点为S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶, 13号蛋白质点为无机焦磷酸酶, 14号蛋白质点为DNA引导的RNA聚合酶 $\alpha$ , 16号蛋白质点为分子伴侣 $60 \times 10^3$ . 以13号蛋白质点为例, 其Mascot搜索结果截面图如图2, 其Q-TOP质谱图如图3.

### 3 讨论

*H. pylori*感染与胃癌和慢性胃炎等的发病与病情进展过程有紧密联系, 不同地区人群差异和*H. pylori*菌株差异均为导致*H. pylori*感染致病结局不同的主要因素<sup>[10]</sup>. 已有文献报道分析, 胃癌和慢性胃炎发病的相关*H. pylori*菌株蛋白也

#### ■ 相关报道

1号蛋白质点巯基过氧化物酶相关报道较少, 其本身参与氧化还原反应, 而关于其具体的致病机制还没有明确.



## ■应用要点

胃癌高、低发区胃癌及相应地区慢性胃炎 *H. pylori* 蛋白质比较存在一定差异, 但其中2/3的差异蛋白质是一致的, 胃癌高发区 *H. pylori* 差异蛋白质高表达多于低发区, 表明 *H. pylori* 在不同胃癌发病区致病机制相似, 但在胃癌高发区作用强于低发区。

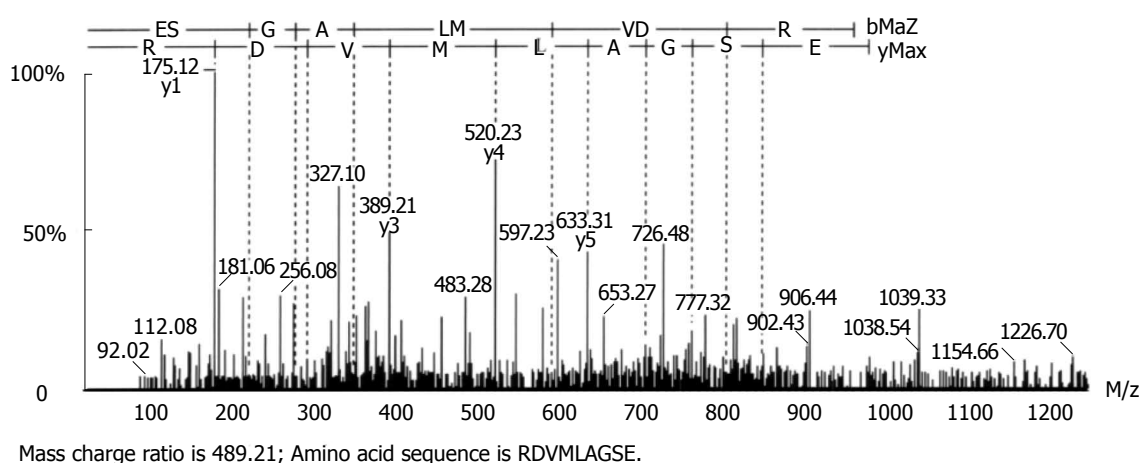


图3 13号点的Q-TOP质谱图。配比: 489.21; 氨基酸序列: RDVMLAGSE。

表1 Q-TOP鉴定的9个差异蛋白质点

序号	名称	蛋白序号	表达水平		蛋白质分子量/等电点	北京	沈阳
			胃癌	胃炎			
1	巯基过氧化物酶	gi   297380240	↓	↑	18365/7.86	+	+
3	超氧化物歧化酶	gi   188527846	↑	↓	24616/6.04	+	+
4	尿素酶α	gi   14583017	↑	↓	26608/8.47	+	+
5	核苷二磷酸激酶	gi   108562617	↓	↑	15368/7.98	+	+
8	分子伴侣dnaK	gi   188526913	↑	↓	67136/4.99	+	+
9	S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶	gi   7387850	↑	↓	17799/6.37	+	-
13	无机焦磷酸酶	gi   4467573	↑	↓	19303/4.90	-	+
14	DNA引导的RNA聚合酶α	gi   15612278	↑	↓	38570/4.97	+	+
16	分子伴侣60 × 10 <sup>3</sup>	gi   54299868	↑	↓	58245/5.55	-	+

+: 蛋白在该区域差异表达; -: 蛋白在该区域无差异表达。

有一定的差异<sup>[11]</sup>。在我国, 胃癌高、低发区胃癌患者 *H. pylori* 感染率存在较大的差异, 其中, 高发区感染率约为50.97%, 低发区感染率约为41.30%<sup>[12]</sup>, 目前还没有关于胃癌高、低发区胃癌与慢性胃炎相关幽门螺旋杆菌差异表达蛋白质的相关报道。

本研究以我国江苏省泰州市(胃癌高发区)和苏州市(胃癌低发区)胃癌和慢性胃炎患者胃镜下胃黏膜活检组织分离培养出的 *H. pylori* 菌株作为研究对象, 通过蛋白质组学分析比较两地区差异蛋白质表达。研究结果显示, 共发现9差异蛋白质点, 分别为1号(巯基过氧化物酶)、3号(超氧化物歧化酶)、4号(尿素酶α)、5号(核苷二磷酸激酶)、8号(分子伴侣dnaK)、9号(S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶)、13号(无机焦磷酸酶)、14号(DNA引导的RNA聚合酶α)和16号(分子伴侣60 × 10<sup>3</sup>)。其中3、4、8和14号蛋白质点在胃癌菌株中均为高表达, 1和5号蛋白质点在慢性

胃炎菌株中均为高表达, 9、13和16号蛋白质点仅在一个地区存在差异表达, 9号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现在苏州地区, 13和16号蛋白质点胃癌菌株高表达仅呈现在泰州地区; 在相应地区慢性胃炎菌株中9号和13号蛋白质点不表达, 16号蛋白质点低表达。

1号蛋白质点巯基过氧化物酶相关报道较少, 其本身参与氧化还原反应, 而关于其具体的致病机制还没有明确; 3号蛋白质点超氧化物歧化酶对机体中性粒细胞和巨噬细胞氧自由基杀伤细菌的效果有抑制作用, 减轻了免疫系统对 *H. pylori* 的损伤, 增强了 *H. pylori* 的定植力和侵袭力; 4号蛋白质点尿素酶α在胃癌高、低发区胃癌菌株中均为高表达, 其亚单位能够刺激尿素反应生成NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, 导致细菌外环境pH升高, 促进细菌定植和增值, 同时也大大削弱了胃黏膜的屏障功能, 促进空泡毒素发挥毒性作用<sup>[13]</sup>, 参与胃黏膜发病及病情进展过程; 5号蛋白质点核

苷二磷酸激酶具有调节细胞增殖、分化以及抑制细胞生长和运动等多方面的作用<sup>[1]</sup>, 同时也是抑制肿瘤转移的管家酶; 8号蛋白质点分子伴侣dnaK参与肿瘤免疫过程, 有助于提高细胞应激耐受性和增值速度, 对肿瘤细胞凋亡有抑制作用<sup>[14]</sup>; 9号蛋白质点S-核糖基同型半胱氨酸裂解酶能够催化S-核糖基同型半胱氨酸转变为同型半胱氨酸, 引起细胞内叶酸水平降低、同型半胱氨酸水平升高, 最终导致胃上皮细胞周围正常微环境发生改变<sup>[15]</sup>; 13号蛋白质点无机焦磷酸酶能够催化焦磷酸, 焦磷酸在*H. pylori*新陈代谢过程中参与细胞质合成反应, 有平衡能量的作用, 是*H. pylori*新陈代谢旺盛的重要因素; 14号蛋白质点DNA引导的RNA聚合酶 $\alpha$ 与Hp的DNA转录功能相关, 参与*H. pylori*的新陈代谢过程; 16号蛋白质点分子伴侣 $60 \times 10^3$ 属于Hsp60家族, 与*H. pylori*产生Hsp60抗体, 与机体胃黏膜产生的Hsp60发生交叉反应, 抑制了Hsp60对胃黏膜的保护作用, 同时也增强了尿素酶的毒力, 其在*H. pylori*菌体尿素酶的细胞外装配以及保持尿素酶的稳定性上具有重要作用<sup>[16]</sup>。

总之, 胃癌高、低发区胃癌及相应地区慢性胃炎*H. pylori*蛋白质比较存在一定差异, 但其中2/3的差异蛋白质是一致的, 胃癌高发区*H. pylori*差异蛋白质高表达多于低发区, 表明*H. pylori*在不同胃癌发病区致病机制相似, 但在胃癌高发区作用强于低发区。

#### 4 参考文献

- 1 Marshall BJ, Warren JR. Unidentified curved bacilli in the stomach of patients with gastritis and peptic ulceration. *Lancet* 1984; 1: 1311-1315 [PMID: 6145023]
- 2 时昭红, 刘浩. 幽门螺杆菌感染与胃癌. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3327-3331
- 3 闫伟, 曹建彪. 胃幽门螺杆菌检测技术进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1527-1533
- 4 刘琳娜, 丁士刚, 钟丽君, 张静, 曲恒怡, 李曙光. 胃癌和慢性胃炎患者幽门螺杆菌蛋白质组学分析. 胃肠病学 2011; 16: 409-413
- 5 游运辉. 胃炎与胃癌相关幽门螺杆菌差异蛋白质组学的研究. 中南大学, 2007
- 6 刘琳娜, 张静, 丁士刚, 钟丽君, 李广川, 石岩岩, 王晔. 胃癌高、低发区胃癌与慢性胃炎患者幽门螺杆菌差异蛋白质的比较. 北京大学学报(医学版) 2011; 43: 827-832
- 7 Lee JS, Choe YH, Lee JH, Lee HJ, Lee JH, Choi YO. Helicobacter pylori urease activity is influenced by ferric uptake regulator. *Yonsei Med J* 2010; 51: 39-44 [PMID: 20046512 DOI: 10.3349/ymj.2010.51.1.39]
- 8 游运辉, 范学工, 刘萍, 刘洪波, 田雪飞, 颜雪梅. 胃癌及慢性胃炎幽门螺杆菌的蛋白质组学研究. 中南大学学报(医学版) 2008; 33: 384-390
- 9 Hong SJ, Oh JH, Jeon EJ, Min KO, Kang MI, Choi SW, Rhyu MG. The overmethylated genes in Helicobacter pylori-infected gastric mucosa are demethylated in gastric cancers. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 137 [PMID: 21092120 DOI: 10.1186/1471-230X-10-137]
- 10 钟晓刚, 殷舞, 黄顺荣. 幽门螺旋杆菌与残胃癌发生的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3200-3203
- 11 刘延兰, 刘小荣, 李晓琴. 幽门螺旋杆菌感染与慢性胃炎相关性研究. 甘肃医药 2010; 29: 662-663
- 12 宫月华. 胃癌高、低发区幽门螺杆菌基因型的差异分布及其与胃疾病的相关性. 中国医科大学, 2003
- 13 Niwa T, Tsukamoto T, Toyoda T, Mori A, Tanaka H, Maekita T, Ichinose M, Tatematsu M, Ushijima T. Inflammatory processes triggered by Helicobacter pylori infection cause aberrant DNA methylation in gastric epithelial cells. *Cancer Res* 2010; 70: 1430-1440 [PMID: 20124475 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2755]
- 14 王建旭, 冯义朝. 幽门螺杆菌感染与胃癌局部浸润的相关性. 世界华人消化杂志 2010; 18: 268-271
- 15 赵丹云. 幽门螺杆菌感染与慢性胃炎的相关性研究. 求医问药(下半月) 2012; 10: 8-9
- 16 刘延兰, 刘小荣, 李晓琴. 幽门螺旋杆菌感染与慢性胃炎相关性研究. 甘肃医药 2010; 29: 662-663

#### 同行评价

本文内容实用, 讨论全面, 具有一定的学术价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 胃癌患者应用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测的意义

朱勇, 陈乾, 汪生尧

### ■背景资料

腹水细胞学检查可以评估胃癌是否有远处转移。诊断性腹腔灌洗术(diagnostic peritoneal lavage, DPL)是可用于闭合性腹内损伤的诊断,应用DPL这一损伤较小即可证实是否有远处淋巴结转移的方法,有助于胃癌患者临床诊断与分期,指导治疗。

朱勇, 陈乾, 汪生尧, 湖北省中医院普外科 湖北省武汉市 430074

朱勇, 主治医师, 主要从事腹部常见疾病的外科治疗。

**作者贡献分布:** 朱勇与陈乾对此文所作贡献均等; 此课题由朱勇、陈乾及汪生尧设计; 研究过程由朱勇、陈乾及汪生尧操作完成; 研究所用分析工具由朱勇提供; 数据分析由陈乾与汪生尧完成; 本论文写作由朱勇完成。

**通讯作者:** 朱勇, 主治医师, 430074, 湖北省武汉市珞瑜路856号, 湖北省中医院普外科。wxid\_sj123@163.com

电话: 027-88929147

收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2013-12-09

接受日期: 2013-12-11 在线出版日期: 2014-01-28

### A prospective clinical trial of diagnostic peritoneal lavage for peritoneal cytology in patients with gastric cancer

Yong Zhu, Qian Chen, Sheng-Yao Wang

Yong Zhu, Qian Chen, Sheng-Yao Wang, Department of Surgery, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430074, Hubei Province, China

**Correspondence to:** Yong Zhu, Attending Physician, Department of Surgery, Hubei Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine, 856 Luoyu Road, Wuhan 430074, Hubei Province, China. wxid\_sj123@163.com

Received: 2013-11-22 Revised: 2013-12-09

Accepted: 2013-12-11 Published online: 2014-01-28

### Abstract

**AIM:** To assess the safety and feasibility of diagnostic peritoneal lavage (DPL) in gastric cancer patients and determine whether DPL can be used to assess peritoneal cytology in patients with gastric cancer.

**METHODS:** Patients with gastric adenocarcinoma were prospectively enrolled to undergo DPL prior to diagnostic laparoscopy (DL). Saline was instilled through a percutaneous catheter and fluid was collected for cytology (DPL-cyt). Washings obtained during DL were used as controls (DL-cyt).

**RESULTS:** DPL was successful in 22 of 27 patients (81.5%). Among the 22 cases of successful DPL, 12 had positive cytology (54.5%). Positive DPL-cyt specimens were consistent with DL-cyt specimens in 12/12 cases (specificity = 100%).

**CONCLUSION:** DPL is a safe method for detecting positive cytology in patients with gastric cancer.

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

**Key Words:** Peritoneal cytology; Diagnostic peritoneal lavage; Gastric cancer; Metastasis

Zhu Y, Chen Q, Wang SY. A prospective clinical trial of diagnostic peritoneal lavage for peritoneal cytology in patients with gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 394-398 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.394>

### 摘要

**目的:** 观察在胃癌患者中应用经皮诊断性腹腔灌洗术(diagnostic peritoneal lavage, DPL)的安全性及有效性, 明确胃癌患者是否可用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测。

**方法:** 入组的27例胃癌患者, 在进行诊断性腹腔镜检查(diagnostic laparoscopy, DL)术前, 先进行DPL。行腹腔穿刺后将生理盐水通过医用经皮导管灌入患者腹腔内, 收集腹腔灌洗液用于进行细胞学检测(DPL-Cyt)。经腹腔镜下向腹腔内冲入生理盐水, 收集镜下冲洗液进行细胞学检测(DPL-Cyt)。

**结果:** 在27例患者中, 施行DPL的成功率为81.5%(22/27)。在成功施行DPL的22例患者中, 有12例患者细胞学阳性, 其阳性率为54.5%。与DL细胞学的阳性率是一致的。

**结论:** 胃癌患者应用DPL进行细胞学检测是一种安全有效的方法, 在胃癌的诊断分期中有重要指导意义。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 腹水细胞学; 诊断性腹腔灌洗术; 胃癌; 转移

**核心提示:** 晚期胃癌尤其是有远处转移的患者, 行经皮诊断性腹腔灌洗术(diagnostic peritoneal

### ■同行评议者

王学美, 研究员, 北京大学第一医院中西医结合研究室; 樊晓明, 教授, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科



lavage)以灌洗液细胞学为依据,进行肿瘤的诊断及分型并指导治疗,与腹腔镜下冲洗液细胞学检测相比,具有敏感性高、特异性强、费用低、不良反应少的特点,值得临床推广。

朱勇, 陈乾, 汪生尧. 胃癌患者应用诊断性腹腔灌洗术进行细胞学检测的意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 394-398  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/394.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.394>

## 0 引言

腹水细胞学检测是一项评价胃癌切除术后患者长期生存率的重要预后因子<sup>[1]</sup>. 由于他的重要预测价值, 近期, 这项检查被纳入到美国癌症联合委员会对于胃癌的诊断分期系统中<sup>[2]</sup>. 腹水细胞学的诊断阳性率尚不明确, 众多报道<sup>[3-5]</sup>从6.5%-31%不等, 而其阳性率与肿瘤原发灶及淋巴结受累情况相关. 大多数前瞻性研究忽略了腹水细胞学检测, 推测其原因, 与增加额外的费用及诊断性腹腔镜检查(diagnostic laparoscopy, DL)给患者带来的不适有关. 据报道<sup>[6]</sup>, 在国外的多个医疗中心, 对于晚期胃癌的患者的治疗上, 在DL过程中进行的腹腔灌洗是先于围手术期的化疗的. 在胃癌早期, 由于腹水细胞学检测的阳性率较低, 因此, 许多患者并不选择这项检查<sup>[7]</sup>.

经皮诊断性腹腔灌洗术(percutaneous diagnostic peritoneal lavage, DPL)是Root等<sup>[8]</sup>在1964年首先用于疑有闭合性腹内损伤的诊断, 效果满意, 几十年来, 灌洗术已被广泛地应用于临床. 诊断腹部闭合性损伤特别是实质脏器损伤的重要检查方法. 大量研究证实<sup>[9]</sup>, DPL是快速、安全和有效的. 由于DPL的特性, 这一技术可用来获取腹腔灌洗液, 作为晚期胃癌患者诊断及分型的依据. 腹水细胞学阳性的患者可以免受姑息性手术, 而选择系统性治疗. 近年来, 并没有研究评价DPL在胃癌患者诊断及治疗中的作用. 本研究的目的旨在观察DPL在胃癌患者的安全性及有效性, 计算DPL发现腹水细胞学检测的敏感性和特异性. 为临床更广泛的应用DPL提供理论依据.

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取2010-10/2012-03在我科住院胃癌患者27例. 记录患者临床和病理学资料, 包括患者的年龄、性别、肿瘤的部位、临床和病理分期. 所有患者的病理分期按照美国癌症联合委员会(American Joint Committee on Cancer,

AJCC)TNM分期(第七版, 2010年)<sup>[2]</sup>. 在行DPL及DL之前, 所有患者先行胸部、腹部及盆腔CT. 高危胃癌患者(T3N1M1或T2N0及高危病理学特征)在签署知情同意书后方可行DL.

1.2 方法 施行DPL术前1 d应用2代头孢菌素预防感染. 患者取仰卧位, 膀胱排空, 常规消毒皮肤后, 局麻状态下进行于经皮腹腔穿刺, 穿刺点位于脐至耻骨联合中上1/3处, 穿刺成功后将有侧孔的塑料引流管置入腹腔, 引流管尾端连接装有1000 mL生理盐水的输液袋, 倒挂输液袋, 使生理盐水缓慢流入腹腔, 当液体流完或患者感到腹胀时, 将输液袋放置于低于患者位置, 利用虹吸原理使灌洗液流回输液袋中, 术毕, 拔出穿刺针, 局部消毒, 无菌纱布包扎. 取腹腔灌洗液送检, 行常规、生化、酶学、细菌、病理细胞学检查. 一次成功的诊断性腹腔灌洗至少应灌入腹腔500 mL液体, 至少回收200 mL液体.

在完成诊断性腹腔灌洗术后, 所有患者行DL. 常规消毒、局麻下, 选取腹正中线脐上0.5-1.0 cm处为穿刺点, 建立人工气腹. 选用脐上2 cm偏左侧, 或脐下, 做长约1 cm的小切口, 从切口处插入装有针芯的腹腔镜套管, 穿刺方向要避开脊柱、腹主动脉及腹部包块; 取出针芯, 从套管处插入腹腔镜, 接上光源, 对腹腔内脏器进行观察. 仔细观察腹膜腔及肝脏表面是否存在施行DPL所造成的损伤及出血, 尤其要注意是否存在肿瘤的腹腔及肝脏转移. 将DPL剩余的灌洗液收集起来, 于腹腔镜下行腹腔冲洗. 将500 mL生理盐水, 分3次循腹腔镜分别冲入左上腹、右上腹和盆腔. 收集3个部位的冲洗液, 混合在一起进行细胞学检测.

将DPL所得的细胞学检测结果和DL所得的细胞学检测结果进行比较. 计算DPL的敏感性[敏感性 = DL-Cyt阳性患者例数/(DL-Cyt阳性患者例数+DL-Cyt可疑阴性患者例数)×100%]、特异性[特异性 = DL-Cyt阴性患者例数/(DL-Cyt阴性患者例数+DL-Cyt可疑阳性患者例数)×100%]和细胞学检测的阳性率(阳性率 = DL-Cyt阳性患者例数/DL-Cyt真阳性患者例数×100%). 记录即刻及30 d后并发症.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件进行处理. 阳性率的比较采用 $\chi^2$ 检验, 检测水准 $\alpha = 0.05$ .  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 临床病理学资料 自2010-10/2012-03, 有27例

### ■研究前沿

诊断性腹腔灌洗术可快速、安全有效地获取腹水进行细胞学检测, 作为晚期胃癌患者诊断及分型的依据. 腹水细胞学阳性的患者可以免受姑息性手术, 而选择系统性治疗. 具有临床指导价值, 值得进一步探讨.

## ■相关报道

腹水细胞学检测是一项评价胃癌切除术后患者长期生存率的重要预后因子。由于他的重要预测价值, 近期, 这项检查被纳入到美国癌症联合委员会对于胃癌的诊断分期系统中。腹水细胞学的诊断阳性率尚不明确, 众多报道从6.5%-31.0%不等。

表 1 27例胃癌患者外科术前的临床病理学资料

临床病理特征	例数(n)	百分比(%)
性别		
男	14	52
女	13	48
年龄(岁)		
≤50	7	26
>50	20	74
部位		
胃食管连接处	9	31
贲门	8	30
胃窦	10	39
检查方法		
CT	27	100
超声内镜	22	81
病理		
腹水	2	7
皮革胃	14	52
淋巴结肿大	20	74
分期		
≤T2, N0	4	15
≥T3, N1	23	85
M1	2	7

患者参与本研究。患者全部应用CT进行分期, 有22/27(81%)的患者应用超声内镜作为分期的检查方法。肿瘤临床分期由超声内镜和CT的阳性发现决定。有2例患者在术前CT检查发现有腹水, 但没有实质脏器的转移(表1)。

**2.2 DPL和DL检测结果** 如表2所示, 在施行DPL过程中有5例(18.5%)因技术故障而失败。其中有4例患者由于组织黏连使得流入和流出的液体不足, 1例患者灌洗液标本收集不足。有22例患者成功施行DPL(表2)。12例患者(54.5%)细胞学检测阳性, 10例患者(45.5%)细胞学检测阴性。所有患者都施行DL, 在27例患者中, 完成了26例的细胞学检测。有1例患者由于肿瘤腹膜扩散不能施行腹腔镜检查。在5例技术故障的患者中, 3例患者DL细胞学阴性, 1例患者DL细胞学阳性, 1例患者未能行DL。

DPL细胞学检测的敏感性是92%, 其特异性是100%。12例DPL细胞学检测的患者在DL中亦发现细胞学阳性, 因此可以说DPL细胞学检测阳性结果是准确的。有一个患者行DPL细胞学检测时没有足够的细胞, 但其行DL检测细胞学阳性(表3)。

**2.3 并发症** 22例成功施行DPL患者未出现腹腔出血等即刻并发症, 亦未出现伤口愈合不良、皮肤感染等30 d后远期并发症。27例行DL患者,

表 2 胃癌患者施行DPL及细胞学检测情况

结果	DPL成功	DPL失败
n	22	5
远处转移(M1)	12	2
DL-Cyt(+)	14	1
DL-Cyt(-)	12	2
DPL-Cyt(+)	12	0
DPL-Cyt(-)	10	0

DPL: 经皮诊断性腹腔灌洗术; DL: 诊断性腹腔镜检查。

表 3 27例胃癌患者的DPL、DL的相关变量结果

DPL、DL的相关变量结果	例数(n)	百分比(%)
DPL技术成功率	22	81.5
即刻及30 d后并发症	0	0
DPL-Cyt		
阳性	12	54.5
阴性	10	45.5
DL-Cyt		
阳性	14	53.8
阴性	12	44.4
未能行腹腔镜下冲洗	1	3.8
DPL-Cyt与DL-Cyt阳性吻合率	12	100
DPL-Cyt与DL-Cyt阴性吻合率	9	90
与DL相比DPL对于细胞学检测评估		
敏感性	12	92.3
特异性	10	100
阳性率	12	100
阴性率	10	91
准确性	21	95.5
腹腔镜下情况		
细胞学阳性	14	51.9
远处转移(M1)	12	44.4
肝转移	1	3.7
腹膜种植性转移	11	40.7
与DL相比DPL对于M1的评估		
敏感性	12	54.5
特异性	10	100
阳性率	12	100
阴性率	6	60
准确性	18	81.8

DPL: 经皮诊断性腹腔灌洗术; DL: 诊断性腹腔镜检查。

未出现皮下气肿、空气栓塞、空腔脏器穿孔、腹膜炎等即刻并发症, 亦未出现空腔脏器迟发性穿孔、腹部大血管损伤等30 d后远期并发症。

## 3 讨论

腹水细胞学检测是一项胃癌患者远期生存率的

独立的预测因子,已逐渐被AJCC所认同<sup>[1,2,4]</sup>。作为胃癌的重要检查手段,DL被推荐用于评估腹水细胞学及隐匿性远处转移。当发现有远处淋巴结转移时,这一方法也被用于不能进行开腹手术的患者<sup>[10]</sup>。当胃癌患者有远处转移时,不论是单独的淋巴结还是腹腔或脏器局部的转移,这些患者都不能行胃癌根治术。因此,在筛选患者过程中,应用DL这一损伤较小即可证实是否有远处淋巴结转移的检测方法是很恰当的。细胞学检测也可以用来评估进行辅助疗法或围手术期化疗的患者。

目前,对于实体肿瘤的分期有多种形式。利用循证医学支持的方法评估患者,可以增加肿瘤患者的收益<sup>[11]</sup>。我们应用超声内镜作为对照指标回顾性的评估胃癌患者在接受治疗之前应用诊断性腹腔镜技术。应用超声内镜将胃癌患者分为低危组(T1-2, N0)和高危组(T3-4和或N<sup>+</sup>)。相对于在低危组患者的收益率4%(1/26),高危患者的收益率可达25%(17/68)。这也就解释了在手术前评估肿瘤患者并进行分期,有助于提高收益率及阴性预测值。

在我们的研究中,通过腹腔镜我们发现12例患者有远处转移,包括1例肝脏转移,11例腹腔转移。在这些患者中,有6例细胞学阳性。其余6例患者,其中细胞学阴性3例,DPL失败3例。可见DPL一个显著的局限性就是对于有远处转移的患者敏感性较差。我们考虑和以下因素有关。首先,我们此次研究选择的患者中有远处转移的病例占总的病例的比例较大(12/27, 44.4%)。大规模回顾性研究已证实<sup>[9]</sup>,DL在进展期胃癌患者诊断分期中的收益为13%-40%。有资料表明<sup>[12]</sup>大约1/3的胃癌患者,肿瘤位于胃食管连接处,对于有远处转移的胃癌患者DL的收益更高。此外,并不是所有的腹膜转移的患者腹水细胞学检测都呈现阳性,这是由于抽样误差所导致<sup>[13]</sup>。

从本研究中可知,施行DPL最好选择之前未行任何腹部外科手术,无远处转移征象的进展期胃癌患者。在行胃癌切除术前,DL用以评估肿瘤总的情况,包括位置、大小及周围组织情况。应用特异性更高的分类标准去进行高危患者的分类,对于DPL-Cyt的阳性率也可提高<sup>[14]</sup>。此外,应用RT-PCR技术标记腹水的癌胚抗原也可提高患者的收益<sup>[15]</sup>。

总之,我们已经证实了在进行胃癌患者诊断分期过程中,应用DPL获取标本进行细胞学检测是一种安全、有效的方法。虽然存在对于有远

处转移的患者敏感性较差的局限性,但是DPL的高度敏感性和特异性,无疑是进展期胃癌患者诊断分期的最优方法。

#### 4 参考文献

- 1 Bentrem D, Wilton A, Mazumdar M, Brennan M, Coit D. The value of peritoneal cytology as a preoperative predictor in patients with gastric carcinoma undergoing a curative resection. *Ann Surg Oncol* 2005; 12: 347-353 [PMID: 15915368 DOI: 10.1245/ASO.2005.03.065]
- 2 Stephen B, Edge , David R, Byrd , Frederick L, Green, Andy Trotti. American Joint Committee on Cancer Staging Manual. 7th edition. New York: Springer, 2010: 242-251
- 3 Lorenzen S, Panzram B, Rosenberg R, Nekarda H, Becker K, Schenk U, Höfler H, Siewert JR, Jäger D, Ott K. Prognostic significance of free peritoneal tumor cells in the peritoneal cavity before and after neoadjuvant chemotherapy in patients with gastric carcinoma undergoing potentially curative resection. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2733-2739 [PMID: 20490698 DOI: 10.1245/s10434-010-1090-4]
- 4 Mezhir JJ, Shah MA, Jacks LM, Brennan MF, Coit DG, Strong VE. Positive peritoneal cytology in patients with gastric cancer: natural history and outcome of 291 patients. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 3173-3180 [PMID: 20585870 DOI: 10.1245/s10434-010-1183-0]
- 5 Lee SD, Ryu KW, Eom BW, Lee JH, Kook MC, Kim YW. Prognostic significance of peritoneal washing cytology in patients with gastric cancer. *Br J Surg* 2012; 99: 397-403 [PMID: 22101572 DOI: 10.1002/bjs.7812]
- 6 Cunningham D, Allum WH, Stenning SP, Thompson JN, Van de Velde CJ, Nicolson M, Scarffe JH, Lofts FJ, Falk SJ, Iveson TJ, Smith DB, Langley RE, Verma M, Weeden S, Chua YJ. Perioperative chemotherapy versus surgery alone for resectable gastroesophageal cancer. *N Engl J Med* 2006; 355: 11-20 [PMID: 16822992 DOI: 10.1056/NEJMoa055531]
- 7 Power DG, Schattner MA, Gerdes H, Brenner B, Markowitz AJ, Capanu M, Coit DG, Brennan M, Kelsen DP, Shah MA. Endoscopic ultrasound can improve the selection for laparoscopy in patients with localized gastric cancer. *J Am Coll Surg* 2009; 208: 173-178 [PMID: 19228527 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2008.10.022]
- 8 Root HD, Hauser CW, McKinley CR, Lafave JW, Mendiola RP. Diagnostic peritoneal lavage. *Surgery* 1965; 57: 633-637 [PMID: 14295771]
- 9 Nagy KK, Roberts RR, Joseph KT, Smith RF, An GC, Bokhari F, Barrett J. Experience with over 2500 diagnostic peritoneal lavages. *Injury* 2000; 31: 479-482 [PMID: 10908739 DOI: 10.1016/S0020-1383(00)00010-3]
- 10 Karanikolas PJ, Elkin EB, Jacks LM, Atoria CL, Strong VE, Brennan MF, Coit DG. Staging laparoscopy in the management of gastric cancer: a population-based analysis. *J Am Coll Surg* 2011; 213: 644-651, 651.e1 [PMID: 21872497]
- 11 Homma Y, Ushida S, Yamada M, Kobayashi H, Suzuki K. Positive peritoneal washing cytology in multiple cavities can predict poor prognosis of advanced gastric cancer patients. *Ann Surg Oncol*

#### ■创新盘点

腹水细胞学检测被纳入到美国癌症联合委员会对于胃癌的诊断分期系统中。而如何采取有效方式以安全、有效地获取腹水,且能最大限度的提高腹水细胞阳性检出率成为国内外争论的依据。本文评价了诊断性腹腔灌洗术在胃癌患者诊断及指导治疗中的作用。



## ■同行评价

本文具有一定临床指导价值,值得进一步研究探讨.

- 2010; 17: 455-460 [PMID: 19847567 DOI: 10.1245/s10434-009-0764-2]
- 12 Okabe H, Ueda S, Obama K, Hosogi H, Sakai Y. Induction chemotherapy with S-1 plus cisplatin followed by surgery for treatment of gastric cancer with peritoneal dissemination. *Ann Surg Oncol* 2009; 16: 3227-3236 [PMID: 19777180 DOI: 10.1245/s10434-009-0706-z]
- 13 Rozycki GS, Root HD. The diagnosis of intraabdominal visceral injury. *J Trauma* 2010; 68: 1019-1023 [PMID: 20453755 DOI: 10.1097/TA.0b013e3181da78de]
- 14 Sarela AI, Lefkowitz R, Brennan MF, Karpeh MS. Selection of patients with gastric adenocarcinoma for laparoscopic staging. *Am J Surg* 2006; 191: 134-138 [PMID: 16399124 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2005.10.015]
- 15 Wong J, Kelly KJ, Mittra A, Gonen M, Allen P, Fong Y, Coit D. Rt-PCR increases detection of submicroscopic peritoneal metastases in gastric cancer and has prognostic significance. *J Gastrointest Surg* 2012; 16: 889-896; discussion 896 [PMID: 22362071 DOI: 10.1007/s11605-012-1845-2]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# 复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油不同服用方法在胶囊内镜肠道准备中的效果对比

刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉

刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科 广西壮族自治区柳州市 545006

刘敏芝, 主治医师, 主要从事胶囊内镜的临床研究。

广西壮族自治区卫生厅科研基金资助项目, No. z2011285

作者贡献分布: 刘敏芝与李运泽对此文做出主要贡献; 此课题由李运泽设计; 研究过程由刘敏芝、李运泽、韦天灵、梁昌宇及李莉操作完成; 数据分析由刘敏芝与李运泽完成; 本论文写作由刘敏芝与李运泽完成。

通讯作者: 李运泽, 教授, 545006, 广西壮族自治区柳州市文昌路8号, 广西科技大学附属柳州市人民医院消化内科。

lyze@163.com

电话: 0772-2662775

收稿日期: 2013-11-06 修回日期: 2013-12-08

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-01-28

## Clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in bowel preparation before capsule endoscopy

Min-Zhi Liu, Yun-Ze Li, Tian-Ling Wei, Chang-Yu Liang, Li Li

Min-Zhi Liu, Yun-Ze Li, Tian-Ling Wei, Chang-Yu Liang, Li Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Scientific Research Project of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. z2011285

Correspondence to: Yun-Ze Li, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Liuzhou Hospital of Guangxi University of Science and Technology, 8 Wenchang Road, Liuzhou 545006, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. lyze@163.com

Received: 2013-11-06 Revised: 2013-12-08

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To observe the clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in the bowel preparation before capsule endoscopy.

**METHODS:** This was a prospective, investigator-blinded randomized study. Sixty patients

treated at our hospital were randomly divided into two groups; group A ( $n = 30$ ) received 3 L of compound polyethylene glycol electrolyte solution 4 h before and 30 mL of simethicone 30 min before the examination, and group B ( $n = 30$ ) received 2 L of compound polyethylene glycol electrolyte solution 4 h before, 15 mL of simethicone 2 d before (3 times a day, each 5 mL) and 15 mL of simethicone 30 min before the examination. The image quality of endoscopy was graded according to air bubble size, digestive tract juice quantity and its clear degree. Gastric emptying time and small bowel transit time were recorded for each examination, and adverse reactions were also recorded.

**RESULTS:** The air bubble size was significantly in group B less than in group A ( $0.20 \pm 0.12$  vs  $0.30 \pm 0.21$ ,  $P < 0.05$ ). The clear degree of digestive tract juice was better in group B than in group A ( $0.36 \pm 0.32$  vs  $0.64 \pm 0.47$ ,  $P < 0.05$ ). There was no significant difference in digestive tract juice quantity ( $0.70 \pm 0.30$  vs  $0.86 \pm 0.46$ ,  $P > 0.05$ ), gastric emptying time, small bowel transit time or adverse reactions between the two groups ( $P > 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Two liters of compound polyethylene glycol electrolyte could achieve the desired results in the bowel preparation before capsule endoscopy. Simethicone in divided doses had better effects in removing the bubbles.

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

**Key Words:** Capsule endoscopy; Compound polyethylene glycol electrolyte solution; Simethicone; Bowel preparation

Liu MZ, Li YZ, Wei TL, Liang CY, Li L. Clinical effects of compound polyethylene glycol electrolyte solution with simethicone given by different methods in bowel preparation before capsule endoscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 399-403 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/399.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.399>

## ■背景资料

胶囊内镜成为目前诊断小肠疾病的一线工具。由于胶囊内镜没有充气、冲水及吸引装置,且内镜拍摄角度、肠蠕动、肠内气泡大小及透明度、肠液量多少及清洁度等因素均可影响图像的质量,因而良好的检查前肠道准备工作是胶囊内镜检查成功的关键。

## ■同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

## ■ 研发前沿

中华消化内镜学会胶囊内镜临床应用规范认为胶囊内镜检查前应禁食10-12 h, 常用的肠道清洁剂为口服聚乙二醇电解质溶液或磷酸钠溶液, 术前半小时可服用适量祛泡剂, 国内外关于聚乙二醇电解质散和祛泡剂的服用方法和剂量仍无明确规定, 胶囊内镜检查前肠道准备方法已成为近年的研究热点之一。

## 摘要

**目的:** 观察对比两种复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油的服用方法在胶囊内镜检查前肠道准备中的临床效果。

**方法:** 以60例行胶囊内镜检查的患者为研究对象, 采用前瞻性、单盲、随机对照研究方法, 分为对照组A组( $n = 30$ )、研究组B组( $n = 30$ )。其中A组患者检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散3 L, 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂30 mL; B组患者检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散2 L, 检查前2 d口服西甲硅油乳剂, 3次/d, 5 mL/次, 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂15 mL。对两组患者胶囊内镜检查图像的气泡量、消化液量、清洁度进行定量分析, 并统计胶囊内镜的通过情况, 同时观察患者有无不良反应。

**结果:** 研究组胶囊内镜图像的气泡量( $0.20 \pm 0.12$ )明显少于对照组( $0.30 \pm 0.21$ ), 肠道清洁度( $0.36 \pm 0.32$ )优于对照组( $0.64 \pm 0.47$ ), 两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 小肠消化液量研究组( $0.70 \pm 0.30$ )和对照组( $0.86 \pm 0.46$ )对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组胶囊内镜在胃和小肠通过时间对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组患者不良反应差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

**结论:** 胶囊内镜检查前服用2 L聚乙二醇电解质散即可以达到理想的清肠效果, 检查前2 d分次服用西甲硅油较单次服用具有更好的祛泡效果。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胶囊内镜; 复方聚乙二醇电解质散; 西甲硅油; 肠道准备

**核心提示:** 本文通过随机对照两种不同的聚乙二醇电解质散和西甲硅油服用方法对胶囊内镜图像质量的影响, 提示胶囊内镜检查前服用2 L聚乙二醇电解质散即可以达到理想的清肠效果, 检查前2 d分次服用西甲硅油较单次服用具有更好的祛泡效果。

刘敏芝, 李运泽, 韦天灵, 梁昌宇, 李莉. 复方聚乙二醇电解质散和西甲硅油不同服用方法在胶囊内镜肠道准备中的效果对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 399-403 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/399.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.399>

## 0 引言

胶囊内镜的问世突破了传统内镜机械插入法的

思维, 他能观察以往内镜不易达到的小肠部位, 操作简单, 无需镇静, 对胃肠动力影响小, 胶囊内镜已成为诊断小肠疾病的首选方法。但是胶囊内镜无法像常规胃肠镜一样进行充气注水等操作, 视野上受到小肠气泡、消化液的影响, 检查前做好充分的肠道准备以提高胶囊内镜图像质量对于提高胶囊内镜的检出率是极其重要的。国内外已有大量研究提示胶囊内镜检查前服用聚乙二醇电解质散和西甲硅油可使肠腔内气泡明显减少, 使胶囊内镜的图像清晰度明显提高, 且患者耐受性良好, 无不良反应发生, 值得在常规胶囊内镜检查前推广使用<sup>[1-4]</sup>。目前关于聚乙二醇电解质散和祛泡剂的使用剂量和方法尚未达成共识, 本研究通过对比分析两种不同的聚乙二醇电解质散和西甲硅油服用方法的胶囊内镜图像质量效果, 探讨肠道准备的最佳使用方法。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2009-02/2013-01于我院接受胶囊内镜检查的患者60例, 其中男32例, 女28例, 年龄16-79岁, 平均46.83岁。经病史询问及体格检查, 排除有胃肠道手术、胃肠道畸形、糖尿病胃轻瘫者, 在检查前1 wk停用影响胃肠道动力的药物。采用前瞻性、单盲、对照研究方法, 将受检者分为对照组A组( $n = 30$ )、研究组B组( $n = 30$ ), 两组年龄、性别差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。检查前均签署知情同意书。重庆金山科技有限公司生产的OMOM胶囊内镜系统, 西甲硅油乳剂(每1 mL含40 mg西甲硅油, 商品名: 柏西, 生产企业: 德国柏林化学股份有限公司), 复方聚乙二醇电解质散(商品名: 恒康正清, 生产企业: 江西恒康药业有限公司), 50%硫酸镁溶液(柳州市人民医院制剂室生产)。

**1.2 方法** 所有患者接受胶囊内镜检查前2 d起进半流饮食, 检查前12 h禁食, A组: 检查前1天晚上21:00服50%硫酸镁30 mL; 检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散(恒康正清, 每盒69.56 g)3盒与温水配成的溶液3000 mL, 2 h内服完; 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂30 mL。B组: 检查前1天晚上21:00服50%硫酸镁30 mL; 检查前4 h服用复方聚乙二醇电解质散(恒康正清, 每盒69.56 g)2盒与温水配成的溶液2000 mL, 2 h内服完; 检查前2 d口服西甲硅油乳剂, 3次/d, 5 mL/次, 检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂15 mL。吞服胶囊内镜2 h后可进水, 4 h后可进食。由两名专职内镜医师对胶囊内镜图像进行阅片



表 1 两组肠道准备方法小肠气泡量值对比 (mean ± SD)

	上段	中段	下段	全段
A组	0.31 ± 0.32	0.28 ± 0.32	0.31 ± 0.27	0.30 ± 0.21
B组	0.22 ± 0.22	0.21 ± 0.16	0.16 ± 0.17	0.20 ± 0.12
P值	0.206	0.303	0.012	0.024

A组: 对照组; B组: 研究组。

表 2 两组肠道准备方法小肠消化液量对比 (mean ± SD)

	上段	中段	下段	全段
A组	0.66 ± 0.45	0.83 ± 0.63	0.97 ± 0.77	0.86 ± 0.46
B组	0.53 ± 0.38	0.73 ± 0.45	0.84 ± 0.42	0.70 ± 0.30
P值	0.224	0.464	0.410	0.117

A组: 对照组; B组: 研究组。

评分, 阅片医师对分组情况并不知晓。阅片医师参照陈孝等<sup>[5]</sup>报道的评分标准, 对小肠内容物按气泡量、消化液量、清洁度进行定量分析。定量分析标准: 气泡量: 整个视野无气泡计为0; 占据整个视野<1/3计为1; 1/3-2/3计为2; >2/3计为3。消化液量: 整个视野无消化液计为0; 少量消化液计为1; 中等量消化液计为2; 大量消化液计为3。清洁度: 消化液清亮计为0; 消化液稍浑浊但不影响观察计为1; 消化液稍浑浊, 观察受到一定程度影响计为2; 消化液浑浊, 难以观察, 计为3。研究图像的选择: 按胶囊内镜进入小肠的第1帧图像为计算起点, 每10 min截取一张图像, 至胶囊通过回盲瓣为止, 将胶囊内镜在小肠内停留时间均分为3等份, 并以此将小肠分为上段、中段、下段3部分, 将每一部分所有选取的图像分别计算气泡、消化液量及清洁度的等级分, 以此计算出该例受检者的相应图像质量值。

**统计学处理** 采用IBM SPSS Statistics 19.0统计软件, 计量资料以mean ± SD表示, 采用t检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

B组和A组全段气泡量值对比, 气泡量明显少于A组( $P < 0.05$ ); 其中小肠上段和中段气泡量分值两组对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 而对比小肠下段气泡量分值, B组的气泡量明显少于A组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

B组和A组全段消化液量及小肠上段、中段、下段消化液量分值对比差异无统计学意义

表 3 两组肠道准备方法小肠清洁度对比 (mean ± SD)

	上段	中段	下段	全段
A组	0.47 ± 0.49	0.59 ± 0.63	0.78 ± 0.76	0.64 ± 0.47
B组	0.20 ± 0.32	0.41 ± 0.44	0.48 ± 0.46	0.36 ± 0.32
P值	0.017	0.202	0.076	0.009

A组: 对照组; B组: 研究组。

( $P > 0.05$ )(表2)。

B组和A组全段清洁度分值对比, 清洁度明显优于A组( $P < 0.05$ ); 其中小肠上段清洁度分值两组对比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而对比小肠中段和下段清洁度分值, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表3)。

两组胶囊内镜通过胃及小肠时间: 两组胶囊内镜通过胃及小肠时间: A、B两组胶囊内镜通过胃的时间分别为47.77 min ± 38.76 min和50.20 min ± 21.66 min, 差异无统计学意义( $P = 0.765$ ); A、B两组胶囊内镜通过小肠的时间分别为275.27 min ± 91.26 min和251.63 min ± 93.90 min, 差异无统计学意义( $P = 0.327$ )。

观察期间, A组、B组各出现2例恶心, A组出现2例腹胀, 均未见腹痛、呕吐、皮疹等其他不良反应, 组间不良反应对比差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 3 讨论

胶囊内镜对于消化系统疾病特别是小肠疾病的诊断具有独特的优越性, 是小肠疾病的首选方法。但是肠道内的食糜、气泡、胆汁将直接影响到胶囊内镜拍摄到的图像质量, 出现误诊、漏诊及诊断阳性率下降等情况。胶囊内镜检查前的肠道准备非常重要, 国内外已有大量的研究报道提示口服复方聚乙二醇电解质散为较理想的肠道准备方法<sup>[6,7]</sup>。

复方聚乙二醇电解质散主要成分是聚乙二醇, 他是一个高分子长链聚合物, 不会被吸收、不会被分解。他可以通过氢键结合水分子, 使水分保留在肠腔内, 从而软化大便, 使粪便在容积和重力作用下排出。其主要特点是: 不脱水、不破坏电解质平衡和肠道正常菌群、不损伤肠道黏膜、不产生可燃性气体; 清洁肠道快速、彻底; 无需禁食、无需灌肠。

国内外关于使用聚乙二醇电解质散的剂量和服用方法仍无明确规定, 国外研究报道了有

## ■ 相关报道

国内外已有大量研究提示胶囊内镜检查前服用聚乙二醇电解质散和西甲硅油可使肠腔内气泡明显减少, 使胶囊内镜的图像清晰度明显提高, 且患者耐受性良好, 无不良反应发生。

### ■创新盘点

有关聚乙二醇电解质散和祛泡剂的使用剂量和方法尚未达成共识,本研究通过对比分析两种不同的聚乙二醇电解质散和西甲硅油服用方法对胶囊内镜图像质量的影响,研究肠道准备的最佳使用方法。

关复方聚乙二醇电解质散分次服用和全剂量服用在肠道准备中的效果对比的研究,结论不一。Vorugheese等、Matro等及Longcroft-Wheaton等<sup>[8-10]</sup>研究证实当天进行肠道准备较2 d准备更有效,是安全可行的,有较少的不良反应,而且患者较易接受。而Park等和Kilgore等<sup>[11,12]</sup>则提出肠镜检查前分次剂量服用复方聚乙二醇电解质散较全量服用复方聚乙二醇电解质散明显提高肠道准备满意度,可提高患者的依从性,减少恶心症状。国外研究表明2 L的聚乙二醇电解质散剂量是足够的<sup>[13-15]</sup>, Meta分析提示低剂量复方聚乙二醇电解质和高剂量复方聚乙二醇电解质效果类似<sup>[16]</sup>。本研究中通过对比胶囊内镜检查前4 h服用2和3 L聚乙二醇电解质散的胶囊内镜肠道质量,结果发现小肠各段消化液量差别无显著性差异,2 L聚乙二醇组小肠上段清洁度高于3 L聚乙二醇组,结果提示服用2 L聚乙二醇电解质散已可达到较佳清肠效果,可以节约经济成本,也可以减轻受检者因服用大量清肠溶液产生腹胀及恶心、呕吐等不适,提高肠道准备的依从性。

胶囊内镜检查图像读取过程中,肠道内的气泡可能会遮盖病变,祛泡剂的应用减少气泡对肠道黏膜病变的遮盖,提高诊断率。目前较流行使用于肠道准备的祛泡剂有二甲硅油、西甲硅油乳剂。西甲硅油是由二甲硅油和二氧化硅组成的混合物,他作用于消化系中存在于食糜和黏液内的气泡表面,降低气泡表面张力,促使气泡破裂,使气体释放出来,释放出的气体就可以被肠壁吸收,并通过肠蠕动而排出。西甲硅油的作用是纯粹的物理性作用。没有涉及化学反应,而且其为药理学和生理学惰性物质。

国内外的研究结果也肯定了使用西甲硅油以及催泻剂进行肠道准备,提高胶囊内镜的诊断率、小肠图像质量的作用,且对胶囊内镜通过情况和检查完成率无明显影响<sup>[17-19]</sup>。在以往的研究中,西甲硅油用于肠道准备的剂量各不相同,由80至300 mg不等<sup>[19-21]</sup>。本研究中原A组检查者在检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂30 mL,结果发现小肠下段的气泡仍较多,对胶囊内镜图像质量存在较大影响,后来遂采取于检查前2 d口服西甲硅油乳剂,3次/d, 5 mL/次,检查前30 min一次性服用西甲硅油乳剂15 mL,结果发现提前2 d分次服用西甲硅油进行祛泡肠道准备可获得明显较好的祛泡效果,小肠气泡量明显减少,胶囊内镜检查图像质量明显提高。我们认为检查前30 min一次性服用祛泡剂由于作

用时间短,对小肠上段和中段祛泡效果尚可,但对小肠下段的气泡未能起到良好的祛泡效果,而检查前2 d开始分次小剂量服用祛泡剂可增加祛泡剂在小肠的作用时间,从而对小肠下段的气泡也能起到较好的祛除效果。

在胶囊内镜检查前,服用2 L复方聚乙二醇电解质散已经足够,可获得较佳的清肠效果,提前2 d开始分次服用西甲硅油可获得更佳的肠道祛泡效果,该方法值得在临床中推广应用。

### 4 参考文献

- 1 郭变. 西甲硅油联合聚乙二醇在胶囊内镜检查前肠道准备中的应用. 临床医学 2011; 31: 71-72
- 2 Rosa BJ, Barbosa M, Magalhães J, Rebelo A, Moreira MJ, Cotter J. Oral purgative and simethicone before small bowel capsule endoscopy. *World J Gastrointest Endosc* 2013; 5: 67-73 [PMID: 23424190]
- 3 戈之铮, 陈海英, 高云杰, 胡运彪, 萧树东. 祛泡剂在胶囊内镜术前肠道准备中的作用研究. 中华消化内镜杂志 2005; 22: 405-407
- 4 张冰凌, 方优红, 陈春晓, 厉有名. 西甲硅油在胶囊内镜检查中对小肠图像质量的影响. 中华消化杂志 2008; 28: 336-337
- 5 陈孝, 张子其, 张钰, 张建萍. 肠道准备对胶囊内镜图像质量及消化道通过情况的影响. 中华消化内镜杂志 2007; 24: 35-37
- 6 陈旭, 李鹏, 王拥军, 宗晔, 吴咏冬, 于中麟, 张澍田. 硫酸镁溶液联合复方聚乙二醇电解质散在胶囊内镜检查前肠道准备中的价值. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 137-140
- 7 Allegretti A, Bargallò Carulla D, Bertelè A, Franzè A, Kouroumalis EA, Mancini MA, Paspatis G, Reina-Serrano S. Efficacy and safety of bowel cleansing solutions for colonoscopy: a prospective observational study. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2010; 14: 979-985 [PMID: 21284347]
- 8 Varughese S, Kumar AR, George A, Castro FJ. Morning-only one-gallon polyethylene glycol improves bowel cleansing for afternoon colonoscopies: a randomized endoscopist-blinded prospective study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 2368-2374 [PMID: 20606677 DOI: 10.1038/ajg.2010.271]
- 9 Matro R, Shnitser A, Spodik M, Daskalakis C, Katz L, Murtha A, Kastenber D. Efficacy of morning-only compared with split-dose polyethylene glycol electrolyte solution for afternoon colonoscopy: a randomized controlled single-blind study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1954-1961 [PMID: 20407434 DOI: 10.1038/ajg.2010.160]
- 10 Longcroft-Wheaton G, Bhandari P. Same-day bowel cleansing regimen is superior to a split-dose regimen over 2 days for afternoon colonoscopy: results from a large prospective series. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 57-61 [PMID: 22064553 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318233a986]
- 11 Park SS, Sinn DH, Kim YH, Lim YJ, Sun Y, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Son HJ, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. Efficacy and tolerability of split-dose magnesium citrate: low-volume (2 liters) polyethylene glycol vs. single- or split-dose polyethylene glycol bowel preparation for morning colonoscopy. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1319-1326 [PMID: 20485282 DOI:

- 10.1038/ajg.2010.79]
- 12 Kilgore TW, Abdinoor AA, Szary NM, Schowengerdt SW, Yust JB, Choudhary A, Matteson ML, Puli SR, Marshall JB, Bechtold ML. Bowel preparation with split-dose polyethylene glycol before colonoscopy: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 1240-1245 [PMID: 21628016 DOI: 10.1016/j.gie.2011.02.007]
- 13 Park SC, Keum B, Seo YS, Kim YS, Jeon YT, Chun HJ, Um SH, Kim CD, Ryu HS. Effect of bowel preparation with polyethylene glycol on quality of capsule endoscopy. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1769-1775 [PMID: 21161380 DOI: 10.1007/s10620-010-1500-2]
- 14 Koornstra JJ. Bowel preparation before small bowel capsule endoscopy: what is the optimal approach? *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 1107-1109 [PMID: 19465857 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832b8d2f]
- 15 Kantianis A, Karagiannis S, Liatsos C, Galanis P, Psilopoulos D, Tenta R, Kalantzis N, Mavrogiannis C. Comparison of two schemes of small bowel preparation for capsule endoscopy with polyethylene glycol: a prospective, randomized single blind study. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2009; 21: 1140-1144 [PMID: 19757514 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32832b8d2f]
- 16 Belsey J, Crosta C, Epstein O, Fischbach W, Layer P, Parente F, Halphen M. Meta-analysis: efficacy of small bowel preparation for small bowel video capsule endoscopy. *Curr Med Res Opin* 2012; 28: 1883-1890 [PMID: 23136911 DOI: 10.1185/03007995.2012.747953]
- 17 余建东, 金凤哲, 曾达开. 西甲硅油对胶囊内镜图像质量及消化道通过情况的影响. *中国现代医生* 2011; 49: 127-128
- 18 Rokkas T, Papaxoinis K, Triantafyllou K, Pistiolas D, Ladas SD. Does purgative preparation influence the diagnostic yield of small bowel video capsule endoscopy: A meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 219-227 [PMID: 19098872 DOI: 10.1038/ajg.2008.63]
- 19 Wei W, Ge ZZ, Lu H, Gao YJ, Hu YB, Xiao SD. Purgative bowel cleansing combined with simethicone improves capsule endoscopy imaging. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 77-82 [PMID: 18005366]
- 20 Albert J, Göbel CM, Lesske J, Lotterer E, Nietsch H, Fleig WE. Simethicone for small bowel preparation for capsule endoscopy: a systematic, single-blinded, controlled study. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 487-491 [PMID: 15044883]
- 21 张优萍, 楼杰. 不同剂量西甲硅油在胶囊内镜检查前肠道准备的效果比较. *现代实用医学* 2011; 23: 1279-1280

**■同行评价**

本文立题有一定的新意, 科学性较好, 研究结果有一定的创新性, 对临床工作有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治疗效果评价

方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖

## ■背景资料

应激性胃肠道出血是重型颅脑损伤后常见并发症, 发病原因主要为患者颅脑创伤严重引发应激性溃疡, 患者临床多表现为呕血、黑便、胃管可抽出血液或咖啡样物。应激性胃肠道出血可引发缺血性休克等严重不良后果, 大大增加了重型颅脑损伤患者的死亡风险。

方学文, 云南省第一人民医院护理部 云南省昆明市 650032  
常顺, 赵建华, 钱希颖, 云南省第一人民医院神经外科 云南省昆明市 650032

方学文, 副主任护师, 主要从事重症护理的研究。

作者贡献分布: 此课题由方学文设计; 研究过程由方学文与常顺完成; 数据分析由赵建华与钱希颖完成; 写作由方学文、常顺、赵建华及钱希颖共同完成。

通讯作者: 常顺, 650032, 云南省昆明市金碧路157号, 云南省第一人民医院神经外科. stone1983712@163.com

收稿日期: 2013-11-30 修回日期: 2013-12-15

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-01-28

## Prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury

Xue-Wen Fang, Shun Chang, Jian-Hua Zhao, Xi-Yin Qian

Xue-Wen Fang, Department of Nursing, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Shun Chang, Jian-Hua Zhao, Xi-Yin Qian, Department of Neurosurgery, First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Shun Chang, Department of Neurosurgery, First People's Hospital of Yunnan Province, 157 Jinbi Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. stone1983712@163.com

Received: 2013-11-30 Revised: 2013-12-15

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury.

**METHODS:** One hundred and twenty patients with severe brain injury were randomly divided into three groups: A, B and C. Group A was treated by early enteral nutrition plus drug treatment, group B by late enteral nutrition plus drug treatment, and group C by early enteral nutrition. The incidence of stress-induced gastrointestinal bleeding, gastric juice pH and the healing time of oral ulcer were compared between the three groups. The relationship of gastric juice

pH and blood glucose level with the incidence of stress-induced gastrointestinal bleeding was analyzed. The clinical effects were observed.

**RESULTS:** The incidence rate of stress-induced gastrointestinal bleeding (10.00%, 20.00% vs 37.50%,  $P < 0.05$ ) and gastric juice pH ( $4.97 \pm 0.73$ ,  $4.49 \pm 0.35$  vs  $3.05 \pm 1.21$ ,  $P < 0.05$  for both) were significantly higher in the group C than in groups A and B, but the average time of ulcer healing was significantly lower in group C ( $22.16 \pm 3.07$ ,  $29.02 \pm 2.24$  vs  $33.26 \pm 3.61$ ,  $P < 0.05$  for both). The above parameters also differed significantly between groups A and B ( $P < 0.05$  for all). The incidence rate of stress-induced gastrointestinal bleeding was significantly higher in patients with gastric juice pH  $\leq 2.45$  than in those with gastric juice pH  $> 2.45$  (18.62% vs 15.69%,  $P < 0.05$ ), but was significantly lower in patients with blood glucose level  $> 10$  mmol/L than in those with blood glucose level  $> 15$  mmol/L (16.38% vs 17.72%,  $P < 0.05$ ). In total, 25 cases (92.59%) had been treated successfully, and there were 2 cases (7.41%) of failure, of whom 1 had been treated successfully by surgical treatment, and 1 (3.70%) died.

**CONCLUSION:** Hyperacidity, gastric mucosa damage and hyperglycemia are risk factor leading to stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury. Early enteral nutrition and drug treatment can prevent stress-induced gastrointestinal bleeding.

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

**Key Words:** Severe brain injury; Stress-induced gastrointestinal bleeding; Prevention; Therapeutic effects

Fang XW, Chang S, Zhao JH, Qian XY. Prevention and treatment of stress-induced gastrointestinal bleeding after severe brain injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 404-408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/404.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.404>

## ■同行评议者

戈之铮, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

## 摘要

**目的:** 探讨重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的有效预防和治理措施及临床疗效。

**方法:** 将我院收治的120例重型颅脑损伤患者按照数字随机分组法均分为A组、B组和C组, A组患者给予早期肠内营养支持治疗+药物治疗, B组患者给予晚期肠内营养支持治疗+药物治疗, C组患者仅给予早期肠内营养支持治疗。比较3组患者应激性胃肠道出血发生率、胃液pH值及溃疡愈合时间, 并观察C组患者胃液pH值及血糖值与应激性胃肠道出血发生率的相关性。对发生应激性胃肠道出血的患者采取综合对症治理措施, 观察临床疗效。

**结果:** 3组患者应激性胃肠道出血发生率依次升高(10.00%, 20.00% vs 37.50%), 差异均具有显著性( $P<0.05$ ); 3组患者胃液pH平均值依次升高( $4.97\pm0.73$ 、 $4.49\pm0.35$  vs  $3.05\pm1.21$ ), 溃疡平均愈合时间依次降低( $22.16\pm3.07$  d、 $29.02\pm2.24$  d vs  $33.26\pm3.61$  d), 差异均具有显著性( $P<0.05$ ); 胃液pH $\leq 2.45$ 组患者应激性胃肠道出血发生率明显高于胃液pH $>2.45$ 组(18.62% vs 15.69%), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 血糖值 $>10$  mmol/L组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于血糖值 $>15$  mmol/L组(16.38% vs 17.72%), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 25例(92.59%)患者止血成功, 2例(7.41%)止血失败者1例转为手术治疗后止血成功, 临床疗效显著, 1例(3.70%)死亡。

**结论:** 胃酸过多、胃黏膜损害和高血糖等均作为诱发重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的危险因素, 采取早期肠内营养支持治理和抑酸、胃黏膜保护等药物治疗能够有效预防应激性胃肠道出血发生, 应激性胃肠道出血发生后采取洗胃、补血、抑酸、保护胃黏膜等综合治理止血成功率高, 临床疗效显著。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 重型颅脑损伤; 应激性胃肠道出血; 预防; 治理效果

**核心提示:** 本研究中, 早期肠内营养支持治理+药物治疗组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于晚期肠内营养支持治理+药物治疗组, 胃液pH平均值明显高于晚期肠内营养支持治理+药物治疗组, 溃疡平均愈合时间明显低于晚期肠内营养支持治理+药物治疗组, 差异均具有显著性。表明早期肠道营养支持治理能够有效提高患者胃液

pH值, 改善患者胃肠道功能, 促进溃疡愈合, 预防应激性胃肠道出血发生。

方学文, 常顺, 赵建华, 钱希颖. 重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血的预防及临床治理效果评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 404-408 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/404.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.404>

## 0 引言

应激性胃肠道出血是重型颅脑损伤后常见并发症, 发病原因主要为患者颅脑创伤严重引发应激性溃疡, 患者临床多表现为呕血、黑便、胃管可抽出血液或咖啡样物<sup>[1]</sup>。应激性胃肠道出血可引发缺血性休克等严重不良后果, 大大增加了重型颅脑损伤患者的死亡风险<sup>[2]</sup>。预防和治理应激性胃肠道出血是降低重型颅脑损伤患者死亡率的重要措施。我院预防和治理重型颅脑损伤后应激性胃肠道出血取得了良好的临床效果, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-05/2013-05我院收治的120例重型颅脑损伤患者作为研究对象。所有患者CT检查确诊为开放性颅脑损伤、脑挫裂伤、颅骨骨折、蛛网膜下腔出血、弥漫性轴索损伤等, 患者格拉斯哥评分为3-8分。排除入院前有胃肠道溃疡、出血血机能障碍以及其他严重全身疾病患者。按照数字随机分组法将120例患者均分为A组、B组和C组, 3组患者在性别、年龄、体质量及致伤原因等上差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1), 具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 治理:** 所有患者入院后均在24 h内给予静脉营养支持, A组患者入院后12-24 h内即给予肠内营养支持治理, 并给予PPI(奥美拉唑40 mg/次, 2次/d或兰索拉唑30 mg/次, 2次/d, 视出血情况可增加药量)<sup>[3]</sup>和胃黏膜保护剂(硫糖铝片1.0 g/次, 4次/d)<sup>[4]</sup>治理; B组患者入院后48-72 h再给予肠内营养支持治理, 并给予药物治疗, 用药种类和剂量与A组相同; C组患者入院后12-24 h内即给予肠内营养支持治理, 不使用药物治疗。所有患者Hb $<70$  g/L时需适当少量多次输入新鲜血及血浆。应激性胃肠道出血判断标准: 出现呕血、便血或胃内可抽出新鲜血液或咖啡样物, 胃内抽取物或大便潜血试验结果为阳性<sup>[5]</sup>。

对于3组采取预防措施后发生应激性胃肠道

## ■ 研发前沿

重型颅脑损伤后引发应激性胃肠道出血的发病机制尚未有明确研究报道。

## ■相关报道

大量临床研究表明, 重型颅脑损伤后患者交感神经兴奋性增强, 引起胃黏膜血液循环发生异常, 导致胃黏膜发生缺血及血管剧烈收缩等异常变化, 促进了应激性溃疡发生。

表 1 3组患者临床资料比较 ( $n = 40$ )

分组	性别		平均年龄(岁)	平均体质量(kg)	致伤原因			
	男	女			车祸伤	打击伤	坠落伤	其他伤
A组	27	13	47.62 ± 5.33	65.36 ± 8.33	24	10	4	2
B组	26	14	46.57 ± 5.71	64.71 ± 8.29	25	8	4	3
C组	28	12	47.08 ± 5.26	64.39 ± 8.82	22	10	6	2

表 2 3组患者应激性胃肠道出血发生率比较 ( $n = 40, n(\%)$ )

分组	应激性胃肠道出血发生率
A组	4(10.00)
B组	8(20.00) <sup>a</sup>
C组	15(37.50) <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs C组。

表 3 3组患者胃液pH值及溃疡愈合时间比较 ( $n = 40$ )

分组	胃液pH平均值	溃疡平均愈合时间(d)
A组	4.97 ± 0.73	22.16 ± 3.07
B组	4.49 ± 0.35 <sup>a</sup>	29.02 ± 2.24 <sup>a</sup>
C组	3.05 ± 1.21 <sup>b</sup>	33.26 ± 3.61 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs C组。

出血的患者, 及时抽空胃内容物, 使用冰生理盐水(必要时可使用去甲肾上腺素盐水)灌洗, 并给予西米替丁、云南白药和硫糖铝混悬液进行止血、抑酸及胃黏膜保护治疗。若患者出血情况较为严重, 发生缺血性休克时需及时进行补液治疗。对于药物治疗无效患者需及时改为内镜下止血或实施手术治疗。

1.2.2 观察指标: 比较3组患者应激性胃肠道出血发生率、胃液pH值及溃疡愈合时间, 并观察C组患者胃液pH值、血糖值与应激性胃肠道出血发生率的相关性。对所有应激性胃肠道出血患者进行临床疗效评价。疗效评价标准: 止血成功: 48-72 h无继续出血现象, 患者血压脉搏均稳定; 止血失败: 72 h后仍有出血<sup>[6]</sup>。

**统计学处理** 所有数据均使用SPSS17.0数据分析软件进行统计学处理, 计量资料用mean ± SD表示, 差异性比较采用 $t$ 检验, 计数资料比较用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 3组患者应激性胃肠道出血发生率 A组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于B、C两组, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ ); B组患者胃肠道出血发生率明显低于C组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表2)。

2.2 3组患者胃液pH值及溃疡愈合时间比较 A组患者胃液pH平均值明显高于B、C两组, 溃疡平均愈合时间明显低于B、C两组, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ ); B组患者胃液pH平均值明显高于C组, 溃疡平均愈合时间明显低于C组, 差异均具

有显著性( $P < 0.05$ )(表3)。

2.3 C组患者不同胃液pH值、血糖值应激性胃肠道出血发生率比较 胃液pH ≤ 2.45组患者应激性胃肠道出血发生率明显高于胃液pH > 2.45组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 血糖值 > 10 mmol/L组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于血糖值 > 15 mmol/L组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表4)。

2.4 临床疗效 120例患者共27例(22.50%)发生应激性胃肠道出血, 采取有效治疗措施后25例(92.59%)止血成功, 临床疗效显著; 2例(7.41%)止血失败者1例转为手术治疗, 1例(3.70%)死亡。

## 3 讨论

重型颅脑损伤后引发应激性胃肠道出血的发病机制尚未有明确研究报道。但大量临床研究表明, 重型颅脑损伤后患者交感神经兴奋性增强, 引起胃黏膜血液循环发生异常, 导致胃黏膜发生缺血及血管剧烈收缩等异常变化, 促进了应激性溃疡的发生<sup>[7]</sup>; 患者颅脑损伤常累及丘脑下部植物神经中枢, 通过传导作用刺激胃肠, 增加了胃酸及胃蛋白酶的分泌速度, 使患者胃酸升高, 加剧了应激性溃疡的发生; 重型颅脑损伤患者受到创伤后凝血机制受阻, 使患者胃肠道出血风险大大增加<sup>[8]</sup>; 重型颅脑损伤患者多伴有高血糖症状, 加速了机体厌氧代谢, 导致胃黏膜屏障保护功能被削弱, 加剧了胃黏膜的受损情况, 也增加了应激性胃肠道出血的发生风险<sup>[9]</sup>。

胃肠道是重型颅脑损伤并发症的靶器官, 是应激反应的器官<sup>[10]</sup>。患者发生应激性胃肠道出血后由于胃黏膜遭到破坏, 能够引发致病微



表 4 C组患者不同胃液pH值及血糖值应激性胃肠道出血发生率比较

项目	应激性胃肠道出血发生率(%)
胃液pH值	
≤2.45	18.62 <sup>a</sup>
>2.45	15.69
血糖值(mmol/L)	
>10	16.38 <sup>c</sup>
>15	17.72

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 胃液pH值>2.45组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 血糖值>15 mmol/L组。

生物异位, 从而导致发生全身炎症反应综合征以及多器官功能障碍综合征。因此, 预防和治疗应激性胃肠道出血是治疗重型颅脑损伤的关键环节。

早期肠内营养符合重型颅脑损伤患者的生理需求, 能够帮助患者维持胃肠道血流稳定性, 保障胃肠道神经-内分泌免疫轴正常运行, 促使肝、胆、胰腺等胃肠道重要器官分泌以及保持肠道蠕动, 有助于患者胃肠道黏膜的恢复<sup>[11]</sup>。对重型颅脑损伤患者采取早期肠内营养支持治疗, 不仅大大改善了患者胃肠道局部免疫系统的功能, 也缓解了神经源性应激性溃疡和出血现象<sup>[12]</sup>。另外, 早期肠内营养支持也能够缓解重型颅脑损伤患者胃酸过多情况, 提升胃液pH值, 对改善患者胃肠道低灌注情况。一般临床应用过程中常在肠内营养液中添加氨基酸、膳食纤维等改善患者胃肠道免疫功能、预防腹胀或便秘的发生<sup>[13]</sup>。

本研究中, 早期肠内营养支持治疗+药物治疗组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 胃液pH平均值明显高于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 溃疡平均愈合时间明显低于晚期肠内营养支持治疗+药物治疗组, 差异均具有显著性。表明早期肠道营养支持治疗能够有效提高患者胃液pH值, 改善患者胃肠道功能, 促进溃疡愈合, 预防应激性胃肠道出血发生; 而早期肠内营养支持治疗+药物治疗组患者应激性胃肠道出血发生率明显低于单纯早期肠内营养支持治疗组, 胃液pH平均值明显高于单纯早期肠内营养支持治疗组, 溃疡平均愈合时间明显低于单纯早期肠内营养支持治疗组, 差异均具有显著性。表明药物治疗能够有效抑制患者胃酸过多, 保护胃黏膜, 是预防应激性胃肠道出血的关键措施之一。

另外, 对C组患者不同胃液pH值及血糖值应激性胃肠道出血发生率比较结果显示胃液pH值越高, 血糖值越低, 患者应激性胃肠道出血发生率越低。表明低pH值和高血糖值均为诱发应激性胃肠道出血的危险因素。因此, 预防重型颅脑损伤后并发应激性胃肠道出血的措施可针对上述危险因素实施, 包括积极治疗原发病, 提高患者自身抵抗力<sup>[14]</sup>; 早期肠道营养支持治疗, 改善患者胃液pH值较低状态, 控制血糖, 促进胃黏膜恢复; 联合应用抑酸剂和胃黏膜保护剂, 控制胃酸、保护胃黏膜、促进溃疡愈合; 及时控制出血, 预防出血性休克<sup>[15]</sup>。多项措施联合实施能够有效降低应激性胃肠道出血发生率。

总之, 采取早期肠内营养支持治疗和抑酸、胃黏膜保护等药物治疗能够有效预防应激性胃肠道出血发生, 应激性胃肠道出血发生后采取洗胃、补血、抑酸、保护胃黏膜等综合治疗止血成功率高, 临床疗效显著。

#### 4 参考文献

- 1 陈志军, 叶兰芬, 彭宙, 梁汝忠. 探讨重型颅脑损伤后应激性溃疡的发病机制及防治措施. 中外医疗 2013; (23): 20-22
- 2 张爽, 刘海峰, 张成岗. 应激性胃黏膜损伤发病机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1697-1701
- 3 沈宏伟, 林慧萍, 吴明东, 王华富. 铝镁加联合兰索拉唑防治重型颅脑损伤应激性溃疡的临床疗效观察. 中国现代医生 2013; 51: 59-61
- 4 王娟, 杨昭徐, 崔培林. 铝碳酸镁预防大鼠急性脑外伤后应激性溃疡的作用. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2115-2118
- 5 杨海芸, 戈之铮, 戴军, 李晓波, 高云杰. 免疫法和化学法粪便隐血试验在上消化道出血性疾病中阳性率的比较. 世界华人消化杂志 2008; 16: 946-950
- 6 Han RZ, Hu JJ, Weng YC, Li DF, Huang Y. NMDA receptor antagonist MK-801 reduces neuronal damage and preserves learning and memory in a rat model of traumatic brain injury. *Neurosci Bull* 2009; 25: 367-375 [PMID: 19927173 DOI: 10.1007/s12264-009-0608-x]
- 7 周虹, 吕农华. 消化性溃疡并出血高危因素的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3544-3547
- 8 石小峰, 史克珊, 李安民, 陈焕雄. 神经外科重症患者上消化道出血高危因素监测与治疗. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1101-1103
- 9 周凡. 颅脑损伤的继发性损伤因子和保护因子. 中国医药导刊 2010; 12: 1012-1013
- 10 Buttram SD, Wisniewski SR, Jackson EK, Adelson PD, Feldman K, Bayir H, Berger RP, Clark RS, Kochanek PM. Multiplex assessment of cytokine and chemokine levels in cerebrospinal fluid following severe pediatric traumatic brain injury: effects of moderate hypothermia. *J Neurotrauma* 2007; 24: 1707-1717 [PMID: 18001201]
- 11 黄鹏. 重型颅脑损伤后应激性消化道出血的预防及治疗分析. 中国医药导刊 2013; 15: 1149-1150
- 12 Hardy P, Johnston KM, De Beaumont L, Montgomery DL, Lecomte JM, Soucy JP, Bourbonnais

#### ■应用要点

采取早期肠内营养支持治疗和抑酸、胃黏膜保护等药物治疗能够有效预防应激性胃肠道出血发生, 应激性胃肠道出血发生后采取洗胃、补血、抑酸、保护胃黏膜等综合治疗止血成功率高, 临床疗效显著。

## ■同行评价

本文选题新颖, 设计合理, 结果实用, 具有一定临床指导意义.

- 13 李智超, 魏少伟, 赵博, 梁艳, 赵艳辉, 褚宇栋. 颅脑损伤并发上消化道出血267例原因分析与防治. 中国实用神经疾病杂志 2011; 14: 47-48
- 14 D, Lassonde M. Pilot case study of the therapeutic potential of hyperbaric oxygen therapy on chronic brain injury. *J Neurol Sci* 2007; 253: 94-105 [PMID: 17234213]
- 15 韦玉. 重型颅脑损伤后应激性消化道出血113例临床分析. 海南医学院学报 2009; 15: 591-592
- 16 Ojiako K, Shingala H, Schorr C, Gerber DR. Famotidine versus pantoprazole for preventing bleeding in the upper gastrointestinal tract of critically ill patients receiving mechanical ventilation. *Am J Crit Care* 2008; 17: 142-147 [PMID: 18310651]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施

吕剑敏, 程锐, 吴伟东

吕剑敏, 程锐, 吴伟东, 浙江省丽水市中心医院手术室 浙江省丽水市 323000

吕剑敏, 护师, 主要从事护理学的研究.

作者贡献分布: 课题设计、研究过程数据分析及论文写作由吕剑敏完成; 研究过程由程锐完成; 吴伟东负责数据分析.

通讯作者: 吕剑敏, 护师, 323000, 浙江省丽水市括苍路289号, 浙江省丽水市中心医院手术室. 31358494@qq.com

电话: 0578-2681251

收稿日期: 2013-12-11 修回日期: 2013-12-25

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-01-28

## Drug-induced liver disease: Risk factors and intervention measures

Jian-Min Lv, Rui Cheng, Wei-Dong Wu

Jian-Min Lv, Rui Cheng, Wei-Dong Wu, Operating Room, Lishui Central Hospital, Lishui 323000, ZheJiang Province, China

Correspondence to: Jian-Min Lv, Senior Nurse, Operating Room, Lishui Central Hospital, 289 Kuocang Road, Lishui 323000, ZheJiang Province, China. 31358494@qq.com

Received: 2013-12-11 Revised: 2013-12-25

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the risk factors for drug-induced liver disease (DILD), and to explore preventive measures and clinical nursing interventions.

**METHODS:** Three hundred and fifteen patients treated with hepatotoxic drugs were divided into 2 groups: DILD group ( $n = 53$ ) and non-DILD group ( $n = 262$ ). Baseline data including gender, age, body mass index, nutritional status, history of drug allergy, history of drinking and smoking were analyzed by univariate analysis and Logistic regression analysis to explore the risk factors for DILD.

**RESULTS:** The incidence of DILD was 16.8%. HBsAg positivity, history of liver diseases, obesity, diabetes, cardiovascular disease, smoking and alcohol drinking are risk factors for DILD.

**CONCLUSION:** HBsAg positivity, history of liver diseases, obesity, diabetes, cardiovascular

disease, smoking and alcohol drinking are risk factors for DILD. Timely and effective prevention, therapy and nursing intervention can help reduce the morbidity of DILD.

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

**Key Words:** Drug-induced liver disease; Risk factors; Nursing intervention

Lv JM, Cheng R, Wu WD. Drug-induced liver disease: Risk factors and intervention measures. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 409-414 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.409>

## 摘要

**目的:** 探讨药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD)的危险因素, 并对相应护理干预措施提出建议.

**方法:** 根据是否出现DILD将应用有肝毒性不良反应药物治疗的315例患者分为两组(DILD组, 共53例; 非DILD组, 共262例). 采用单因素分析及Logistic回归分析方法对性别、年龄、体质量指数、营养状况、药物过敏史、烟酒史等进行统计学分析, 探讨DILD的危险因素.

**结果:** DILD的发生率为16.8%. HBsAg阳性、既往有肝病史、肥胖、合并糖尿病或心血管疾病以及吸烟、饮酒为治疗剂量药物引起肝损害发生的危险因素.

**结论:** HBsAg阳性、既往有肝病史、肥胖、合并糖尿病或心血管疾病以及吸烟、饮酒为治疗剂量药物引起肝损害发生的危险因素, 对上述的危险因素应采取及时有效的预防、治疗和护理干预措施, 以降低药物性肝损伤的可能.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 药物性肝损害; 危险因素; 护理干预

**核心提示:** 本研究结果显示, 患者年龄46岁以

## ■背景资料

药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD)是临床治疗过程中的一个重要的难题, 其临床表现与诸多形式的急性和慢性肝脏疾病相类似, 对于不可避免地发生DILD的患者应加强监管和控制病情的加重. 而预防是避免药源性疾病的关键, 因此寻找导致DILD的危险因素并采取针对性预防及护理措施是医护人员紧迫而必须的挑战性任务.

## ■同行评议者

陈国凤, 主任医师, 中国人民解放军第302医院感染七科



## ■ 研发前沿

在我国,因病毒性肝炎为肝损害的主要原因,药物性肝炎所占的比率远低于国外,但DILD的发病率不断上升,现已成为药物治疗过程中不可忽视的难题。

上、肥胖、吸烟、饮酒、既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD)的相关因素,其中肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是引起DILD发生的危险因素( $OR>1$ ),而年龄46岁以上为保护因素( $OR<1$ )。

吕剑敏, 程锐, 吴伟东. 导致药物性肝损害的相关因素分析及针对性干预措施. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 409-414  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/409.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.409>

## 0 引言

肝脏是人体的解毒器官,许多药物通过肝脏的代谢和清除作用被转化或消除。然而,在治疗过程中,某些药物由于其自身的毒性损害或人体对其发生过敏反应,易引起肝脏的损伤即药物性肝损害(drug-induced liver disease, DILD),严重者可导致患者需进行肝移植治疗甚至危及生命,给患者造成沉重的精神压力和经济负担。在美国,由药物引起的暴发性肝衰竭约占25%,DILD约占住院肝疾病患者的2%-5%,占药物不良反应总数的10%-15%<sup>[1]</sup>。在我国,因病毒性肝炎为肝损害的主要原因,药物性肝炎所占的比率远低于国外,但DILD的发病率不断上升<sup>[2]</sup>,现已成为药物治疗过程中不可忽视的难题。本研究采用病例-对照研究方法对我院于2010-01/2013-06收治并应用具有肝毒性不良反应药物治疗的患者315例进行研究,目的是明确发生DILD的主要相关因素,并为完善相关临床用药指导和规范护理干预措施提供参考和依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-01/2013-06我院收治的应用具有肝毒性不良反应药物治疗的患者315例为研究对象,其中男性147例,女性168例,年龄范围25-75岁,平均年龄43.4岁 $\pm$ 10.2岁;应用药物治疗前,所有患者碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)和谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)指标正常。排除标准: (1)有外伤性肝脏损伤病史; (2)合并自身免疫性疾病、甲状腺功能亢进、恶性肿瘤、肝硬化以及心、肾功能和呼吸功能衰竭者; (3)意识障碍或休克; (4)妊娠; (5)严重营养不良<sup>[3]</sup>(血清白蛋白 $<35$  g/L)。根据患者是否出现肝损害,将患者分为两组: DILD组(共53

例)及非DILD组(共262例)。

## 1.2 方法

**1.2.1 资料采集:** 统计整理患者发生DILD病例数及转归情况。比较两组患者一般资料,包括: 性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、营养状况、药物过敏史、吸烟史、饮酒史、心血管疾病史、HBsAg情况、慢性阻塞性肺疾病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、糖尿病、既往肝病史等,探寻发生DILD的危险因素。

**1.2.2 评价标准:** (1)肝损害诊断标准<sup>[4]</sup>: ALP大于正常值(40-110 U/L)上限的2倍,或ALT与ALP的比值 $<2$ 或 $>5$ ,或ALT和ALP均大于其正常值上限的2倍且两者比值正常,伴或不伴有谷氨酰基转移酶(glutamyltransferase, GGT)升高; (2)BMI: 计算方法:  $BMI = \text{体质量(kg)} / \text{身高(m}^2\text{)}$ 。偏瘦:  $BMI < 18.5 \text{ kg/m}^2$ ; 健康体质量:  $18.5 \text{ kg/m}^2 \leq BMI < 24 \text{ kg/m}^2$ ; 超重:  $24 \text{ kg/m}^2 \leq BMI < 28 \text{ kg/m}^2$ ; 肥胖:  $BMI \geq 28 \text{ kg/m}^2$ ; (3)酗酒: 每日饮酒量超过40 g,且饮酒连续5年及以上,伴或不伴有酒精戒断症状<sup>[5]</sup>; (4)肝脏基础病变: 包括既往病毒性肝炎史、酒精性肝病、脂肪肝、血吸虫肝病等,但排除药物治疗时合并的急性肝病; (5)COPD诊断及分度<sup>[6]</sup>: 轻度: 1 s用力呼气容积(forced expiratory volume in 1 second, FEV1)/用力肺活量(forced vital capacity, FVC) $<70\%$ ,  $FEV1 > 80\%$ 预计值,有或无慢性咳嗽咳痰症状; 中度:  $FEV1/FVC < 70\%$ ,  $50\% < FEV1 < 80\%$ 预计值,有或无慢性咳嗽咳痰症状; 重度:  $FEV1/FVC < 70\%$ ,  $30\% < FEV1 < 50\%$ 预计值,有或无慢性咳嗽咳痰症状; 极重度:  $FEV1/FVC < 70\%$ ,  $FEV1 < 30\%$ 预计值,或 $FEV1 < 50\%$ 预计值,伴有慢性呼吸衰竭。

**统计学处理** 数据分析采用SPSS17.0软件,运用单因素 $\chi^2$ 检验,提取 $P < 0.05$ 的危险因素进行Logistic回归分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 应用药物治疗后患者发生DILD的情况** 在315例患者中有53例发生肝损害,发生率为16.8%,无死亡病例。其中治疗剂量内应用抗生素类药物者88例,应用抗精神病类药物者45例,应用非甾体抗炎药者63例,应用抗代谢类药物者59例,服用中药及其他具有肝毒性不良反应的药物者60例。53例DILD者血清学诊断指标异常出现时间: 17.0%发生于药物治疗1 wk内,38.7%发生于药物治疗的1-2 wk,26.4%发生于

表 1 315例患者药物治疗过程中发生DILD单因素分析结果

影响因素	有DILD组( <i>n</i> = 53)		无DILD组( <i>n</i> = 262)		$\chi^2$ 值	<i>P</i> 值
	<i>n</i>	百分比(%)	<i>n</i>	百分比(%)		
性别					0.709	0.138
男	23	15.6	124	84.4		
女	30	17.8	138	82.2		
年龄(岁)					9.386	0.002
25-35	2	4.4	43	95.6		
36-45	5	8.9	51	91.1		
46-55	11	16.4	56	83.6		
56-65	16	21.3	59	78.7		
66-75	19	26.4	53	73.6		
BMI(kg/m <sup>2</sup> )					10.836	0.001
<18.5	8	12.3	57	87.7		
18.5≤BMI<24	5	5.7	83	94.3		
24≤BMI<28	19	20.2	75	79.8		
≥28	21	30.9	47	69.1		
吸烟史					5.446	0.020
有	36	21.8	129	78.2		
无	17	11.3	133	88.7		
饮酒史					6.269	0.012
有	45	20.5	174	79.5		
无	8	8.3	88	91.7		
药物过敏史					0.873	0.127
有	10	17.5	47	82.5		
无	43	16.7	215	83.3		
心血管疾病					9.545	0.002
有	39	23.2	129	76.8		
无						
HBsAg					36.252	0.000
阳性	36	40.9	52	59.1		
阴性	17	7.5	210	92.5		
COPD					0.277	0.598
轻度	20	15.7	107	84.3		
中度	21	16.8	104	83.2		
重度	12	19.0	51	81.0		
糖尿病					3.905	0.024
有	21	22.8	71	83.3		
无	32	14.3	191	83.1		
既往肝病史					20.238	0.000
有	41	27.0	111	73.0		
无	12	7.4	151	92.6		

COPD: 慢性阻塞性肺疾病; DILD: 药物性肝损害; BMI: 体质量指数.

3-4 wk, 17.9%的患者于4 wk后出现异常.

2.2 DILD单因素方差分析结果 DILD单因素方差分析结果如表1所示. 对11项可能引起DILD发生的相关因素的单因素方差分析结果表明, 患者年龄是否46岁以上、是否肥胖、吸烟、饮酒、既往是否有肝病史、HBsAg是否阳性、是否有

糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病, 在发生DILD的概率上有统计学差异( $P<0.05$ ), 是导致DILD的相关因素.

2.3 Logistic回归分析结果 提取表1中 $P<0.05$ 的8个变量(年龄46岁以上、肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发

#### ■相关报道

国内外研究对于吸烟是否为发生DILD的危险因素存在争议, 美国胸腔协会对吸烟者接受具有肝脏毒性不良反应药物治疗发生DILD的最新报道指出, 尚无明确的证据指出肝毒性的发生与患者有无吸烟史有关, 而饮酒导致DILD的危险与国外的相关研究结果一致.

### ■同行评价

本文设计合理, 结果明确, 讨论丰富, 对临床医师有一定的参考价值。

表 2 315例患者发生药物性肝损害危险因素Logistic回归分析

危险因素	$\beta$ 值	Wald $\chi^2$ 值	P值	OR值	95%CI
年龄46岁以上	-0.159	1.081	0.089	0.853	0.807-0.899
肥胖	1.493	5.634	0.007	4.451	2.983-5.919
吸烟	0.781	2.447	0.025	2.183	1.156-3.210
饮酒	1.049	4.269	0.012	2.845	1.348-4.342
心血管疾病	1.055	4.545	0.010	2.872	1.297-4.447
HBsAg阳性	2.146	7.252	0.000	8.552	7.394-9.710
糖尿病	1.382	4.805	0.007	3.984	1.951-6.017
既往肝病史	1.536	5.838	0.002	4.648	3.009-6.287

比值比OR<1或OR>1时, 表明疾病与暴露因素间存在统计学联系, 前者表面暴露因素是疾病保护因素, 后者表明暴露因素是危险因素。

疾病合并心血管疾病), 采用Logistic回归模型进行多变量分析, 结果如表2所示。多变量分析结果表明, 根据OR值由高到低依次为: HBsAg阳性、既往肝病史、肥胖、糖尿病、心血管疾病、饮酒、吸烟、年龄大于46岁。其中HBsAg阳性、既往有肝病史、肥胖、糖尿病、伴有心血管疾病、饮酒、吸烟的OR值>1, 为DILD的危险因素。特别是HBsAg阳性(OR = 8.552, 95%CI: 7.394-9.710)、既往肝病史(OR = 4.648, 95%CI: 3.009-6.287)、肥胖(OR = 4.451, 95%CI: 2.983-5.919), 是导致DILD发生的诸多相关因素中的较危险的因素。年龄46岁以上OR值<1, 表明该因素为DILD保护因素。

### 3 讨论

DILD是临床治疗过程中的一个重要的难题。有超过1000种药品涉及引起肝脏疾病, 虽然大多数情况下停止用药可以减轻发生DILD者的肝损症状和降低损害程度, 但仍有部分患者因致命性肝毒性和肝损害终导致患者肝移植, 甚至死亡病例的发生。DILD在临床表现上可以与诸多形式的急性和慢性肝脏疾病相类似, 对于不可避免地发生DILD的患者应加强监管和控制病情的加重。而预防是避免药源性疾病的关键, 因此寻找到导致DILD的危险因素并采取针对性预防及护理措施是医护人员紧迫而必须的挑战性任务。

本研究结果显示, 患者年龄46岁以上、肥胖、吸烟、饮酒、既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是DILD的相关因素, 其中肥胖、吸烟、饮酒、有既往肝病史、HBsAg阳性、糖尿病以及原发疾病合并心血管疾病是引起DILD发生的危险因素

(OR>1), 而年龄46岁以上为保护因素(OR<1)。HBsAg阳性患者在治疗过程中发生DILD的危险度是HBsAg阴性者的8.552倍, 曾有肝病史者发生DILD的危险度是无肝病患者的4.648倍。表明携带乙型肝炎病毒或既往患有肝病会增大发生DILD的可能性, 此调查研究结果与国外的相关研究<sup>[7-9]</sup>结果一致。乙型肝炎病毒可引发机体抗HBV的特异性免疫应答以及非抗原特异性炎性细胞的免疫反应, 可引起肝细胞的损伤, 一方面导致肝脏自身功能下降, 另一方面因肝脏无法分解、转化和清除药物使药物半衰期延长, 从而加重了药物的肝脏毒性作用, 增加DILD的发生率。肥胖<sup>[10]</sup>亦是引起DILD发生的危险因素, 发生率为21.2%。诸多国外研究<sup>[11-13]</sup>表明, 即使影像学表现中未出现脂肪肝的肥胖者发生DILD的概率较非肥胖者高且存在统计学差异, 且这种情况多存在于年轻人群, 其机制在于肝脏代偿性增强了脂类物质的代谢, 脂类物质亦对肝脏细胞的结构和功能造成一定的影响, 干扰了肝脏细胞对药物和毒性物质的分解、转化和清除作用, 从而降低了肝脏本身对药物的耐受。糖尿病患者以及合并有心血管疾病的患者发生DILD的危险度分别为3.984和2.872。对于合并糖尿病、心血管疾病的患者, 一方面由于身体长时间处于病理状态致使代谢功能下降, 因此对一般治疗剂量药物的耐受性较差, 药物在体内不良反应效果相对加重, 增加了肝脏的负担和对机体的损害<sup>[2,5,10]</sup>; 另一方面合并糖尿病的患者自身调节能力下降, 对某些药物的肝毒性不良反应较无合并症者敏感, 引起肝脏对药物的过敏反应<sup>[14]</sup>, 加重了对肝脏的损伤, 易导致DILD的发生。此外, 机体在病理状态下, 可对药物的代谢环节产



生影响, 合并心血管疾病的患者因其心输出量及血液循环状态出现异常, 因此会影响药物的吸收、分布、代谢和清除, 药物在体内停留时间加长, 对机体及肝脏的损害也会加重, 以致发生DILD. 吸烟者发生DILD的危险度是不吸烟者的2.183倍. 饮酒人群发生DILD的危险度是不饮酒人群的2.845倍. 国内外研究对于吸烟是否为发生DILD的危险因素存在争议, 美国胸腔协会对吸烟者接受具有肝脏毒性不良反应药物治疗发生DILD的最新报道<sup>[15]</sup>指出, 尚无明确的证据指出肝毒性的发生与患者有无吸烟史有关, 而饮酒导致DILD的危险与国外的相关研究<sup>[16]</sup>结果一致. 吸烟和饮酒均会对人体的代谢产生不良影响, 紊乱蛋白质和脂类的合成和分解, 而蛋白质可增加应用药物治疗时药物载体作用, 保证血中药物浓度处于适当的有效浓度; 此外, 烟、酒中含有的有害物质被人体吸收入血后在肝脏中代谢, 可直接损害肝脏, 影响肝脏功能及增加肝脏负担. Logistic回归分析结果显示年龄46岁以上OR = 0.853, 表明此因素为DILD保护因素, 国内外研究尚未明确年龄是否为DILD的危险因素. 其可能是由于在临床药物治疗过程中, 考虑到年龄大者尤其是老年患者其自身代谢减弱以及易合并与年龄因素相关的并发症, 因此会在药物治疗剂量范围内适当减少药物剂量和给药频率, 或采用间断给药方式, 以减少DILD的发生<sup>[2,11,14,15]</sup>. 以上原因对年龄因素分析结果产生干扰.

因此, 对应用具有肝脏毒性不良反应的药物引起的DILD患者需要建立药物治疗安全规范, 包括安全评估、护理干预措施、安全监测等. 在药物引起的肝损害的许多危险因素方面, 护士有重要的识别、监督和监测作用. 护士需要掌握危险因素的一般知识、具有肝毒性不良反应的药物种类、DILD临床特征以及相关护理措施<sup>[1,9]</sup>. 就针对性护理干预措施现建议如下.

针对HBsAg阳性患者及既往肝病者, 应做好安全用药指导, 加强安全监测. 给药前应明确药物的名称、用法以及可能出现的不良反应, 以保证患者规范正确服用药物. 对存在肝脏基础病变的患者应重点加强肝脏血清学指标的监测. 对已发生肝功能下降者应根据其血清ALT、AST和ALP指标升高程度适当减少药量或停药, 以免造成更严重的肝脏损害.

针对肥胖、吸烟、饮酒者, 应积极做好健康

教育, 护理人员有责任向易发生及已发生DILD的患者及其家属普及自我护理方法, 强化患者的健康行为模式、掌握必要的相关知识对降低DILD的发生率和提高DILD患者的预后十分积极的作用. 根据患者个体情况, 保证充足的蛋白质摄入量, 鼓励患者进食新鲜蔬果, 调整饮食结构, 戒烟、禁酒, 加强身体锻炼等.

针对合并糖尿病或心血管疾病患者等高危病患, 由于其自身正常代谢能力受损, 药物致毒性作用的危险性增加, 因此更应警惕DILD的发生, 护理人员应注意密切观察患者的基本病情变化, 如出现尿量减少、肢体水肿等情况需及时告知医生, 酌情减少药物剂量或停药, 以防引起药物蓄积加重DILD的损害程度. 糖尿病患者应建立低糖低脂饮食结构, 合并心血管疾病者饮食应注意低脂低钠, 同时应用降糖、降压药物积极控制糖尿病患者血糖和心血管疾病患者血压, 保证患者身体机能处于相对稳定的状态, 有利于抵抗药物对肝脏的毒性作用.

对存在以上危险因素DILD高危人群, 都应做到以下几点: 安全用药指导. 对于由于药物本身致患者出现的不同程度的不良反应, 应明确告知使患者有自我监测的能力, 能够及时发现, 以免发生严重后果. 向患者告知不同药物的用药原则, 做到规则用药、积极治疗, 避免某些药物因停药或漏服而下次加倍剂量, 引起血药浓度波动, 增加引起药物不良反应的几率或造成肝损害.

总之, 对存在DILD危险因素的人群, 应完善相关临床用药指导和规范护理干预措施, 加强健康教育, 加强患者自我监管意识, 建立健康良好的生活习惯, 加强自身营养, 改善精神心理状态, 以提高患者接受药物治疗的安全性和依从性, 降低药物不良反应的发生率, 保证药物治疗的有效进行.

#### 4 参考文献

- 1 刘旭东, 王炳元. 我国药物性肝损害2003-2008年文献调查分析. 临床误诊误治 2010; 23: 487-488
- 2 Laine L, Goldkind L, Curtis SP, Connors LG, Yan-qiong Z, Cannon CP. How common is diclofenac-associated liver injury? Analysis of 17,289 arthritis patients in a long-term prospective clinical trial. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 356-362 [PMID: 19174782 DOI: 10.1038/ajg.2008.149]
- 3 陈艳秋, 孙建琴, 宗敏, 韩维嘉, 蔡东联, 于康, 刘景芳, 高健, 张美芳, 陈霞飞, 赵文华, 陈君石. 住院病人营养不良患病率调查与分析. 肠外与肠内营养 2006; 13: 29-32

- 4 Chalasani N, Fontana RJ, Bonkovsky HL, Watkins PB, Davern T, Serrano J, Yang H, Rochon J. Causes, clinical features, and outcomes from a prospective study of drug-induced liver injury in the United States. *Gastroenterology* 2008; 135: 1924-1934, 1924-1934 [PMID: 18955056 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.09.011]
- 5 Chitturi S, Farrell GC. Identifying who is at risk of drug-induced liver injury: is human leukocyte antigen specificity the key? *Hepatology* 2011; 53: 358-362 [PMID: 21254184 DOI: 10.1002/hep.24094]
- 6 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组. 慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007年修订版). 中华结核和呼吸杂志 2007; 30: 8-17
- 7 Aithal GP, Watkins PB, Andrade RJ, Larrey D, Molokhia M, Takikawa H, Hunt CM, Wilke RA, Avigan M, Kaplowitz N, Bjornsson E, Daly AK. Case definition and phenotype standardization in drug-induced liver injury. *Clin Pharmacol Ther* 2011; 89: 806-815 [PMID: 21544079 DOI: 10.1038/clpt.2011.58]
- 8 Suzuki A, Andrade RJ, Bjornsson E, Lucena MI, Lee WM, Yuen NA, Hunt CM, Freston JW. Drugs associated with hepatotoxicity and their reporting frequency of liver adverse events in Vigibase: unified list based on international collaborative work. *Drug Saf* 2010; 33: 503-522 [PMID: 20486732 DOI: 10.2165/11535340-000000000-00000]
- 9 Carey EJ, Vargas HE, Douglas DD, Balan V, Byrne TJ, Harrison ME, Rakela J. Inpatient admissions for drug-induced liver injury: results from a single center. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1977-1982 [PMID: 18392678 DOI: 10.1007/s10620-008-0250-x]
- 10 Bessone F. Non-steroidal anti-inflammatory drugs: What is the actual risk of liver damage? *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5651-5661 [PMID: 21128314 DOI: 10.3748/wjg.v16.i45.5651]
- 11 Russmann S, Jetter A, Kullak-Ublick GA. Pharmacogenetics of drug-induced liver injury. *Hepatology* 2010; 52: 748-761 [PMID: 20607838 DOI: 10.1002/hep.23720]
- 12 Agúndez JA, Lucena MI, Martínez C, Andrade RJ, Blanca M, Ayuso P, García-Martín E. Assessment of nonsteroidal anti-inflammatory drug-induced hepatotoxicity. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* 2011; 7: 817-828 [PMID: 21473713 DOI: 10.1517/17425255.2011.574613]
- 13 Fontana RJ, Seeff LB, Andrade RJ, Bjornsson E, Day CP, Serrano J, Hoofnagle JH. Standardization of Nomenclature and Causality Assessment in Drug-Induced Liver Injury: Summary of a Clinical Research Workshop. *Hepatology* (Baltimore, Md.) 2010; 52: 730 [DOI: 10.1002/hep.23696]
- 14 Licata A, Calvaruso V, Cappello M, Craxì A, Almasio PL. Clinical course and outcomes of drug-induced liver injury: nimesulide as the first implicated medication. *Dig Liver Dis* 2010; 42: 143-148 [PMID: 19625223 DOI: 10.1016/j.dld.2009.06.009]
- 15 Gunawan BK, Kaplowitz N. Mechanisms of drug-induced liver disease. *Clin Liver Dis* 2007; 11: 459-475 [DOI: 10.1208/aapsj080106]
- 16 Sharma SK, Singla R, Sarda P, Mohan A, Makharia G, Jayaswal A, Sreenivas V, Singh S. Safety of 3 different reintroduction regimens of antituberculosis drugs after development of antituberculosis treatment-induced hepatotoxicity. *Clin Infect Dis* 2010; 50: 833-839 [PMID: 20156055 DOI: 10.1086/650576]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 抗结核药物肝损伤与无肝损伤患者化疗前血循环miRNA分子的差异性表达

叶长根, 孙水林, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明

叶长根, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科 上海市 201600

叶长根, 景德镇市第三人民医院消化内科 江西省景德镇市 333000

孙水林, 南昌大学第二附属医院感染科 江西省南昌市 330000

叶长根, 住院医师, 主要从事肝衰竭和肝损伤的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070357, 30660066

上海市松江区医学领先合作基金资助项目, No. 2011LX02

作者贡献分布: 本文由刘亮明设计; 研究过程由叶长根、白茹、朱伟星、陈彩萍、谢平、赵晖及涂文娟操作完成; 实验技术由刘亮明、孙水林及高得勇指导; 本论文写作由刘亮明与叶长根完成。

通讯作者: 刘亮明, 201600, 上海市松江区中山中路746号, 上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科。

liuliangming@hotmail.com

电话: 021-67720053

收稿日期: 2013-08-26 修回日期: 2013-10-28

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

## Differentially expressed microRNAs in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drugs-induced hepatotoxicity

Chang-Gen Ye, Shui-Lin Sun, Ru Bai, Wei-Xing Zhu, Cai-Ping Chen, Ping Xie, Hui Zhao, Wen-Juan Tu, De-Yong Gao, Liang-Ming Liu

Chang-Gen Ye, Ru Bai, Wei-Xing Zhu, Cai-Ping Chen, Ping Xie, Hui Zhao, Wen-Juan Tu, De-Yong Gao, Liang-Ming Liu, Department of Infection Diseases, Songjiang Hospital Affiliated to First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 201600, China

Chang-Gen Ye, Third People's Hospital of Jingdezhen, Jingdezhen 333000, Jingxi Province, China

Shui-Lin Sun, Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jingxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070357 and 30660066; the Leading Medical Cooperation Foundation of Shanghai Songjiang, No. 2011LX02

Correspondence to: Liang-Ming Liu, Department of Infection Diseases, Songjiang Hospital Affiliated to First People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, 746 Zhongshan Middle Road, Songjiang District, Shanghai 201600, China. liuliangming@hotmail.com

Received: 2013-08-26 Revised: 2013-10-28

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To investigate differential expression pro-

file of microRNAs (miRNAs) in plasma of pre-treated patients with/without anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity (ATDH).

**METHODS:** Plasma samples were collected from patients with/without ATDH before anti-tuberculosis treatment and subjected to miRNA microarray analysis. Twenty-five miRNAs were tested using high-flux real-time quantitative PCR. The target genes of miRNAs were predicted using the Internet software, and the GO functional classification of target proteins was analyzed using the PANTHER tool.

**RESULTS:** Compared with patients without ATDH, there were 7 miRNAs differentially expressed in patients with ATDH before anti-tuberculosis drug therapy, 4 of which were up-regulated, including miR-4284, miR-3620, miR-652-5p and miR-4800-5p, and 3 down-regulated, including miR-338-3p, miR-424-5p and miR-194-5p.

**CONCLUSION:** There are differentially expressed miRNAs in the circulation of patients with ATDH before anti-tuberculosis drug therapy, and the up-regulated miRNAs (esp. miR-4284) may be new biological markers for screening ATDH susceptible population.

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

**Key Words:** Anti-tuberculosis drug; Hepatotoxicity; MicroRNA; Plasma; Differentially expressed

Ye CG, Sun SL, Bai R, Zhu WX, Chen CP, Xie P, Zhao H, Tu WJ, Gao DY, Liu LM. Differentially expressed microRNAs in plasma of pretreated patients with/without anti-tuberculosis drugs-induced hepatotoxicity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 415-422 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/415.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.415>

## 摘要

**目的:** 研究抗结核药物肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)与非ATDH

## ■背景资料

抗结核药物肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)是结核病治疗期间最常见且严重的不良反应, 其不仅增加患者身心痛苦和经济负担, 而且会造成治疗中断使疗效丧失和诱导细菌耐药, 严重者可能引起肝衰竭造成患者死亡。近二十年来, 结核病研究人员一直在致力于ATDH易感人群的研究, 期望能从中寻找到某个或某些特异性的预测因子, 以减少甚至避免ATDH的发生。药物代谢酶基因或其相关基因多态性的研究是近年ATDH易感者筛查的主要方向。但不同的研究者得出了不同甚至相反的结论。因此, 目前仍缺少ATDH易感性的预测指标。miRNA分子是细胞功能与代谢酶基因调控的关键分子, 其在血循环中差异性的表达可能有助于ATDH易感人群的筛查。

## ■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科; 张占卿, 主任医师, 上海市(复旦大学)公共卫生中心(肝脏病学, 传染病学)



## ■ 研发前沿

ATDH发生的病理生理学机制及其易感人群识别和筛查研究是结核病治疗研究焦点和前沿。

患者化疗前血浆差异性表达的miRNA分子,为ATDH易感者筛选提供新的生物学指标。

**方法:** 采用miRNA芯片检测ATDH及对照患者化疗前血浆标本。对存在差异表达趋势的25种miRNA分子,采用高通量实时荧光定量PCR进行分析验证。应用互联网上miRNA靶基因预测软件对表达上调的miRNA进行靶基因预测,并采用PANTHER tool查找靶蛋白GO功能分类。

**结果:** 与对照组相比,ATDH患者化疗前血浆中共检出7个差异性表达的miRNA分子,其中表达上调的miRNA有4个,包括miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p;表达下调的miRNA有3个,包括miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p。

**结论:** ATDH患者化疗前血浆内存在差异性表达的miRNA分子,其中表达上调的miRNA分子(特别是miR-4284)可能作为ATDH易感者筛选的生物学指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 抗结核药物; 肝毒性; microRNA; 血浆; 差异性表达

**核心提示:** 本文进行了抗结核药物肝损伤或肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)与非ATDH患者化疗前血浆miRNA分子高通量微阵列检测,探讨了存在差异性表达的miRNA分子在ATDH发病中可能的作用,为ATDH易感者筛查提供了可资评估的客观生物学指标。

叶长根, 孙水林, 白茹, 朱伟星, 陈彩萍, 谢平, 赵晖, 涂文娟, 高得勇, 刘亮明. 抗结核药物肝损伤与无肝损伤患者化疗前血循环miRNA分子的差异性表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 415-422 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/415.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.415>

## 0 引言

结核病是一类可引起全球流行的感染性疾病。据WHO统计,2010年全球新增了880万例活动性结核患者,死亡110万例<sup>[1]</sup>。中国已成为全球第2大结核病负担最重的国家,世界上12%的结核病患者生活在中国<sup>[1]</sup>。抗结核标准短程化疗方案主要由INH、RIF、PZA和EMB 4种药物组成。肝损伤是这些药物联合治疗期间最常出现的不良反应之一<sup>[2]</sup>。其发生率各地报道不一,在1%-47%

之间<sup>[3]</sup>。抗结核药物肝损伤或肝毒性(anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity, ATDH)也是结核病治疗期间最严重的不良反应。ATDH的出现,不仅增加患者身心痛苦和经济负担,而且会造成治疗中断使疗效丧失和诱导细菌耐药,严重者可能引起肝衰竭造成患者死亡<sup>[4]</sup>。药物本身的毒性<sup>[5]</sup>及代谢中间产物<sup>[6]</sup>被认为在ATDH的发生中起了关键作用。但是,抗结核化疗患者是否出现肝毒性反应,个体间的差异很大,即ATDH的发生存在明显的遗传易感性<sup>[7]</sup>。将这部分易感人群方便有效地筛选出来,可能有助于减少甚至杜绝ATDH的发生。为此,我们进行了抗结核药物肝损伤和无肝损伤患者化疗前血标本miRNA芯片检测分析,以期筛选出某个或某些差异性表达的miRNA分子,为将来抗结核药物治疗前筛查ATDH易感者提供敏感而特异的生物学指标。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2011-08/2012-05上海交通大学附属第一人民医院松江分院感染科收治的活动性肺结核患者。诊断标准依据2001年的《肺结核诊断和治疗指南》<sup>[8]</sup>。所有研究对象均为抗结核初治患者,无合并症或并发症。治疗前均无基础肝脏疾病并排除乙型肝炎、丙型肝炎等嗜肝病毒感染和脂肪性及自身免疫性肝病等,腹部B超显示正常,且治疗过程中未预防性使用过护肝降酶药物。抗结核治疗采用标准的6 mo短程化疗方案:2HREZ/4HR。所有患者每周至少进行一次肝功能检测。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集:** 所有患者均于抗结核药物治疗前留取血标本。ATDH的诊断标准依据文献<sup>[9]</sup>:服药过程中,患者血清ALT超过2倍正常上限。随机选取3例ATDH和3例非ATDH患者治疗前血标本进行miRNA芯片检测。其中,男性2例,女性1例,年龄15-33岁之间。另20例ATDH和非ATDH患者治疗前血标本用于证实芯片检测结果。研究符合国家卫生部医学伦理学要求,并经患者知情同意,说明所采集的标本仅用于医学研究目的。

**1.2.2 分离血浆:** 外周血2 mL置EDTA抗凝管中,混匀。4℃,8200 g离心10 min;上清液移至无菌1.5 mL离心管中,16000 g,4℃离心10 min,小心吸取上清到新的1.5 mL离心管中,置-80℃冰箱中贮存备用。

**1.2.3 总RNA抽提:** 采用mirVana™ PARIS™

kit(Ambion, Austin, TX, US), 按照试剂盒说明书进行总RNA抽提. 简要操作方法如下: 625  $\mu$ L血浆样品与等体积2 $\times$ Denaturing Solution混匀后, 加入1.25体积无水乙醇室温下充分混匀. 将混合液加入置于收集管内的滤筒中, 离心30 s, 弃滤过液. 滤筒内加入700  $\mu$ L miRNA Wash Solution 1(工作液内加有乙醇), 离心15 s, 弃滤过液. 用500  $\mu$ L Wash Solution 2/3洗滤筒两次后, 离心1 min以清除滤筒内残留的液体, 更换收集管. 加入预热(95  $^{\circ}$ C)无酶水至滤筒中心, 离心30 s. 收集洗脱液(含RNA), 贮存于-20  $^{\circ}$ C. 采用Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)对总RNA进行电泳质量检测.

1.2.4 miRNA标记: 采用Agilent miRNA芯片配套的试剂盒miRNA Complete Labeling and Hyb Kit(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US), 按照说明书对样品中的miRNA分子进行荧光标记. 简要操作步骤如下: 100 ng总RNA经牛肠磷酸酶作用去磷酸化后, 加入100%DMSO使样品变性. 利用T4 RNA连接酶进行Cy3荧光标记. 反应结束后, 将样品置于真空浓缩仪中完全抽干备用.

1.2.5 miRNA芯片杂交: miRNA芯片采用Agilent技术公司提供的Agilent human miRNA(8 $\times$ 60 k) v18.0. 该芯片共覆盖人类成熟的miRNA 1887个, 对应探针4530个; 此外芯片还包含了7种人类病毒(HBV、HHV1、HHV4、HHV5、HHV8、HIV及HSV-2)的140个miRNA, 对应探针数417个. 每个miRNA对应的探针总重复次数30次. 数据来源于Sanger miRBase release 18.0. 杂交实验采用Agilent miRNA芯片配套的试剂盒miRNA Complete Labeling and Hyb Kit的杂交部分, 按说明书进行. 简要操作步骤为: 抽干并经标记的miRNA样品用无核酸酶水重新溶解, 加入封闭试剂. 然后, 加入杂交缓冲液并混匀. 100  $^{\circ}$ C金属浴中加热5 min后, 冰水浴中冷却5 min, 离心收集反应液. 将45  $\mu$ L反应液吸至置于Agilent SureHyb chamber底座的盖片上. 将芯片点样面(带有“Agilent”字样面)朝下缓慢放置在盖片上, 组装SureHyb chamber, 并拧紧. 将SureHyb chamber置于杂交炉, 温度55  $^{\circ}$ C, 转速20 r/min, 滚动杂交20 h. 杂交完成后在洗缸staining dishes(Thermo Shandon, Waltham, MA, US)中洗片, 洗片所用的试剂为 Gene Expression Wash Buffer Kit (Agilent technologies, Santa Clara, CA, US).

1.2.6 芯片扫描及数据处理: 芯片结果采用Agilent Microarray Scanner(Agilent technologies,

Santa Clara, CA, US)进行扫描, 用Feature Extraction software 10.7(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)读取数据, 软件设置Scan resolution = 5  $\mu$ m, PMT 100%, 5%. 最后采用Gene Spring Software 11.0(Agilent technologies, Santa Clara, CA, US)进行归一化处理, 所用的算法为Quantile.

1.2.7 实时定量RT-PCR: 采用Sharpvue<sup>TM</sup> miRNA Assay(Biovue Technology Ltd, USA)试剂(该试剂具有经实验验证确认的All-in-One<sup>TM</sup> qPCR Primer, 可用于从一个合成反应的cDNA中检测多种miRNAs), 依据操作说明书进行. 0.05  $\mu$ g总RNA, 用miRNA RT kit逆转录为第一链cDNA. 以第一链cDNA为模板, 加入qPCR Master Mix进行PCR扩增. 扩增温度设定为: 95  $^{\circ}$ C预变性2 min, (96  $^{\circ}$ C/5 s, 58  $^{\circ}$ C/1 min) $\times$ 3 cycles, (96  $^{\circ}$ C/5 s, 60  $^{\circ}$ C/30 s) $\times$ 37 cycles.

1.2.8 生物信息学分析: 应用互联网上miRNA靶基因预测软件. 进入miRNA靶基因预测和功能研究数据库MiRDB(采用的预测工具为Mir-Target2软件)主页(<http://mirdb.org/miRDB/>). 在Target Mining页面, 选择参数为靶基因预测积分(target score)超过60分. 利用各个靶基因的识别码(基因ID), 采用PANTHER tool(<http://www.pantherdb.org/>)查找各个靶蛋白的GO功能分类.

统计学处理 归一化后的数据输入significant analysis of microarray软件, 进行SAM分析.  $P<0.05$ 且各组信号差异倍数Log2值绝对值 $>1$ (相对于原始信号之比 $>2$ 倍或 $<0.5$ 倍)为差异性表达的miRNA.

## 2 结果

2.1 ATDH和非ATDH患者化疗前血浆miRNA芯片检测 对ATDH与非ATDH患者化疗前血浆进行miRNA芯片检测, 数据采用SAM分析, 结果并未发现两者之间存在显著统计学差异的表达上调或下调的miRNA分子(差异性表达火山图如图1). 我们考虑芯片检测获得阴性结果的原因可能与检测病例数过少(仅3例)有关. 为在更大样本中进行分析检测, 我们选取了火山图中表达水平差异倍数较大且趋近左上或右上象限的miRNA分子共25个进行下一步分析检测.

2.2 ATDH和非ATDH患者化疗前血浆25种miRNA分子实时荧光定量PCR分析 对芯片检测中存在上调或下调趋势的25种miRNA分子进一步采用高通量实时荧光定量PCR分析. 结果

### ■应用要点

研究成果可应用于ATDH易感患者筛查、ATDH治疗及其病理生理机制的探讨.

### 同行评价

本文反映了目前ATDH领域研究的新进展,有较为重要的学术价值。

表 1 25种血浆miRNA实时荧光定量PCR检测结果

No.	miRNA name	$\Delta\Delta Ct$	$2^{-\Delta\Delta Ct}$	Regulation
1	hsa-miR-4284	-1.9	3.66	Up
2	hsa-miR-3620	-1.6	3.09	Up
3	hsa-miR-652-5p	-1.3	2.50	Up
4	hsa-miR-4800-5p	-1.1	2.08	Up
5	hsa-miR-1249	-0.9	1.92	N
6	hsa-miR-3937	-0.9	1.85	N
7	hsa-miR-584-5p	-0.8	1.77	N
8	hsa-miR-1226-5p	-0.8	1.75	N
9	hsa-miR-4298	-0.8	1.69	N
10	hsa-miR-4655-3p	-0.6	1.57	N
11	hsa-miR-1260a	-0.6	1.50	N
12	hsa-miR-1224-5p	-0.6	1.48	N
13	hsa-miR-577	-0.4	1.29	N
14	hsa-miR-378i	-0.2	1.14	N
15	hsa-miR-663a	0.0	1.03	N
16	hsa-miR-4286	0.1	0.92	N
17	hsa-miR-7-5p	0.4	0.75	N
18	hsa-miR-34a-5p	0.6	0.66	N
19	hsa-miR-454-3p	0.6	0.65	N
20	hsa-miR-125b-5p	0.7	0.63	N
21	hsa-miR-32-5p	0.7	0.62	N
22	hsa-miR-144-5p	0.7	0.61	N
23	hsa-miR-338-3p	1.1	0.48	Down
24	hsa-miR-424-5p	1.1	0.47	Down
25	hsa-miR-194-5p	1.3	0.39	Down

发现,与非ATDH患者相比,ATDH患者表达上调的miRNA有4个,包括:miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p;表达下调的miRNA有3个,包括:miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p(表1)。

2.3 差异性表达miRNA靶基因预测结果及靶蛋白GO功能分类 表达上调的miRNA分子进靶基因预测。将miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p同时输入搜寻框内,下拉菜单选择“human”。结果显示,靶基因预测积分超过60分者共有264个基因。其中,积分超过80分的靶基因共33个(表2)。利用每个靶基因的身份识别码(基因ID),用PANTHER tool查找各个靶蛋白的GO功能分类(表2)。

### 3 讨论

抗结核药物肝毒性是结核病临床治疗过程中十分常见且严重的药物毒副反应。近二十余年来,结核病研究人员一直在致力于ATDH易感人群的研究,期望能从中寻找到某个或某些特异性

的预测因子。这项工作在临床工作中的重要意义显而易见,因为抗结核治疗前对易感人群的预测,有助于减少甚至避免ATDH的发生。药物代谢酶基因或其相关基因多态性的研究是近年ATDH易感者筛查的主要方向。N-乙酰转移酶(N-acetyl-transferase, NAT2)和细胞色素P450酶(如CYP2E1)基因多态性的研究较多。研究显示,NAT2多态性(慢乙酰化状态)与ATDH易感性间有密切的相关性<sup>[10]</sup>。对于NAT2慢乙酰化型患者,异烟肼可经由另一条通路,即CYP2E1通路进行代谢,产生毒性代谢产物,引起ATDH<sup>[11]</sup>,但另一项研究并未发现NAT2慢乙酰化状态与ATDH易感性之间的相关关系<sup>[12]</sup>。CYP2E1多态性,即c1/c1基因型与ATDH易感性之间是否相关,也存在争论<sup>[10]</sup>。由于谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)在清除氧自由基和细胞保护方面的重要作用,对GST两种亚型GSTT1和GSTM1多态性的研究曾一度成为关注的焦点。文献显示,GSTM1 \*0/\*0 (null)或GSTT1 null基因型的患者易发生ATDH<sup>[13,14]</sup>,但最近的一项研究指出,GSTM1 \*0/\*0或GSTT1 \*0/\*0或两个等位基因同时缺失的患者,其ATDH的发生率也无明显增加<sup>[15]</sup>。因此,目前仍缺少预测ATDH易感者的检测指标。

已知,在细胞功能与代谢酶基因的调控中,microRNA(miRNA)分子起了关键作用<sup>[16,17]</sup>。因此,在本项目中,我们对服用抗结核药物后发生肝损伤和未发生肝损伤的肺结核患者化疗前血浆进行了miRNA高通量微阵列分析。芯片检测结果并未筛查出两者间存在差异性表达升高/降低的miRNA。我们对实验结果进行了认真仔细的分析和讨论,认为芯片得出阴性结果可能与病例数过少(各3例患者),难以获得有统计学价值的的数据有关。我们进一步对实验结果进行了比对,对其中存在上调/下调趋势的25个miRNA分子在较大的样本中(各20例患者)采用高通量实时荧光定量PCR进行分析验证。我们发现,肝损伤与无肝损伤患者之间有7个miRNA分子存在差异性表达。其中,miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p在ATDH患者表达上调,miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p在ATDH患者表达下调。

对在ATDH患者化疗前表达上调的miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p进行靶基因预测和GO生物学功能分析显示,



表 2 部分miRNA靶基因及其GO生物学功能

序号	miRNA	积分	靶基因	基因全称	GO生物学功能
1	hsa-miR-4800-5p	100	<i>ITGB1BP1</i>	integrin beta 1 binding protein 1	整合素结合蛋白, 细胞黏附功能
2	hsa-miR-4284	99	<i>GNG13</i>	guanine nucleotide binding protein (G protein), gamma 13	水解酶; G蛋白耦联受体蛋白
3	hsa-miR-4284	98	<i>VPS53</i>	vacuolar protein sorting 53 homolog (S. cerevisiae)	线粒体内膜蛋白, 参与脂质代谢过程
4	hsa-miR-4284	98	<i>MAVS</i>	mitochondrial antiviral signaling protein	线粒体信号蛋白
5	hsa-miR-4284	97	<i>ORAI2</i>	ORAI calcium release-activated calcium modulator 2	钙释放激活钙调素
6	hsa-miR-652-5p	94	<i>SEC14L1</i>	SEC14-like 1 (S. cerevisiae)	胆固醇代谢转运/携带蛋白
7	hsa-miR-4284	93	<i>SPN</i>	sialophorin	炎细胞表面糖蛋白, 负调控免疫应答
8	hsa-miR-4284	91	<i>LOC100653346</i>	uncharacterized LOC100653346	功能不清
9	hsa-miR-4284	91	<i>TMEM120B</i>	transmembrane protein 120B	物质代谢过程
10	hsa-miR-4284	90	<i>CYP20A1</i>	cytochrome P450, family 20, subfamily A, polypeptide 1	氧化酶
11	hsa-miR-4284	89	<i>OPA3</i>	optic atrophy 3 (autosomal recessive, with chorea and spastic paraplegia)	线粒体外膜蛋白
12	hsa-miR-4284	89	<i>CDK17</i>	cyclin-dependent kinase 17	非受体丝/苏氨酸蛋白激酶
13	hsa-miR-4284	89	<i>RAB3B</i>	RAB3B, member RAS oncogene family	小分子GTP结合蛋白, RAB家族成员
14	hsa-miR-652-5p	88	<i>SLC25A24</i>	solute carrier family 25 (mitochondrial carrier; phosphate carrier), member 24	线粒体携带因子
15	hsa-miR-4284	88	<i>PLA2R1</i>	phospholipase A2 receptor 1, 180 kDa	磷脂酶A2受体
16	hsa-miR-3620	88	<i>USP46</i>	ubiquitin specific peptidase 46	丝氨酸蛋白酶; 泛素-蛋白质连接酶
17	hsa-miR-3620	87	<i>PUM1</i>	pumilio homolog 1 (Drosophila)	翻译因子
18	hsa-miR-4800-5p	87	<i>DTL</i>	denticless homolog (Drosophila)	核基质相关蛋白
19	hsa-miR-4284	86	<i>ZNF292</i>	zinc finger protein 292	核酸酶; 转录因子
20	hsa-miR-4284	86	<i>PLIN5</i>	perilipin 5	脂质转运/携带蛋白
21	hsa-miR-4284	86	<i>ENAH</i>	Enabled homolog (Drosophila)	细胞骨架结构成份
22	hsa-miR-4284	85	<i>RAB3IP</i>	RAB3A interacting protein (rab3)	鸟苷酸交换因子; 信号转导
23	hsa-miR-3620	85	<i>ACPP</i>	acid phosphatase, prostate	磷酸酶
24	hsa-miR-652-5p	83	<i>TLR7</i>	toll-like receptor 7	Toll受体信号通路
25	hsa-miR-652-5p	83	<i>RRAS2</i>	related RAS viral (r-ras) oncogene homolog 2	小GTP酶
26	hsa-miR-3620	83	<i>GPBP1L1</i>	GC-rich promoter binding protein 1-like 1	功能不清
27	hsa-miR-4284	82	<i>RLIM</i>	ring finger protein, LIM domain interacting	E3泛素蛋白连接酶, 可调控细胞迁移
28	hsa-miR-3620	82	<i>INSIG2</i>	insulin induced gene 2	胆固醇代谢过程
29	hsa-miR-4284	82	<i>ZFR2</i>	zinc finger RNA binding protein 2	RNA结合蛋白
30	hsa-miR-652-5p	81	<i>UTS2D</i>	urotensin 2 domain containing	功能不清
31	hsa-miR-652-5p	81	<i>PRKCA</i>	protein kinase C, alpha	非受体丝/苏氨酸蛋白激酶
32	hsa-miR-3620	81	<i>TSPAN9</i>	tetraspanin 9	膜结合信号分子; 受体; 细胞黏附分子
33	hsa-miR-4284	80	<i>AAK1</i>	AP2 associated kinase 1	非受体丝/苏氨酸蛋白激酶

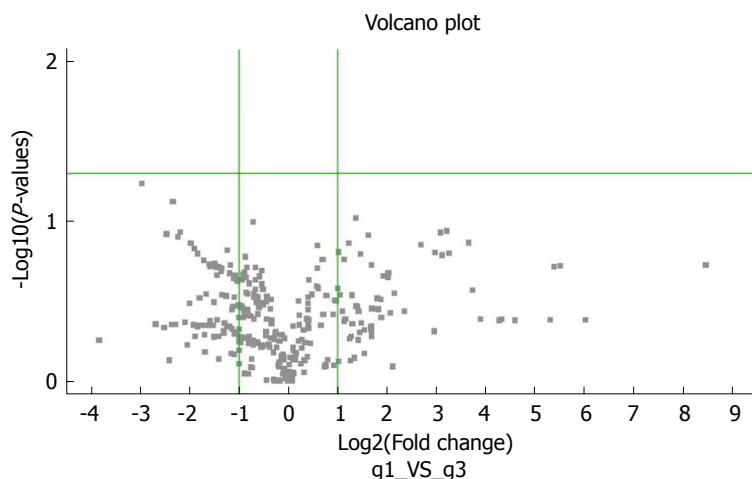


图1 ATDH与非ATDH患者化疗前血浆miRNA差异性表达火山图。两者之间未发现差异性表达的miRNA分子。横轴表示两者间miRNA表达水平的差异倍数,纵轴代表两样品间比较后的P值。左上及右上象限为 $P < 0.05$ 且表达水平差异倍数 $\log_2$ 值绝对值 $> 1$ 的差异性表达的miRNA。

4种miRNA分子主要调控的蛋白质有以下几类: (1)脂质/胆固醇转运和物质代谢相关蛋白质: EC14L1、TMEM120B、PLIN5、INSIG2。其中PLIN5是细胞内脂滴包被蛋白,可运载脂滴至线粒体内完成脂肪酸氧化<sup>[18]</sup>; INSIG2是内质网蛋白,参与脂肪酸调控和胆固醇合成<sup>[19]</sup>; (2)线粒体功能相关蛋白: VPS53、MAVS、OPA3、SLC25A24。其中,MAVS是产生抗病毒信号的重要接头分子,参与固有免疫反应,可诱导I型干扰素生成<sup>[20]</sup>; OPA3是线粒体外膜蛋白,其变异蛋白(G93S)高表达可诱导线粒体碎裂<sup>[21]</sup>; SLC25A24是着床于线粒体内膜的运载蛋白,在新陈代谢中发挥着重要作用<sup>[22]</sup>; (3)各种酶类: GNG13、CYP20A1、USP46、ZNF292、ACPP、RRAS2、RLIM、PRKCA、AAK1。其中,CYP20A1是细胞色素P450超家族,为单氧化物酶,主要催化药物代谢、胆固醇、类固醇和脂质等的合成反应<sup>[23]</sup>; USP46属于丝氨酸蛋白酶家族,主要起去泛素化酶的作用<sup>[24]</sup>; RRAS2是Ras样小GTP酶的R-Ras超家族的成员,主要结合于浆膜起信号转导的作用。已证实其在激活调控细胞增殖的信号转导通路中起关键作用<sup>[25,26]</sup>; PPKCA是蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)家族的一员,已证实其在许多不同细胞效应过程,包括细胞黏附、细胞转化、细胞周期检查点和细胞体积调控等中起重要作用<sup>[27]</sup>; (4)细胞表面糖蛋白和黏附分子: ITGB1B1、SPN、TSPAN9。其中,ITGB1B1可特异性地结合于 $\beta$ tal-整合素的胞浆结构域,对 $\beta$ tal-整合素的亲合作用起负调控作用,从而在细胞黏附中起关键作用<sup>[28]</sup>; SPN又称CD43,是淋

巴细胞、单核细胞、胸腺细胞和粒细胞表面的涎酸糖蛋白,在获得性免疫应答过程中起负调控作用<sup>[29,30]</sup>; (5)细胞表面受体: PLA2R1、TLR7。其中,TLR7是Toll样受体家族的成员,该家族在病原体识别和固有免疫激活方面有重要作用,能识别病原体相关分子模式(pathogen-associated molecular patterns, PAMPs),介导细胞因子产生。TLR7可被I型干扰素诱导表达,调控炎症反应和促进免疫反应<sup>[31]</sup>; (6)细胞骨架成分: ENAH。总之,这些靶蛋白在脂质/胆固醇代谢和转运、线粒体能量供给、细胞形态维持、信号转导以及炎性细胞黏附和免疫应答调控等方面有重要影响。上述4种miRNA分子对这些靶蛋白的调控作用,有可能促进了肺结核患者对ATDH的易感性。因此,通过检测血浆miR-4284、miR-3620、miR-652-5p和miR-4800-5p(特别是miR-4284)可能对拟联合化疗的肺结核患者肝毒性的产生进行预测。对上述4种或其中一种miRNA分子(特别是miR-4284)表达升高者,需调整化疗药物剂量或改变化疗方案,以减少或避免ATDH的发生。

另外,在ATDH患者表达下调的miR-338-3p、miR-424-5p和miR-194-5p有可能是一些肝保护性因子。其表达的下调,可能进一步增强了肺结核患者对ATDH的易感性。将来,通过补充这些下调的miRNA分子,可望预防ATDH的发生,甚至可能作为一种治疗手段,促进ATDH患者损伤肝组织的修复。

#### 4 参考文献

- 1 World Health Organization. Global tuberculo-

- sis control: World Health Organization Report 2011. *ANZJPH* 2012; 36: 497-498 [DOI: 10.1111/j.1753-6405.2012.00928.x]
- 2 Senousy BE, Belal SI, Draganov PV. Hepatotoxic effects of therapies for tuberculosis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 543-556 [PMID: 20808293 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.134]
- 3 Wang PY, Xie SY, Hao Q, Zhang C, Jiang BF. NAT2 polymorphisms and susceptibility to anti-tuberculosis drug-induced liver injury: a meta-analysis. *Int J Tuberc Lung Dis* 2012; 16: 589-595 [PMID: 22409928 DOI: 10.5588/ijtld.11.0377]
- 4 Tost JR, Vidal R, Cayla J, Díaz-Cabanela D, Jiménez A, Broquetas JM. Severe hepatotoxicity due to anti-tuberculosis drugs in Spain. *Int J Tuberc Lung Dis* 2005; 9: 534-540 [PMID: 15875925]
- 5 Hein DW. Molecular genetics and function of NAT1 and NAT2: role in aromatic amine metabolism and carcinogenesis. *Mutat Res* 2002; 506-507: 65-77 [PMID: 12351146]
- 6 Sunahara S. Genetical and geographic studies on isoniazid inactivation. *Science* 1961; 134: 1530-1531 [PMID: 13918409]
- 7 Li C, Long J, Hu X, Zhou Y. GSTM1 and GSTT1 genetic polymorphisms and risk of anti-tuberculosis drug-induced hepatotoxicity: an updated meta-analysis. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2013; 32: 859-868 [PMID: 23377313 DOI: 10.1007/s10096-013-1831-y]
- 8 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南. *中华结核和呼吸杂志* 2001; 24: 70-74
- 9 Bénichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J Hepatol* 1990; 11: 272-276 [PMID: 2254635]
- 10 Cho HJ, Koh WJ, Ryu YJ, Ki CS, Nam MH, Kim JW, Lee SY. Genetic polymorphisms of NAT2 and CYP2E1 associated with antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in Korean patients with pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis (Edinb)* 2007; 87: 551-556 [PMID: 17950035]
- 11 Huang YS, Chern HD, Su WJ, Wu JC, Chang SC, Chiang CH, Chang FY, Lee SD. Cytochrome P450 2E1 genotype and the susceptibility to antituberculosis drug-induced hepatitis. *Hepatology* 2003; 37: 924-930 [PMID: 12668988]
- 12 Vuilleumier N, Rossier MF, Chiappe A, Degoumois F, Dayer P, Mermillod B, Nicod L, Desmeules J, Hochstrasser D. CYP2E1 genotype and isoniazid-induced hepatotoxicity in patients treated for latent tuberculosis. *Eur J Clin Pharmacol* 2006; 62: 423-429 [PMID: 16770646]
- 13 Huang YS, Su WJ, Huang YH, Chen CY, Chang FY, Lin HC, Lee SD. Genetic polymorphisms of manganese superoxide dismutase, NAD(P)H: quinone oxidoreductase, glutathione S-transferase M1 and T1, and the susceptibility to drug-induced liver injury. *J Hepatol* 2007; 47: 128-134 [PMID: 17400324]
- 14 Leiro V, Fernández-Villar A, Valverde D, Constenla L, Vázquez R, Piñeiro L, González-Quintela A. Influence of glutathione S-transferase M1 and T1 homozygous null mutations on the risk of antituberculosis drug-induced hepatotoxicity in a Caucasian population. *Liver Int* 2008; 28: 835-839 [PMID: 18397238 DOI: 10.1111/j.1478-3231]
- 15 Chatterjee S, Lyle N, Mandal A, Kundu S. GSTT1 and GSTM1 gene deletions are not associated with hepatotoxicity caused by antitubercular drugs. *J Clin Pharm Ther* 2010; 35: 465-470 [PMID: 20853551]
- 16 Whittaker R, Loy PA, Sisman E, Suyama E, Aza-Blanc P, Ingermanson RS, Price JH, McDonough PM. Identification of MicroRNAs that control lipid droplet formation and growth in hepatocytes via high-content screening. *J Biomol Screen* 2010; 15: 798-805 [PMID: 20639500 DOI: 10.1177/1087057110374991]
- 17 Chen X, Murad M, Cui YY, Yao LJ, Venugopal SK, Dawson K, Wu J. miRNA regulation of liver growth after 50% partial hepatectomy and small size grafts in rats. *Transplantation* 2011; 91: 293-299 [PMID: 21183868 DOI: 10.1097/TP.0b013e318204756c]
- 18 Bosma M, Minnaard R, Sparks LM, Schaart G, Losen M, de Baets MH, Duimel H, Kersten S, Bickel PE, Schrauwen P, Hesselink MK. The lipid droplet coat protein perilipin 5 also localizes to muscle mitochondria. *Histochem Cell Biol* 2012; 137: 205-216 [PMID: 22127648 DOI: 10.1007/s00418-011-0888-x]
- 19 Hubáček JA, Suchánek P, Lánská V, Piřha J, Adámková V. INSIG2 G-102A promoter variant exhibits context-dependent effect on HDL-cholesterol levels but not on BMI in Caucasians. *Folia Biol (Praha)* 2011; 57: 170-172 [PMID: 21978759]
- 20 Xing F, Matsumiya T, Onomoto K, Hayakari R, Imaizumi T, Yoshida H, Yoneyama M, Fujita T, Satoh K. Foreign RNA induces the degradation of mitochondrial antiviral signaling protein (MAVS): the role of intracellular antiviral factors. *PLoS One* 2012; 7: e45136 [PMID: 23028806 DOI: 10.1371/journal.pone.0045136]
- 21 Ryu SW, Jeong HJ, Choi M, Karbowski M, Choi C. Optic atrophy 3 as a protein of the mitochondrial outer membrane induces mitochondrial fragmentation. *Cell Mol Life Sci* 2010; 67: 2839-2850 [PMID: 20372962 DOI: 10.1007/s00018-010-0365-z]
- 22 Palmieri F. The mitochondrial transporter family SLC25: identification, properties and physiopathology. *Mol Aspects Med* 2013; 34: 465-484 [PMID: 23266187 DOI: 10.1016/j.mam.2012.05.005]
- 23 Werck-Reichhart D, Feyereisen R. Cytochromes P450: a success story. *Genome Biol* 2000; 1: REVIEWS3003 [PMID: 11178272]
- 24 Cohn MA, Kee Y, Haas W, Gygi SP, D'Andrea AD. UAF1 is a subunit of multiple deubiquitinating enzyme complexes. *J Biol Chem* 2009; 284: 5343-5351 [PMID: 19075014 DOI: 10.1074/jbc.M808430200]
- 25 Delgado P, Cubelos B, Calleja E, Martínez-Martín N, Ciprés A, Mérida I, Bellas C, Bustelo XR, Alarcón B. Essential function for the GTPase TC21 in homeostatic antigen receptor signaling. *Nat Immunol* 2009; 10: 880-888 [PMID: 19561613 DOI: 10.1038/ni.1749]
- 26 Rong R, He Q, Liu Y, Sheikh MS, Huang Y. TC21 mediates transformation and cell survival via activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and NF-kappaB signaling pathway. *Oncogene* 2002; 21: 1062-1070 [PMID: 11850823]
- 27 Kang JH, Mori T, Kitazaki H, Niidome T, Takayama K, Nakanishi Y, Katayama Y. Kinase activity of protein kinase cα in serum as a diagnostic biomarker of human lung cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 485-488 [PMID: 23393340]
- 28 Bouvard D, Vignoud L, Dupé-Manet S, Abed N, Fournier HN, Vincent-Monegat C, Retta SF, Fassler R, Block MR. Disruption of focal adhesions by integrin cytoplasmic domain-associated protein-1 alpha. *J Biol Chem* 2003; 278: 6567-6574 [PMID: 12473654]



- 29 Miki Y, Oguri E, Hirano K, Beppu M. Macrophage recognition of cells with elevated calcium is mediated by carbohydrate chains of CD43. *Cell Struct Funct* 2013; 38: 43-54 [PMID: 23400223]
- 30 Oguri E, Miki Y, Hirano K, Yamanaka M, Beppu M. Clearance of CD43-capped cells by macrophages: capping alone leads to phagocytosis. *Biol Pharm Bull* 2012; 35: 551-558 [PMID: 22466560]
- 31 Khoo JJ, Forster S, Mansell A. Toll-like receptors as interferon-regulated genes and their role in disease. *J Interferon Cytokine Res* 2011; 31: 13-25 [PMID: 21198355 DOI: 10.1089/jir.2010.0095]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 鱼油脂肪乳减轻全胃肠外营养引起的肝损害

马麟, 姜晶, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源

马麟, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源, 吉林大学白求恩第一医院胃肠结直肠外科 吉林省长春市 130021

姜晶, 吉林大学白求恩第一医院临床流行病学研究中心 吉林省长春市 130021

马麟, 在读硕士研究生, 主要从事胃肠结直肠肛门外科的研究。

作者贡献分布: 此课题由曹雪源设计; 临床操作由马麟、刘入铭、王权、所剑及曹雪源完成; 资料收集和统计学分析由马麟与姜晶完成; 论文由马麟完成; 曹雪源指导。

通讯作者: 曹雪源, 副教授, 130021, 吉林省长春市朝阳区新民大街71号, 吉林大学第一医院胃肠结直肠外科。

caoxy@aliyun.com

电话: 0431-81875604

收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2013-11-28

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Preventive effects of omega-3 fish oil emulsions on parenteral nutrition-associated liver disease

Lin Ma, Jing Jiang, Ru-Ming Liu, Quan Wang, Jian Suo, Xue-Yuan Cao

Lin Ma, Ru-Ming Liu, Quan Wang, Jian Suo, Xue-Yuan Cao, Department of Gastric and Colorectal Surgery, the First Bethune Hospital, Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Jing Jiang, Clinical Epidemiological Research Center, the First Bethune Hospital, Jilin University, Changchun 130021, Jilin Province, China

Correspondence to: Xue-Yuan Cao, Associate Professor, Department of Gastric and Colorectal surgery, the First Bethune Hospital, Jilin University, 71 Xinmin Street, Chaoyang District, Changchun 130021, China. caoxy@aliyun.com

Received: 2013-11-07 Revised: 2013-11-28

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To determine the efficacy of omega-3 fish oil-based intravenous lipid emulsion in the prevention of parenteral nutrition (PN)-associated liver disease (PNALD).

**METHODS:** Seventy-six patients who required long-term PN treatment were randomly divided into a control group (soybean-based lipid emulsion group,  $n = 37$ ) and a study group (omega-3 fish oil-based emulsion group,  $n = 39$ ). Omega-3 fish oil emulsions were given at 100 mL/d to the study group. The levels of serum albumin, liver function parameters and bilirubin were compared between the two groups.

**RESULTS:** After 30 d of PN treatment, the morbidity rate of parenteral nutrition-associated liver disease (PNALD) was significantly improved in the study group, compared to the control group (2.6% vs 21.6%,  $\chi^2 = 6.60$ ,  $P = 0.01$ ). The levels of serum total bilirubin ( $14.6 \mu\text{mol/L} \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$  vs  $41.8 \mu\text{mol/L} \pm 29.7 \mu\text{mol/L}$ ,  $t = 5.56$ ,  $P < 0.001$ ) and direct bilirubin ( $5.9 \mu\text{mol/L} \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$  vs  $27.8 \mu\text{mol/L} \pm 27.6 \mu\text{mol/L}$ ,  $t = 4.01$ ,  $P < 0.001$ ), and aminotransferase ( $P < 0.001$ ) had a significant decrease in the study group compared with the control group.

**CONCLUSION:** Omega-3 fish oil emulsions may be effective in the prevention of PNALD in adults.

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

**Key Words:** Fish oil fatty emulsion; Parenteral nutrition; Parenteral nutrition-associated liver disease; Omega-3 poly-unsaturated fatty acid

Ma L, Jiang J, Liu RM, Wang Q, Suo J, Cao XY. Preventive effects of omega-3 fish oil emulsions on parenteral nutrition-associated liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 423-428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/423.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.423>

## 摘要

**目的:** 研究 $\omega$ -3鱼油脂肪乳对全胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)引起的肝损害(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD)的预防和保护作用。

**方法:** 将76例需要长期全胃肠外营养的胃肠外科住院患者随机分为对照组(普通脂肪乳组,  $n = 37$ )和研究组(鱼油脂肪乳组,  $n = 39$ ), 两组均根据等氮等热量原则给予PN治疗 [ $104.6-125.5 \text{ kJ}(25-30 \text{ kcal})/(\text{kg}\cdot\text{d})$ ], 鱼油脂肪乳组联合应用 $\omega$ -3鱼油脂肪乳100 mL/d。于PN后30 d比较两组患者PNALD发生率, 平均血清总胆红素, 直接胆红素和转氨酶, 碱性磷酸酶和白蛋白水平。

## ■背景资料

全胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)的临床实施, 对提高胃肠道功能障碍患者的治愈率, 手术成功率起到了积极作用, 长时间使用的PN可能致肝功能障碍, 随着PN应用时间的延长, PN相关肝病(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD)的发生率相应增高,  $\omega$ -3脂肪酸具有减轻炎症反应和调节免疫功能的作用, 近年研究发现, 含 $\omega$ -3脂肪酸的鱼油脂肪乳可改善肝脏功能。本研究观察 $\omega$ -3鱼油脂肪乳对PNALD的预防作用。

## ■同行评议者

郭长江, 研究员, 军事医学科学院卫生学环境医学研究所营养研究室

## ■ 研发前沿

PNALD患者及早由PN恢复肠道喂养是有效的治疗措施, PN中加入 $\omega$ -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD. 目前PNALD的晚期治疗仍为比较棘手问题, 移植是目前解决的唯一途径.

**结果:** PN治疗30 d后, 鱼油脂肪乳组患者和普通脂肪乳组相比, PNALD发生率明显减低(2.6% vs 21.6%,  $\chi^2 = 6.60$ ,  $P = 0.01$ ). 血清总红素( $14.6 \mu\text{mol/L} \pm 7.4 \mu\text{mol/L}$  vs  $41.8 \mu\text{mol/L} \pm 29.7 \mu\text{mol/L}$ ,  $t = 5.56$ ,  $P < 0.001$ ), 直接胆红素( $5.9 \mu\text{mol/L} \pm 2.8 \mu\text{mol/L}$  vs  $27.8 \mu\text{mol/L} \pm 27.6 \mu\text{mol/L}$ ,  $t = 4.01$ ,  $P < 0.001$ ), 门冬氨酸氨基转移酶, 丙氨酸氨基转移酶, 碱性磷酸酶,  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶等均有显著性差异( $P \leq 0.001$ ).

**结论:**  $\omega$ -3鱼油脂肪乳能调节长期PN成人患者的肝脏功能, 降低PNALD的发生率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 鱼油脂肪乳; 全胃肠外营养; PN相关肝病;  $\omega$ -多不饱和脂肪酸

**核心提示:** 本文通过随机分组将患者分为鱼油脂肪乳组与普通脂肪乳组, 监测治疗后肝功能比较及全胃肠外营养(parenteral nutrition)相关肝病(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD)发生率, 用以证明 $\omega$ -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD, 为临床预防及治疗PNALD提供方法.

马麟, 姜晶, 刘入铭, 王权, 所剑, 曹雪源. 鱼油脂肪乳减轻全胃肠外营养引起的肝损害. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 423-428 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/423.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.423>

## 0 引言

全胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)的临床实施, 对提高胃肠道功能障碍患者, 如短肠综合征、消化系瘘、肠梗阻、炎性肠道疾病等疾病的治愈率, 提高患者的手术成功率起到了积极作用<sup>[1]</sup>. 然而, 长时间使用的PN可能致肝功能障碍, 一般称为PN相关肝病(parenteral nutrition-associated liver disease, PNALD). PNALD患者在进展至严重纤维化及肝硬化前, 及早由PN恢复肠道喂养是有效的治疗措施, 对于大多数无法摆脱TPN的短肠综合征患者而言, 严格的导管护理, 利用剩余可用小肠尽量给予肠道喂养, 肠内营养时添加膳食纤维, 控制PN中脂质用量可预防及治疗PNALD<sup>[2]</sup>. 张燕舞等<sup>[3]</sup>于2006年最初报道鱼油治疗严重PNALD的成功经验, 胥子玮等<sup>[1]</sup>证明运用鱼油 $0.15-0.2 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ 添加至PN中给予治疗1 mo后肝功能及病理观察表明80%患者直接胆红素水平恢复正常, 肝脏组织学上

同样观察到这种改善. 对于终末期PNALD移植是唯一有效治疗途径. 随着PN应用时间的延长, PNALD的发生率相应增高. 肝功能损害对原发病产生不良影响, 严重者危及生命. 预防PNALD有利于提高PN治疗的安全性.  $\omega$ -3脂肪酸具有减轻炎症反应和调节免疫功能的作用, 近年研究发现, 含 $\omega$ -3脂肪酸的鱼油脂肪乳可改善肝脏功能<sup>[4,5]</sup>. 本研究采用随机对照方法, 对PN患者分别应用普通脂肪乳和加用鱼油脂肪乳, 观察 $\omega$ -3鱼油脂肪乳对PNALD的预防作用, 现报告如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 从2009-2011年吉林大学白求恩第一医院胃肠外科住院病例中选取入组病例. 入组标准: (1)因胃肠外科原发病和/或接受胃肠手术; (2)不宜或无法进行肠内营养; (3)预计PN时间超过30 d以上; (4)既往无肝脏病史, PN前检查肝功能正常. 符合入组条件的患者治疗前均给予详细治疗说明并且征得患者及家属知情同意. 研究共纳入病例80例, 其中4例中途退出. 共有76例患者收集到完整数据. 平均年龄 $49.6 \pm 19.1$ 岁, 其中男性45例, 女性31例, A组39例, B组37例. 其中肠痿18例, 短肠综合征11例, 肠梗阻19例, 溃疡性结肠炎3例, 克罗恩病10例、胃癌根治术后7例, 结直肠癌术后8例. 各组患者一般情况如表1. 各组一般情况和肝功能检查差异无统计学意义( $P \geq 0.2$ ). 本研究遵守吉林大学第一医院伦理委员会的相关规定, PN治疗中密切观察患者的全身及腹部情况, 诊断PNALD后, 即进行保肝等相应治疗.

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 由临床流行病学中心人员依据计算机随机分为两组, 即鱼油脂肪乳组和普通脂肪乳组, 两组各40例, 其中4例中途退出, 鱼油脂肪乳组39例, 普通脂肪乳组37例.

**1.2.2 PN营养治疗:** 患者于入组后开始接受PN治疗, 至少连续营养治疗30 d以上. 两组患者给予热量 $[104.6-125.5 \text{ kJ}(25-30 \text{ kcal})/(\text{kg}\cdot\text{d})]$ , 氮量 $0.20 \text{ g}/(\text{kg}\cdot\text{d})$ , 经中心静脉输注. 研究组患者根据等氮等热量原则, 给予补充 $\omega$ -3鱼油脂肪乳注射液(尤文®/Omegaven®)100 mL/d, 连续30 d以上. 入组患者于PN期间均未给予肠内营养. PN治疗采用双盲法: 每日输注肠外营养液均由配液中心配制, 大豆脂肪乳和鱼油脂肪乳均标记为“脂肪乳”. PN实施人员和评价人员在揭盲前均不了解患者分组情况. 各组常规治疗方法, 包括: 禁食、纠



表 1 两组患者一般情况比较

项目	鱼油脂肪乳组	普通脂肪乳组	统计值	P值
<i>n</i>	39	37		
年龄(岁)	48.9 ± 18.5	50.2 ± 19.9	0.30	0.76
性别			0.18	0.67
男	24(61.5%)	21(56.8%)		
女	15(38.5%)	16(43.2%)		
既往疾病			2.11	0.91
肠痿	10	8		
短肠综合征	6	5		
肠梗阻	8	11		
溃疡性结肠炎	2	1		
克罗恩病	6	4		
胃癌根治术	4	3		
直肠癌根治术	3	5		
PN治疗前肝功能				
门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	16.1 ± 8.8	18.7 ± 9.3	1.26	0.21
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	16.9 ± 10.3	18.4 ± 8.2	0.73	0.47
碱性磷酸酶(U/L)	35.4 ± 18.2	34.5 ± 21.6	0.18	0.86
γ-谷氨酰转移酶(U/L)	26.3 ± 14.3	25.3 ± 12.3	0.33	0.74
总胆红素(μmol/L)	14.0 ± 5.0	15.0 ± 5.5	0.88	0.38
间接胆红素(μmol/L)	9.5 ± 4.5	10.1 ± 5.6	0.51	0.61
直接胆红素(μmol/L)	4.5 ± 3.1	5.0 ± 2.1	0.76	0.45
血清白蛋白(g/L)	32.3 ± 5.9	31.3 ± 6.9	0.69	0.49

## ■ 相关报道

Gura等于2006年最初报道鱼油治疗严重PNALD的成功经验, 胥子玮等证明运用鱼油0.15-0.2 g/(kg·d)添加至PN中给予治疗1 wk后肝功能及病理观察表明80%患者直接胆红素水平恢复正常, 肝脏组织学上同样观察到这种改善。

正水电解质和酸碱失衡。有明显低蛋白血症的患者应用白蛋白或血浆支持治疗, 必要时补充各种微量营养素, 根据原发病, 必要时应用抗菌素。同时积极治疗原发病, 如消化功能恢复, 应用肠内营养后逐渐停用PN治疗。

**1.2.3 观测指标和PNALD诊断标准:** 于PN开始时和PN后第30天分别抽取患者静脉血, 分别检测: (1)血清总胆红素(total bilirubin, TBIL), 直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)和间接胆红素(indirect bilirubin, IBIL)水平; (2)丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT), 天门冬氨酸氨基转移酶(aspartate transaminase, AST), 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)和γ-谷氨酰转移酶(γ-glutamyl transferase, γ-GT)改变; (3)血清白蛋白(albumin, ALB)含量; (4)各组患者PNALD的发生率。PNALD诊断标准: PN后血清ALT、AST、ALP、γ-GT 4个指标中任一指标大于等于正常值的1.5倍, 和/或DBIL ≥ 26 μmol/L。伴有或不伴有DBIL/TBIL ≥ 0.5; 排除其他明确导致肝功能损伤的因素即可诊断为PNALD<sup>[6]</sup>。肝功能正常值参照吉林大学第一医院检验科标准: AST(8.0-40 U/L)、ALT(8.0-50 U/L)、AKP(15-112 U/L)、γ-GT(5.0-54.0 U/L)、

TBIL(6.8-30.0 μmol/L)、DBIL(0.0-6.8 μmol/L)。

**统计学处理** 使用SPSS15.0进行数据处理和分析。各组间数据为正态分布时, 计量资料采用mean ± SD表示。计数资料数据采用t检验和χ<sup>2</sup>检验进行分析。P < 0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

两组患者共计76例, 平均PN时间47.3 d ± 17.8 d。PN后第30天时点PNALD发病率: 鱼油脂肪乳组1例, 普通脂肪乳组8例, 鱼油脂肪乳组明显降低(2.6% vs 21.6%, χ<sup>2</sup> = 6.60, P = 0.01)。鱼油脂肪乳组患者血清平均TBIL、DBIL、AST、ALT、ALP、γ-GT均明显低于对照组。血清ALB无显著性差异(P > 0.05, 表2)。

鱼油脂肪乳组PN前后比较胆红素和肝酶定量检测无显著性差异: 血清AST(18.7 U/L ± 9.3 U/L vs 15.3 U/L ± 9.3 U/L, P = 0.92), ALT(18.4 U/L ± 8.2 U/L vs 19.2 U/L ± 11.3 U/L, P = 0.40), ALP(34.5 U/L ± 21.6 U/L vs 33.6 U/L ± 16.3 U/L, P = 0.68), γ-GT(25.3 U/L ± 12.3 U/L vs 26.3 U/L ± 14.3 U/L, P = 0.70), TBIL(15.0 μmol/L ± 5.5 μmol/L vs 14.6 μmol/L ± 7.4 μmol/L, P = 0.40), IBIL(10.1 μmol/L ± 5.6 μmol/L vs 8.7 μmol/L

## ■创新盘点

本文通过随机分组将患者分为鱼油脂肪乳组与普通脂肪乳组,监测治疗后肝功能比较及PNALD发生率,有力证明了 $\omega$ -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD。

表 2 PN治疗后肝功能比较

	鱼油脂肪乳组	普通脂肪乳组	统计值	P值
<i>n</i>	39	37		
PN中位时间(d)	43.8 $\pm$ 17.7	46.7 $\pm$ 18.1	0.26	0.80
PNALD发生率 <i>n</i> (%)	1(2.6)	8(21.6)	6.60	0.01
PN后30 d肝功能				
门冬氨酸氨基转移酶(U/L)	16.1 $\pm$ 9.3	33.7 $\pm$ 19.3	5.11	<0.001
丙氨酸氨基转移酶(U/L)	19.2 $\pm$ 11.3	32.9 $\pm$ 15.5	4.42	<0.001
碱性磷酸酶(U/L)	33.6 $\pm$ 16.3	51.9 $\pm$ 26.5	3.63	0.001
$\gamma$ -谷氨酰转氨酶(U/L)	27.9 $\pm$ 12.3	41.7 $\pm$ 20.1	3.62	0.001
总胆红素( $\mu$ mol/L)	14.6 $\pm$ 7.4	41.8 $\pm$ 29.7	5.56	<0.001
间接胆红素( $\mu$ mol/L)	8.7 $\pm$ 4.1	18.7 $\pm$ 10.1	7.43	<0.001
直接胆红素( $\mu$ mol/L)	5.9 $\pm$ 2.8	27.8 $\pm$ 27.6	4.01	<0.001
血清白蛋白(g/L)	36.4 $\pm$ 5.4	35.3 $\pm$ 5.7	0.83	0.41

PN: 全胃肠外营养; PNALD: PN相关肝病。

$\pm$ 4.1  $\mu$ mol/L,  $P = 0.65$ ), DBIL(5.0  $\mu$ mol/L $\pm$ 2.1  $\mu$ mol/L vs 5.9  $\mu$ mol/L $\pm$ 2.8  $\mu$ mol/L,  $P = 0.28$ )无显著性差异; 血清ALB显著升高(31.3 g/L $\pm$  6.9 g/L vs 36.4 g/L $\pm$  5.4 g/L,  $P<0.01$ ).

普通脂肪乳组内PN前后比较, PN后胆红素和转氨酶等显著升高: AST(16.1 U/L $\pm$ 8.8 U/L vs 33.7 U/L $\pm$ 19.3 U/L,  $P<0.001$ ), ALT(16.9 U/L $\pm$ 10.3 U/L vs 32.9 U/L $\pm$ 15.5 U/L,  $P<0.001$ ), ALP(35.4 U/L $\pm$ 18.2 U/L vs 51.9 U/L $\pm$ 26.5 U/L,  $P = 0.003$ ),  $\gamma$ -GT(27.9 U/L $\pm$ 12.3 U/L vs 41.7 U/L $\pm$ 20.1 U/L,  $P<0.001$ ); TBIL(14.0  $\mu$ mol/L $\pm$ 5.0  $\mu$ mol/L vs 41.8  $\mu$ mol/L $\pm$ 29.7  $\mu$ mol/L,  $P<0.001$ ), IBIL(9.5  $\mu$ mol/L $\pm$ 4.5  $\mu$ mol/L vs 18.7  $\mu$ mol/L $\pm$ 10.1  $\mu$ mol/L,  $P<0.001$ ), DBIL(4.5  $\mu$ mol/L $\pm$ 3.1  $\mu$ mol/L vs 27.8  $\mu$ mol/L $\pm$ 27.6  $\mu$ mol/L,  $P<0.001$ ); 血清ALB(32.3 g/L $\pm$ 5.9 g/L vs 35.3 g/L $\pm$ 5.7 g/L,  $P<0.01$ )均显著升高。

不良反应: 研究组患者治疗期间未观察到与鱼油脂肪乳相关的不良反应, 如过敏反应、寒战、发热等。治疗患者未出现不良反应和导管相关并发症。

### 3 讨论

本实验通过76例患者随机分为鱼油脂肪乳组和普通脂肪乳组的对照, PN后第30天时点PNALD发病率: 鱼油脂肪乳组1例, 普通脂肪乳组8例, 鱼油脂肪乳组明显降低(2.6% vs 21.6%,  $\chi^2 = 6.60$ ,  $P = 0.01$ ). 鱼油脂肪乳组PN前后比较胆红素和肝酶定量检测无显著性差异, 普通脂肪乳组内PN前后比较, PN后胆红素和转氨酶等显著升高, 可见

$\omega$ -3鱼油脂肪乳能调节长期PN成人患者的肝功能, 降低PNALD的发生率, 具体如下。

3.1 PNALD的临床特点 PNALD的主要临床特点肝内胆汁淤积, 通常于PN应用后14 d以上出现, 周志韶等和Nanji等<sup>[7,8]</sup>报告胆汁淤积最早出现于PN应用后第12天。PNALD发病的确实机制尚不清楚, 可能和长期禁食引起淤胆、PN营养成分不平衡, 脂肪廓清能力下降以及肠道细菌移位有关。PNALD的程度与PN用量、使用时间和营养配方有关。胆汁淤积主要表现为血清转氨酶、碱性磷酸酶, 谷氨酰转氨酶和胆红素升高,  $\gamma$ -GT和ALP同时异常升高为诊断胆汁淤积的主要指标。Teitelbaum等<sup>[9]</sup>报道, 短肠综合征患儿长期应用PN, 有70%(16/23)的患儿血清DBIL>42.75  $\mu$ mol/L, 其中4例死于肝硬化。给予平衡的营养, 补充某些营养素(如胆碱、谷氨酰胺), 有利于防治PNALD。PNALD的发生受多种因素的影响, 徐应仁等<sup>[10]</sup>报道402例老年肿瘤患者术后场外营养支持时PNALD发生率为15.2%。本组患者PNALD发生率为21.6%, 可能与接受长期PN有关。同时在本研究中, PN后血清白蛋白均明显升高, 说明加用鱼油脂肪乳并不影响外源性氮的利用。

3.2 鱼油脂肪乳的作用机制 研究表明 $\omega$ -3多不饱和脂肪酸对于治疗儿童PNALD有良好的效果<sup>[11,12]</sup>。Heller等<sup>[13]</sup>报道: 腹部肿瘤患者术后补充 $\omega$ -3鱼油后, ALT、TBIL和脂肪酶等肝脏和胰腺功能指标明显改善, 加速了术后快速康复。最近的研究显示: 长期补充肠外鱼油降低胆固醇和甘油三酯水平。传统的大豆脂肪乳含有大量的

植物甾醇, 并长期使用常规的脂肪乳导致细胞膜中的植物甾醇含量增高, 通过胆汁酸输出蛋白(bile salt export protein, Bsep)表达, 从而影响胆汁排出<sup>[14]</sup>. 与之相反, 鱼油不包含任何植物甾醇, 鱼油中的成分EPA还可以加强对Bsep的诱导, 利于胆汁排出<sup>[15]</sup>.

蒋朱明等报道在一项随机对照研究中, 206例胃肠道肿瘤患者术后分别接受单一豆油脂肪乳剂和豆油+鱼油脂肪乳进行营养支持, 和单一豆油脂肪乳组比较, 鱼油脂肪乳组患者的感染并发症, 全身炎症反应综合征明显较少, 住院时间缩短. 从而得出结论: 鱼油乳剂全肠外营养能够减少炎症反应综合征和住院时间. 研究认为, 这些临床受益可能与鱼油调节细胞免疫功能和炎症反应相关<sup>[16]</sup>.

Xu等最近报道了鱼油治疗成人PNALD的研究结果: 15例成人短肠综合征的患者因长期PN出现胆汁淤积, 经过4 wk静脉输注 $\omega$ -3鱼油治疗, 15例中12例患者总胆红素和直接胆红素显著降低. 肝活检组织学和血清学检查均证明肠外补充 $\omega$ -3鱼油乳能够安全和有效治疗成人PNALD<sup>[17]</sup>.

本研究结果显示,  $\omega$ -3鱼油在胃肠外科患者长期PN中应用是有益的. 可维持肝的正常代谢, 有利于患者的术后康复.

总之,  $\omega$ -3鱼油脂肪乳剂作为一种免疫营养素, 还可改善长期PN成人患者肝脏生化指标, 具有较好的临床安全性和耐受性. 另外, PNALD损害表现为肝酶和胆红素升高、胆汁淤积、脂肪变性和肝硬化等诸多方面. 虽然鱼油补充可以减轻胆汁淤积, 但是并不能阻止肝纤维化和肝硬化的进展. 因此, 早期喂养、尽早实施肠内营养至关重要. PN所致肝损伤的确切机制和PNALD防治还需要更多的临床对照研究<sup>[18-21]</sup>.

#### 4 参考文献

- 1 胥子玮, 李幼生. 肠外营养相关肝损害的发病机制及治疗进展. 实用医院临床杂志 2011; 8: 41-43
- 2 Gura KM, Duggan CP, Collier SB, Jennings RW, Folkman J, Bistrrian BR, Puder M. Reversal of parenteral nutrition-associated liver disease in two infants with short bowel syndrome using parenteral fish oil: implications for future management. *Pediatrics* 2006; 118: e197-e201 [PMID: 16818533 DOI: 10.1542/peds.2005-2662]
- 3 张燕舞, 蒋朱明, 王杨, 朱明炜, 王艳. 短期 $\omega$ -3脂肪酸乳剂干预对手术后肠外营养患者临床结局影响的Meta分析. 中华临床营养杂志 2011; 19: 213-219
- 4 Puder M, Valim C, Meisel JA, Le HD, de Meijer VE, Robinson EM, Zhou J, Duggan C, Gura KM. Parenteral fish oil improves outcomes in patients with parenteral nutrition-associated liver injury. *Ann Surg* 2009; 250: 395-402 [PMID: 19661785 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181b36657]
- 5 Fallon EM, Le HD, Puder M. Prevention of parenteral nutrition-associated liver disease: role of omega-3 fish oil. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15: 334-340 [PMID: 20503524 DOI: 10.1097/MOT.0b013e3283394879]
- 6 Kumpf VJ. Parenteral nutrition-associated liver disease in adult and pediatric patients. *Nutr Clin Pract* 2006; 21: 279-290 [PMID: 16772545 DOI: 10.1177/015426506021003279]
- 7 周志韶, 舒志军, 黎介寿. 全肠外营养所致的肝脏损害—附5例报告. 诊断病理学杂志 1995; 2: 142-143
- 8 Nanji AA, Anderson FH. Sensitivity and specificity of liver function tests in the detection of parenteral nutrition-associated cholestasis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 1985; 9: 307-308 [PMID: 2861299 DOI: 10.1177/0148607185009003307]
- 9 Teitelbaum DH, Drongowski R, Spivak D. Rapid development of hyperbilirubinemia in infants with the short bowel syndrome as a correlate to mortality: possible indication for early small bowel transplantation. *Transplant Proc* 1996; 28: 2699-2700 [PMID: 8908015]
- 10 徐仁应, 万燕萍, 单成迪, 沈婉蓉, 陈之琦, 张晓敏, 陆丽萍. 脂肪乳剂对老年肿瘤患者肠外营养相关肝功能损伤影响的回顾分析. 中华临床营养杂志 2010; 18: 24-28
- 11 Rollins MD, Scaife ER, Jackson WD, Meyers RL, Mulroy CW, Book LS. Elimination of soybean lipid emulsion in parenteral nutrition and supplementation with enteral fish oil improve cholestasis in infants with short bowel syndrome. *Nutr Clin Pract* 2010; 25: 199-204 [PMID: 20413701 DOI: 10.1177/0884533610361477]
- 12 Le HD, de Meijer VE, Robinson EM, Zurakowski D, Potemkin AK, Arsenault DA, Fallon EM, Malkan A, Bistrrian BR, Gura KM, Puder M. Parenteral fish-oil-based lipid emulsion improves fatty acid profiles and lipids in parenteral nutrition-dependent children. *Am J Clin Nutr* 2011; 94: 749-758 [PMID: 21775562 DOI: 10.3945/ajcn.110.008557]
- 13 Heller AR, Rössel T, Gottschlich B, Tiesel O, Menschikowski M, Litz RJ, Zimmermann T, Koch T. Omega-3 fatty acids improve liver and pancreas function in postoperative cancer patients. *Int J Cancer* 2004; 111: 611-616 [PMID: 15239141 DOI: 10.1002/ijc.20291]
- 14 Ellegård L, Sunesson A, Bosaeus I. High serum phyto-sterol levels in short bowel patients on parenteral nutrition support. *Clin Nutr* 2005; 24: 415-420 [PMID: 15896428 DOI: 10.1016/j.clnu.2005.01.001]
- 15 Zhao A, Yu J, Lew JL, Huang L, Wright SD, Cui J. Polyunsaturated fatty acids are FXR ligands and differentially regulate expression of FXR targets. *DNA Cell Biol* 2004; 23: 519-526 [PMID: 15307955 DOI: 10.1089/1044549041562267]
- 16 Jiang ZM, Wilmore DW, Wang XR, Wei JM, Zhang ZT, Gu ZY, Wang S, Han SM, Jiang H, Yu K. Randomized clinical trial of intravenous soybean oil alone versus soybean oil plus fish oil emulsion after gastrointestinal cancer surgery. *Br J Surg* 2010; 97: 804-809 [PMID: 20473991 DOI: 10.1002/bjs.6999]
- 17 Xu Z, Li Y, Wang J, Wu B, Li J. Effect of omega-3 polyunsaturated fatty acids to reverse biopsy-proven parenteral nutrition-associated liver disease in

#### ■应用要点

通过本实验证明 $\omega$ -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD, 在临床中长时间使用PN患者加用 $\omega$ -3鱼油脂肪乳可有效预防及治疗PNALD.



## ■同行评价

本文的结果国外已有不少报道,国内也有一些相关的报道,对于促进脂肪乳剂的研究和应用、防治肠外营养中肝功能损伤具有一定意义,对于国内读者而言有发表意义。

- adults. *Clin Nutr* 2012; 31: 217-223 [PMID: 22035955 DOI: 10.1016/j.clnu.2011.10.001]
- 18 Jain AK, Stoll B, Burrin DG, Holst JJ, Moore DD. Enteral bile acid treatment improves parenteral nutrition-related liver disease and intestinal mucosal atrophy in neonatal pigs. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G218-G224 [PMID: 22094603 DOI: 10.1152/ajpgi.00280.2011]
- 19 de Meijer VE, Gura KM, Meisel JA, Le HD, Puder M. Parenteral fish oil monotherapy in the management of patients with parenteral nutrition-associated liver disease. *Arch Surg* 2010; 145: 547-551 [PMID: 20566974 DOI: 10.1001/archsurg.2010.80]
- 20 Wang Y, Tao YX, Cai W, Tang QY, Feng Y, Wu J. Protective effect of parenteral glutamine supplementation on hepatic function in very low birth weight infants. *Clin Nutr* 2010; 29: 307-311 [PMID: 20416995 DOI: 10.1016/j.clnu.2010.03.009]
- 21 Wei C, Hua J, Bin C, Klassen K. Impact of lipid emulsion containing fish oil on outcomes of surgical patients: systematic review of randomized controlled trials from Europe and Asia. *Nutrition* 2010; 26: 474-481 [PMID: 20116213 DOI: 10.1016/j.nut.2009.09.011]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效

王宏伟, 曹丽丽, 樊民强

王宏伟, 中国平煤神马集团一矿医院消化内科 河南省平顶山市 467000

曹丽丽, 中国人民解放军302医院青少年肝病诊疗与研究中心 北京市 100039

樊民强, 中国平煤神马集团八矿医院内科 河南省平顶山市 467001

王宏伟, 主治医师, 主要从事胃肠疾病与脂肪性肝病的研究。

作者贡献分布: 王宏伟与曹丽丽对本文所作贡献均等; 此课题由王宏伟、曹丽丽及樊民强共同设计; 数据收集与整理由王宏伟与曹丽丽完成; 统计分析由曹丽丽与王宏伟完成; 论文写作由王宏伟与樊民强完成。

通讯作者: 王宏伟, 主治医师, 467000, 河南省平顶山市卫东区一矿路东, 中国平煤神马集团一矿医院消化内科。

com0707@sina.com

电话: 0375-2721890

收稿日期: 2013-11-04 修回日期: 2013-11-27

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-01-28

## Effect of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in treatment of nonalcoholic steatohepatitis

Hong-Wei Wang, Li-Li Cao, Min-Qiang Fan

Hong-Wei Wang, Department of Gastroenterology, the First Mine Hospital of Chinese Pdingshan Shenma Group, Pdingshang 467000, Henan Province, China

Li-Li Cao, Treatment and Research Center of Children's Liver Disease, 302 Hospital of the PLA, Beijing 100039, China

Min-Qiang Fan, Department of Gastroenterology, the Eighth Mine Hospital of Chinese Pdingshan Shenma Group, Pdingshang 467001, Henan Province, China

Correspondence to: Hong-Wei Wang, Attending Physician, Department of Gastroenterology, the First Mine Hospital of Chinese Pdingshan Shenma Group, the First Mine Road East, Weidong District, Pdingshang 467000, Henan Province, China. com0707@sina.com

Received: 2013-11-04 Revised: 2013-11-27

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the efficacy and safety of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in the treatment of nonalcoholic steatohepatitis (NASH).

**METHODS:** A total of 124 patients with NASH were selected and divided randomly into two

groups: a treatment group and two control groups. The treatment group received polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules ( $n = 45$ ) for 12 wk, while the two control groups received fenofibrate capsules and inosine ( $n = 43$ ) and polyene phosphatidylcholine alone ( $n = 36$ ) for the same duration, respectively. The levels of serum transaminase, clinical symptoms, blood lipids and B-mode ultrasonic imaging findings before and after treatment were compared between groups.

**RESULTS:** The levels of serum transaminase, clinical symptoms, blood lipids and B-mode ultrasonic imaging findings improved obviously after treatment. The response rates were 86.7%, 53.5% and 88.9% in the treatment group and the two control groups, respectively. There were significant differences between the three groups in the improvement of clinical symptoms, liver function and blood lipids ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Treatment of NASH with fenofibrate capsules combined with polyene phosphatidylcholine is safe and effective.

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

**Key Words:** Nonalcoholic steatohepatitis; Phosphatidylcholines; Fenofibrate

Wang HW, Cao LL, Fan MQ. Effect of polyene phosphatidylcholine combined with fenofibrate capsules in treatment of nonalcoholic steatohepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 429-433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.429>

## 摘要

**目的:** 评价多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)的疗效及其安全性。

**方法:** 124例非酒精性脂肪肝患者随机分为治

## ■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种常见的健康问题,影响世界上35%的人口。非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)是由单纯性脂肪肝发展而来,容易发展成肝硬化。NASH的治疗多采用饮食、运动、药物和减肥手术等综合治疗,目前尚无公认明确有效的治疗方案,NASH是临床治疗重点和难点。

## ■同行评议者

方今女,教授,延边大学医学院预防医学教研部

## ■研究前沿

关于多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH的研究较少, 缺少相关试验资料, 本文主要评价多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH的疗效及其安全性。

疗组(45例)和对照1组(43例)、对照2组(36例), 治疗组应用多烯磷脂酰胆碱胶囊联合非诺贝特治疗12 wk, 对照1组口服非诺贝特和肌苷治疗12 wk, 对照2组口服多烯磷脂酰胆碱胶囊, 观察治疗前后3组患者症状及血脂、肝功能及肝脏超声影像变化。

**结果:** 治疗12 wk, 治疗组有效率为86.7%, 对照1组有效率为53.5%, 对照2组有效率为88.9%, 治疗组在改善患者临床症状、肝功能均优于对照1组, 差异均有统计学意义( $P<0.05$ ); 血脂方面治疗组优于对照2组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH是安全有效的。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 非酒精性脂肪性肝炎; 多烯磷脂酰胆碱; 非诺贝特

**核心提示:** 多烯磷脂酰胆碱对非酒精性脂肪肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)的疗效理想, 但降低血脂方面的效果不佳, 本文采用多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH具有一定疗效。

王宏伟, 曹丽丽, 樊民强. 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 429-433 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/429.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.429>

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)包括非酒精性单纯性脂肪肝、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic fatty hepatitis, NASH)及肝硬化和肝癌。NAFLD严重危害人类健康, 特别NASH易发展肝硬化, 10-20年内NASH进展为肝硬化的比例15%-25%。NASH的治疗多采用饮食、运动、药物和减肥手术等综合治疗, 国内外关于NASH治疗的研究众多, 由于研究标准、诊断的指标、研究的终点指标不统一, 得出的结论不尽相同, 目前尚无公认明确的单一治疗方案和药物<sup>[1,2]</sup>。本研究主要评价多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH的疗效及其安全性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2010-10/2011-12我院门诊及住院NASH患者124例, 均符合2010版中华医学会制定的非

酒精性脂肪性肝病诊断标准<sup>[1]</sup>。采用随机对照的方法, 将病例分为治疗组45例; 对照1组43例, 对照2组36例。3组资料经统计学处理差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性。所有患者均排除病毒性肝炎、药物性肝炎、自身免疫性肝炎以及酒精性脂肪肝(每周摄入乙醇量 $<40\text{ g}$ )等其他肝脏基础疾病。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 治疗组给予多烯磷脂酰胆碱(赛诺菲安万特北京制药有限公司)456 mg/次, 每日3次; 非诺贝特(法国利博福尼制药有限公司)200 mg/d, 每晚1次。对照1组给予非诺贝特200 mg/d, 每晚1次; 肌苷片(河南中杰药业有限公司)0.4 mg/次, 每日3次。对照2组给予多烯磷脂酰胆碱456 mg/次, 每日3次, 疗程均为12 wk。所有患者均进行健康宣教, 禁酒、低脂低糖饮食、控制体质量、进行中等强度的有氧运动。

**1.2.2 观察指标:** 观察治疗前后乏力、腹胀、肝区隐痛症状。检测空腹血清肝功[丙氨酸氨基转移酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、总胆红素(total bilirubin, Tbil)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(glutamyl endopeptidase, GGT)、血脂[总胆固醇(total cholesterol, TC)、血清甘油三酯(serum triglyceride, TG)、高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)]; 观察治疗前后脂肪肝超声变化。

**1.2.3 疗效判定标准** 显效: 各种临床症状消失或明显改善, 肝功能基本恢复正常, 血清TC、TG恢复正常, 超声提示脂肪肝声像消失。好转: 临床症状好转, 肝功能指标较前下降50%以上且低于正常值2倍以上, 血脂TC、TG也较治疗前下降 $\geq 50\%$ , 肝脏超声显示脂肪肝好转。无效: 未达到上述标准或病情加重。总有效率 = 显效 + 有效<sup>[1]</sup>。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行分析处理, 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 $t$ 检验; 两组疗效比较采用 $\chi^2$ 检验, 治疗前后及2组间观察指标采用 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3组患者综合疗效比较** 治疗组显效率为51.1%, 总有效率为86.7%; 对照1组显效率为25.6%, 总有效率为53.5%; 对照2组显效率为



表 1 3组患者综合疗效比较  $n(\%)$ 

分组	$n$	显效	有效	无效	总有效率
治疗组	45	23(51.1) <sup>a</sup>	16(37.2)	6(14.0) <sup>b</sup>	39(86.7) <sup>b</sup>
对照1组	43	11(25.6)	12(27.9)	20(46.5)	23(53.5)
对照2组	36	19(52.8) <sup>d</sup>	13(36.1)	4(11.1) <sup>d</sup>	32(88.9) <sup>d</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照1组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 对照1组.

表 2 3组治疗后临床症状改善情况

分组	$n$	临床症状	消失( $n$ )	减轻( $n$ )	无效( $n$ )	有效率(%)
治疗组	45	乏力	36	6	3	93.3
		腹胀	34	7	4	91.1
		肝区疼痛	36	4	5	88.9
对照1组	43	乏力	14	16	13	69.8
		腹胀	13	20	10	76.7
		肝区疼痛	14	17	12	72.1
对照2组	36	乏力	27	5	4	88.9
		腹胀	24	7	5	86.1
		腹胀	28	2	6	83.3

表 3 3组患者治疗前后肝功能比较 (U/L, mean  $\pm$  SD)

分组	肝功能检测			
	ALT	AST	Tbil	GGT
治疗组				
治疗前	88.4 $\pm$ 23.6	78.2 $\pm$ 19.7	33.1 $\pm$ 14.0	117.1 $\pm$ 66.3
治疗后	29.1 $\pm$ 7.0 <sup>ab</sup>	28.1 $\pm$ 10.4 <sup>ab</sup>	10.0 $\pm$ 3.2 <sup>ab</sup>	43.2 $\pm$ 16.3 <sup>ab</sup>
对照1组				
治疗前	85.1 $\pm$ 25.6	76.0 $\pm$ 17.5	27.6 $\pm$ 10.1	115.6 $\pm$ 38.8
治疗后	51.6 $\pm$ 20.8	50.1 $\pm$ 11.6	19.3 $\pm$ 9.64	80.8 $\pm$ 34.5
对照2组				
治疗前	78.6 $\pm$ 38.3	89.1 $\pm$ 42.6	42.3 $\pm$ 9.77	94.1 $\pm$ 42.2
治疗后	27.2 $\pm$ 7.95 <sup>cd</sup>	26.1 $\pm$ 7.56 <sup>cd</sup>	9.50 $\pm$ 2.15 <sup>cd</sup>	39.3 $\pm$ 11.5 <sup>cd</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照1组; <sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 对照1组. ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 谷草转氨酶; Tbil: 总胆红素; GGT:  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶.

52.8%, 总有效率为88.9%. 两组间比较, 治疗组与对照2组, 差异无显著统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗组优于对照1组, 差异有显著统计学意义( $P<0.01$ , 表1).

2.2 3组治疗后临床症状改善情况 治疗组乏力、腹胀、肝区疼痛症状改善有效率分别为93.3%、91.1%、89.1%, 对照1组分别为69.8%、76.7%、72.1%, 对照2组分别为88.9%、86.1%、83.3%. 两组间比较, 治疗组与对照2组, 差异无显著统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗组优于对照1组,

差异具有统计学意义( $P<0.05$ , 表2).

2.3 3组患者治疗前后ALT、AST、Tbil、GGT变化比较 与对照1组治疗后比较, ALT、AST、Tbil、GGT均较治疗前降低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ). 对照1组ALT较治疗前也有降低, 但差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗组与对照2组, 差异无显著统计学意义( $P>0.05$ ). 3组治疗后比较, 差异有统计学意义( $P<0.01$ , 表3).

2.4 3组患者治疗前后血脂比较 3组患者治疗后TC、TG、LDL均有降低, HDL-C升高, 治疗组

## ■ 相关报道

Fernández及关丽明报道等应用多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗NASH及酒精性脂肪肝, 结果显著改善血脂水平、胰岛素敏感性, 降低转氨酶、碱性磷酸酶和 $\gamma$ -GT水平.

## ■创新盘点

本文多烯磷脂酰胆碱与非诺贝特联用治疗NASH疗效肯定、不良反应少,在改善NASH的临床症状、降低转氨酶、血脂水平方面疗效明确。

表 4 3组患者治疗前后血脂比较 (mmol/L, mean  $\pm$  SD)

分组	血脂			
	TC	TG	LDL	HDL-C
治疗组				
治疗前	5.8 $\pm$ 1.0	3.9 $\pm$ 1.7	4.4 $\pm$ 1.0	1.1 $\pm$ 0.4
治疗后	1.8 $\pm$ 0.7 <sup>ac</sup>	1.2 $\pm$ 0.4 <sup>ac</sup>	1.7 $\pm$ 0.5 <sup>ac</sup>	1.6 $\pm$ 0.4 <sup>ac</sup>
对照1组				
治疗前	5.8 $\pm$ 1.2	2.2 $\pm$ 0.9	4.1 $\pm$ 0.8	1.1 $\pm$ 0.3
治疗后	4.1 $\pm$ 1.1	3.8 $\pm$ 1.4	2.7 $\pm$ 0.9	0.9 $\pm$ 0.2
对照2组				
治疗前	5.5 $\pm$ 1.2	3.6 $\pm$ 0.9	3.8 $\pm$ 0.8	1.0 $\pm$ 0.1
治疗后	2.2 $\pm$ 0.4	2.1 $\pm$ 0.5	1.9 $\pm$ 0.7	1.3 $\pm$ 0.4

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照1组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照2组. TC: 总胆固醇; TG: 血清甘油三脂; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL: 低密度脂蛋白。

治疗前后比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 治疗组与对照2组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ , 表4).

2.5 不良反应 治疗期间, 治疗组1例出现腹泻, 对照1组2例出现轻度恶心, 可自行缓解, 无需停药, 对照2组未出现不良反应。

### 3 讨论

NAFLD是一种常见的健康问题, 影响世界上35%的人口<sup>[3]</sup>. NASH是由单纯性脂肪肝发展而来, 容易发展成肝硬化. NASH存在脂质积累、炎症坏死和纤维化<sup>[4,5]</sup>, 29%的NASH患者在10年内将发展为肝硬化<sup>[6]</sup>. NASH临床表现不特异, 表现为疲劳、乏力、右上腹不适以及转氨酶的升高, 尤其是谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$  glutamyltranspeptidase,  $\gamma$ -GT)的升高, NASH是临床治疗的重点和难点。

NASH的治疗提倡改变生活方式, 控制饮食、增加运动, 改善胰岛素抵抗, 避免加重肝脏损害的因素, 合理的选用保肝及调脂药物. 多烯磷脂酰胆碱是大豆中提取物, 其主要活性成分是1,2-二亚油酰磷脂酰胆碱(1,2-linoleoyl phosphatidyl choline, DLPC), 是构成所有细胞膜和亚细胞膜的重要组成部分. 多烯磷脂酰胆碱进入体内后与肝细胞膜结合, 修复肝细胞膜, 使受损的肝细胞和转氨酶恢复正常<sup>[7]</sup>; 此外, 减少氧化应激与脂质过氧化, 抑制肝细胞凋亡, 降低炎症反应和抑制肝星状细胞活化, 明显降低转氨酶水平, 有效地阻止肝细胞变性炎症纤维化. 多烯磷脂酰胆碱是治疗NASH的有效药物, 本研

究中能看出单用多烯磷脂酰胆碱在改善临床症状、降低肝功水平的疗效显著, 与治疗组效果相当, 但本研究中也看到单用多烯磷脂酰胆碱在改善血脂水平方面并无明显的作用. 由于NASH患者多伴有肥胖、高脂血症以及代谢综合征, 如长期单用多烯磷脂酰胆碱治疗可能会导致作用下降。

非诺贝特是降血脂的代表性药物, 此药单独或与他药联合改善动脉粥样硬化, 显著降低TG, 同时提高HDL-C水平<sup>[8-10]</sup>. 机制可能通过非诺贝特激活PPAR $\alpha$ <sup>[11]</sup>, 减少纤维化标志物的表达, 逆转纤维化和肝星状细胞的数量<sup>[12]</sup>, 有效改善2型糖尿病和代谢综合征的血脂水平; 促进肝脂肪酸 $\beta$ -氧化基因表达增强; 降低肝脏胰岛素抵抗, 抑制NASH的发病机制涉及瘤坏死因子- $\alpha$ 、细胞间黏附分子-1、血管细胞黏附分子-1和单核细胞趋化蛋白-1的表达<sup>[13]</sup>; 限制肝巨噬细胞浸润, 降低氧化应激和改善肝脏微循环; 增加血浆脂联素水平<sup>[14,15]</sup>; 保留AdipoR2水平, 同时防止TG积累和内质网应激<sup>[16]</sup>. Fernández-Miranda等<sup>[17]</sup>应用非诺贝特治疗了19例NAFLD患者, 结果显著的改善血脂水平、胰岛素敏感性, 降低转氨酶、碱性磷酸酶和 $\gamma$ -GT水平, 并活检证实能显著地改善肝细胞气球样变性. 本研究提示采用两种药物同时应用, 可以发挥联合降血脂作用, 随着血脂水平的下降, 肝脏的脂肪负担减轻, 有效地促进了肝功能各项指标的恢复. 研究表明, 在控制饮食及加强运动的情况下, 多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特能够迅速改善对NASH患者乏力、腹胀、肝区疼痛等临床症状, 并显著降低

患者肝功、血脂水平。治疗过程中未发现肝肾功能恶化, 未发现横纹肌溶解症等不良反应, 无患者因药物不良反应而停药, 治疗12 wk后, 其临床症状、肝功能及血脂水平的改善等方面明显优于对照组, 治疗的总有效率达86.7%, 明显高于对照组。

通过我们的临床观察, 多烯磷脂酰胆碱与非诺贝特联用治疗NASH疗效肯定、不良反应少, 患者依从性较好。在改善NASH的临床症状、降低转氨酶、血脂水平方面疗效明确。由于本研究样本数量较小、未进行肝穿活检, 其远期疗效及其安全性方面尚有待进一步观察。

#### 4 参考文献

- 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 2010版非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 483-487
- Torres DM, Williams CD, Harrison SA. Features, diagnosis, and treatment of nonalcoholic fatty liver disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 837-858 [PMID: 22446927 DOI: S1542-3565(12)00320-5]
- Bellentani S, Marino M. Epidemiology and natural history of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Ann Hepatol* 2009; 8 Suppl 1: S4-S8 [PMID: 19381118 DOI: 10.1002/cld.27]
- Diakou MC, Liberopoulos EN, Mikhailidis DP, Tsianos EV, Burroughs AK, Elisaf MS. Pharmacological treatment of non-alcoholic steatohepatitis: the current evidence. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 139-147 [PMID: 17327932 DOI: 10.1080/00365520601058395]
- Cuadrado A, Orive A, García-Suárez C, Domínguez A, Fernández-Escalante JC, Crespo J, Pons-Romero F. Non-alcoholic steatohepatitis (NASH) and hepatocellular carcinoma. *Obes Surg* 2005; 15: 442-446 [PMID: 15826485 DOI: 10.1381/0960892053576596]
- Caldwell S, Argo C. The natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Dis* 2010; 28: 162-168 [PMID: 20460906 DOI: 10.1159/000282081]
- 关丽明, 方亮, 胡军, 郭文. 多烯磷脂酰胆碱联合辛伐他汀治疗酒精性肝病的临床观察. 国际医药卫生导报 2006; 12: 69-71
- Agouridis AP, Kostapanos MS, Tsimihodimos V, Kostara C, Mikhailidis DP, Bairaktari ET, Tselepis AD, Elisaf MS. Effect of rosuvastatin monotherapy or in combination with fenofibrate or  $\omega$ -3 fatty acids on lipoprotein subfraction profile in patients with mixed dyslipidaemia and metabolic syndrome. *Int J Clin Pract* 2012; 66: 843-853 [PMID: 22897461 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2012.02972.x]
- Filippatos TD. A review of time courses and predictors of lipid changes with fenofibric acid-statin combination. *Cardiovasc Drugs Ther* 2012; 26: 245-255 [PMID: 22592524 DOI: 10.1007/s10557-012-6394-0]
- Filippatos TD, Tsimihodimos V, Kostapanos M, Kostara C, Bairaktari ET, Kiortsis DN, Elisaf MS. Analysis of 6-month effect of orlistat administration, alone or in combination with fenofibrate, on triglyceride-rich lipoprotein metabolism in overweight and obese patients with metabolic syndrome. *J Clin Lipidol* 2008; 2: 279-284 [PMID: 21291744 DOI: 10.1016/j.jacl.2008.06.001]
- Seo YS, Kim JH, Jo NY, Choi KM, Baik SH, Park JJ, Kim JS, Byun KS, Bak YT, Lee CH, Kim A, Yeon JE. PPAR agonists treatment is effective in a nonalcoholic fatty liver disease animal model by modulating fatty-acid metabolic enzymes. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 102-109 [PMID: 18171348 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04819]
- Ip E, Farrell G, Hall P, Robertson G, Leclercq I. Administration of the potent PPAR $\alpha$  agonist, Wy-14,643, reverses nutritional fibrosis and steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2004; 39: 1286-1296 [PMID: 15122757 DOI: 10.1002/hep.20170]
- Lalloyer F, Wouters K, Baron M, Caron S, Vallez E, Vanhoutte J, Baugé E, Shiri-Sverdlov R, Hofker M, Staels B, Tailleux A. Peroxisome proliferator-activated receptor- $\alpha$  gene level differently affects lipid metabolism and inflammation in apolipoprotein E2 knock-in mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 1573-1579 [PMID: 21474829]
- Christou GA, Tellis KC, Elisaf MC, Tselepis AD, Kiortsis DN. High density lipoprotein is positively correlated with the changes in circulating total adiponectin and high molecular weight adiponectin during dietary and fenofibrate treatment. *Hormones (Athens)* 2012; 11: 178-188 [PMID: 22801564 DOI: 10.1194/jlr.M029934]
- Li P, Shibata R, Maruyama S, Kondo M, Ohashi K, Ouchi N, Murohara T. Fenofibrate promotes ischemia-induced revascularization through the adiponectin-dependent pathway. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2010; 299: E560-E566 [PMID: 20663986 DOI: 10.1152/ajpendo.00284.2010]
- Rahman SM, Qadri I, Janssen RC, Friedman JE. Fenofibrate and PBA prevent fatty acid-induced loss of adiponectin receptor and pAMPK in human hepatoma cells and in hepatitis C virus-induced steatosis. *J Lipid Res* 2009; 50: 2193-2202 [PMID: 19502591 DOI: 10.1194/jlr.M800633-JLR200]
- Fernández-Miranda C, Pérez-Carreras M, Colina F, López-Alonso G, Vargas C, Solís-Herruzo JA. A pilot trial of fenofibrate for the treatment of non-alcoholic fatty liver disease. *Dig Liver Dis* 2008; 40: 200-205 [PMID: 18261709 DOI: 10.1016/j.dld.2007.10.002]

#### ■同行评价

采用多烯磷脂酰胆碱联合非诺贝特治疗非酒精性脂肪性肝炎具有一定疗效和意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 肝再生增强因子在HBV相关肝硬化患者中的表达及意义

陈文, 杨春, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良

## ■背景资料

我国目前约有2000万例慢性乙型肝炎患者, 部分患者由于肝脏炎症的持续存在将经由肝纤维化最终发展为肝硬化。基础研究发现肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)具有抗肝纤维化作用, 提示其可能在肝硬化的发生发展中发挥作用。但有关ALR在肝硬化患者的表达及临床意义的研究国内外尚鲜见报道。

陈文, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良, 泸州医学院附属医院感染科 四川省泸州市 646000

杨春, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

陈文, 主治医师, 主要从事重型肝炎发病机制的研究。

泸州市科技局基金资助项目, No. 2013-S-48(1/30)

作者贡献分布: 主要实验、数据分析及文章起草由陈文与毕义亮完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理由杨春、唐黎及吴刚完成; 课题设计、文章修改和审阅由邓存良完成。

通讯作者: 邓存良, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市江阳区太平街25号, 泸州医学院附属医院感染科。

dengcunliang@sina.vip.com

电话: 023-3165623

收稿日期: 2013-11-02 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-01-28

## Clinical significance of serum levels of augmenter of liver regeneration in patients with HBV-related cirrhosis

Wen Chen, Chun Yang, Yi-Liang Bi, Li Tang, Gang Wu, Cun-Liang Deng

Wen Chen, Yi-Liang Bi, Li Tang, Gang Wu, Cun-Liang Deng, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Chun Yang, Department of Digestive Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Supported by: the Foundation of Luzhou Science and Technology Bureau, No. 2013-S-48(1/30)

Correspondence to: Cun-Liang Deng, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Street, Jiyang District, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. dengcunliang@sina.vip.com

Received: 2013-11-02 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To determine serum levels of augmenter of liver regeneration (ALR) in patients with HBV-related cirrhosis and to analyze its clinical significance.

**METHODS:** Serum samples were collected from patients with mild chronic hepatitis B ( $n = 196$ ), compensated cirrhosis ( $n = 69$ ), decompensated cirrhosis ( $n = 148$ ) and normal controls ( $n = 200$ ). The patients with decompensated cirrhosis were divided into an ascites subgroup ( $n =$

51), a gastrointestinal bleeding subgroup ( $n = 32$ ), a hepatic encephalopathy subgroup ( $n = 27$ ) and a chronic liver failure subgroup ( $n = 38$ ). The patients with ascites were further divided into a spontaneous bacterial peritonitis (SBP) subgroup ( $n = 9$ ) and a non-SBP group ( $n = 42$ ). Serum concentrations of ALR were measured by ELISA. FibroScan was used to test the liver stiffness of patients with compensated cirrhosis. The correlation between ALR level and FibroScan score was analyzed by linear regression analysis. Unconditioned binary response logistic regression model was used to determine the correlation between ALR level and the occurrence of complications in patients with decompensated cirrhosis.

**RESULTS:** Serum ALR concentrations were higher in the compensated cirrhosis group and decompensated cirrhosis group than in the mild chronic hepatitis B group and normal control group ( $P < 0.01$  for all). There was a negative correlation between serum ALR concentration and FibroScan score in patients with compensated cirrhosis ( $r = -0.218$ ,  $F = 15.736$ ,  $P < 0.01$ ). Serum ALR concentrations in patients with chronic liver failure were higher than those in patients with compensated cirrhosis ( $1.73 \mu\text{g/L} \pm 0.23 \mu\text{g/L}$  vs  $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.012$ ), and ALR concentrations in patients with ascites were significantly decreased ( $1.32 \mu\text{g/L} \pm 0.64 \mu\text{g/L}$  vs  $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.027$ ). There was no significant difference in ALR levels between the SBP group and non-SBP group. Logistic regression analysis identified lower serum ALR level as a risk factor for the occurrence of ascites in patients with cirrhosis ( $P = 0.031$ ,  $OR = 0.841$ ).

**CONCLUSION:** Serum ALR levels are significantly increased in patients with HBV-related cirrhosis and are negatively related to the liver stiffness and occurrence of ascites, indicating that increased ALR level is a potential protective mechanism for patients with HBV-related cirrhosis.

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

## ■同行评议者

刘正稳, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院

**Key Words:** Augmenter of liver regeneration; Hepatitis B virus; Cirrhosis; Clinical significance

Chen W, Yang C, Bi YL, Tang L, Wu G, Deng CL. Clinical significance of serum levels of augmenter of liver regeneration in patients with HBV-related cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 434-438 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.434>

## 摘要

**目的:** 研究肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化患者中的表达及临床意义。

**方法:** 病例来源于我科门诊及住院的慢性乙型肝炎患者, 包括慢性乙型肝炎轻度组( $n = 196$ )、代偿期肝硬化组( $n = 69$ )、失代偿期肝硬化组( $n = 148$ ); 失代偿肝硬化患者根据并发症进一步分为腹水组( $n = 51$ )、消化系出血组( $n = 32$ )、肝性脑病组( $n = 27$ )和慢性肝衰竭组( $n = 38$ ), 其中腹水组分为原发性腹膜炎组( $n = 9$ )与非原发性腹膜炎组( $n = 42$ )。健康对照组( $n = 200$ )来源于输血科健康献血者。收集患者血清及临床资料; 采用ELISA法检测各组患者血清ALR浓度; 瞬时弹性扫描(FibroScan)检测代偿期肝硬化患者肝脏硬度。比较各组间ALR浓度差异, 分析ALR浓度与肝硬化及其并发症的关系。

**结果:** ALR浓度在代偿期肝硬化组和失代偿肝硬化组均明显高于健康对照组和慢性乙型肝炎轻度组( $P < 0.01$ )。在代偿期肝硬化患者ALR浓度( $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$ )与肝脏FibroScan值( $16.96 \text{ kPa} \pm 5.6 \text{ kPa}$ )负相关( $r^2 = -0.218$ ,  $F = 15.736$ ,  $P < 0.01$ )。失代偿肝硬化组中慢性肝衰竭患者ALR浓度明显高于代偿期肝硬化组( $1.73 \mu\text{g/L} \pm 0.23 \mu\text{g/L}$  vs  $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.012$ )。腹水组患者ALR浓度明显低于代偿期肝硬化组( $1.32 \mu\text{g/L} \pm 0.64 \mu\text{g/L}$  vs  $1.54 \mu\text{g/L} \pm 0.53 \mu\text{g/L}$ ,  $P = 0.027$ )。原发性腹膜炎组与非原发性腹膜炎组间ALR浓度无显著性差异。ALR血清浓度与肝硬化患者腹水的发生相关, 低ALR血清浓度是肝硬化患者发生腹水的危险因素( $P = 0.031$ ,  $\text{OR} = 0.841$ )。

**结论:** ALR在HBV相关肝硬化患者表达明显升高, 其水平与肝脏硬度及腹水发生负相关, 提示ALR在肝硬化患者增高可能是机体的一种保护机制。

**关键词:** 肝再生增强因子; 乙型肝炎病毒; 肝硬化; 临床意义

**核心提示:** 肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)浓度在肝硬化患者明显升高, 代偿期肝硬化患者ALR浓度与肝脏FibroScan值负相关。肝硬化腹水患者ALR浓度明显低于代偿期肝硬化组, 低ALR血清浓度是肝硬化患者发生腹水的危险因素。

陈文, 杨春, 毕义亮, 唐黎, 吴刚, 邓存良. 肝再生增强因子在HBV相关肝硬化患者中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2014; 22(3): 434-438 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/434.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.434>

## ■研究前沿

ALR在肝硬化患者中的表达及意义尚不清楚, 分析ALR在HBV相关肝硬化患者表达及临床意义有助于了解ALR在肝硬化发生发展中的具体作用。

## 0 引言

肝再生增强因子(augmenter of liver regeneration, ALR)是近来发现的一种特殊的促肝细胞分裂原, 具有强大的促进肝细胞增殖功能<sup>[1]</sup>。近年来研究发现ALR对肝纤维化大鼠也具有保护作用<sup>[2,3]</sup>, 提示其可能在肝硬化的发生发展中起重要作用。但对ALR在肝硬化患者的表达及临床意义的研究国内外均鲜见报道。故我们在大样本乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)相关肝硬化患者中观察了ALR的表达变化并分析其临床意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2011-04/2013-03我科收治的HBV感染后肝硬化患者217例和慢性乙型肝炎轻度患者196例。肝硬化患者分为代偿期肝硬化组( $n = 69$ )和失代偿肝硬化组( $n = 148$ ); 失代偿肝硬化患者根据并发症进一步分为腹水组( $n = 51$ )、消化系出血组( $n = 32$ )、肝性脑病组( $n = 27$ )和慢性肝衰竭组( $n = 38$ ), 其中腹水组分为原发性腹膜炎组( $n = 9$ )与非原发性腹膜炎组( $n = 42$ )。慢性乙型肝炎轻度和肝硬化诊断符合2010年版慢性乙型肝炎防治指南诊断标准<sup>[4]</sup>; 慢性肝衰竭诊断符合肝衰竭诊治指南(2012年版)诊断标准<sup>[5]</sup>; 原发性腹膜炎诊断符合2009年美国成人肝硬化腹水治疗指南诊断标准<sup>[6]</sup>。腹水组、上消化道出血组及肝性脑病组均排除慢性肝衰竭患者。健康对照者200例来源于我院输血科血库。排除标准: (1)因酒精、药物、中毒及自身免疫等其他原因所致肝脏损伤; (2)合并甲型肝炎病毒(hapatitis A virus, HAV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)和人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染; (3)妊娠晚期; (4)肝癌或

## ■相关报道

体外和动物模型研究表明ALR可能通过抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化,促进细胞外基质降解等机制发挥抗肝纤维化作用。

表 1 各组间人口学资料及肝功能比较

	健康对照组	慢性乙型肝炎轻度组	代偿期肝硬化组	失代偿肝硬化组
<i>n</i>	200	196	69	148
年龄(岁)	42.35 ± 8.79	39.68 ± 10.21	48.67 ± 7.23 <sup>a</sup>	55.92 ± 6.07 <sup>a</sup>
男性 <i>n</i> (%)	137(68.5)	139(70.92)	46(67.65)	106(71.62)
ALT(U/L)	24.61 ± 8.53 <sup>b</sup>	68.93 ± 17.37 <sup>b</sup>	46.26 ± 21.09 <sup>b</sup>	132.47 ± 66.95
TBil(μmol/L)	17.38 ± 6.51 <sup>b</sup>	28.47 ± 7.33 <sup>b</sup>	31.21 ± 10.43 <sup>b</sup>	146.59 ± 102.08
ALB(g/L)	38.71 ± 2.79 <sup>b</sup>	36.52 ± 3.04 <sup>b</sup>	34.07 ± 4.76 <sup>b</sup>	29.41 ± 4.32

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 健康对照组; <sup>b</sup>*P* < 0.01 vs 失代偿肝硬化组。ALT: 丙氨酸氨基转氨酶; TBil: 总胆红素; ALB: 白蛋白。

者其他恶性肿瘤肝转移。

## 1.2 方法

1.2.1 血清标本及临床资料收集: 以患者入院或者门诊首次诊断时间为基线, 患者空腹抽取EDTA抗凝外周静脉血5 mL, 2000 r/min离心15 min, 分离血清及血细胞, 于-80 °C保存待检。收集基线时患者肝肾功能、HBV DNA水平、血常规、凝血全套及B超等临床指标。所有代偿期肝硬化患者进行瞬时弹性扫描(FibroScan)检测肝脏硬度。检测方法: FibroScan仪由法国Echosens公司生产; 患者取仰卧位, 右手置于脑后尽量伸展, 探头位置选择在右腋中线与腋前线间的7-9肋间隙, 探头与皮肤表面垂直; 根据Fibroscan仪显示的TM、A模式超声影像确定检查位置, 每例患者进行10次有效测量, 取中位数作为最终结果, 以弹性值(kPa)表示; 检查区域要求肝脏有足够厚度, 没有大血管结构, 远离肝脏边缘, 通常与肝穿刺活检的位置相同; 操作成功率<60%或偏差大于中位数1/3视为检查无效。

1.2.2 血清ALR浓度检测: 采用ELISA法检测, ELISA检测试剂盒购自美国BP公司, 严格按照试剂盒要求操作。为了避免保存时间过长导致检测结果不准确, 肝硬化组及慢性乙型肝炎轻度组每6 mo检测1批, 健康对照组最后集中检测。

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件进行数据分析。计量资料采用mean ± SD描述。多组间均数比较采用单因素方差分析, 组间均数多重比较采用SNK法, 计量资料间相关性分析采用直线回归分析, 二分类非条件Logistic回归分析ALR浓度与并发症发生的关系。*P* < 0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组患者人口学资料及临床资料比较 各组间性别构成无显著性差异; 代偿期肝硬化组和失代偿肝硬化组年龄明显高于健康对照组和慢

性乙型肝炎轻度组, 差异有统计学意义(*P* < 0.05); 失代偿肝硬化组丙氨酸氨基转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)及总胆红素(total bilirubin, TBil)水平明显高于其他三组, 差异有统计学意义(*P* < 0.01); 失代偿肝硬化组ALB水平明显低于其他三组, 差异有统计学意义(*P* < 0.01, 表1)。

2.2 各组间ALR浓度比较 ALR浓度在代偿期肝硬化组和失代偿肝硬化组均明显高于健康对照组和慢性乙型肝炎轻到中度组, 差异有统计学意义(*P* < 0.01)。在健康对照组和慢性乙型肝炎轻到中度组间ALR水平无显著性差异。失代偿肝硬化组中慢性肝衰竭患者ALR浓度明显高于代偿期肝硬化组, 差异有统计学意义(*P* = 0.012); 腹水组患者ALR水平明显低于代偿期肝硬化组, 差异有统计学意义(*P* = 0.027), 原发性腹膜炎组与非原发性腹膜炎组间ALR水平无显著性差异(表2)。

2.3 肝硬化患者ALR浓度与Child-Pugh评分及肝脏FibroScan值相关性分析 直线相关分析表明, 在代偿期肝硬化患者ALR浓度(1.54 μg/L ± 0.53 μg/L)与肝脏FibroScan值(16.96 kPa ± 5.6 kPa)负相关(*r*<sup>2</sup> = -0.218, *F* = 15.736, *P* < 0.01)(图1)。

2.4 ALR浓度与肝硬化患者并发症发生关系 由于失代偿肝硬化年龄、ALT、TBil和白蛋白与代偿期肝硬化患者间有显著性差异, 故我们将上述4种因素与ALR浓度一起进行多因素二分类非条件Logistic回归分析。结果表明ALR血清浓度与肝硬化患者腹水的发生相关, 低ALR血清浓度是肝硬化患者发生腹水的危险因素(*P* = 0.031, OR = 0.841)。ALR浓度不是肝硬化患者发生消化系出血、肝性脑病及慢性肝衰竭的危险因素。

## 3 讨论

本研究以大样本病例对照研究观察了ALR在



表 2 各组间ALR浓度比较 (mean ± SD)

	<i>n</i>	ALR浓度(μg/L)
健康对照组	200	0.93 ± 0.31
慢性乙型肝炎轻度组	196	1.12 ± 0.47
代偿期肝硬化组	69	1.54 ± 0.53 <sup>b</sup>
失代偿肝硬化组	148	1.47 ± 0.49 <sup>b</sup>
腹水组	51	1.32 ± 0.64 <sup>c</sup>
原发性腹膜炎组	9	1.36 ± 0.25
非原发性腹膜炎组	42	1.31 ± 0.48
消化道出血组	32	1.41 ± 0.36
肝性脑病组	27	1.45 ± 0.79
慢性肝衰竭组	38	1.73 ± 0.23 <sup>d</sup>

<sup>b</sup>*P* < 0.01 vs 健康对照组; <sup>c</sup>*P* < 0.01 vs 慢性乙型肝炎轻度组; <sup>d</sup>*P* = 0.027 < 0.05 vs 代偿肝硬化组; <sup>e</sup>*P* = 0.012 < 0.05 vs 代偿肝硬化组。ALR: 肝再生增强因子。

HBV相关肝硬化患者的表达变化。发现血清ALR水平在代偿期和失代偿肝硬化患者均明显高于慢性乙型肝炎轻度患者和健康对照者。ALR表达于多种组织、细胞,但在肝脏特异性表达于肝细胞,既往对于其在肝脏疾病中的研究主要集中于促肝细胞再生方面<sup>[1]</sup>。近年来多项研究表明ALR对肝纤维化大鼠具有保护作用<sup>[2,3]</sup>。升高的ALR可能通过以下机制发挥抗肝纤维化作用: (1)增强基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)表达,抑制组织金属蛋白酶抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)的表达,促进细胞外基质降解<sup>[7,8]</sup>; (2)通过抑制c-jun蛋白及c-fos蛋白等转化激活因子的表达而抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)活化<sup>[9,10]</sup>; (3)抑制HSC和枯否氏细胞表达转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β),减少HSC活化<sup>[11]</sup>。肝纤维化是慢性肝炎发展至肝硬化的中间环节,体外研究及动物模型研究均证实ALR具有抗肝纤维化作用,我们的研究表明ALR水平在肝硬化患者升高。由此我们推测ALR在肝硬化患者增高可能是机体的一种保护机制。

我们进一步分析了代偿期肝硬化患者ALR浓度与肝脏FibroScan值间的关系。FibroScan是一种利用切变波技术检测肝脏硬度的一种非侵入性技术,其可以较好地反映肝脏纤维化程度<sup>[12]</sup>。但转氨酶、胆红素和腹水等因素均可影响其检测结果的准确性<sup>[13,14]</sup>。基线资料表明失代偿肝硬化患者ALT及TBil水平明显高于其他3组,且其中包含有腹水及慢性肝衰竭患者。所以我们仅

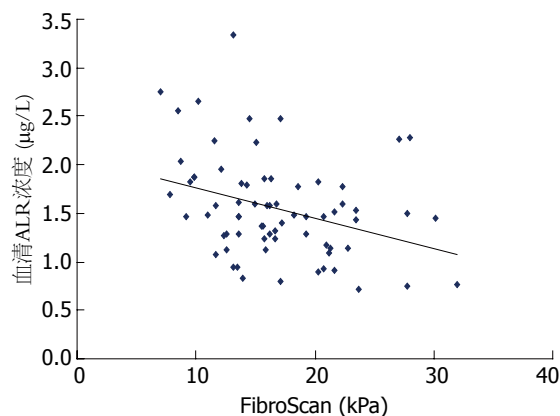


图 1 ACLF患者ALR浓度与FibroScan值相关性散点图。ALR: 肝再生增强因子。

对代偿期肝硬化患者进行了FibroScan检测。直线相关分析表明在代偿期肝硬化患者ALR浓度与肝脏FibroScan值呈负相关,提示高ALR水平患者肝脏硬度较小。这一结果进一步证明高水平ALR对于肝硬化患者具有保护作用。

肝硬化失代偿常常表现为各种并发症,我们对ALR在各种并发症患者的表达进行了分析。发现慢性肝衰竭患者ALR浓度明显高于代偿期肝硬化患者。ALR具有强大的促肝细胞再生功能,研究表明在CCl<sub>4</sub>诱导的肝衰竭大鼠,ALR血清水平明显升高,与增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)水平成正比,可减轻CCl<sub>4</sub>导致的肝脏损伤,提高急性肝衰竭大鼠的存活率,且初期高水平ALR与较好的预后有关<sup>[15]</sup>。Yu等<sup>[16]</sup>也证实ALR在肝衰竭患者表达增高。提示慢性肝衰竭患者ALR浓度增高可能刺激肝细胞再生,有利于肝脏功能恢复。而肝硬化腹水患者ALR浓度明显低于代偿期肝硬化患者,且进一步的多因素二分类非条件Logistic回归分析表明ALR浓度与肝硬化患者腹水的发生相关,低ALR血清浓度是发生腹水的危险因素。肝硬化腹水发生机制复杂,但肝脏肝硬化门静脉高压是其始动因素。在肝硬化门静脉高压的基础上,发生周围动脉扩张、水钠潴留以及肾脏低灌注等后续病理生理改变,进而导致腹水的产生<sup>[17]</sup>。肝硬化腹水患者ALR浓度降低,且低ALR血清浓度为腹水发生的危险因素,表明低水平ALR患者肝硬化门静脉高压程度可能更为严重。进一步分析发现原发性腹膜炎组与非原发性腹膜炎组间ALR水平无显著性差异,提示ALR的降低与细菌感染无明显关系。但需注意的是我

#### ■ 创新盘点

本研究以大样本病例对照研究观察了ALR在HBV相关肝硬化患者的表达变化,并深入分析了ALR水平与失代偿肝硬化各种并发症的关系。

### ■同行评价

本文对理解ALR在肝纤维化和肝硬化腹水的发生中的作用有一定意义。

们的研究中原发性腹膜炎患者较少,有可能影响结果的准确性,关于ALR与原发性腹膜炎的关系尚需扩大病例数进一步分析。在肝硬化消化系出血和肝性脑病患者ALR水平较代偿期肝硬化患者无明显变化,这可能与这两类并发症的发生受如饮食、药物等肝外因素影响较多有关,这一结果提示ALR可能不是肝硬化肝性脑病和消化系出血发生的主要影响因素。

总之,本研究表明ALR在HBV相关代偿期和失代偿肝硬化患者表达明显升高,其水平与肝脏硬度及腹水发生负相关,表明ALR在肝硬化患者增高可能是机体的一种保护机制。其具体作用机制尚待进一步研究。

### 4 参考文献

- Gandhi CR. Augmenter of liver regeneration. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5: 10 [PMID: 22776437 DOI: 10.1186/1755-1536-5-10]
- Song M, Yi X, Chen W, Yuan Y, Zhang X, Li J, Tong M, Liu G, You S, Kong X. Augmenter of liver regeneration (ALR) gene therapy attenuates CCl<sub>4</sub>-induced liver injury and fibrosis in rats. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 415: 152-156 [PMID: 22033404 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.10.039]
- 王晓东, 林颢, 陈永平, 卢明芹, 潘陈为, 金益辉, 张友才. 肝细胞生长因子与肝再生增强因子重组表达质粒对大鼠肝纤维化的影响. *中华传染病杂志* 2010; 28: 321-325
- 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版) *中华肝脏病杂志* 2011; 19: 13-24
- 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝炎与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2012年版). *中华临床感染病杂志* 2012; 5: 321-327
- Runyon BA. Management of adult patients with ascites due to cirrhosis: an update. *Hepatology* 2009; 49: 2087-2107 [PMID: 19475696 DOI: 10.1002/hep.22853]
- 王爱民, 王俊红, 张秀巧, 郭俊英, 马红菊, 王宝恩. 重组人肝再生增强因子可增强大鼠肝星状细胞间质胶原酶基因的表达. *中华实验外科杂志* 2003; 20: 14-15
- 王爱民, 杨晓明, 王文犀, 左凤亭, 王清明, 贺福初. 重组人肝再生增强因子对肝纤维化大鼠金属蛋白酶组织抑制因子-1基因表达的影响. *中华医学杂志* 2002; 82: 610-612
- 王爱民, 向英, 耿焱, 杨晓明, 马志杰, 楚瑞珏, 王宝恩. 重组人肝再生增强因子可抑制大鼠肝星状细胞c-fos基因的表达. *中华实验外科杂志* 2009; 26: 900-901
- 王爱民, 陈淑娥, 古彩括, 张莉, 贾树杰, 楚瑞珏, 王宝恩. 重组人肝再生增强因子抑制大鼠肝星状细胞c-jun基因表达的研究. *中华实验外科杂志* 2004; 21: 1058-1059
- 张勇, 尹纪业, 宋良文, 王清明, 王晓民. 肝再生增强因子抑制肝非实质细胞TGF- $\beta$ 表达的意义. *解放军医学杂志* 2006; 31: 896-898
- Loustaud-Ratti VR, Cypierre A, Rousseau A, Yagoubi F, Abraham J, Fauchais AL, Carrier P, Lefebvre A, Bordessoule D, Vidal E, Sautereau D, Jaccard A. Non-invasive detection of hepatic amyloidosis: FibroScan, a new tool. *Amyloid* 2011; 18: 19-24 [PMID: 21219116 DOI: 10.3109/13506129.2010.543443]
- Kim SU, Kim JK, Park YN, Han KH. Discordance between liver biopsy and Fibroscan® in assessing liver fibrosis in chronic hepatitis b: risk factors and influence of necroinflammation. *PLoS One* 2012; 7: e32233 [PMID: 22384189 DOI: 10.1371/journal.pone.0032233]
- Kim SU, Seo YS, Cheong JY, Kim MY, Kim JK, Um SH, Cho SW, Paik SK, Lee KS, Han KH, Ahn SH. Factors that affect the diagnostic accuracy of liver fibrosis measurement by Fibroscan in patients with chronic hepatitis B. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 498-505 [PMID: 20491742 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04353.x]
- Hongbo S, Yu C, Ming K, Honglin S, Ping HY, Ping DZ. Augmenter of liver regeneration may be a candidate for prognosis of HBV related acute-on-chronic liver failure as a regenerative marker. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1933-1938 [PMID: 22246190 DOI: 10.5754/hge11679]
- Yu HY, Xiang DR, Huang HJ, Li J, Sheng JF. Expression level of augmenter of liver regeneration in patients with hepatic failure and hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 492-498 [PMID: 20943458]
- 邵茉莉, 刘冰熔. 肝硬化腹水形成机制的研究现状. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 160-165

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 替吉奥或卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌疗效

胡方宽, 王亚楠, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁

胡方宽, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁, 南方医科大学附  
属郑州人民医院肛肠外科 河南省郑州市 450003  
王亚楠, 郑州大学第一附属医院肿瘤科 河南省郑州市  
450052

胡方宽, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

郑州市科技攻关基金资助项目, No. 20120807

作者贡献分布: 胡方宽、邓业巍、王华胜、张胜威及李晓洁共  
同负责临床资料的收集和试验的实施; 王亚楠参与部分数据的  
统计; 数据分析和论文撰写由胡方宽与邓业巍共同完成; 审校由  
邓业巍完成。

通讯作者: 邓业巍, 主任医师, 450003, 河南省郑州市黄河路33  
号, 南方医科大学附属郑州人民医院肛肠外科。

nfykfsrmyygcckzr@163.com

电话: 0371-67077696

收稿日期: 2013-11-09 修回日期: 2013-12-01

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-01-28

## Efficacy of three-dimensional conformal therapy combined with S-1 or capecitabine for recurrent rectal carcinoma in elderly patients

Fang-Kuan Hu, Ya-Nan Wang, Ye-Wei Deng,  
Hua-Sheng Wang, Sheng-Wei Zhang, Xiao-Jie Li

Fang-Kuan Hu, Ye-Wei Deng, Hua-Sheng Wang,  
Sheng-Wei Zhang, Xiao-Jie Li, Department of Anorectal  
Surgery, the People's Hospital Affiliated to Southern Medi-  
cal University, Zhengzhou 450003, Henan Province, China  
Ya-Nan Wang, Department of Oncology, the First Affili-  
ated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052,  
Henan Province, China

Supported by: the Medical Science and Technology Founda-  
tion of Zhengzhou City, No. 20120807

Correspondence to: Ye-Wei Deng, Chief Physician, De-  
partment of Anorectal Surgery, the People's Hospital Af-  
filiated to Southern Medical University, 33 Huanghe Road,  
Zhengzhou 450003, Henan Province,  
China. nfykfsrmyygcckzr@163.com

Received: 2013-11-09 Revised: 2013-12-01

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of three-  
dimensional conformal therapy combined with  
S-1 or capecitabine for elderly patients with re-  
current rectal carcinoma.

**METHODS:** Fifty-eight elderly patients with  
recurrent rectal cancer were randomly divided

into two groups: a trial group ( $n = 30$ ) and a  
control group ( $n = 28$ ). The treatment group re-  
ceived three-dimensional conformal radiation (a  
total of 54-66 Gy, 1.8-2.0 Gy/d, 5 d/wk) and S-1,  
while the control group were treated with the  
same radiation regimen and capecitabine. Each  
cycle lasted three weeks. The efficacy and toxic-  
ity were evaluated after two cycles of treatment.

**RESULTS:** The efficacy and toxicity could be  
evaluated in 58 cases. There were no significant  
differences in overall response rate (73.3% *vs*  
71.4%,  $P > 0.05$ ), median TTP (9.2 mo *vs* 8.2 mo,  
 $P > 0.05$ ) or OS (16.9 mo *vs* 17.2 mo,  $P > 0.05$ )  
between the two groups. The most common  
toxicities were hematological, digestive toxic  
reactions, erythra and radiation enteritis, and all  
of them were tolerable and comparable between  
the two groups. However, the incidence of hand-  
foot syndrome in the control group was higher  
than that in the treatment group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The efficacy was comparable be-  
tween the two groups, but the incidence of hand-  
foot syndrome was lower in the S-1-based group.

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

**Key Words:** Rectal carcinoma; Three-dimensional  
conformal therapy; S-1; Capecitabine; Comparative  
efficacy

Hu FK, Wang YN, Deng YW, Wang HS, Zhang SW, Li XJ.  
Efficacy of three-dimensional conformal therapy combined  
with S-1 or capecitabine for recurrent rectal carcinoma in  
elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3):  
439-443 URL: [http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/439](http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/439.asp).  
asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.439>

## 摘要

**目的:** 观察三维适形放疗联合替吉奥或卡培他滨治疗老年局部复发直肠癌的近期疗效和安全性。

**方法:** 58例直肠癌术后局部复发患者, 随机分

## ■背景资料

对于直肠癌术后复发的中老年患者, 还没有标准的辅助治疗方案, 循证医学证据表明同步放化疗可以提高其生存率, 我们进行了一项临床试验评价替吉奥对比卡培他滨联合放疗在中老年晚期复发直肠癌的临床疗效和安全性, 为临床治疗中老年直肠癌术后复发提供治疗参考。

## ■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科



## ■ 研究前沿

目前,针对中老年患者直肠癌术后复发的辅助治疗,由于其体质特殊,临床治疗中在注重疗效的同时,也需要考虑治疗方案的耐受性和患者的依从性,当前进行的相关临床试验主要集中于联合放化疗,如何选择最佳的化疗方案和最佳的放疗剂量是研究重点。

为2组,试验组30例,给予放疗(1.8-2.0 Gy/d, 5 d/wk, 总量为54-66 Gy)联合替吉奥;对照组28例,给予放疗(1.8-2.0 Gy/d, 5 d/wk, 总量为54-66 Gy)联合卡培他滨, 21 d为1周期,接受2个以上周期治疗后,评价疗效和不良反应。

**结果:** 58例患者均可评价疗效,试验组和对照组有效率(response rate, RR)分别为73.3%(22/30)、71.4%(20/28),中位进展时间分别为9.2和8.2 mo,中位生存时间分别为16.9、17.2 mo,两组差异无统计学差异( $P>0.05$ )。试验组与对照组主要不良反应为骨髓抑制、胃肠道反应、皮疹、放射性直肠炎,均可耐受,两组差异无统计学意义( $P>0.05$ ),对照组手足综合征明显高于试验组,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 两组疗效相似,替吉奥联合三维适形放疗方案组手足综合征发生率较低,耐受性优于卡培他滨联合组,为中老年直肠癌复发临床治疗提供参考。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 直肠癌; 三维适形放疗; 替吉奥; 卡培他滨; 疗效对比

**核心提示:** 我们评价了替吉奥对比卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌的临床疗效和安全性,结果表明两组疗效相似,替吉奥联合组手足综合征发生率较低,耐受性更好,可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案。

胡方宽, 王亚楠, 邓业巍, 王华胜, 张胜威, 李晓洁. 替吉奥或卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 439-443 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/439.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.439>

## 0 引言

直肠癌是最常见的恶性肿瘤之一,发病率居恶性肿瘤第3位,呈明显上升趋势,并随着年龄增加而不断增加,且60岁以上年龄组发病率更高<sup>[1,2]</sup>,手术为主的综合治疗成为推荐的治疗模式之一,直肠癌术后复发是死亡的主要原因,循证医学证据表明,术后化放疗可以进一步提高生存率<sup>[2]</sup>。对于直肠癌术后局部复发的老年患者,由于其体质特殊,耐受性较差,三维适形放疗有利于提高局部控制率,同步化疗可以进一步延长生存期,因而,探索有效的辅助放化疗方案成为研究

的热点。我科采用卡培他滨对比替吉奥联合三维适形放疗治疗局部复发直肠癌,取得较好的临床疗效,现将临床结果报道如下,为临床选择合理的辅助治疗方案提供参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2008-02/2011-02我科收治58例的直肠癌术后复发患者,全部行直肠癌根治性切除术,其中Mile's术27例, Dixon术31例;男性32例,女性26例;年龄56-78岁,中位年龄67岁;高分化腺癌8例,中分化腺癌16例,低分化腺癌26例,黏液腺癌6例,印戒细胞癌2例;并经组织病理学和超声、CT、MRI等检查证实有可测量的复发及转移淋巴结转移病灶,并排除远处转移,临床分期均为III/IV期。Karnofsky评分 $>70$ 分,预计生存期 $\geq 3$  mo,心、肝、肾、肺等重要器官功能基本正常,无外周神经疾病,无放化疗禁忌症;采用双盲操作,按临床试验随机对照原则,分为试验组(30例)和对照组(28例),两组患者一般资料具有可比性。治疗前签知情同意书和放化疗知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 试验组给予替吉奥联合三维适形放疗,替吉奥(商品名维康达,山东新时代药业有限公司)根据体表面积给药( $<1.25 \text{ m}^2$ , 40 mg;  $1.25-1.5 \text{ m}^2$ , 50 mg;  $>1.5 \text{ m}^2$ , 60 mg),早晚口服14 d,停药7 d, 21 d重复;三维适形放疗,患者仰卧位,首先增强CT扫描下行模拟定位,明确病灶,由放疗科、影像科及物理师共同勾画靶区,以CT示大体肿瘤体积及其周围亚临床靶体积确定为临床靶体积(clinical target volume, CTV)将CTV边缘向周围扩大5-15 mm,确定计划靶体积(planning target volume, PTV),同时注意保护器官,经三维重建,通过射野方向观和患者方向观设计治疗计划,以PTV几何中心为照射野中心,进行射束设计及权重调整,95%等剂量曲线包括PTV, 1.8-2.0 Gy/次, 5次/wk, 总剂量54-66 Gy。对照组给予卡培他滨联合三维适形放疗,卡培他滨(商品名希罗达,上海罗氏制药有限公司)2500 mg/d,早晚口服14 d,停药7 d, 21 d重复,三维适形放疗方案同上。化放疗期间常规给予保肝、护胃、止吐等支持治疗,骨髓抑制者给予人粒细胞集落刺激因子注射,出现手足综合征给予口服维生素B<sub>6</sub>、涂抹凡士林软膏,腹泻较严重者给予思密达、易蒙停等对症治疗,必要时减少延迟放化疗,或适当减量,疾病进展、患者拒

表 1 两组主要不良反应发生比较 (n)

不良反应	试验组	对照组	$\chi^2$	P值
白细胞减少			1.205	0.272
1-2级	13	15		
3-4级	2	3		
血小板减少			0.056	0.813
1-2级	11	12		
3-4级	2	1		
恶心呕吐			0.064	0.800
1-2级	12	13		
3-4级	2	1		
手足综合征			21.283	0.000
1-2级	2	16		
3-4级	0	2		
放射性直肠炎			0.000	1.000
1-2级	4	3		
3-4级	0	0		
皮疹			0.000	1.000
1-2级	4	3		
3-4级	1	1		

绝、出现严重不良反应等不适合继续治疗则终止治疗, 每2个周期后评价疗效, 有效及稳定者继续化疗2周期, 进展者更换其他方案. 采用电话或书信方式随访至2013-06, 每月随访1次.

1.2.2 观测指标: 疗效及不良反应评定标准: 按照WHO实体瘤客观评价标准, 分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)和进展(progressive disease, PD). 以CR+PR计算有效率(response rate, RR). 根据NCI-CTC 2.0标准评价治疗不良反应. 总生存时间(overall survival, OS)为从本方案治疗的开始日期至死亡或末次随诊的时间, 疾病进展时间(time to progression, TTP)为从本方案治疗的开始日期至客观证据表明疾病进展的时间.

**统计学处理** 所有试验数据采用SPSS17.0版软件进行统计学分析, 组间差异比较采用 $\chi^2$ 检验, 总体生存率采用Kaplan-Meier分析, 化疗反应的等级资料采用非参数秩和检验, 检验水准 $\alpha = 0.05$ .  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 治疗依从性 58例患者均完成治疗, 期间出现的不良反应经对症处理可恢复或好转, 依从性好, 并收集了完整的临床资料进行相关评估.

2.2 近期疗效 全部58例均可评价疗效, 试验组CR 4例, PR 18例, SD 6例, PD 2例, 总有效率

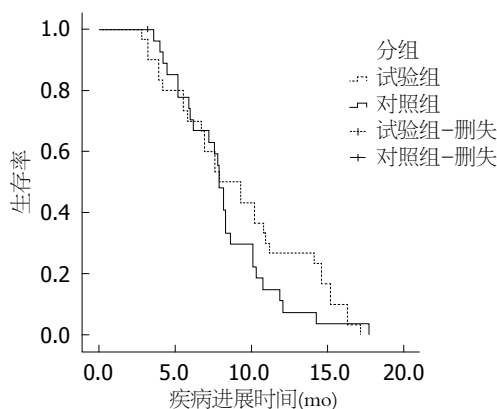


图 1 试验组与对照组间TTP的比较. TTP: 疾病进展时间.

(CR+PR)为73.3%(22/30), 2例行二次手术. 对照组CR 4例, PR 16, SD 5例, PD 3例, 总有效率(CR+PR)为71.4%(20/28), 两组间有效率之间无明显差异( $P > 0.05$ ).

2.3 不良反应 两组患者均未出现治疗相关性死亡, 未见因严重不良反应而停药者, 两组共有常见的不良反应为骨髓抑制、消化系反应、放射性直肠炎等, 多为1-2级, 少数患者出现3或4级, 对照组略高于试验组, 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 其中, 试验组2例患者出现IV度白细胞减少伴发热, 对照组出现1例IV度血小板降低, 经积极对症处理后好转, 推迟化疗5 d. 对照组手足综合征的发生率显著高于试验组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1).

2.4 远期疗效 试验组无失访病例, 对照组2例失访, 平均随访时间24 mo, A组、B组中位TTP分别为9.2 mo(95%CI: 7.6-10.8 mo)、8.2 mo(95%CI: 7.0-9.5 mo), 中位OS分别为16.9 mo(95%CI: 15.5-18.3 mo)、17.2 mo(95%CI: 16.2-18.2 mo), 采用Log-rank检验对TTP和OS曲线进行分析,  $\chi^2$ 分别为0.966和0.402( $P > 0.05$ ), 差异无统计学意义(图1, 2).

## 3 讨论

近年来, 随着我国老龄化加剧, 中老年直肠癌患者也逐渐增多, 发达国家75岁以上直肠癌患者占35%-40%<sup>[2]</sup>, 一项Meta研究入组55例试验, 共计3767例直肠癌患者, 表明R0切除率约为56%, 5年生存率约25%, 根治性手术后有较高的复发率, 且手术切除率随着年龄增加而降低, 复发率增加<sup>[2,3]</sup>, 因而, 如何提高中老年直肠癌术后复发患者的疗效成为临床研究的一个重要内容, 循证医学证据术后放化疗提高局部晚期直肠癌的

### ■ 相关报道

替吉奥和卡培他滨联合放疗在直肠癌中显示出较好的临床疗效, 但替吉奥对比卡培他滨联合放疗在中老年晚期复发直肠癌的临床疗效尚未见报道. 刘红欣等进行一项临床试验, 评价三维适形放疗同步替吉奥化疗治疗术后复发直肠癌的疗效, 结果表明该方案依从性较好, 总有效率70.0%, 1年局部控制率为62.5%, 并能改善患者的生活质量. 卡培他滨作为另一种新型靶向口服药物张培良等研究表明调强放疗联合卡培他滨同步化疗治疗直肠癌术后复发患者, 不良反应轻, 近期疗效确切, 值得在临床上进一步探讨. 我们研究表明替吉奥联合三维适形放疗组手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对较低, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案.

## ■创新盘点

我们研究主要评价替吉奥或卡培他滨联合三维适形放疗治疗中老年局部复发晚期直肠癌的临床疗效及其不良反应, 结果表明两组疗效相似, 但替吉奥联合三维适形放疗手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对较低, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案。

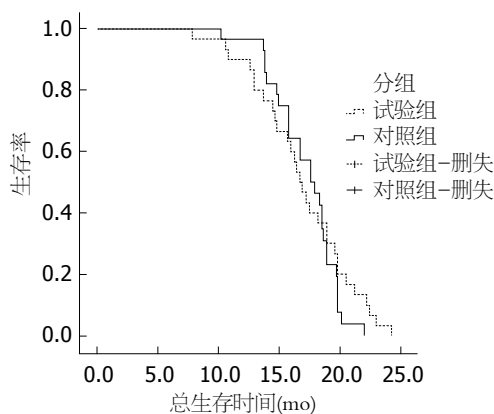


图2 试验组与对照组间OS的比较. OS: 总生存时间。

疾病控制率, 有可能进一步延长生存期<sup>[4]</sup>。

近年来, 替吉奥和卡培他滨联合放疗在直肠癌中显示出较好的临床疗效, 替吉奥是二代5-氟尿嘧啶(flourouracil, 5-FU)类药物, 由替加氟、吉美嘧啶和奥替拉西钾组成的复方制剂, 生物利用度高, 经肝药酶作用持续转化为5-FU发挥抗肿瘤作用, 并能降低5-FU引起的消化系统不良反应<sup>[5]</sup>。多项研究均表明替吉奥和/或奥沙利铂方案治疗局部晚期结直肠癌、老年晚期直肠癌、直肠癌术后复发以及功能状态评分较差晚期直肠癌, 不良反应少, 临床疗效确切, 安全性好<sup>[6-9]</sup>。刘红欣等<sup>[10]</sup>进行一项临床试验, 评价三维适形放疗同步替吉奥化疗治疗术后复发直肠癌的疗效, 结果表明该方案依从性较好, 总有效率70.0%, 1年局部控制率为62.5%, 并能改善患者的生活质量。卡培他滨作为另一种新型靶向口服药物, 多项研究<sup>[11-14]</sup>肯定了其在晚期直肠癌辅助治疗中的价值, 有效且安全性高。张培良等<sup>[15]</sup>研究表明调强放疗联合卡培他滨同步化疗治疗直肠癌术后复发患者, 不良反应轻, 近期疗效确切, 值得在临床上进一步探讨。Sadahiro等<sup>[16]</sup>报道替吉奥对比卡培他滨同步放疗治疗局部晚期、可切除的直肠腺癌, 结果表明两组临床疗效相似, 但替吉奥联合组不良反应更温和, 耐受性更好。

替吉奥对比卡培他滨联合放疗在中老年晚期复发直肠癌的临床疗效尚未见报道, 我们研究评价替吉奥或卡培他滨联合三维适形放疗的疗效及其不良反应, 结果表明两组总有效率分别为73.3%和71.4%, 中位TTP分别为9.2和8.2 mo, 中位OS分别为16.9和17.2 mo, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), 但有延长的趋势, 而且卡培他滨联合组手足综合征的发生率显著高于替吉奥联合组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 其他不

良反应发生率无统计学意义。

总之, 与三维适形放疗联合卡培他滨相比, 联合替吉奥治疗中老年局部复发晚期直肠癌, 临床疗效相似, 但手足综合征发生率较低, 更易被老年患者耐受, 且经济费用相对较低, 可以作为老年局部复发晚期直肠癌的一种有效治疗方案, 本试验由于样本量小、随访时间较短, 需要扩大样本进一步研究, 需要注意的是, 联合放疗最佳剂量的判定以及化疗或放疗的序贯组合与同步放化疗的疗效优劣问题, 都值得深入探究, 进而不断提高中老年晚期局部复发直肠癌患者的生活质量, 延长生存期。

#### 4 参考文献

- 1 吴菲, 林国桢, 张晋昕. 我国恶性肿瘤发病现状及趋势. 中国肿瘤 2012; 21: 81-85
- 2 Manceau G, Karoui M, Werner A, Mortensen NJ, Hannoun L. Comparative outcomes of rectal cancer surgery between elderly and non-elderly patients: a systematic review. *Lancet Oncol* 2012; 13: e525-e536 [PMID: 23182193 DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70378-9]
- 3 Tanis PJ, Doeksen A, van Lanschot JJ. Intentionally curative treatment of locally recurrent rectal cancer: a systematic review. *Can J Surg* 2013; 56: 135-144 [PMID: 23517634 DOI: 10.1503/cjs.025911]
- 4 Glynne-Jones R, Kronfli M. Locally advanced rectal cancer: a comparison of management strategies. *Drugs* 2011; 71: 1153-1177 [PMID: 21711061 DOI: 10.2165/11591330-000000000-00000]
- 5 Miura K, Shirasaka T, Yamaue H, Sasaki I. S-1 as a core anticancer fluoropyrimidine agent. *Expert Opin Drug Deliv* 2012; 9: 273-286 [PMID: 22235991 DOI: 10.1517/17425247.2012.652945]
- 6 宋法云, 许勤朴. 奥沙利铂联合替吉奥胶囊治疗晚期结直肠癌的临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 934-935
- 7 朱庆超, 金志明. 奥沙利铂联合替吉奥治疗结直肠癌的临床观察. 中华肿瘤杂志 2011; 33: 388-390
- 8 郭守俊, 康昭洵, 曾红学. 替吉奥联合奥沙利铂治疗老年晚期大肠癌的临床观察. 实用医学杂志 2012; 28: 3999-4000
- 9 张彤, 马晓, 张蕊. 替吉奥治疗老年或功能状态评分较差晚期结直肠癌患者的疗效观察. 中国全科医学 2013; 16: 305-307
- 10 刘欣红, 李为路. 三维适形放疗同步替吉奥化疗治疗术后复发直肠癌的疗效观察. 中华肿瘤杂志 2011; 32: 299-301
- 11 Fernández-Martos C, Nogué M, Cejas P, Moreno-García V, Machancoses AH, Feliu J. The role of capecitabine in locally advanced rectal cancer treatment: an update. *Drugs* 2012; 72: 1057-1073 [PMID: 22621694 DOI: 10.2165/11633870-000000000-00000]
- 12 Illum H. Current status of radiosensitizing agents for the management of rectal cancer. *Crit Rev Oncog* 2012; 17: 345-359 [PMID: 23176042 DOI: 10.1615/CritRevOncog.v17.i4.40]
- 13 Beets GL, Beets-Tan RG. Capecitabine in the treatment of rectal cancer. *Lancet Oncol* 2012; 13: 560-561 [PMID: 22652229 DOI: 10.1016/S1470-2045(12)70170-5]
- 14 帖晓静, 田永巍, 高岭, 李宁, 刘培杰, 徐志巧. 卡培他滨联合放疗治疗局部进展期直肠癌的疗效观察. 中国



- 全科医学 2013; 16: 1301-1303
- 15 张培良, 张佃富. 简化调强放疗同步卡培他滨治疗直肠癌术后复发临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2012; 19: 1103-1105
- 16 Sadahiro S, Suzuki T, Tanaka A, Okada K, Kamijo

A, Murayama C, Akiba T, Nakayama Y. Phase I/II study of preoperative concurrent chemoradiotherapy with S-1 for locally advanced, resectable rectal adenocarcinoma. *Oncology* 2011; 81: 306-311 [PMID: 22156392 DOI: 10.1159/000334580]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



#### ■同行评价

本文主要评价了替吉奥对比卡培他滨同步三维适形放疗治疗中老年复发直肠癌的临床疗效和安全性, 结果表明两组疗效相似, 但替吉奥联合组手足综合征发生率较低, 耐受性更好, 为中老年复发直肠癌术后复发的临床治疗提供参考。

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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

# 人大肠癌癌旁不同部位组织架构及相关分子差异

苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元

## ■背景资料

肿瘤的研究模式在逐渐发生改变, 过去人们专注于研究肿瘤细胞本身。近年来, 人们逐渐意识到组织结构及其重塑对肿瘤启动的重要意义。组织中细胞表面特征分子是反映组织结构变化的重要内容。

苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元, 广州中医药大学脾胃研究所 广东省广州市 510405

苏孟, 2011年广州中医药大学在读硕士, 主要从事大肠癌早期分子机制及中药干预的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173257

作者贡献分布: 此课题由文彬负责设计; 苏孟负责操作与完成论文的撰写; 胡丰良提供组织样本; 刘金元负责免疫组织化学数据的采集。

通讯作者: 文彬, 研究员, 510406, 广东省广州市机场路12号, 广州中医药大学脾胃研究所. wen\_bin2013@163.com

电话: 020-36585077

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2013-11-30

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-01-28

## Variance of crypt architecture and E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions

Meng Su, Bin Wen, Feng-Liang Hu, Jin-Yuan Liu

Meng Su, Bin Wen, Feng-Liang Hu, Jin-Yuan Liu, Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81173257

Correspondence to: Bin Wen, Researcher, Institute of Spleen and Stomach, Guangzhou University of Chinese Medicine, 12 Jichang Road, Guangzhou 510405, Guangdong Province, China. wen\_bin2013@163.com

Received: 2013-11-18 Revised: 2013-11-30

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-01-28

## Abstract

**AIM:** To observe the variation of crypt architecture, expression and distribution of E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions.

**METHODS:** Tissue samples at 10, 5 and 2 cm from the tumor lesion were collected. The variation of crypt architecture was observed among the three groups. E-cadherin and PAR-3 expression was detected by immunohistochemistry and Western blot.

**RESULTS:** With the distance getting closer to the tumor lesion, crypt architecture was de-

stroyed more and more obviously. Cell crypts were irregularly arranged, and some of them disappeared. With the distance getting closer to the tumor lesion, the expression of E-cadherin and PAR-3 decreased progressively, and E-cadherin and PAR-3 translocated gradually from the plasma membrane to the cytoplasm.

**CONCLUSION:** With the distance getting closer to the tumor lesion, crypt architecture was destroyed more and more obviously, and some crypts disappeared; E-cadherin and PAR-3 expression in crypt epithelial cells decreased progressively and gradually translocated from the plasma membrane to cytoplasm.

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

**Key Words:** E-cadherin; PAR-3; Crypt; Colorectal carcinoma; Tumor-adjacent tissue

Su M, Wen B, Hu FL, Liu JY. Variance of crypt architecture and E-cadherin and PAR-3 expression in tissues at different distances from colorectal cancer lesions. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 444-449  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/444.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.444>

## 摘要

**目的:** 观察在距大肠癌3个不同部位的癌旁组织隐窝微架构的变化及其相关上皮细胞特征分子E-cadherin和PAR-3表达分布差异。检测E-cadherin、PAR-3在距大肠癌病灶不同距离的癌旁组织中的表达及分布差异, 探讨其对大肠癌发生的意义。

**方法:** 从距离大肠癌病灶近端10、5、2 cm处获取组织样本, 并分别命名为1、2、3号位组织样本, 观察3个部位组织隐窝微架构变化规律, 并采用免疫组织化学(SP法)和半定量法Western blot检测1、2、3号位组织E-cadherin、PAR-3表达分布变化。

**结果:** 随着距离肿瘤病灶越来越近, 组织隐窝微架构破坏(隐窝微架构不整齐, 上皮缺损)愈

## ■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

来愈明显, 免疫组织化学及Western blot实验表明, 随着组织越来越靠近病灶, 上皮细胞表面E-cadherin和PAR-3表达量依次递减, 分布由细胞膜转向细胞浆愈来愈明显。

**结论:** 在大肠癌组织中, 越靠近病灶的癌旁组织, 隐窝微架构的变化越明显, 甚至完全消失, 而隐窝上皮细胞中E-cadherin和PAR-3表达也逐渐减弱, 且分布由细胞膜逐渐转向细胞浆。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** E-cadherin; PAR-3; 隐窝; 大肠癌; 癌旁组织

**核心提示:** 肿瘤的发生发展与组织结构的重塑密切相关。观察距离肿瘤不同距离部位组织结构变化及上皮细胞表面特征分子E-cadherin和PAR-3不同部位组织中的表达分布差异, 探讨其与组织微架构变化的关系, 具有重要意义。

苏孟, 文彬, 胡丰良, 刘金元. 人大肠癌旁不同部位组织架构及相关分子差异. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 444-449  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/444.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i3.444>

## 0 引言

2011年Hanahan和Weinberg<sup>[1]</sup>梳理肿瘤研究近40年的研究成果指出, 肿瘤是远远胜过健康组织而更能处理复杂功能的异常器官。肿瘤组织原则的构建使人们意识到正常组织结构的重塑对肿瘤的发生发展有重要意义<sup>[2]</sup>。组织结构及相关基质细胞的类型、丰度、表型特征是组织重塑的重要内容, 其改变与肿瘤的发生发展密切相关<sup>[3-5]</sup>。隐窝是肠上皮组织的基本结构单元, 也是承载着肠道疾病变化的基本结构单元。异常隐窝(aberrant crypt foci, ACF)是大肠癌变早期最早可见的组织形态学改变<sup>[6-8]</sup>。我们分别从距离肿瘤病灶不同部位取材, 观察不同部位组织结构及上皮细胞表面特征分子E-cadherin和PAR-3在不同部位癌旁组织中的表达分布差异表达变化, 以探讨分析组织结构及相关细胞表型特征对大肠癌发生发展中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 组织样本选取2012-04/2013-02在广州中医药大学第一附属医院, 广州军区总医院的结肠中分化腺癌患者, 其中男15例, 年龄为41-81岁, 中位数年龄63岁, 女8例, 年龄为42-76岁, 中位数



图1 标本取材部位示意图. 1号位: 距离病灶约10 cm; 2号位: 距离病灶约5 cm; 3号位: 距离病灶约2 cm。

年龄为58.5岁。所有大肠癌患者均为散发性大肠癌, 均经过纤维结肠镜检查 and 术后活组织病理确诊, 术前均未接受过放、化疗。每例病例依次取距离肿瘤病灶组织约10、5、2 cm 3个部位, 按顺序编为1、2、3号, 切取位置如图1所示。距离肿瘤病灶距离>5 cm的部位是公认的安全区, 被看做是正常的组织, 标记为1号位。距离肿瘤5 cm的组织被认为是中间位, 通常处于肿瘤浸润组织和正常组织之间, 标记为2号位。距离肿瘤1-3 cm的组织是公认的肿瘤浸润区, 标记为3号位, 被认为是最快发展为肿瘤的区域。免疫组织化学和Western blot选用的兔抗人多克隆抗体均购自北京博奥森生物有限公司, 包括E-cadherin(bs-1519R)、PAR-3(bs-9510R)兔抗人多克隆抗体, 免疫组织化学二抗试剂盒购自北京中杉金桥生物技术公司。Western blot实验所用的链脲佐菌素、亮肽酶、抑肽酶、叠氮钠、二硫苏糖醇均为Sigma产品, PVDF膜为Millipore产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学DAB显色及结果判定:** 所有组织均经4%多聚甲醛固定, 石蜡包埋。石蜡切片经二甲苯2次脱蜡, 每次10 min, 无水乙醇, 950 mL/L乙醇, 700 mL/L乙醇分别5 min梯度水化后, PBS清洗3次, 每次2 min, 3% $H_2O_2$ 阻断内源性过氧化物酶的活性, 于柠檬酸盐缓冲液中微波修复, 小牛血清孵育20 min, 加上一抗4 °C冰箱过夜, 以PBS代替一抗作阴性对照, 二抗37 °C孵育30 min, DAB显色, 复染, 封片。应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度(A)值, 每张切片随机测定6个视野, 定同一张切片上组织的A值作为背景, 免疫反应产物的A值减去背景A值得到校正的A值(CA)值, 即为各阳性产物的实际吸光度值, 然后求平均值作为该样本的CA值。用CA值进行分析和比较, 以避免染色过程中的非特异性染色等导致的误差。

**1.2.2 Western blot:** 在组织中加入蛋白裂解液, 低温离心, 取上清液作为蛋白样品并定量, 进行SDS-PAGE电泳, 转至PVDF膜, 用5%脱脂奶粉室温封闭, 一抗4 °C过夜, 洗膜, 二抗室温孵育, ECL显影。采用WO-9413B型凝胶成像系统自带软件Gelpro32来分析胶片中的蛋白条带, 并与

### ■ 研发前沿

肿瘤的启动, 首先表现为细胞表型和组织微架构的改变。E-cadherin和PAR-3作为细胞表面反映细胞特征形态的分子, 初步探讨肿瘤发生早期E-cadherin和PAR-3在细胞组织中的表达分布具有重要意义。



## ■ 相关报道

Wu, Yap报道了E-cadherin的黏附受体是构建健康组织原则的决定因素。更进一步的研究表明,与黏附、收缩相关的组织细胞空间架构模式决定了细胞的形态发生。进而我们应该探讨肿瘤发生过程中组织细胞形态及细胞特征分子的变化。

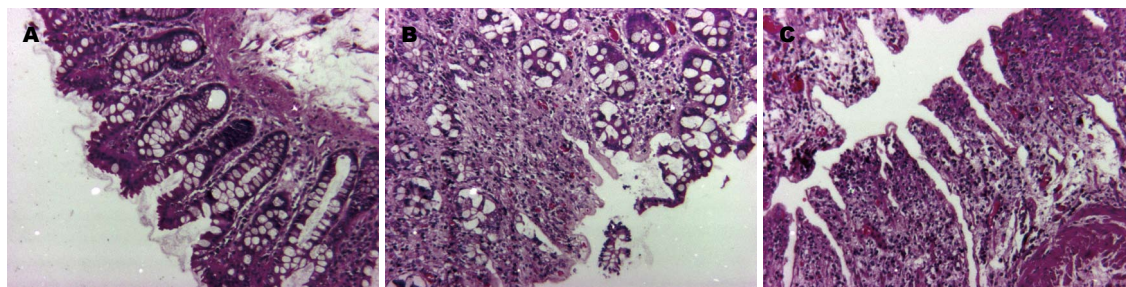


图2 大肠癌旁隐窝组织由远到近10、5、2 cm 3个部位HE染色图。A: 1号部位; B: 2号部位; C: 3号部位。

$\beta$ -actin的值相比,进行标准化。

**统计学处理** 各组实验数据以mean $\pm$ SD表示,采用SPSS6.0统计软件,计量资料进行均数比较采用t检验或方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 不同部位癌旁组织隐窝结构的变化与分析** 1987年,研究人员第一次在啮齿动物模型中,报道了大肠异常隐窝的大肠癌分子特征<sup>[9]</sup>,而推测异常隐窝可能是肠道最早的病变单元。2009年Gupta等<sup>[10]</sup>对各种相关文献进行了整理:从流行病学和分子生物学的角度进行研究都支持异常隐窝是结肠腺瘤的前体,是大肠癌发生早期的生物标识。正常隐窝和异常隐窝形态学有很大差别<sup>[11]</sup>。在大肠癌“腺瘤-癌”发生过程中,发育不良的隐窝具有发展为大肠癌的潜能,不同病变期隐窝的体积、形状、表面光滑度以及有无分支都与正常隐窝不同。这种组织原则的改变使细胞中生长信号的分泌和释放,控制都发生紊乱。我们分别从距离肿瘤病灶不同部位取材,观察距离肿瘤病灶不同部位组织隐窝结构变化的特征(图2),结果发现在距离肿瘤病灶最远端的1号部位组织中,隐窝结构基本正常,隐窝细胞呈单层排列(图2A),随着距离病灶越来越近,2号部位组织隐窝开始表现为出现增生,隐窝细胞发生密集,重叠,少部分细胞出现缺失,隐窝间质细胞增多(图2B)。在最靠近病灶的3号部位组织隐窝结构发生很大变化,细胞密集非常明显,丧失组织结构,间质细胞明显增多,细胞形态发生很大变化,甚至隐窝结构完全消失。越靠近肿瘤,隐窝异常程度越高(图2C)。比较这3个部位可以得出结论:越靠近肿瘤,隐窝结构异常程度越高,隐窝细胞排列方式及形态特征变化越大。

**2.2 不同部位大肠癌旁组织隐窝细胞E-cadherin表达分布** E-cadherin的黏附受体是构建健

康组织原则的决定因素<sup>[12]</sup>。有关E-cadherin经典的理论认为E-cadherin的生物学行为是通过与收缩肌动蛋白细胞骨架相互作用而激活,不仅是黏附作用,E-cadherin还可以调控收缩肌动蛋白本身的装配。更进一步的研究表明,与黏附、收缩相关的组织细胞空间架构模式决定了细胞的形态发生<sup>[13-15]</sup>。我们采用免疫组织化学法对不同隐窝部位上皮细胞E-cadherin表达分布进行了检测,结果显明1、2和3号部位组织中E-cadherin均有表达,但随着距离肿瘤病灶最远端的1号组织中,隐窝细胞排列规则,呈单层排列。E-cadherin主要表达分布在隐窝细胞膜上(图3),随着距离病灶组织越来越近,隐窝细胞出现增生密集,2号部位E-cadherin有部分表达于隐窝细胞胞浆中(图3),在距离病灶最近的3号组织中,隐窝细胞增生明显,且排列拥挤,E-cadherin主要表达于隐窝细胞的胞浆中(图3),应用IPP6.0病理图像分析软件测定各组免疫阳性产物的光密度值,1、2、3号部位光密度值分别为 $0.486219 \pm 0.03479$ 、 $0.296056 \pm 0.029211$ 、 $0.280068 \pm 0.034564$ 。统计学分析显示,E-cadherin表达在1号位组织和2号位组织有明显差异( $P<0.05$ ),有统计学意义,2号位组织和3号位组织没有明显差异( $P>0.05$ ),无统计学意义。

**2.3 不同部位大肠癌旁组织隐窝部位PAR-3表达分布** 上皮细胞分布在组织器官的内外表面,要将这些上皮细胞有机的分布在组织三维结构的表面,需要包括极性、黏附、生长等多种生理功能共同协作完成<sup>[16,17]</sup>。在此过程中,跨膜蛋白PAR-3是上皮组织最重要的极性的构建者和维持者,当PAR-3功能发生变化,则上皮细胞极性减少或消失,上皮细胞从上皮组织中逃逸出来,进入细胞间质,从而改变组织微环境。肿瘤的病理学研究发现,在肿瘤进程中,组织极性和细胞极性都将消失<sup>[18,19]</sup>。我们检测PAR-3在不同部位的免疫组织化学结果显示在1号部位主

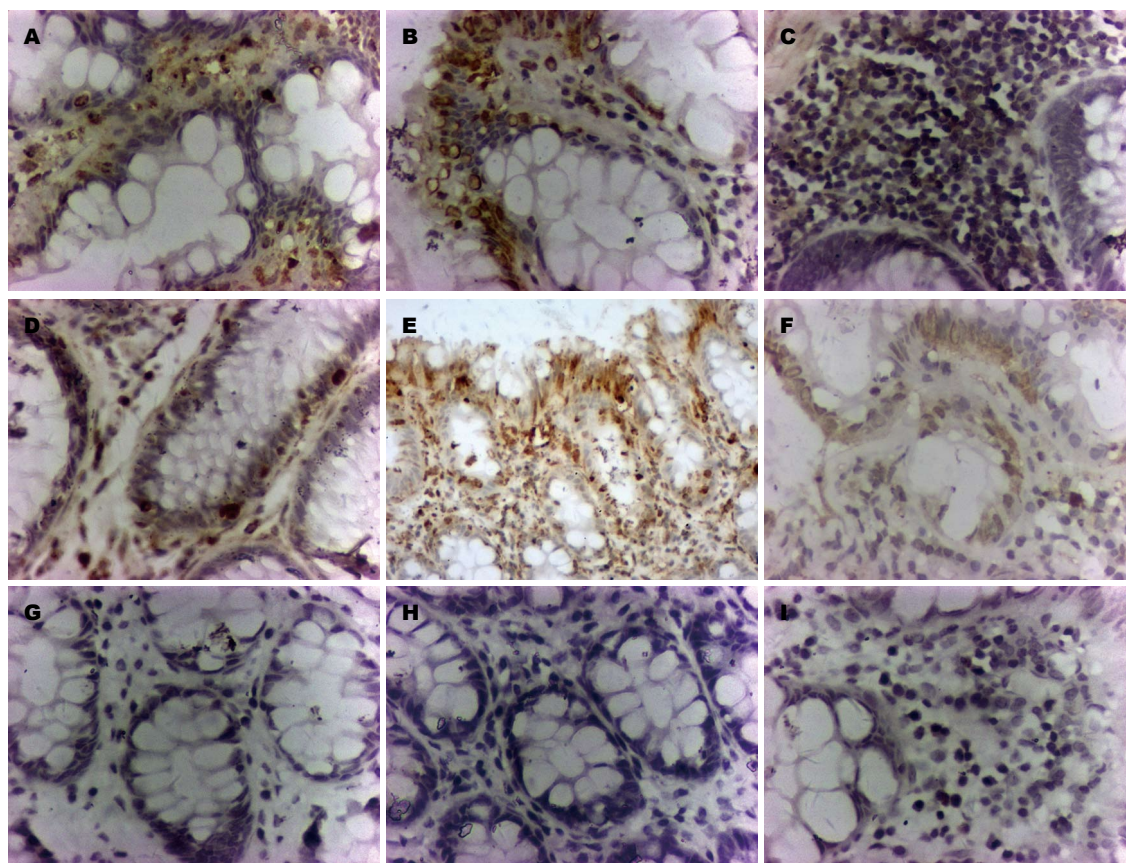


图 3 大肠癌旁隐窝组织由远到近10、5、2 cm 3个部位E-cadherin、PAR-3免疫组织化学图. A-C: E-cadherin组; D-F: PAR-3组; G-I: 空白对照组; A, D, G: 1号部位; B, E, H: 2号部位; C, F, I: 3号部位.

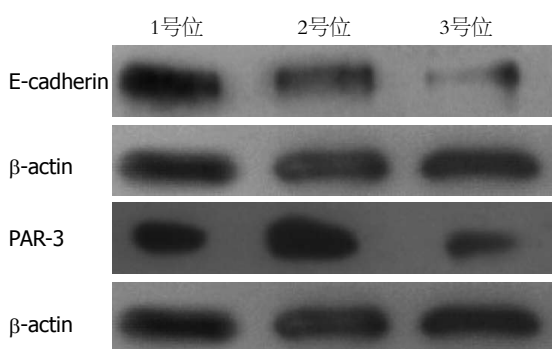


图 4 大肠癌旁隐窝组织由远到近10、5、2 cm 3个部位的Western blot图.

要表达分布在隐窝细胞膜和少量胞浆(图3), 2号组织PAR-3在少部分隐窝细胞膜和部分胞浆中表达(图3), 3号组织PAR-3则几乎全部表达于胞浆(图3). 对其进行光密度值测定, 1、2、3号部位值分别为 $0.45834 \pm 0.06501$ 、 $0.423177 \pm 0.03873$ 、 $0.350675 \pm 0.036247$ . 统计学分析显示, PAR-3表达在1号位组织和2号位组织没有显著差异( $P > 0.05$ ), 无统计意义, 在2号位和3号位差异显著( $P < 0.05$ ), 有统计学意义.

#### 2.4 E-cadherin、PAR-3在不同隐窝部位的免疫

印迹结果分析 Western blot免疫印迹反应的吸光度结果提示E-cadherin、PAR-3在1、2、3号部位呈递减关系(E-cadherin: 10.23, 6.85, 5.86; PAR-3: 9.78, 9.65, 9.45), 3个部位两两之间的差异性检测, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 隐窝微架构破坏与E-cadherin和PAR-3表达呈现明显负相关(图4).

### 3 讨论

近些年来, 肿瘤细胞中心观指导下的肿瘤研究模式受到了巨大的冲击, 以肿瘤相关机制为基础的肿瘤组织原则的构建, 使人们意识到组织结构重塑对肿瘤启动的重要意义. 正常组织可以精确地产生、释放、控制促进生长信号, 以维持正常组织架构和功能. 组织架构和内稳态的转变是肿瘤启动的早期信号. 大量研究表明, 组织微架构的重塑是肿瘤恶性启动的重要表征. 肿瘤恶性启动的本质就是癌细胞与其微环境相互作用的过程, 在肿瘤启动过程中, 癌细胞逐渐破坏了邻近的细胞与基质之间的正常联系, 原本这些联系可以使基质和细胞感受正常的信号

#### ■创新盘点

摒弃E-cadherin和PAR-3在肿瘤研究中的有关分子生物学的经典论述, 从生物学行为角度来阐述其对肿瘤发生发展的作用.



## ■应用要点

细胞表型分子表达分布与组织微架构变化相辅相成,对肿瘤发生早期以组织微架构为基础的研究有指导意义。

调节,以保证组织细胞的正常功能,但当癌细胞处于这个正常的组织微环境中,他可以尝试着重新去塑造一种新的表型和行为<sup>[20,21]</sup>。

正常的组织和细胞具有极性,能维持组织架构并且行使正常的生理功能。E-cadherin和PAR-3对维持组织细胞极性有重要作用,其表达分布与组织架构紧密相关。而在肿瘤进程中,组织极性和细胞极性都将消失<sup>[18]</sup>。探讨E-cadherin和PAR-3在肿瘤进程中的变化机制对研究肿瘤的启动有重要的意义。

隐窝结构的改变与E-cadherin和PAR-3表达分布密切相关,距离肿瘤病灶越近,表达逐渐减少,且分布由细胞膜转到细胞浆。E-cadherin和PAR-3不能在膜上表达时,细胞形态改变,极性消失<sup>[22-24]</sup>。据此可以推断在肿瘤发生过程中,上皮细胞失去自身稳定的结构,极性消失,细胞运动能力增强,转化成为活动能力较强的间质细胞表型,组织微架构发生变化。病理观察结果显示距离肿瘤病灶越近,隐窝细胞排列出现重叠,拥挤,间质细胞增多。隐窝是肠组织微架构的直接体现,肿瘤发生过程中,存在上皮-间质表型转化。

我们的研究显示,在癌变早期,肠组织发生了明显的形态学变化,出现异常隐窝病灶,距离肿瘤病灶越近,隐窝异常越明显,间质细胞增多,E-cadherin和PAR-3的表达由细胞膜逐步表达到达胞浆,并且表达量逐渐下降。E-cadherin和PAR-3都是极性相关分子,说明组织结构,微环境的变化及E-cadherin和PAR-3的表达下降均对大肠癌的启动有重要意义,可将二者结合运用于大肠癌早期分子机制研究,但是二者之间的相互作用机制仍需探索。

## 4 参考文献

- Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell* 2011; 144: 646-674 [PMID: 21376230 DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013]
- Ivanov AI, Naydenov NG. Dynamics and regulation of epithelial adherens junctions: recent discoveries and controversies. *Int Rev Cell Mol Biol* 2013; 303: 27-99 [PMID: 23445808 DOI: 10.1016/B978-0-12-407697-6.00002-7]
- Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology* 2013; 62: 367-386 [PMID: 23339363 DOI: 10.1111/his.12055]
- Tarin D. Cell and tissue interactions in carcinogenesis and metastasis and their clinical significance. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 72-82 [PMID: 21147229 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.12.006]
- Valásková Z, Kinová S, Danihel L, Duris I, Mar-

kovicová D, Mravec B, Hulín I. [The complexity of interactions of the tumour growth process]. *Vnitr Lek* 2009; 55: 1145-1158 [PMID: 20070031]

- Fuchs E, Tumber T, Guasch G. Socializing with the neighbors: stem cells and their niche. *Cell* 2004; 116: 769-778 [PMID: 15035980]
- Khare S, Chaudhary K, Bissonnette M, Carroll R. Aberrant crypt foci in colon cancer epidemiology. *Methods Mol Biol* 2009; 472: 373-386 [PMID: 19107443 DOI: 10.1007/978-1-60327-492-0\_17]
- Lopez-Ceron M, Pellise M. Biology and diagnosis of aberrant crypt foci. *Colorectal Dis* 2012; 14: e157-e164 [PMID: 22182185 DOI: 10.1111/j.1463-1318]
- Bird RP. Observation and quantification of aberrant crypts in the murine colon treated with a colon carcinogen: preliminary findings. *Cancer Lett* 1987; 37: 147-151 [PMID: 3677050]
- Gupta AK, Schoen RE. Aberrant crypt foci: are they intermediate endpoints of colon carcinogenesis in humans? *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 59-65 [PMID: 19114775 DOI: 10.1016/j.gie.2008.12.060]
- Tamura S, Furuya Y, Tadokoro T, Higashidani Y, Yokoyama Y, Araki K, Onishi S. Pit pattern and three-dimensional configuration of isolated crypts from the patients with colorectal neoplasm. *J Gastroenterol* 2002; 37: 798-806 [PMID: 12424563]
- Wu SK, Yap AS. Patterns in Space: Coordinating Adhesion and Actomyosin Contractility at E-cadherin Junctions. *Cell Commun Adhes* 2013; 20: 201-212 [PMID: 24205985]
- Gomez GA, McLachlan RW, Yap AS. Productive tension: force-sensing and homeostasis of cell-cell junctions. *Trends Cell Biol* 2011; 21: 499-505 [PMID: 21763139 DOI: 10.1016/j.tcb.2011.05.006]
- Levayer R, Lecuit T. Biomechanical regulation of contractility: spatial control and dynamics. *Trends Cell Biol* 2012; 22: 61-81 [PMID: 22119497 DOI: 10.1016/j.tcb.2011.10.001]
- Martin AC, Gelbart M, Fernandez-Gonzalez R, Kaschube M, Wieschaus EF. Integration of contractile forces during tissue invagination. *J Cell Biol* 2010; 188: 735-749 [PMID: 20194639 DOI: 10.1083/jcb.2009100991]
- Mohl PC, Lomax J, Tasman A, Chan C, Sledge W, Summergrad P, Notman M. Psychotherapy training for the psychiatrist of the future. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 7-13 [PMID: 2242103 DOI: 10.1016/j.devcel]
- Leung CT, Brugge JS. Outgrowth of single oncogene-expressing cells from suppressive epithelial environments. *Nature* 2012; 482: 410-413 [PMID: 22318515 DOI: 10.1038/nature10826]
- Huang L, Muthuswamy SK. Polarity protein alterations in carcinoma: a focus on emerging roles for polarity regulators. *Curr Opin Genet Dev* 2010; 20: 41-50 [PMID: 20093003 DOI: 10.1016/j.gde.2009.12.001]
- Zen K, Yasui K, Gen Y, Dohi O, Wakabayashi N, Mitsufuji S, Itoh Y, Zen Y, Nakanuma Y, Taniwaki M, Okanoue T, Yoshikawa T. Defective expression of polarity protein PAR-3 gene (PAR3) in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncogene* 2009; 28: 2910-2918 [PMID: 19503097 DOI: 10.1038/onc.2009.148]
- Nowell PC. Foundations in cancer research. Chromosomes and cancer: the evolution of an idea. *Adv Cancer Res* 1993; 62: 1-17 [PMID: 8109315]



- 21 Thiery JP. Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 442-454 [PMID: 12189386]
- 22 Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA. Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 2009; 139: 871-890 [PMID: 19945376 DOI: 10.1016/j.cell.2009.11.007]
- 23 Huang RY, Guilford P, Thiery JP. Early events in cell adhesion and polarity during epithelial-mesenchymal transition. *J Cell Sci* 2012; 125: 4417-4422 [PMID: 23165231 DOI: 10.1242/jcs.099697]
- 24 Mertens AE, Pegtel DM, Collard JG. Tiam1 takes PARt in cell polarity. *Trends Cell Biol* 2006; 16: 308-316 [PMID: 16650994]

**■同行评价**

本文提供了比较充足的有意义的信息, 能促进读者对肿瘤组织架构的理解, 并且实验结果可能使患者受益.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 以反复腹水为表现的嗜酸性细胞性胃肠炎2例

袁珂

### ■背景资料

嗜酸性细胞性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)是一种以胃肠道组织中嗜酸性粒细胞异常浸润为主要特征的罕见胃肠道疾病,病变可累及从食管到直肠整个胃肠道壁各层,临床表现多样,缺乏特异性,易误诊漏诊。发病率在1-20/10万,好发于30-40岁的中青年人群。

袁珂, 四川自贡市第四人民医院消化内科 四川省自贡市 643000

袁珂, 副主任医师, 主要从事胃肠病学方向的研究。

作者贡献分布: 本文由袁珂独立完成。

通讯作者: 袁珂, 副主任医师, 643000, 四川自贡市檀木林街2号, 自贡市第四人民医院消化内科。zgzyyk7113@163.com

电话: 0813-2204809 传真: 0813-5508012

收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-11-20

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-01-28

### Eosinophilic gastroenteritis manifesting as recurrent ascites: Report of two cases

Ke Yuan

Ke Yuan, Department of Gastroenterology, the Fourth People's Hospital of Zigong, Zigong 643000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Ke Yuan, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fourth People's Hospital of Zigong, 2 Tanmulin Street, Zigong 643000, Sichuan Province, China. zgzyyk7113@163.com

Received: 2013-10-10 Revised: 2013-11-20

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-01-28

### Abstract

Eosinophilic gastroenteritis manifesting as ascites is clinically rare. Here we report two cases of eosinophilic gastroenteritis with recurrent ascites as the main clinical manifestation. Blood and ascites showed increased eosinophils, and bone marrow smears showed significantly increased proportion of eosinophils. Gastric biopsy has a low detection rate, and glucocorticoid treatment is effective. Clinically, for unexplained ascites, eosinophilic gastroenteritis should be suspected.

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

Key Words: Eosinophilic gastroenteritis; Ascites; Repeatedly

Yuan K. Eosinophilic gastroenteritis manifesting as recurrent ascites: Report of two cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(3): 450-452 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/450.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.450>

### ■同行评议者

张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

### 摘要

以腹水为表现的嗜酸性细胞性胃肠炎临床少见, 表现特殊。本文2例嗜酸性细胞性胃肠炎以反复腹水为主要临床表现, 血及腹水嗜酸性粒细胞增多, 骨髓涂片嗜酸比例明显增多, 胃黏膜活检阳性率不高, 对糖皮质激素治疗有效。临床对原因不明的腹水, 应警惕嗜酸性细胞性胃肠炎可能。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 嗜酸性细胞性胃肠炎; 腹水; 反复

**核心提示:** 嗜酸性细胞性胃肠炎(浆膜病变型)临床少见, 主要表现为反复发作的腹水, 外周血及腹水嗜酸性粒细胞增多, 骨髓涂片嗜酸比例明显增多, 胃黏膜活检阳性率不高, 糖皮质激素治疗有效。临床对原因不明的腹水, 应警惕嗜酸性细胞性胃肠炎可能。

袁珂. 以反复腹水为表现的嗜酸性细胞性胃肠炎2例. 世界华人消化杂志 2014; 22(3): 450-452 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/450.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i3.450>

### 0 引言

嗜酸性细胞性胃肠炎自1937年Kaijse第一次报道以来, 相关研究及病例报道不断。过去10年原发的嗜酸性细胞性胃肠炎患病率明显增加, 这一方面可能由于对该疾病的认识加深及诊断技术的提高, 另一方面可能是该病发病率确实提高。现报道我院收治的2例嗜酸性细胞性胃肠炎病例。

### 1 病例报告

病例1: 患者, 女, 18岁, 学生。因反复腹胀、腹痛6年, 再发7 d入院。患者6年前始先后出现4次腹胀、腹痛, 伴恶心、呕吐, 在院外就医, 每次均发现腹水, 服药后4-7 d好转, 每次发作无确切饮食诱因。本次因连续进食鸡蛋5 d后出现腹胀、腹痛, 进食后加重, 伴恶心、呕吐胃内容物, 门诊彩超提示肝胆脾胰肾未见异常, 腹腔大量腹水。既往未发现药物、食物过敏史。入院后专

科查体: 一般情况良好, 眼睑无水肿, 皮肤、巩膜无黄染, 未见肝掌、蜘蛛痣。心肺无异常。腹软、膨隆, 未见腹壁静脉曲张, 全腹散在压痛, 无反跳痛, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(++), 双下肢无水肿。入院后检查: 血白细胞 $14.46 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞36.9%, 嗜酸性粒细胞计数 $5.33 \times 10^9/L$ 。肝肾功能、胆红素、蛋白水平均未见异常。乙肝两对半均为阴性。抗核抗体(-), 抗线粒体抗体(-), 补体C3、补体C4、IgA、IgG、IgM都不高。大便饱和盐水未找到虫卵, 肝吸虫抗体(-), 肺吸虫抗体(-), 血吸虫抗体(-), 包虫抗体(-), 囊虫抗体(-), PPD(-), SR 2 mm/h。腹水: 黄, 混, 李凡他阳性, 白细胞总数 $8.10 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞数为 $4.62 \times 10^9/L$ (占0.57), 淋巴细胞占0.29, 中性粒细胞占0.14, 蛋白23.4 g/L。胸片示心肺未见异常, 腹部CT示肝胆胰脾、双肾未见异常, 腹腔积液。胃镜示浅表性胃炎伴糜烂, 糜烂性十二指肠炎, 胃窦黏膜活检示慢性炎症。骨髓: 嗜酸比例明显增多占25%, 符合嗜酸性粒细胞增多骨髓象。入院第5天复查: 血白细胞 $12.68 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞46.9%, 嗜酸性粒细胞计数 $5.95 \times 10^9/L$ 。第10天给予强的松30 mg qd治疗, 用药5 d后复查血白细胞 $12.48 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞2.2%, 嗜酸性粒细胞计数 $0.28 \times 10^9/L$ 。腹部彩超未见腹腔积液。继续治疗5 d后停药, 随访3 mo未见复发。

病例2: 患者, 男, 49岁, 农民。因反复腹泻、腹水4年, 再发20 d入院。患者4年前始先后出现5次腹泻, 腹泻后出现腹水, 无饮食药物诱因。当地医院诊断为“肝硬化腹水”, 服中药后腹水消失, 未进一步检查及治疗。20 d前无明显诱因再次因腹泻后出现腹水, 伴恶心、纳差、尿少, 为进一步治疗转入本院。患者无肝炎病史, 饮酒20年, 100 g/d。未发现药物、食物过敏史。入院后专科查体: 一般情况良好, 眼睑无水肿, 皮肤、巩膜无黄染, 未见肝掌、蜘蛛痣。心肺无异常。腹软、膨隆, 未见腹壁静脉曲张, 全腹无压痛, 肝脾肋下未及, 移动性浊音(++), 左踝部轻度浮肿。实验室检查: 血白细胞 $9.15 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞22.7%, 嗜酸性粒细胞计数 $2.08 \times 10^9/L$ 。肝肾功能、蛋白水平正常, 总胆红素 $29.8 \mu\text{mol/L}$ , 直接胆红素 $7.8 \mu\text{mol/L}$ 。乙肝两对半均为阴性。抗中性粒细胞胞浆抗体(-), 抗核抗体(-), 抗线粒体抗体(-), 补体C3、补体C4不高, IgA、IgG、IgM都不高。大便饱和盐水未找到虫卵, 肝吸虫抗体(-), 肺吸虫抗体(-), 血吸虫抗体(-), 包虫抗体(-), 囊虫抗体(-), PPD(-), SR 7 mm/h。B超示肝

回声改变, 胆囊内胆汁淤积, 腹腔积液。腹水: 黄, 稍混浊, 李凡他阳性, WBC  $10.25 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞数为 $9.22 \times 10^9/L$ (占0.90), 白蛋白20.8 g/L。骨髓: 粒系增生活跃, 嗜酸比例明显增多占16%。胃镜示: 浅表性胃炎, 十二指肠炎。胃镜病理示: 慢性炎症, 没有报嗜酸粒细胞增多及浸润。联系病理科做嗜酸染色, 结果证实: 黏膜层大量嗜酸粒细胞浸润。治疗: 双氢克尿噻、安体舒通小剂量利尿及对症治疗5 d后, 腹泻停止。复查血白细胞 $8.36 \times 10^9/L$ , 嗜酸性粒细胞25.4%, 嗜酸性粒细胞计数 $2.78 \times 10^9/L$ 。彩超示少量腹水。给予强的松30 mg qd治疗4 d后复查嗜酸细胞5.02%, 嗜酸细胞计数 $0.53 \times 10^9/L$ , 彩超示腹水消失。继续治疗3 d后停药, 随访1 mo未见复发。

## 2 讨论

嗜酸性胃肠炎(eosinophilic gastroenteritis, EG)是以胃肠道组织中嗜酸粒细胞异常浸润为特征的罕见胃肠道疾病, 病变可累及从食管到直肠的全胃肠道壁各层, 典型病例多见于30-40岁患者, 但可发生于任何年龄。EG分为3型: (1)黏膜病变型, 最常见, 表现为黏膜内大量嗜酸性粒细胞浸润, 伴明显的上皮细胞异常, 肠绒毛可完全消失, 以消化吸收不良症状为主要表现。(2)肌层病变型, 较少见, 浸润以肌层为主, 胃肠壁增厚, 僵硬, 呈结节状, 可致胃肠梗阻。(3)浆膜病变型, 罕见, 浸润以浆膜为主, 浆膜增厚, 并可累及肠系膜淋巴结, 可引起腹膜炎、腹水。腹腔镜或剖腹探查活检可见浆膜下嗜酸粒细胞浸润, 腹水中可见大量嗜酸粒细胞。以上3型可单独出现或混合出现。

EG的病因不甚明确, 一般认为是由外源性或内源性过敏原引起的变态反应所致。近半数患者个人或家族有哮喘、过敏性鼻炎、湿疹或荨麻疹等病史; 部分患者的症状可由某些食物如牛奶、蛋类、羊肉、海虾或某些药物诸如磺胺、痢特灵和消炎痛等诱发<sup>[1]</sup>, 其发病机制可能为易致敏的食物、药物等通过消化系时使黏膜免疫系统被活化、致敏, T淋巴细胞释放细胞因子作用于造血干细胞, 引起嗜酸性粒细胞增多。

临床上消化系症状并无特异性, 确诊需组织学证实胃肠道组织大量嗜酸性粒细胞浸润<sup>[2]</sup>。Talley<sup>[3]</sup>提出的诊断标准: (1)有胃肠道症状; (2)病理活检证实有一个或一个以上部位的嗜酸性粒细胞浸润; (3)除外寄生虫感染和胃肠道外嗜酸性粒细胞增多的疾病。外周血及骨髓中嗜酸

■研发前沿  
EG的病因、发病机制目前尚不清楚。一般认为是由外源性或内源性过敏原引起的变态反应所致。



■同行评价  
本文具有一定的  
临床意义。

性粒细胞增多是诊断EG的重要提示,腹水嗜酸性粒细胞升高对诊断EG有重要意义,内镜下黏膜活检证实胃肠道黏膜组织有嗜酸性粒细胞浸润(>20个/HP),是诊断EG的关键<sup>[4]</sup>。胃肠道嗜酸性粒细胞浸润常呈局灶性分布,内镜下黏膜活检可能为阴性表现,因此内镜下多点活检(6点以上)可有效提高诊断率<sup>[5]</sup>。

此种病例易误诊漏诊。文献报道确诊时间1 mo到8年不等<sup>[6]</sup>。结合本文病例及文献复习,分析误诊原因:(1)对EG认识不足。对有消化不良症状的患者常规治疗无效,尤其有过敏史或进食某类食物、药物后出现胃肠道症状应警惕EG可能。但据文献报道,仍有近一半的患者无食物过敏史。本文2例未发现药物及食物过敏史,1例本次发病可疑与连续高蛋白饮食有关;(2)血常规:有消化系症状、血常规中嗜酸性粒细胞轻-中度增高,排除寄生虫感染的患者应警惕EG的可能。如嗜酸性粒细胞中-重度增高,则注意排除原发性血液系统疾病(淋巴瘤、骨髓增殖性疾病等)、免疫性疾病、嗜酸粒细胞白血病、特发性嗜酸粒细胞增多症等。本文2例外周血嗜酸性粒细胞22.7%-46.99%,嗜酸性粒细胞计数 $2.08 \times 10^9$ - $5.95 \times 10^9$ /L,大便饱和盐水未找到虫卵,肝吸虫抗体(-),肺吸虫抗体(-),血吸虫抗体(-),包虫抗体(-),囊虫抗体(-),骨髓嗜酸比例明显增多16%-25%,排除了寄生虫感染及血液系统疾病;(3)腹水:不明原因的腹水患者要考虑EG的可能。不要想当然认为是肝硬化腹水,可结合生化和B

超排除之。腹水离心沉渣涂片染色进行细胞分类有重要意义。本文2例腹水嗜酸性粒细胞数占0.57-0.90,明显升高;(4)内镜活检阳性率普遍不高。对一般炎性病变不活检或活检的点数及深度不够,是造成漏诊的重要原因,阴性的可考虑做嗜酸染色。本文2例胃黏膜活检阴性,估计活检点数及深度不够有关,但1例做嗜酸染色阳性支持诊断,避免了误诊漏诊的发生。

本病为自限性变态反应性疾病,可反复发作,长期随访未见恶变,多数预后良好。疾病发作后用糖皮质激素可迅速控制症状。EG临床上较为罕见,症状表现多样。易发生误诊漏诊。临床对原因不明的腹水,应警惕嗜酸细胞性胃肠炎可能。

### 3 参考文献

- 1 潘国宗,曹世植.现代胃肠病学.第2版.北京:科学出版社,1994:1177-1180.
- 2 郑琴芳,梁列新,梁荣新.以消化道症状为主要表现的嗜酸性粒细胞增多症14例.实用医学杂志 2007; 3: 1686-1687
- 3 Talley NJ, Shorter RG, Phillips SF, Zinsmeister AR. Eosinophilic gastroenteritis: a clinicopathological study of patients with disease of the mucosa, muscle layer, and subserosal tissues. *Gut* 1990; 31: 54-58 [PMID: 2318432]
- 4 康晋,秦耿.嗜酸细胞性胃肠炎的诊治.中日友好医院学报 2012; 26: 236-238
- 5 张安忠,杨崇美,崔凯.嗜酸细胞性胃肠炎的临床和内镜特点.中国内镜杂志 2007; 13: 602-604
- 6 Wienand B, Sanner B, Liersch M. [Eosinophilic gastroenteritis as an allergic reaction to a trimethoprim-sulfonamide preparation]. *Dtsch Med Wochenschr* 1991; 116: 371-374 [PMID: 2001640]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的



相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, E-mail: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。



## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白浪 副教授  
四川大学华西医院感染性疾病中心

蔡开琳 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

杜雅菊 教授  
哈尔滨医科大学附属第二医院消化内科

樊晓明 教授  
复旦大学附属金山医院消化科

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

葛海燕 教授  
同济大学附属第十人民医院普通外科

郭晓钟 教授  
沈阳军区总医院消化内科

郝丽萍 副教授  
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何敏 教授  
广西医科大学医学科学实验中心

何松 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

季国忠 教授  
南京医科大学第二附属医院消化科

姜春萌 教授  
大连医科大学附属第二医院消化科

姜相君 主任医师  
青岛市市立医院消化科

李涛 副主任医师  
北京大学人民医院肝胆外科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

刘丽江 教授  
江汉大学医学院病理学

刘亮明 副教授  
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

缪应雷 主任医师  
昆明医科大学第一附属医院消化内科

宁钧宇 副研究员  
北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

齐清会 教授  
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师  
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

唐文富 副教授  
四川大学华西医院中西医结合科

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院肝胆外科(普外二科)

王江滨 教授  
吉林大学中日联谊医院

王来友 副教授  
广东药学院中医药研究院

肖秀英 副主任医师  
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

俞继卫 副主任医师  
上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

张力为 副教授  
新疆医科大学第一附属医院胸外科

智绪亭 教授  
山东大学齐鲁医院普外科

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：







Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

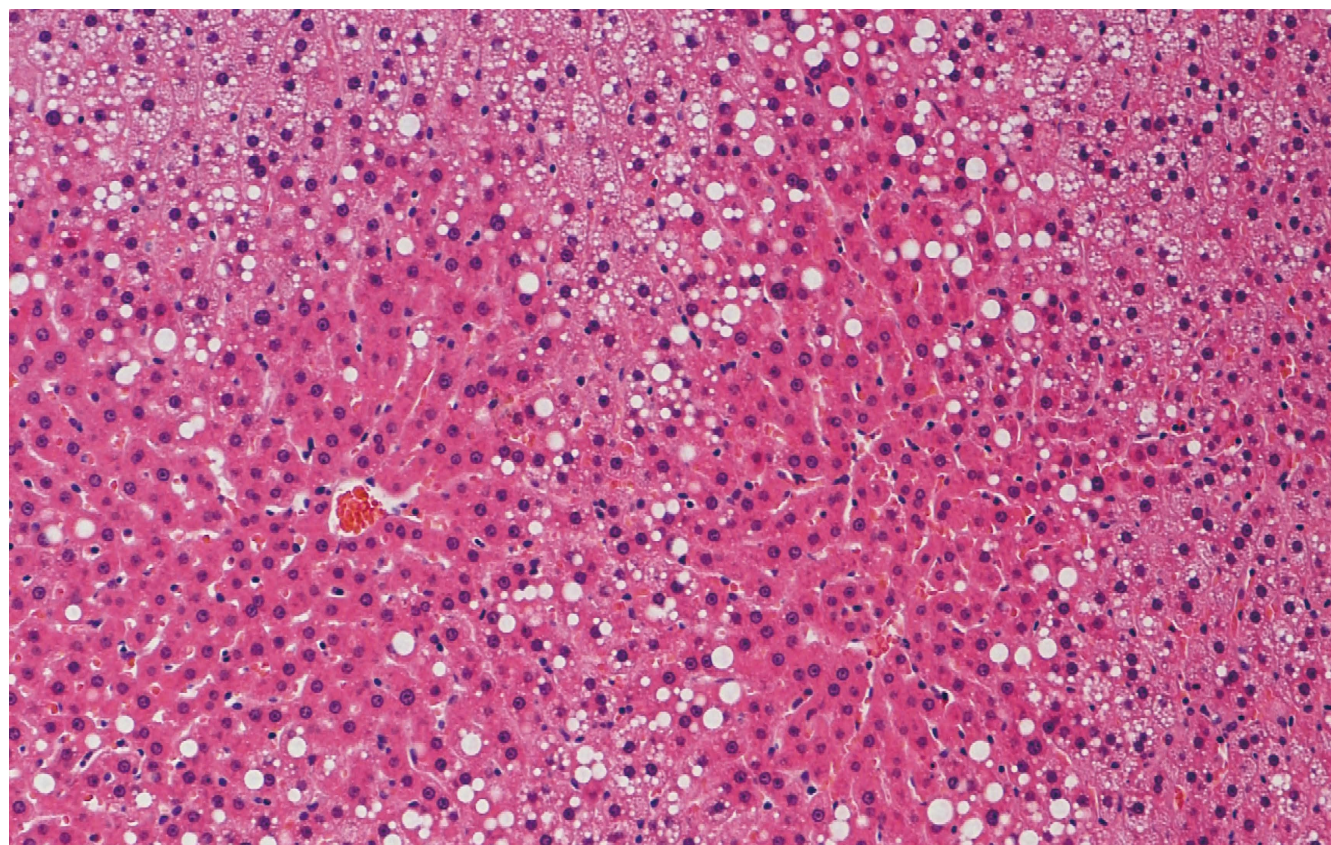


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 2 月 8 日      第 22 卷      第 4 期      (Volume 22 Number 4)**



**4/2014**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授



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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 2 月 8 日 第 22 卷 第 4 期 (总第444期)

述 评	453 基于电-机复合机制实现胃动力学的检测与评价 赵舒, 任超世
基础研究	461 P162通过抑制Chk1/2表达增加食管癌细胞株Eca109的放射敏感性 张红, 吴清明, 龙辉, 陈洁, 陈建华 469 shRNA maspin/ pGenesil-1.1表达载体的构建及意义 倪江涛, 杨紫汐, 易永芬 476 藤黄对人结肠癌HCT116细胞裸鼠原位移植模型的作用 竺平, 谷云飞, 杨柏霖, 林秋, 丁义江
临床研究	483 不同剂量咪唑安定在肥胖患者无痛胃肠镜麻醉中的作用 李红培, 李皓, 刘毅, 张宏
文献综述	488 胃食管反流病中西医治疗的进展 汪晓奕, 朱凌云 494 肿瘤干细胞相关信号通路在胃癌发生发展中的研究进展 席小龙, 姜波健, 俞继卫 501 长链非编码RNA在胃癌中的研究进展 胡谦, 胡小云 508 锌指蛋白A20对炎症反应和细胞凋亡的调控作用及其在炎症性肠病中的影响 季蓉, 吴煥淦, 施茵 515 半乳糖凝集素-9与炎症性肠病关系的研究进展 朱丽萍, 王鹏举, 刘静, 李林静, 李治国, 江红艳, 冯百岁 521 炎症性肠病与间充质干细胞的研究进展 林艳, 郑长青 527 IGRA及TB-PCR在肠结核与克罗恩病鉴别诊断中的价值 张俊, 高峰 533 潜在可切除结肠癌肝转移转化治疗的研究进展 吴斌, 杨金坤, 朱莹杰
研究快报	541 肝内型门脉高压大鼠门静脉超微结构及生物力学特性的改变 文彬, 邓鑫, 陈然, 彭佩纯 546 葛根芩连汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的影响 续畅, 王允亮, 张慧芹, 刘泽洲, 郝钰, 牛建昭, 李军祥 553 RNA干扰技术沉默MCM7基因对人肝癌SMMC-7721细胞生物学行为的影响 孙雯, 曹骥, 卢晓旭, 朱伶群, 杨春, 欧超, 骆成飘, 李媛, 苏建家 563 As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 对体外肠癌细胞HCT116生长和增殖周期的影响 蔡朋朋, 冯越, 王东红, 周艳, 孙丽慧, 李晶
临床经验	568 α体甘草酸制剂对早期自身免疫性肝炎炎症活动的控制作用 司常云, 徐芸, 保洁 573 IL-18与肝癌家族聚集性的相关性 莫金英, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦 578 ENBD与ERBD治疗急性梗阻性胆管炎56例 谢宏民, 杨新魁, 李佳璇 583 两种亚型FD患者的口盲传递时间 付遥鑫, 刘诗 588 普芦卡必利治疗慢性便秘的系统评价 侯毅, 谷云飞, 朱秉宜 596 RT-PCR技术定量检测新疆溃疡性结肠炎患者肠道菌群的变化 蒋曼, 高鸿亮, 姚萍 601 注水法与注气法在老年患者结肠镜检查中的比较 王文静, 高建新, 钱晶瑶, 齐艳荣, 孙明昊, 韩海英, 刘文天

病例报告	606 回盲部病变1例 王玉珍, 胡义亭, 杨晶, 苏少慧
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	460 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 475 《世界华人消化杂志》出版流程 493 《世界华人消化杂志》栏目设置 500 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 514 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 540 《世界华人消化杂志》外文字符标准 552 《世界华人消化杂志》修回稿须知 572 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标 577 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 582 《世界华人消化杂志》正文要求 587 《世界华人消化杂志》参考文献要求 595 WJG总被引频次排名位于第174名
封面故事	续畅, 王允亮, 张慧芹, 刘泽洲, 郝钰, 牛建昭, 李军祥. 葛根芩连汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 546-552 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/546.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/546.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.546">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.546</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 闫晋利, 鲁亚静; 组版编辑 闫晋利; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-02-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有



# World Chinese Journal of Digestology

**February 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 4**

<b>EDITORIAL</b>	453 Gastric motility measurement and evaluation based on electrical-mechanical composite mechanism <i>Zhao S, Ren CS</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	461 P162 increases radiosensitivity of esophageal cancer cell line Eca109 by inhibiting Chk1/2 expression <i>Zhang H, Wu QM, Long H, Chen J, Chen JH</i> 469 Construction of a eukaryotic expression vector containing shRNA targeting maspin <i>Ni JT, Yang ZX, Yi YF</i> 476 Effects of gamboge in an orthotopic mouse model of colon cancer <i>Zhu P, Gu YF, Yang BL, Lin Q, Ding YJ</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	483 Midazolam for painless gastrointestinal endoscopy in obese patients <i>Li HP, Li H, Liu Y, Zhang H</i>
<b>REVIEW</b>	488 Progress in treatment of gastroesophageal reflux disease by traditional Chinese medicine and Western <i>Wang XY, Zhu LY</i> 494 Cancer stem cell-related signaling pathways in development of gastric cancer <i>Xi XL, Jiang BJ, Yu JW</i> 501 Long non-coding RNAs and gastric carcinoma <i>Hu Q, Hu XY</i> 508 Regulatory effect of zinc finger protein A20 on inflammation and apoptosis: Implications for inflammatory bowel disease <i>Ji R, Wu HG, Shi Y</i> 515 Galectin-9 and inflammatory bowel disease <i>Zhu LP, Wang PJ, Liu J, Li LJ, Li ZG, Jiang HY, Feng BS</i> 521 Inflammatory bowel disease and mesenchymal stem cells <i>Lin Y, Zheng CQ</i> 527 Value of interferon- $\gamma$ release assay and polymerase chain reaction for <i>Mycobacterium tuberculosis</i> in differentiation of intestinal tuberculosis from Crohn's disease <i>Zhang J, Gao F</i> 533 Conversion therapy for colorectal cancer patients with potentially resectable liver metastases <i>Wu B, Yang JK, Zhu YJ</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	541 Changes in ultrastructure and biomechanical properties of the portal vein in rats with intrahepatic portal hypertension <i>Wen B, Deng X, Chen R, Peng PC</i> 546 Effects of Gegen Qinglian Tang on high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats <i>Xu C, Wang YL, Zhang HQ, Liu ZZ, Hao Y, Niu JZ, Li JX</i> 553 Effects of RNA interference-mediated <i>MCM7</i> knockdown on biological behavior of human liver cancer SMMC-7721 cells <i>Sun W, Cao J, Lu XX, Zhu LQ, Yang C, Ou C, Luo CP, Li Y, Su JJ</i> 563 Effect of arsenic trioxide on growth and cell cycle progression in colon cancer cell line HCT116 <i>Cai PP, Feng Y, Wang DH, Zhou Y, Sun LH, Li J</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	568 Efficacy of $\alpha$ -glycyrrhizic acid in management of early autoimmune hepatitis <i>Si CY, Xu Y, Bao J</i> 573 Correlation between IL-18 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma <i>Mo JY, Wu JZ, Wu JL, Wei YH, Zhang L, Ning QY, Hu DF, Wan PQ</i> 578 Treatment of acute obstructive cholangitis by ENBD and ERBD: Analysis of 56 cases <i>Xie HM, Yang XK, Li JX</i> 583 Assessment of orocecal transit time by breath hydrogen test in two subtypes of functional dyspepsia <i>Fu YY, Liu S</i> 588 Prucalopride for treatment of chronic constipation: A systematic review <i>Hou Y, Gu YF, Zhu BY</i> 596 Quantification of intestinal microflora in ulcerative colitis patients using real-time PCR <i>Jiang M, Gao HL, Yao P</i> 601 Water injection versus air insufflation for colonoscopy in elderly patients <i>Wang WJ, Gao JX, Qian JY, Qi YR, Sun MH, Han HY, Liu WT</i>

<b>CASE REPORT</b>	606 A case of ileocecal lesion <i>Wang YZ, Hu YT, Yang J, Su SH</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Xu C, Wang YL, Zhang HQ, Liu ZZ, Hao Y, Niu JZ, Li JX.</i> Effects of Gegen Qinglian Tang on high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(4): 546-552 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/546.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/546.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.546">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.546</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Jin-Li Yan, Ya-Jing Lu</i> Electronic Page Editor: <i>Jin-Li Yan</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** February 8, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

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

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# 基于电-机复合机制实现胃动力学的检测与评价

赵舒, 任超世

赵舒, 任超世, 中国医学科学院, 北京协和医学院生物医学工程研究所 天津市 300192

赵舒, 博士, 助理研究员, 主要从事生物电阻抗技术基础与临床应用研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81301288

作者贡献分布: 赵舒完成论文写作; 任超世修改、审定.

通讯作者: 任超世, 教授, 博士生导师, 300192, 天津市南开区白堤路236号, 中国医学科学院生物医学工程研究所.

renbme@163.com

电话: 022-87891583

收稿日期: 2013-10-30 修回日期: 2013-12-10

接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-02-08

## Gastric motility measurement and evaluation based on electrical-mechanical composite mechanism

Shu Zhao, Chao-Shi Ren

Shu Zhao, Chao-Shi Ren, Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81301288

Correspondence to: Chao-Shi Ren, Professor, Institute of Biomedical Engineering, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, 236 Baidi Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. renbme@163.com

Received: 2013-10-30 Revised: 2013-12-10

Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Gastric motility and emptying are a composite course involving electrical activity and mechanical contraction. In the research of gastric motility, the electrical activity should be closely connected to the subsequent mechanical contraction based on the understanding of electrical-mechanical composite mechanism. Existing simulation research and clinical research suggest that electrogastrogram (EGG) signals can provide physiological time scales, and gastric motility can be extracted from impedance signals. According to the coupling of the myoelectric activity and the mechanical contraction of the stomach, the correlation analysis of multiple signals can be performed. And then the influence of various factors such as the range, time and transmission distance of the gastric contraction

can be deeply explored. The method combining gastric impedance and synchronous EGG measurements is effective and promising for evaluating gastric motility.

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

**Key Words:** Gastric motility; Electrical-mechanical composite mechanism; Electrical bioimpedance; Electrogastrogram

Zhao S, Ren CS. Gastric motility measurement and evaluation based on electrical-mechanical composite mechanism. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 453-460 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/453>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.453>

## 摘要

胃的运动和排空是一个复杂的电活动-机械收缩和传导的过程, 胃动力学研究应该基于电-机复合机制的认识高度, 将电活动和由其引发的胃机械收缩与传导紧密联系. 相关模拟与临床实验研究表明, 电阻抗胃运动信号与胃电图 (electrogastrogram, EGG) 检测结合, 以EGG作为胃起搏生理时标, 由多通道电阻抗信号提取胃的运动状态, 依据EGG活动与机械收缩的偶联, 进行多源信号相关分析, 深入探讨胃传导性收缩的幅度、时限、方向以及传导距离等因素的影响, 可建立有效的胃动力功能无损检测 and 评价新方法, 实现基于胃动力电-机复合机制的胃动力学研究.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胃动力; 电-机复合机制; 生物电阻抗; 胃电图

**核心提示:** 胃阻抗信号与胃的运动相对应, 胃电图 (electrogastrogram) 反映胃的电活动, 以其表征胃的起搏, 作为生理时标, 以阻抗信号提取胃的运动信息, 依据胃电活动与机械收缩的偶联, 可建立有效的、基于电-机复合机制的无损伤胃动力检测和评价方法.

赵舒, 任超世. 基于电-机复合机制实现胃动力学的检测与评价. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 453-460 URL: <http://>

## ■背景资料

胃肠疾病常见多发, 严重影响到人们的工作和生活质量. 随着社会经济的发展和, 工作节奏加快, 压力增加, 生活规律性变化, 发病率呈现逐年升高的趋势. 已受到国内外消化内科医生的特别关注和重视. 胃肠疾病通常与胃功能紊乱相关, 功能性胃肠疾病和胃肠动力障碍是目前消化系统疾病研究中最引人注目的领域. 在胃肠领域中, 这两大类疾病患病率高, 治疗困难, 消耗医药资源大, 其病因与发病机制至今还不十分清楚.

## ■同行评议者

魏睦新, 教授, 南京医科大学第一附属医院



## ■ 研发前沿

长期以来,人们对胃动力功能的研究落后于对胃的内、外分泌功能及胃的形态学的研究,其中一个很重要的原因就是缺乏方便、有效的胃动力学检查手段。研究、提供一种方便、有效,能反映整个消化过程胃的运动及变化,可全面、准确进行胃动力学无损检测与评价的方法,是胃动力学研究与临床应用深入和进一步发展的需要,也是胃动力检测方法的研究前沿。

www.wjgnet.com/1009-3079/22/453.asp DOI: http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.453

## 0 引言

胃肠动力学是一门正在迅速发展、多学科交叉的新兴学科<sup>[1,2]</sup>,在国内外一直是研究的热点<sup>[3]</sup>。30年来,人们对功能性胃肠病(functional gastrointestinal disorders, FGID)以及胃肠动力障碍性疾病(disorders of gastrointestinal motility, DGIM)的认识有了长足的进步,但仍有诸多问题尚不够清楚<sup>[4]</sup>。近年来,通过应用现代生物学技术进行研究,使人们对胃肠生物力学的认识有了一定程度的提高,并获得了大量宝贵信息。研究数据表明,胃肠神经与胃肠肌肉之间存在相互协调、相互作用的关系,但这种关系并非呈线性<sup>[4]</sup>。现代医学的检测手段通过大量动物实验逐渐应用于人体,有些已为临床服务。胃肠腔压力、排空和运行时间、各括约肌功能及肌电活动等研究为生理和病理状态下的胃肠运动提供了大量的客观资料,而食物、酸度、胃肠激素、神经、药物、精神环境等对胃肠运动影响的研究亦逐步深入,使胃肠运动观念不断更新和发展<sup>[5]</sup>。

消化系自然形成的具有自主调节机制的力学器官,摄入食物的种类不同,其动力模式不同,以使食物达到最大限度的消化和吸收,并最终将废物排出体外。其调节能力之神奇,使人叹为观止<sup>[4]</sup>。胃的收缩是发生在平滑肌细胞膜表面的肌电活动的机械性表现,他由胃平滑肌的电活动开始,引发胃体、胃窦收缩并向远端的幽门传播,是一个从电活动开始,到机械收缩、胃体蠕动、传导的复杂过程<sup>[2]</sup>。他遵从电活动的节律,也取决于传导性收缩的幅度、收缩时限、方向以及传导距离等因素的影响,同时还受到食物种类、胃肠激素反应、昼间变异等多种因素的制约<sup>[3]</sup>。

胃动力或胃的运动和排空是一个复杂的电活动-机械收缩和传导的过程,单方面从电(活动)或机(机械收缩)的角度认识和研究胃动力显然是不完整的。必须从电-机复合机制的高度认识和建立胃动力检测与评价方法<sup>[1]</sup>。

## 1 胃动力电-机复合机制

胃是由明显不同的三个肌肉单位组成,即胃底、胃窦、幽门,他们互相协调,与十二指肠运动相联系,不仅将其内容物向前推送,也参与完成混合、研磨及吸收食物并最终将废物排出体

外的过程,许多胃肠疾病的根本在于运送其内容物受阻。胃肠道对食物的混合及推进功能是通过三种类型的收缩运动的调控完成的。(1)节律性位相性收缩运动;(2)极度推进性收缩运动;(3)张力性收缩。混合推进运动的作用取决于传导性收缩的频率、幅度、收缩时限、方向以及传导的距离<sup>[6]</sup>。

在非消化期和消化期间,胃运动形式及其调节机制有不同的特点<sup>[7]</sup>。胃空腹状态下并非静止,胃腔内压力呈周期性变化,出现静息和运动循环往复的空腔(消化间期)运动模式,称为消化间期移行性复合运动(interdigestive migrating motor complex, MMC)。消化系各部位的运动状况及其内容物的流动形式存在着很大的差异。首先发现胃肠道具有运输食物功能的生理学家,当时没有办法对其进行检测。直至今日,由于缺乏相应的检测技术,有关消化系运动模式及食物流动形式的研究仍然不够完善<sup>[4]</sup>。胃的蠕动是由胃平滑肌细胞的电活动激活的。在胃的蠕动性收缩中,肌电电流流经所累及的肌肉。这些电流能触发胃的收缩,但并不是一定伴随收缩。已观察到两种胃的肌电活动:慢波和锋电位(图1)。锋电位直接与窦部收缩有关,当慢波伴发锋电位,胃窦就发生收缩,锋电位的频率、振幅、持续时间决定了肌肉收缩的力度和持续时间。因为锋电位只能发生在慢波时相上,所以胃收缩的节律由胃慢波的频率决定<sup>[2]</sup>。

胃的肌电活动可在浆膜、腔内或体表进行测量,浆膜或腔内电极都能记录慢波和锋电位。浆膜记录胃肌电活动是最可靠的,但这种方法是有创伤的。腔内记录是比较可靠的,而且比浆膜记录创伤性小。体表记录的胃肌电活动称为胃电图(electrogastrogram, EGG),EGG是无创的,因而颇具吸引力,他反映了胃的不同区域肌电活动的总和<sup>[3]</sup>。EGG可精确地测量胃慢波,用于研究胃收缩的节律性,但不能反映锋电位,EGG不直接对应于胃的运动,与胃收缩或运动状态的关联性不强。

胃动力研究涉及胃在消化期的运动和排空过程,以及非消化期(消化间期)的MMC。胃的收缩是发生在平滑肌细胞膜表面的肌电活动的机械性表现,他由胃平滑肌的电活动开始,引发胃体、胃窦收缩并向远端的幽门传播,是一个由电活动激励,产生机械收缩,继而引发胃体蠕动、传导的复杂过程<sup>[2]</sup>。他遵从电活动的节律,也取决于传导性收缩的幅度、收缩时限、方向

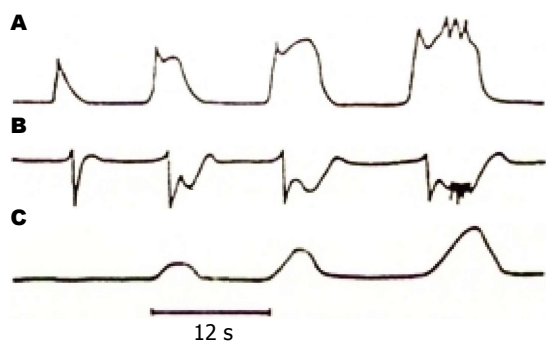


图1 胃肌电活动的慢波和锋电位。A: 细胞内记录; B: 细胞外记录; C: 机械收缩。

以及传导距离等因素的影响<sup>[3]</sup>。

人们通常认为, 胃肠运动是在神经系统控制下进行的被动性收缩。事实上, 胃肠运动的许多方面由肌肉本身固有性质所决定。了解胃肠运动的调控机制有助于认识胃肠运动及食物运输过程, 并能够正确地理解产生消化系各部位功能差异的原因<sup>[4]</sup>。胃的收缩和蠕动遵从电活动的节律, 也取决于肌肉本身的固有性质。胃动力学研究应该基于电-机复合机制的认识高度, 建立有效的胃动力检测与评价方法, 将电活动和由其引发的胃机械收缩与传导紧密联系, 深入分析胃传导性收缩的幅度、收缩时限、方向以及传导距离等因素的影响。

## 2 胃运动检测方法

1887年, Pflunger最早采用气球记纹法观察胃运动功能。如今腔内压力测定, 放射性核素技术(闪烁显像、放射性核素呼气实验等)以及体表EGG, B超等的临床应用, 提高了人们对胃运动生理及病理生理的认识。末端开放导管灌注系统和微型压力传感器的发展, 使远端胃和十二指肠运动的临床观察成为可能, 并作为胃运动障碍性疾病的检测手段。末端带囊导管加腔内传感器、恒压器可记录近端胃张力性收缩和舒张; 胃窦壁运动、幽门压力也可利用最近研制的传感器进行测定<sup>[5]</sup>。遗憾的是, 这些方法大都或者有创, 或者使用射线、放射性核素, 对患者有害。超声方法虽然可以观察到胃排空或胃运动情况, 但要用于消化过程的长时间检查和评价, 在操作和技术上还存在不少困难, 难于实现。EGG虽然无创、方便, 但其与胃运动的相关性不强, 特异性存在争议, 有待进一步深入研究。因而目前尚无一种方法可完整地了解胃排空和运动情况, 很难预测哪种方法可以作为诊断常规<sup>[5]</sup>。

应该指出, 以上方法除了有创、有害、操

作困难、价格昂贵等外, 还有一个共同、最大的问题, 就是没有能从电-机复合机制的高度上获取胃动力参数。他们只是从机或电的角度测量某一、两项指标(压力、张力、顺应性、通过时间、排空率、胃电等), 与整个消化过程的胃运动状态和胃动力变化相关性不强, 难于全面、准确反映胃肠道动力与消化生理、病理变化规律。

胃电活动的锋电位直接与窦部收缩有关, 当慢波伴发锋电位时, 胃窦就发生收缩, 其收缩节律就是胃慢波的频率。所以只要同时获取到胃电活动的慢波与锋电位, 就可以在一定程度上将胃的电活动与胃体的机械收缩相关联, 基于电-机复合机制进行胃动力研究。采用浆膜或腔内电极能同时记录到慢波和锋电位, 尤其是浆膜电极记录的胃肌电活动是最可靠的, 如将其记录到的慢波和锋电位相关联, 就可以实现基于电-机复合机制的胃动力学研究。虽然浆膜或腔内电极方法是有创伤的, 难以应用于临床, 但是对于实验动物的胃动力学研究还是一种不错和可行的手段。曾见到一些胃动力研究工作, 其在动物实验中采用了浆膜胃电检测方法<sup>[8,9]</sup>, 但却只利用了其中的胃电慢波信号, 仅限于研究胃电活动的节律性影响, 舍弃了直接反映胃运动的锋电位信息, 十分可惜。如果能同时利用浆膜电极胃电记录获取的慢波与锋电位, 并将胃的电活动和胃的收缩运动相关联, 就可实现基于电-机复合机制的胃动力学研究。从而提升其研究工作水平及学术价值。

## 3 阻抗胃动力测量与应用

生物电阻抗, 或简称阻抗测量技术, 是一种利用生物组织与器官的电特性及其变化规律提取与人体生理、病理状况相关的生物医学信息的检测技术, 具有无创、无害、廉价、操作简单和功能信息丰富等特点。胃是人体内比较容易提取阻抗信息的器官之一, 胃的容积可由空腹状态下的约50 mL增加到摄入食物后的1.5 L左右<sup>[7]</sup>, 变化显著。在胃的活动期, 如胃排空或胃收缩、蠕动时, 由于胃的形态、容积及其内容物组成情况的改变所导致的胃部电特性变化非常明显。因而, 胃阻抗及其变化可有效地反映胃容积(胃排空)和胃动力(胃的收缩和胃体运动)状况<sup>[1]</sup>。生物电阻抗胃动力检测通过置于人体上腹的体表电极注入微小激励电流, 检测电阻抗信号, 通过消化过程中胃的电特性及其变化规律, 提取与胃运动过程相联系的胃动力学信息, 是一种方

### ■ 相关报道

电阻抗胃动力检测是一种发展中的新技术, 其进一步的深化与发展应深入研究体表测量的信号幅值与腹内胃运动的定量关系; 发展多导阻抗测量技术; 提取食物消化过程中沿胃体、胃窦到幽门的运动传播信息。电阻抗断层成像(electrical impedance tomography, EIT)代表了生物阻抗技术的发展方向, 具有功能成像、无损伤和医学图像监护三大优势。EIT胃动力测量以置于体表的电极阵列实现无损检测, 以实时图像方式直接显示体内胃体的收缩和运动状况, 将为胃动力学基础研究与临床应用提供一种全新的图像检测与监护手段, 具有潜在的诱人应用前景。

## ■创新盘点

胃的收缩由胃平滑肌的电活动开始,引发胃体、胃窦收缩并向远端的幽门传播,是一个由电活动激励,产生机械收缩,继而引发胃体蠕动、传导的复杂过程。本文基于电-机复合机制认识高度,将EGG和阻抗胃动力检测有机地结合,从体表阻抗信号提取胃的收缩运动与传导信息,建立能完整了解胃运动和排空情况,可有效检测与评价胃动力功能的无损伤研究方法。为实现基于电-机复合机制的胃动力学研究和临床检测提供了一种方便、安全、有效的手段。

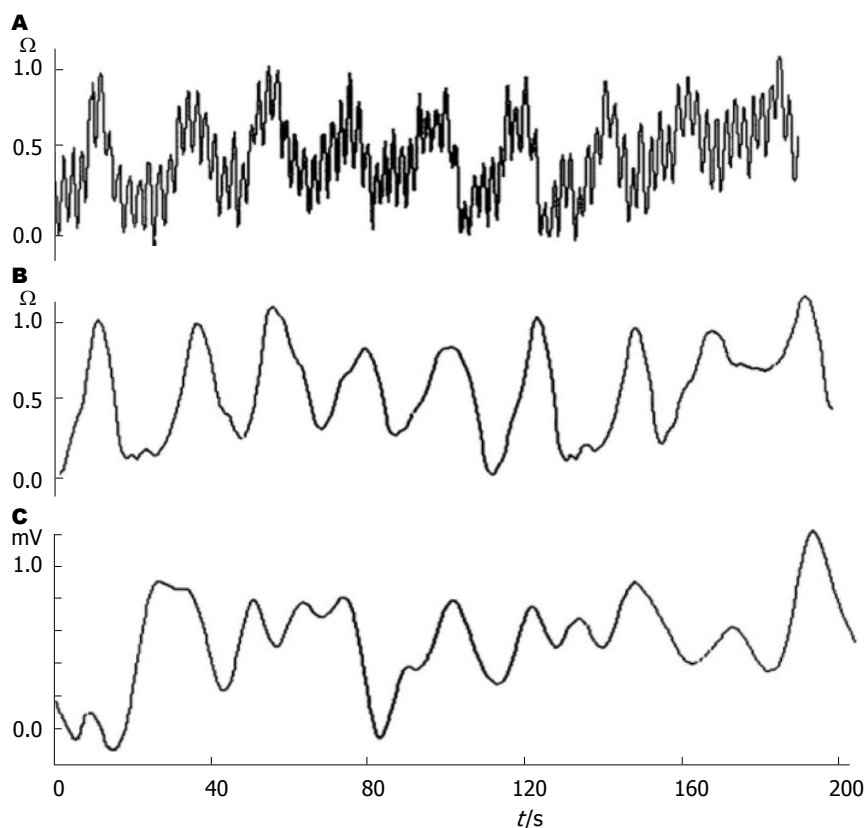


图2 生物电阻抗胃动力测量结果。A: 阻抗混合信号; B: 分离出的胃运动; C: 同步EGG信号。

便、廉价的无损伤检测与评价方法<sup>[10]</sup>。

Sutton等与McClelland等<sup>[11,12]</sup>于1985年报告了采用阻抗方法提取胃运动信号的研究工作,得到了反映胃排空过程的曲线,并从中获取到与胃收缩频率相一致的, 2-4次/min的胃蠕动信号。为采用阻抗方法提取胃动力信息奠定了基础。Familoni等<sup>[13]</sup>于1987年将阻抗方法和EGG测量结合以获得胃电活动和胃收缩的信息,表明只要合理放置电极就可以通过阻抗方法无创检测胃电和胃收缩活动,可通过EGG波形的分析获得胃内电活动的运动方向。为了研究胃部阻抗信号变化的原因, Kothapalli<sup>[14]</sup>在1992年建立了一个腹部三维模型以研究相关因素对胃阻抗变化的贡献,分析了当电流激励电极和电压检测电极位于不同位置时,阻抗信号与食物容量、电阻率和胃收缩的关系。在药物影响实验方面, Murphy等<sup>[15]</sup>1997年以生物电阻抗法作为胃排空检测手段,比较了镇痛药盐酸曲马朵和吗啡对人体胃排空的影响。其间,还有不少学者报告了胃阻抗测量方法<sup>[16-19]</sup>、测量装置<sup>[20,21]</sup>、胃阻抗信息处理<sup>[22,23]</sup>及用于胃排空测量及影响因素分析<sup>[24-26]</sup>、返流<sup>[27,28]</sup>、胃扩张状态测定<sup>[29]</sup>等研究结果。

值得注意的是李章勇等2007年报告了一种

采用阻抗测量进行胃动力检测的方法,并通过小波多分辨分析从体表胃阻抗混合信号中分离出反映胃运动的信号<sup>[30,31]</sup>,如图2, 3。此后,王伟<sup>[32-34]</sup>、李章勇<sup>[35-42]</sup>、刘纯伦<sup>[43]</sup>、方晓杰<sup>[44]</sup>、阳家长<sup>[45]</sup>、刘圣蓉<sup>[46]</sup>、赵舒<sup>[47,48]</sup>、任超世<sup>[49,50]</sup>等陆续报告了阻抗胃动力测量方法的改进与发展,以及采用阻抗胃动力方法用于功能性消化不良、糜烂性胃炎患者检测,以及某些药物对胃动力影响的临床实验研究结果,显示了电阻抗胃动力检测方法良好的临床应用前景。

2010年,李章勇等<sup>[51]</sup>以青年学生为检测对象,采用四通道阻抗胃动力检测方法研究胃运动空间传导关系,观察到主频为3次/min的阻抗胃动力信号波形自近端胃体向幽门方向的传导,且胃运动的前向传导和逆向传导时相关系明显,交替存在。当前向传导和逆向传导相遇时会出现传导失耦联(图4)。表明了多道阻抗胃动力检测方法用于研究阻抗胃动力信息的幅值、频率变化和空间传导关系的可行性。

#### 4 阻抗胃动力测量方法学研究

电阻抗胃动力检测虽然已显示出良好的临床应用前景。但是,作为一种采用体表电极的间接测量方法,腹部体表阻抗信号与腹内胃运动之间



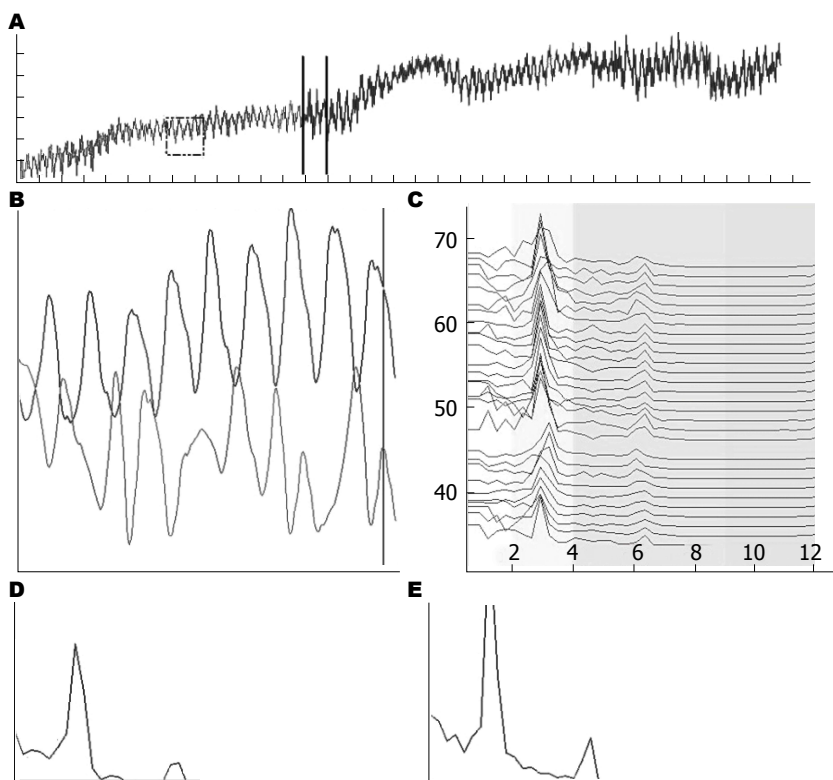


图3 典型的健康人阻抗胃动力信号与谱分析结果。A: 原始阻抗混合信号; B: 提取的胃动力信号(上)和同步EGG信号(下); C: 胃动力信号动态谱; D: 餐前阻抗胃动力总功率谱; E: 餐后阻抗胃动力总功率谱。

#### ■应用要点

电阻抗胃动力检测已显示出良好的发展与应用前景,但仍需要一个从方法学研究到应用技术研究,再到临床应用的发展过程。要求工程技术与临床应用紧密结合、相互促进以及多方面的合作与配合,特别需要临床医生和工程技术人员,才能逐渐完善,日臻成熟。浆膜电极胃电记录能可靠地获取胃电活动的慢波和锋电位,将慢波和锋电位相关联,可实现基于电-机复合机制的胃动力学研究。虽然是一种有创方法,但用于实验动物的胃动力学研究还是一种不错和可行的手段。

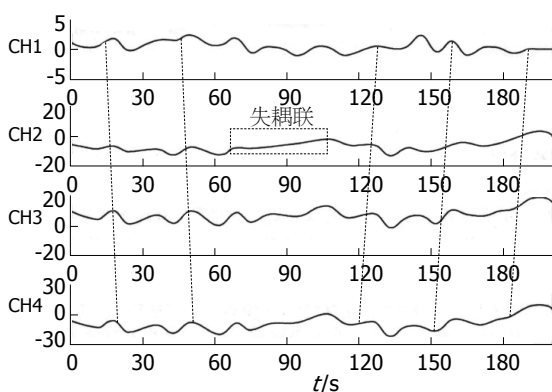


图4 四通道阻抗胃动力检测结果。

的定量关系尚未建立,相关性还有待深入研究。目前的单通道阻抗测量以体表胃投影区的平均阻抗变化反映胃的运动,还不能准确表明胃不同部位的收缩差异和沿胃体、胃窦直至幽门的传导时相关关系,阻抗胃动力测量的方法学研究仍需继续深入。为了给阻抗胃动力测量方法提供基础支持,作者进行了阻抗胃动力测量方法的原理仿真与模拟实验研究。

**4.1 原理仿真研究** 阻抗胃动力测量原理研究以盐水槽中的胃弯管模型仿真腹中的胃体,借助Comsol multiphysics软件,采用有限元法(finite element method, FEM),通过改变模型形状和各部分电导

率分布来模拟胃的收缩、运动过程。研究胃部电导率与容积变化,胃的收缩蠕动、传导过程对体表多通道阻抗测量信号的影响及变化规律。

结果表明,由体表获得的阻抗信号的幅值变化,与消化过程中胃部电导率、容积和胃环行肌的收缩深度(腔闭合程度)相关。当胃收缩蠕动波从起搏点向幽门传导时,多通道体表胃阻抗信号的频率反映胃不同部位的收缩节律,各通道的波形存在明显的时相关系。胃内容物分别为高电导率和低电导率(相对于背景)情况时,体表电压波形的变化趋势相同,方向相反。但高、低电导率胃内容物对体表测量阻抗信号的影响不是简单的反相关系(图5)。

**4.2 模拟验证实验** 为验证仿真研究结果的有效性,建立了盐水槽模拟实验装置和相应的多通道阻抗胃动力测量系统,以不同形状、不同电导率胃体模型在盐水槽中的运动模拟胃的收缩与传导,进行胃动力检测模拟验证实验(图6)。结果表明多通道电阻抗信号的变化规律与胃电导率和运动方向的变化规律相同,能较好地反映胃收缩位相和运动传导的过程,与仿真研究结果相符。

以上阻抗胃动力测量仿真与模拟验证实验表明,由体表获取的阻抗信号与消化过程中胃

### ■名词解释

生物电阻抗技术: 一种利用组织与器官的电特性及其变化规律提取与人体生理、病理状况相联系生物医学信息的检测技术, 具有无创、廉价、方便和功能信息丰富等特点。采用生物阻抗方法, 通过置于上腹体表的电极注入微小激励电流, 测量电阻抗信号, 依据消化过程中胃组织的电特性及其变化规律, 可无创提取与胃动力学状况相对应的生理、病理信息, 检测胃的运动状况, 获取胃的收缩、蠕动、传导及排空过程信息。

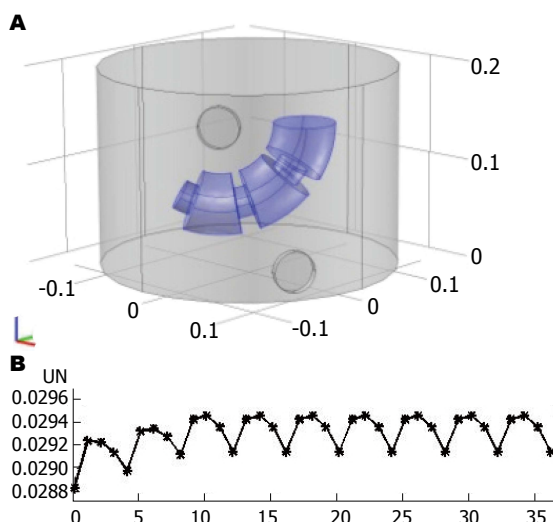


图5 胃弯管模型与胃收缩传导仿真结果。A: 胃弯管模型; B: 胃收缩传导仿真结果。

电导率、容积和胃环行肌的收缩程度相关。多通道阻抗胃动力测量的各通道波形存在明显的相位相关性, 反映了胃的收缩和蠕动节律, 以及收缩、蠕动从起搏点向幽门传导的时相关系, 为阻抗胃动力测量方法奠定了理论基础, 为发展多道阻抗胃动力测量方法和测量系统的设计提供了仿真基础与实验依据。

## 5 结论

胃动力是一个电活动-机械收缩和传导的复杂过程, 应该从电-机复合机制的高度认识和研究胃动力, 建立可完整了解胃运动和排空情况的胃动力检测与评价方法<sup>[52]</sup>。浆膜电极胃电记录能可靠地获取胃电活动的慢波和锋电位, 将慢波和锋电位相关联, 可实现基于电-机复合机制的胃动力学研究。虽然是一种有创方法, 但用于实验动物的胃动力学研究还是一种不错和方便的手段, 应该引起相关研究人员的注意。

EGG是由胃的体表投影区记录的胃电活动, 无创、方便, 反映了胃不同区域肌电活动的总和, 可用于精确地测量胃慢波, 与胃的收缩节律相对应。生物电阻抗胃动力检测通过置于人体上腹的体表电极注入微小交流电流, 依据消化过程中胃的电特性及其变化规律, 提取与胃收缩、蠕动及传导过程相联系的生物医学信息, 是一种方便、廉价的无损伤检测与评价方法。多通道阻抗胃动力测量以各通道波形的幅值和相位关系, 反映胃的收缩和蠕动, 以及其从起搏点向幽门的传导过程, 是阻抗胃动力测量方法进一步深化、发展的方向。将EGG和阻抗胃动

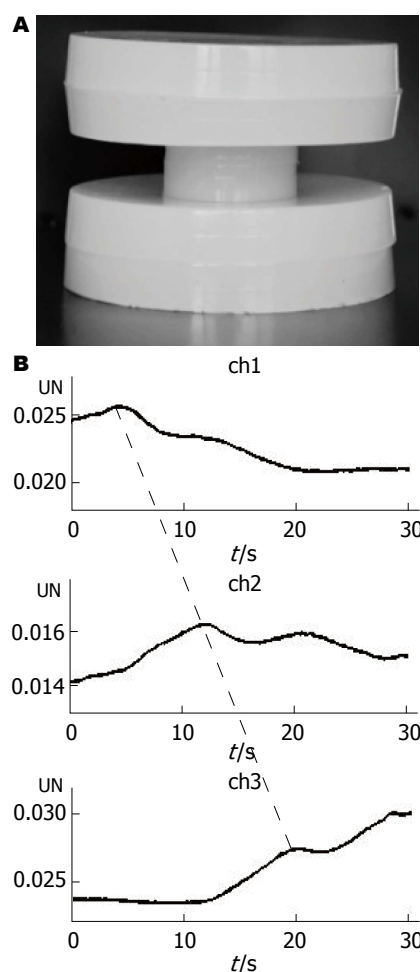


图6 阻抗胃动力测量动态模拟试验。A: 三层琼脂胃体模型; B: 多通道测量信号反映胃的收缩和蠕动传导。

力检测有机地结合, 以EGG表征胃的起搏, 作为生理时标, 以阻抗信号提取胃的运动信息, 依据胃电活动与机械收缩的偶联, 进行多信号相关分析, 可建立有效的胃动力功能无损伤检测和评价方法, 实现基于胃动力电-机复合机制的胃动力学研究。

电阻抗胃动力检测是一种发展中的新技术, 显示了良好的应用前景。和其他成熟技术一样, 阻抗胃动力检测也需要一个从方法学研究到应用技术研究, 再到临床应用的发展过程。他要求工程技术与临床应用紧密结合、相互促进, 需要多方面的合作与配合, 特别需要临床医生和工程技术人员努力和默契。电阻抗胃动力检测作为一种间接测量方法, 体表阻抗信号与腹内胃运动之间的定量关系, 以及消化期、消化间期各种因素的影响还有待进一步深入研究。

## 6 参考文献

- 1 李章勇, 任超世. 生物阻抗技术与胃动力评价. 第1版. 重庆: 重庆大学出版社, 2010: 1-4

- 2 周吕, 柯美云. 神经胃肠病学与动力基础与临床. 第1版. 北京: 科学出版社, 2005: 22-24
- 3 周吕, 柯美云. 肠胃动力学: 基础与临床. 第1版. 北京: 科学出版社, 1999: 185-187
- 4 Hans Gregersen著. 樊艳华, 王虹, 窦艳玲译. 胃肠生物力学: 胃肠动力新视角. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 128-130
- 5 潘国宗, 曹世植. 现代胃肠病学(上册). 第1版. 北京: 科学出版社, 1994: 161-167
- 6 Schuster MM, Crowell MD, Koch KL编. 许彬, 袁耀宗译. 舒斯特胃肠动力学. 第2版. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003: 4-10
- 7 姚泰. 生理学. 第5版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 234-236
- 8 黄伟锋, 张慧, 欧阳守, 卢春敬. 5-HT及电刺激对胃节律紊乱模型新西兰白兔胃电活动的影响. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2486-2491
- 9 黄伟锋, 张慧, 欧阳守, 卢春敬. 大黄素对兔胃电的影响及其作用机制. 世界华人消化杂志 2012; 20: 3417-3423
- 10 赵舒, 任超世. 无创检测与评价胃动力功能-生物电阻抗方法. 世界华人消化杂志 2006; 14: 465-469
- 11 Sutton JA, Thompson S, Sobnack R. Measurement of gastric emptying rates by radioactive isotope scanning and epigastric impedance. *Lancet* 1985; 1: 898-900 [PMID: 2858747 DOI: 10.1097/00132586-198606000-00036]
- 12 McClelland GR, Sutton JA. Epigastric impedance: a non-invasive method for the assessment of gastric emptying and motility. *Gut* 1985; 26: 607-614 [PMID: 3891533 DOI: 10.1136/gut.26.6.607]
- 13 FAMILONI BO, Kingma YJ, Bowes KL. Noninvasive assessment of human gastric motor function. *IEEE Trans Biomed Eng* 1987; 34: 30-36 [PMID: 3557481 DOI: 10.1109/TBME.1987.326012]
- 14 Kothapalli B. Origin of changes in the epigastric impedance signal as determined by a three-dimensional model. *IEEE Trans Biomed Eng* 1992; 39: 1005-1010 [PMID: 1452167 DOI: 10.1109/10.161332]
- 15 Murphy DB, Sutton A, Prescott LF, Murphy MB. A comparison of the effects of tramadol and morphine on gastric emptying in man. *Anaesthesia* 1997; 52: 1224-1229 [PMID: 9485982 DOI: 10.1111/j.1365-2044.1997.214-az0349.x]
- 16 Sutton JA, Kilminster SG, Mould GP. The clinical pharmacology of single doses of otilonium bromide in healthy volunteers. *Eur J Clin Pharmacol* 1997; 52: 365-369 [PMID: 9272405 DOI: 10.1007/s002280050302]
- 17 Giouvanoudi A, Amaee WB, Sutton JA, Horton P, Morton R, Hall W, Morgan L, Freedman MR, Spyrou NM. Physiological interpretation of electrical impedance epigastrogaphy measurements. *Physiol Meas* 2003; 24: 45-55 [PMID: 12636186 DOI: 10.1088/0967-3334/24/1/304]
- 18 Beltrán NE, de Folter JJ, Godínez MM, Díaz U, Sacristán E. Algorithm for characteristic parameter estimation of gastric impedance spectra in humans. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc* 2007; 2007: 4131-4134 [PMID: 18002911 DOI: 10.1109/IEMBS.2007.4353245]
- 19 Giouvanoudi AC, Spyrou NM. Epigastric electrical impedance for the quantitative determination of the gastric acidity. *Physiol Meas* 2008; 29: 1305-1317 [PMID: 18854603 DOI: 10.1088/0967-3334/29/11/006]
- 20 Chen RX, Wan DR. Further investigation of reliability on impedance gastrograph for continuous measurement of human gastric contractile activity. *Proceedings of the 8th international conference on electrical bio-impedance*, Kupio, Finland, 1992 July 28-31: 151-152
- 21 陈日新, 程立红, 康明非. 健康成人胃运动阻抗图特征的功率谱分析. 江西中医学院学报 1997; 9: 25-26
- 22 赵瑞珍, 郑建勇, 宋国乡. 小波变换方法检测胃动力. 第四军医大学学报 2001; 22: 1700-1703
- 23 Zhang F, Jiang DZ. [Noninvasive measurement of gastric emptying rates and gastric motility]. *Zhongguo Yiliao Qixie Zazhi* 2001; 25: 209-212 [PMID: 12583219 DOI: 10.3969/j.issn.1671-7104.2001.04.007]
- 24 Nakae Y, Onouchi H, Kagaya M, Kondo T. Effects of aging and gastric lipolysis on gastric emptying of lipid in liquid meal. *J Gastroenterol* 1999; 34: 445-449 [PMID: 10452675 DOI: 10.1007/s005350050294]
- 25 Chaw CS, Yazaki E, Evans DF. The effect of pH change on the gastric emptying of liquids measured by electrical impedance tomography and pH-sensitive radiotelemetry capsule. *Int J Pharm* 2001; 227: 167-175 [PMID: 11564551 DOI: 10.1016/S0378-5173(01)00795-5]
- 26 Soulsby CT, Khela M, Yazaki E, Evans DF, Hennessy E, Powell-Tuck J. Measurements of gastric emptying during continuous nasogastric infusion of liquid feed: electric impedance tomography versus gamma scintigraphy. *Clin Nutr* 2006; 25: 671-680 [PMID: 16698141 DOI: 10.1016/j.clnu.2005.11.015]
- 27 Zentilin P, Dulbecco P, Savarino E, Giannini E, Savarino V. Combined multichannel intraluminal impedance and pH-metry: a novel technique to improve detection of gastro-oesophageal reflux literature review. *Dig Liver Dis* 2004; 36: 565-569 [PMID: 15460839 DOI: 10.1016/j.dld.2004.03.019]
- 28 Garay L, Ramos EG, Cardiel E, Muñoz R, Hernández PR. In vivo and in situ measurement of electrical impedance for determination of distention in proximal stomach of rats. *Med Eng Phys* 2006; 28: 648-655 [PMID: 16483828 DOI: 10.1016/j.medengphys.2005.10.010]
- 29 Chen CL, Cook IJ. Proximal versus distal oesophageal motility as assessed by combined impedance and manometry. *Dig Liver Dis* 2009; 41: 104-109 [PMID: 18760980 DOI: 10.1016/j.dld.2008.05.003]
- 30 Li ZY, Sha H, Wang Y, Zhao S, Wang W, Ren CS. A new approach of gastric motility measurement and evaluation by bioimpedance. *Proceedings of 13th international conference on electrical bio-impedance & 8th conference on electrical impedance tomography*, Graz, Austria, 2007 August 29: 691-694
- 31 Li ZY, Ren CS, Sha H. Wavelet transform to extract bio-impedance gastric motility information. *Proceedings of the 2nd international conference on complex systems and applications-modeling, control and simulations*, Jinan, China, 2007 June 8-10: 1237-1241
- 32 王伟, 李章勇, 任超世. 小波变换和阻抗技术在胃动力研究中的应用. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 11: 2434-2436
- 33 王伟, 任超世, 李章勇, 魏进民. 基于阻抗法的胃排空检测. 临床医学工程 2008; 15: 24-26
- 34 王伟, 任超世, 李章勇. 胃电和胃阻抗信号的同步采集与分析系统. 微计算机信息 2009; 25: 74-76
- 35 李章勇, 任超世, 沙洪, 王伟. 基于Aduc834的生物阻抗胃动力信号采集方法. 自动化与仪表 2007; 22: 13-16
- 36 李章勇, 赵舒, 王妍, 沙洪, 任超世. 电阻抗胃动力信息

## 同行评价

胃的收缩是发生在平滑肌细胞膜表面的肌电活动的机械性表现, 是一个由电活动激励, 产生机械收缩, 继而引发胃体蠕动、传导的复杂过程。胃的运动状态的评价, 对于功能性胃病的诊断有及其重要的作用, 对于类似萎缩性胃炎等器质性病变的评价和疗效评估也有参考价值。本文比较权威地评述了这个研究领域的发展概况, 也提出了有价值的展望信息, 有较高的学术价值。



- 检测与处理方法研究. 中国组织工程研究与临床康复 2007; 12: 647-650
- 37 李章勇, 沙洪, 赵舒, 王妍, 任超世. 采用电阻抗方法测量液体胃排空. 中国医疗器械杂志 2008; 32: 253-256
- 38 李章勇, 沙洪, 赵舒, 王妍, 任超世. 生物电阻抗方法测量液体胃排空研究. 中国组织工程研究与临床康复 2008; 12: 2477-2480
- 39 李章勇, 胡娜, 任超世. 功能性消化不良诊断与生物电阻抗检测方法. 国际生物医学工程杂志 2009; 32: 125-127
- 40 李章勇, 任超世. 阻抗胃动力检测方法与功能性消化不良评价. 中国生物医学工程学报 2009; 28: 372-376
- 41 Li Z, Ren C. Gastric motility measurement and evaluation of functional dyspepsia by a bio-impedance method. *Physiol Meas* 2008; 29: S373-S382 [PMID: 18544817 DOI: 10.1088/0967-3334]
- 42 Li ZY, Ren CS, Zhao S, Sha H, Deng J. Gastric motility functional study based on electrical bioimpedance measurements and simultaneous electrogastrography. *J Zhejiang Univ Sci B* 2011; 12: 983-989 [PMID: 22135147 DOI: 10.1088/0967-3334/29/6/S31]
- 43 刘纯伦, 李章勇, 方晓杰, 王伟, 任超世, 潘敏. 功能性消化不良病人胃动力检测初步探讨. 中国医学物理学杂志 2008; 25: 657-659
- 44 方晓杰, 刘纯伦, 李章勇, 周旭春, 王丕龙, 任超世. 生物阻抗技术评价多潘立酮对功能性消化不良胃动力的影响. 中国实用内科杂志 2009; 29: 333-335
- 45 阳家长, 李章勇, 刘纯伦, 方晓杰. 生物阻抗方法评价糜烂性胃炎患者胃动力. 重庆医学 2009; 38: 1356-1358
- 46 刘圣蓉, 李章勇, 任超世, 刘纯伦, 方晓杰. 胃炎患者的胃动力功能评价. 中国医学物理学杂志 2009; 26: 1224-1227
- 47 赵舒, 任超世. 生物阻抗胃动力检测方法. 中国医学装备 2010; 7: 1-6
- 48 赵舒, 沙洪, 李章勇, 任超世. 基于小波能量熵特征的阻抗胃动力信号识别. 中国生物医学工程学报 2011; 30: 321-325
- 49 任超世, 李章勇, 王伟, 赵舒, 邓娟. 无创电阻抗胃动力检测与评价. 中国组织工程研究与临床康复 2010; 14: 1653-1657
- 50 任超世, 李章勇, 赵舒. 生物电阻抗胃动力检测与评价. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1-8
- 51 李章勇, 蒋祥林, 任超世, 郭毅军, 张汇泉, 赵德春. 多道阻抗胃动力信息采集和分析方法. 国际生物医学工程杂志 2010; 33: 36-39
- 52 Zhao S, Sha H, Li ZY, Ren CS. Electrical bioimpedance gastric motility measurement based on an electrical-mechanical composite mechanism. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3282-3287 [PMID: 22783053 DOI: 10.3748/wjg.v18.i25.3282]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

# P162通过抑制Chk1/2表达增加食管癌细胞株Eca109的放射敏感性

张红, 吴清明, 龙辉, 陈洁, 陈建华

张红, 陈洁, 武汉科技大学 湖北省武汉市 430064  
吴清明, 武汉科技大学医学院 湖北省武汉市 430065  
龙辉, 武汉科技大学附属天佑医院 湖北省武汉市 430064  
陈建华, 武汉凯泰新生物技术有限公司 湖北省武汉市 430074

张红, 在读硕士, 主要从事食管癌的基础研究。  
作者贡献分布: 课题由张红、吴清明、龙辉及陈洁设计; 研究过程由张红操作完成; 写作由张红与吴清明共同完成; P162由陈建华提供。

通讯作者: 吴清明, 教授, 430065, 湖北省武汉市黄家湖西路, 武汉科技大学医学院. wuhe9224@sina.com  
电话: 027-68893428

收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-12-05

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## P162 increases radiosensitivity of esophageal cancer cell line Eca109 by inhibiting Chk1/2 expression

Hong Zhang, Qing-Ming Wu, Hui Long, Jie Chen, Jian-Hua Chen

Hong Zhang, Jie Chen, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, Hubei Province, China

Qing-Ming Wu, School of Medicine, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430065, Hubei Province, China

Hui Long, Tianyou Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, Hubei Province, China

Jian-Hua Chen, Wuhan KatyGen Pharmaceuticals. Inc, Wuhan 430074, Hubei Province, China

Correspondence to: Qing-Ming Wu, Professor, Wuhan University of Science and Technology, Huangjiahu West Road, Wuhan 430065, Hubei Province, China. wuhe9224@sina.com

Received: 2013-10-21 Revised: 2013-12-05

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate whether P162 increases the radiosensitivity of esophageal cancer cell line Eca109 by inhibiting the expression of Chk1/2, and to observe its influence on cell cycle progression.

**METHODS:** Eca109 cells were exposed to small doses of repeated X-rays to develop a radio-resistant cell line Eca109R. Cells were divided into four groups: a group without exposure to either P162 or X-rays, a group exposed only to

X-rays, a group exposed only to P162, and a group exposed to both P162 and X-rays. Both Eca109 and Eca109R cell lines were used in each group. The optimal radiation dose was determined by MTT assay. The CCK-8 method was used to determine the optimal drug concentration needed for subsequent experiments. Western blot was used to detect the dynamic changes in Chk1 and Chk2 proteins. The change in cell cycle progression was measured by flow cytometry.

**RESULTS:** The radio-resistant Eca109R cell line was successfully developed. A radiation dose of 6 Gy was used as the optimal radiation dose for subsequent experiments, and 20 mg/L was used as the optimal concentration of P162. Western blot showed that both Eca109 and Eca109R cell lines expressed a small amount of Chk1 and Chk2. After irradiation, Chk1 and Chk2 expression was up-regulated in both cell lines. After treatment with 20 mg/L P162 for 48 h, the expression levels of Chk1 and Chk2 in Eca109 cells were  $0.244 \pm 0.013$  and  $0.148 \pm 0.011$ , respectively, and the corresponding values in Eca109R cells were  $0.139 \pm 0.010$  and  $0.134 \pm 0.008$ . At 24 h after 6 Gy irradiation, the expression levels of Chk1 and Chk2 in Eca109 cells were  $0.154 \pm 0.013$  and  $0.124 \pm 0.011$ , respectively, and the corresponding values in Eca109R cells were  $0.083 \pm 0.010$  and  $0.059 \pm 0.009$ . P162 treatment significantly reduced Chk1 and Chk2 expression ( $P < 0.05$  for all). Cell cycle analysis revealed that exposure to P162 alone only slightly reduced the percentage of cells in G<sub>2</sub> phase, but exposure to both P162 and X-rays significantly decreased the percentage of cells in G<sub>2</sub> phase.

**CONCLUSION:** Eca109R cells are more radio-resistant than Eca109 cells. P162 relieves G<sub>2</sub>/M phase arrest by inhibiting the expression of Chk1 and Chk2 to increase radiosensitivity of esophageal cancer cell line Eca109.

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

## ■背景资料

我国是食管癌高发区, 食管癌进展快, 预后差. 食管癌的治疗方式主要包括手术、放疗、化疗、内镜下治疗以及新辅助疗法等多种手段, 大多数患者就诊时已属中晚期, 放射治疗成为主要的手段之一.

## ■同行评议者

程英升, 教授, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

## ■研究前沿

放射抗拒被公认为是食管癌局部复发、放疗失败的重要原因,学者提出放射抗拒的4R机制: DNA的损伤修复、细胞周期重分布、细胞增殖机制及肿瘤细胞再氧合机制。如何提高放疗的敏感性成为目前放疗研究的重点之一。

**Key Words:** Esophageal cancer; Radiosensitivity; P162; Checkpoint kinase 1; Checkpoint kinase 2

Zhang H, Wu QM, Long H, Chen J, Chen JH. P162 increases radiosensitivity of esophageal cancer cell line Eca109 by inhibiting Chk1/2 expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 461-468 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/461.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.461>

## 摘要

**目的:** 研究P162是否通过抑制细胞周期检测点激酶(checkpoint kinase, Chk)1/2的表达来增加食管癌细胞株Eca109放射敏感性,并观察其对细胞周期的影响。

**方法:** 以食管癌细胞株Eca109为研究对象,小剂量反复照射形成有一定放射抗拒性的细胞株Eca109R;将实验分为不加P162不照射组、不加P162照射组、加P162不照射组及加P162照射组四大组,每组分别包含Eca109与Eca109R二种细胞株;MTT法选取实验合适的照射剂量;CCK-8法测定实验所需的最适P162浓度;Western blot检测4组细胞中Chk1与Chk2蛋白表达的动态变化;流式细胞仪检测4组细胞的细胞周期变化。

**结果:** 成功诱导具有放射抗拒性的食管癌细胞株Eca109R;6 Gy为实验照射剂量;以20 mg/L的P162为实验浓度;Western blot显示Eca109及Eca109R均存在少量的Chk1及Chk2蛋白,照射后Chk1与Chk2的表达增高,加用20 mg/L P162培养48 h后,Eca109中Chk1与Chk2值分别为 $0.244 \pm 0.013$ 、 $0.148 \pm 0.011$ ,6 Gy照射后24 h其值分别为 $0.154 \pm 0.013$ 、 $0.124 \pm 0.011$ ;Eca109R中Chk1与Chk2值分别为 $0.139 \pm 0.010$ 、 $0.134 \pm 0.008$ ,6 Gy照射后24 h其值分别为 $0.083 \pm 0.010$ 、 $0.059 \pm 0.009$ ,照射后二者表达均明显降低( $P < 0.05$ );细胞周期显示,加用P162不照射组的G<sub>2</sub>期较不加药组下降,加药照射组较不加药照射组G<sub>2</sub>期显著下降( $P < 0.05$ )。

**结论:** Eca109R更有放射抗拒性。P162通过抑制Chk1、Chk2的表达来解除细胞G<sub>2</sub>/M期阻滞,增加食管癌细胞株Eca109放射敏感性。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管癌;放射增敏;P162;细胞周期检测点激酶1;细胞周期检测点激酶2

**核心提示:** P162可能通过干预G3BP(Ras-GTPase-

activating protein SH3 domain binding protein)功能,使抑癌基因p53活性增加,抑制了ATM、ATR通路激活,进而抑制细胞周期检测点激酶(checkpoint kinase, Chk)1、Chk2的表达来抑制细胞DNA损伤修复,消除照射后G<sub>2</sub>期的阻滞,使G<sub>2</sub>期末修复的细胞进入M期,增加食管癌的放射敏感性。

张红,吴清明,龙辉,陈洁,陈建华. P162通过抑制Chk1/2表达增加食管癌细胞株Eca109的放射敏感性. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 461-468 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/461.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.461>

## 0 引言

食管癌是发生于食管上皮组织的恶性肿瘤,他是我国常见的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>,放射治疗是其主要的手段之一<sup>[2]</sup>.近30年来,食管癌常规放疗效果无明显提高,患者5年生存率仅在20%左右<sup>[3,4]</sup>,影响放疗效果的因素很多,而放射抗拒被公认为是肿瘤局部复发、放疗失败的重要原因<sup>[5]</sup>.如何提高放射治疗的敏感性成为当前治疗食管癌的一个亟待解决的问题.细胞周期检测点激酶(checkpoint kinase, Chk)1和Chk2是DNA损伤修复信号转导通路中非常重要的蛋白激酶<sup>[6]</sup>.P162是利用计算机辅助筛选的一条具有抗癌机制的全新多肽(中国专利2010101400323, PCT WO2011/124063 A1),学者研究证实,P162对结肠癌<sup>[7]</sup>、食管癌<sup>[8]</sup>细胞株都有明显的抗癌作用,他是否能通过抑制细胞周期检测点信号转导通路增加肿瘤的放射敏感性呢?检测他对Chk1和Chk2是否有抑制作用,可以了解放射增敏的机制,为开辟食管癌治疗新道路提供有力的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人食管癌细胞株Eca109(由太和医院馈赠);P162(武汉凯泰新生物技术有限公司提供);RPMI 1640培养粉(Gibco公司);胎牛血清(杭州四季青有限公司);胰蛋白酶粉(美国Amresco公司);Chk1及Chk2抗体(美国Santa Cruz公司);四甲基偶氮唑蓝(MTT)(美国Sigma公司);CCK-8试剂盒(碧云天生物科技有限公司);BCA蛋白定量试剂盒(碧云天生物科技有限公司);PVDF膜(Millipore公司).CO<sub>2</sub>恒温细胞培养箱(Heal Force公司);倒置显微镜(Olympus公司);超净工作台(苏州净化);酶联免疫检测仪(BioTek公司);流式



表 1 放射线对Eca109细胞增殖抑制率(mean ± SD, %)

时间(h)	放射剂量(Gy)			
	2	4	6	8
24	24.90 ± 2.87	41.42 ± 2.01	45.04 ± 1.43	52.46 ± 1.22
48	25.48 ± 1.99	39.40 ± 2.28	47.87 ± 1.69	59.62 ± 1.87
72	36.27 ± 2.86	48.63 ± 1.97	60.76 ± 2.14	67.92 ± 2.02

细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)。

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养: Eca109细胞用含有10%胎牛血清、青-链霉素的RPMI 1640培养基, 于37℃、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的恒温培养箱中培养, 根据细胞生长的速度及培养基的颜色更换培养基, 一般为1 d/次, 用0.25%的胰蛋白酶消化传代继续培养或冻存。

1.2.2 不同放射剂量下细胞增殖抑制率测定: 采用四甲基唑蓝(MTT)法, 将对数生长的细胞, 分别以2、4、6、8 Gy照射后立即制成单细胞悬液常规接种96孔板, 设6个复孔; 以未照射为对照组, 2、4、6、8 Gy为放射组, 同时设空白组(无细胞培养液); 分别培养24、48、72 h, 每孔加入5 mg/mL的MTT 20 μL培养4 h后加二甲基亚砷150 μL/孔, 振荡10 min, 上机检测各孔A值(波长490 nm), 计算细胞增殖抑制率(%) = (1-放射组平均A值/对照组平均A值) × 100%。实验重复3次。

1.2.3 不同浓度P162的细胞增殖抑制率: 将对数生长的细胞, 制成单细胞悬液常规接种96孔板, 设6个复孔; 以未加药的为对照组, 5、10、20、40、60 mg/L为实验组, 同时设空白组(无细胞培养液); 培养至细胞单层铺满后分别加入5、10、20、40、60 mg/L浓度梯度的P162, 继续培养24、48、72 h后, 每孔加入10 μL的CCK-8溶液培养1 h后上机检测各孔A值(波长450 nm), 增殖抑制率(%) = (1-实验组A值/对照组A值) × 100%。实验重复3次。

1.2.4 细胞照射: (1)诱导Eca109R细胞株形成: 采用Varian2300直线加速器6MV-X, 表面加1.5 cm标准等效填充物, 源至标本距离100 cm, 照射野10 cm × 10 cm, 吸收剂量率为1.5 Gy/min。取对数生长期的Eca109细胞株, X线照射8 Gy后, 继续培养至细胞长满瓶底, 胰酶消化传代接种, 待细胞长至对数期, 再次X线照射8 Gy, 如此重复以上过程, 待总放射剂量达到60 Gy后, Eca109R细胞株形成; (2)细胞放射线处理: 采用Varian2300直线加速器6MV-X, 表面加1.5 cm标准等效填充

物, 源至标本距离100 cm, 照射野10 cm × 10 cm, 吸收剂量率为1.5 Gy/min。将待测细胞X线照射6 Gy, 放回培养箱中继续培养, 在照射后1、2、4、24、48 h胰酶消化后实验。

1.2.5 Western blot测定: 将待测细胞胰酶消化后提取核蛋白, 各样品取50 μg总蛋白上样电泳, 转膜(湿转法), 转膜条件: Chk1-200 mA, 120 min; Chk2-200 mA, 120 min后, 300 mA, 25 min; 用含5%脱脂奶粉的TBST(封闭液)浸泡PVDF膜, 室温摇床封闭2 h。Chk1、Chk2各1:200稀释后, 使PVDF膜浸泡于其孵育液中, 4℃孵育过夜, 充分洗涤, 再浸泡于二抗孵育液中, 室温孵育2 h后充分洗涤, 每张膜滴加适量的ECL底物液, 孵育数分钟, 最后显影、定影。LaminB为内参。实验重复3次。

1.2.6 细胞周期测定: 将对数生长期的细胞胰酶消化, 1000 r/min离心5 min后收集; 再用PBS离心洗涤2遍; 用PBS制成单细胞悬液, 取1 × 10<sup>6</sup>个细胞加入流式试管中; 加入100 μL DNA Prep LPR, 轻轻混匀, 室温下避光反应1 min; 再加入1 mL DNA Prep Stain, 轻轻混匀, 室温避光反应15-20 min; 用300目的尼龙过滤网过滤细胞, 上机检测。实验重复3次。

1.2.7 实验分组: 实验分为4组: (1)不加P162不照射组; (2)加P162不照射组; (3)不加P162照射组; (4)加P162照射4大组。4大组各含Eca109、Eca109R两种细胞株。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行分析, 计量资料用mean ± SD表示, 多样本均数间比较采用单因素方差分析, 组间比较采用配对t检验, P < 0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 放射线对Eca109细胞增殖抑制率测定 由表1及图1可知: (1)随着放射剂量的增加, 细胞增殖抑制率逐渐增大; (2)随着培养时间的增加, 细胞增殖抑制率也逐渐加大; (3)细胞照射6 Gy的放射剂量时, 其增殖抑制率在24、48、72 h均接近50%; (4)所以6 Gy为最佳放射剂量, 后续实验选

### ■ 相关报道

癌细胞在射线照射引起DNA损伤后, 将快速启动细胞周期检测点信号转导通路, 使受损伤的细胞停滞于G<sub>2</sub>/M期进行自身修复, 解除G<sub>2</sub>期阻滞可以增加放射敏感性。P162可以增加食管癌的放射敏感性, 但具体机制待进一步研究。

## ■创新盘点

P162是利用计算机辅助筛选的一条具有抗癌机制的全新多肽,其结构与G3BP的NTF2蛋白域特异性结合,干预G3BP蛋白功能磷酸化,研究其增敏机制为恶性肿瘤的治疗开辟新的道路。

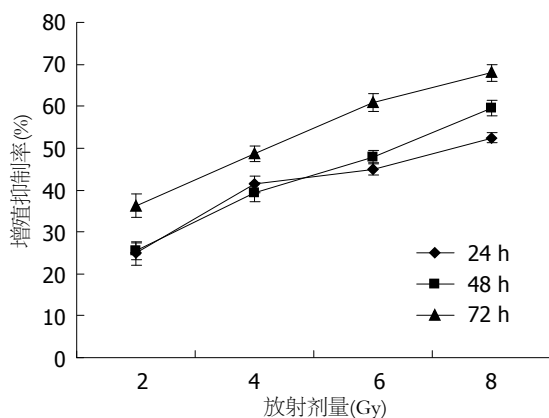


图1 不同剂量放射线对Eca109细胞作用不同时间后增殖抑制率曲线。

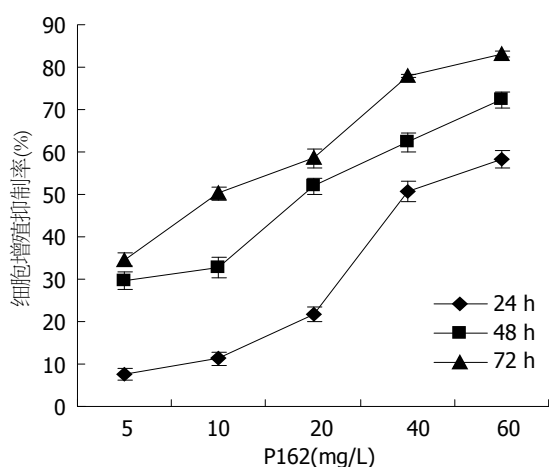


图2 不同浓度P162对Eca109R细胞作用不同时间后增殖抑制率曲线。

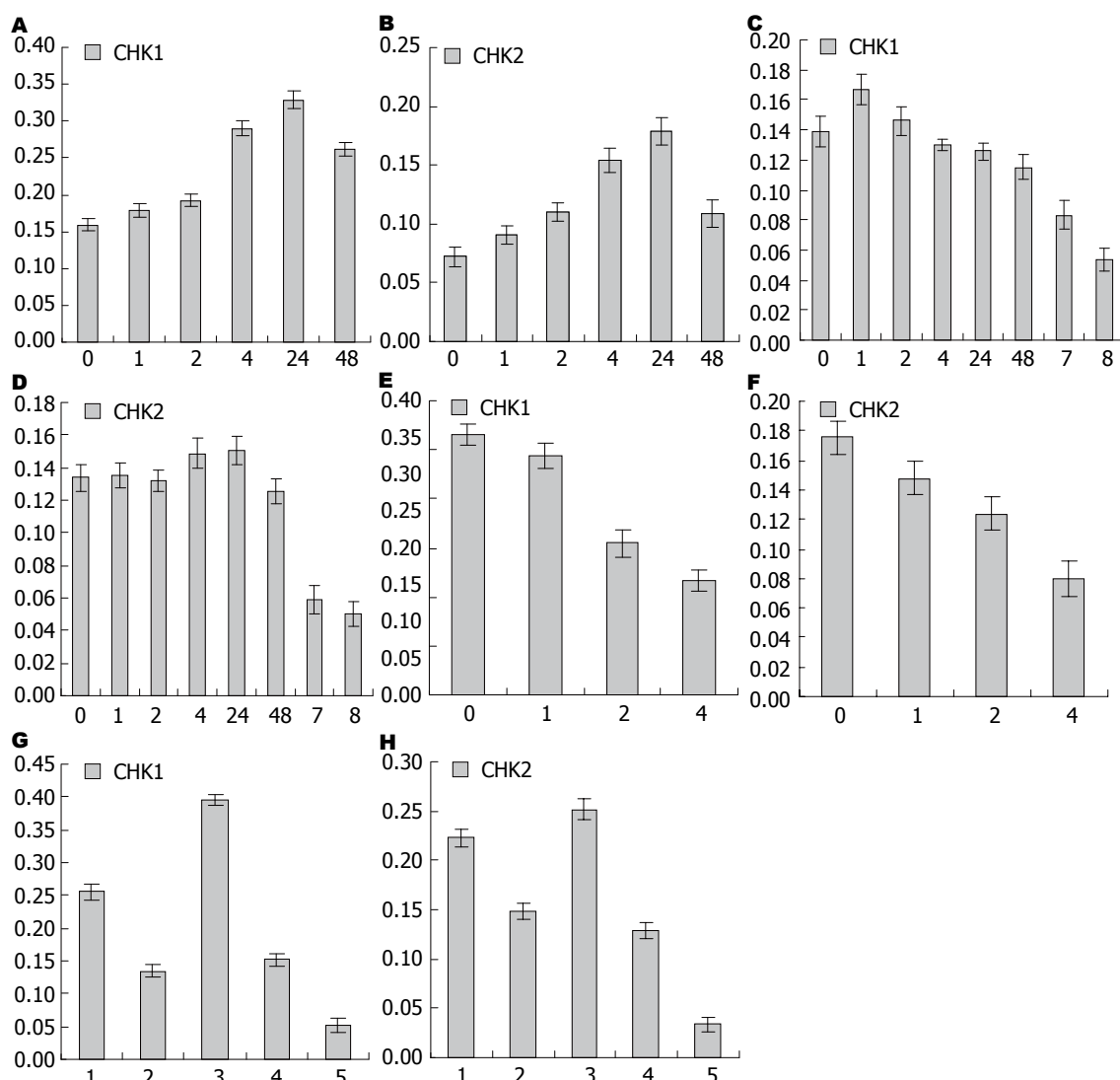
取6 Gy为放射剂量。

2.2 P162对Eca109R细胞增殖抑制率测定 由图2及表2可知: (1)随着P162浓度的增加,细胞增殖抑制率逐渐增大, P162对细胞抑制作用与浓度呈正相关; (2)随着培养时间的增加,细胞增殖抑制率也逐渐加大; (3)当P162浓度在20 mg/L时,细胞增殖抑制率在48、72 h均达到50%左右,故后续试验P162的最佳浓度选取20 mg/L。

2.3 Chk1、Chk2蛋白的表达 Western blot结果显示: (1)由图3A, B可知食管癌细胞株Eca109中未照射时存在一定量的Chk1与Chk2表达, 经过6 Gy照射后, 随着时间变化, Chk1与Chk2呈峰样变化, 先逐渐增加再逐渐下降; (2)由图3C, D可知食管癌细胞株Eca109R中未照射时也存在一定量的Chk1与Chk2表达, 经过6 Gy照射后, 随着时间变化, Chk1逐渐下降, Chk2略呈峰样变化; (3)由图3C, D可知食管癌细胞株Eca109R加用20 mg/L的P162, 6 Gy照射后24 h, Chk1及Chk2均较

未加药照射24 h后明显下降( $P$ 值分别为: 0.0015, 0.0000,  $P < 0.05$ ), 加用40 mg/L P162 6 Gy照射后24 h, Chk1与Chk2表达下降更加明显( $P$ 值分别为0.0002、0.0018,  $P < 0.05$ ); 这说明在细胞株Eca109R中加用P162后能明显抑制Chk1、Chk2表达, 逆转放射抗拒, 且这种作用与其浓度正相关; (4)由图3E, F可知食管癌细胞株Eca109加用P162后未经照射时, Chk1与Chk2蛋白表达下降( $P$ 值分别为0.0018、0.0003,  $P < 0.05$ ), 加P162经照射后与未加药照射者相比Chk1与Chk2蛋白降低更加明显,  $P$ 值分别为0.0015、0.0000(照射后24 h); 0.0000、0.0000(照射后48 h)( $P < 0.05$ ), 提示在细胞株Eca109中加用P162后能抑制Chk1、Chk2表达; (5)如图3G, H所示, Eca109R细胞株中Chk1与Chk2的表达高于Eca109细胞株( $P$ 值分别为0.0002、0.0013,  $P < 0.05$ ), 提示Chk1与Chk2参与了细胞放射抵抗; Eca109R与Eca109比较, 加用P162后, Eca109R与Eca109中Chk1、Chk2表达均下降( $P$ 值分别为0.0000、0.0004,  $P < 0.05$ ), Eca109R对Chk1、Chk2抑制作用比Eca109更加明显, 这提示P162对Eca109R及Eca109细胞株均有增敏作用, 是通过抑制Chk1、Chk2达到增敏效果的; (6)由上述图可知: Eca109及Eca109R两组细胞株中Chk1的表达高于Chk2, 提示Chk1在食管癌Eca109的放射抗拒形成中可能起主要作用; 两组细胞株加药经过6 Gy照射后, Chk1与Chk2表达均发生变化, 但Chk1蛋白的变化更明显, 提示P162可能主要是通过抑制Chk1蛋白的表达来增加细胞株的放射敏感性。

2.4 细胞周期测定 由图4A, B可知Eca109照射前后比较,  $G_2$ 期由1.61%明显增加到66.7%, 提示照射后出现 $G_2$ /M期阻滞; 由图4C, D可知Eca109R照射前后比较,  $G_2$ 期增加, 说明Eca109R照射后也发生细胞周期改变, 出现 $G_2$ 期阻滞; 与Eca109比较, Eca109R未照射时 $G_2$ 期比例高于Eca109细胞株( $P = 0.0011$ ), 提示 $G_2$ /M期阻滞程度高于Eca109细胞株, 即表明Eca109R细胞株放射抗拒性高于Eca109细胞株; Eca109加用P162照射前 $G_2$ 期比例比未加药未照射组下降( $P = 0.0086$ ), 照射后加药组比不加药组亦下降( $P = 0.0066$ ); Eca109R加用P162未照射组 $G_2$ 期比例较未加药未照射组 $G_2$ 期比例降低( $P = 0.0019$ ), 照射后加药组比不加药组下降更明显( $P = 0.0008$ ); 综合以上结果可知, P162能改变Eca109与Eca109R细胞株的细胞周期, 降低 $G_2$ 期比例, 解除 $G_2$ 期阻滞, 从而达到放射增敏。



## ■应用要点

本实验从DNA损伤修复及细胞周期重分布进行研究,我们还可以从细胞增殖机制及细胞再氧合机制入手,找到其他增加肿瘤放疗敏感性的方法,为食管癌的治疗,也为其他恶性肿瘤的治疗提供思路。

图 3 P162对食管癌细胞株Eca109及Eca109R放射前后Chk1、Chk2蛋白表达的影响. A: Eca109、6 Gy照射后1、2、4、24、48 h Chk1的表达; B: Eca109、6 Gy照射后1、2、4、24、48 h Chk2的表达; C: Eca109R、6 Gy照射后1、2、4、24、48 h、加P162 20 mg/L培养48 h再6 Gy照射后24 h、加P162 40 mg/L培养48 h再6 Gy照射后24 h Chk1的表达; D: Eca109R、6 Gy照射后1、2、4、24、48 h加P162 20 mg/L培养48 h再6 Gy照射后24 h加P162 40 mg/L培养48 h再6 Gy照射后24 h Chk2的表达; E: Eca109、Eca109加P162培养48 h、Eca109加P162培养48 h照射后24、48 h Chk1的表达; F: Eca109、Eca109加P162培养48 h Eca109加P162培养48 h照射后24、48 h Chk2的表达; G: Eca109、Eca109+P162 20 mg/L培养48 h、Eca109R、Eca109R+P162 20 mg/L培养48 h、Eca109R+P162 40 mg/L培养48 h后Chk1的表达; H: Eca109、Eca109+P162 20 mg/L培养48 h、Eca109R、Eca109R+P162 20 mg/L培养48 h、Eca109R+P162 40 mg/L培养48 h后Chk2的表达。

表 2 P162对Eca109R细胞增殖抑制率(mean ± SD, %)

时间(h)	P162浓度(mg/L)				
	5	10	20	40	60
24	7.57 ± 1.23	11.30 ± 1.59	21.73 ± 1.83	50.77 ± 2.36	58.22 ± 2.17
48	29.71 ± 2.07	32.77 ± 2.43	51.92 ± 1.91	62.26 ± 2.21	72.31 ± 1.89
72	34.52 ± 1.57	50.23 ± 1.62	58.47 ± 2.11	77.87 ± 0.36	83.25 ± 0.71

### 3 讨论

Chk1、Chk2是DNA损伤修复信号转导通路中非常重要的蛋白激酶<sup>[9]</sup>。一般情况下,当放射线引起肿瘤细胞DNA损伤后,细胞将快速启动细胞

周期检测点信号转导通路<sup>[10-13]</sup>,通过调节细胞周期相关蛋白的表达变化,促使受损伤的细胞停滞于G<sub>1</sub>/S期、G<sub>2</sub>/M期的检测点<sup>[14]</sup>。而G<sub>2</sub>期阻滞与DNA损伤修复有关,他为照射后受损伤肿瘤



# 同行评价

本文有一定的新意,实验设计合理,结果有说服力,具有一定指导意义。

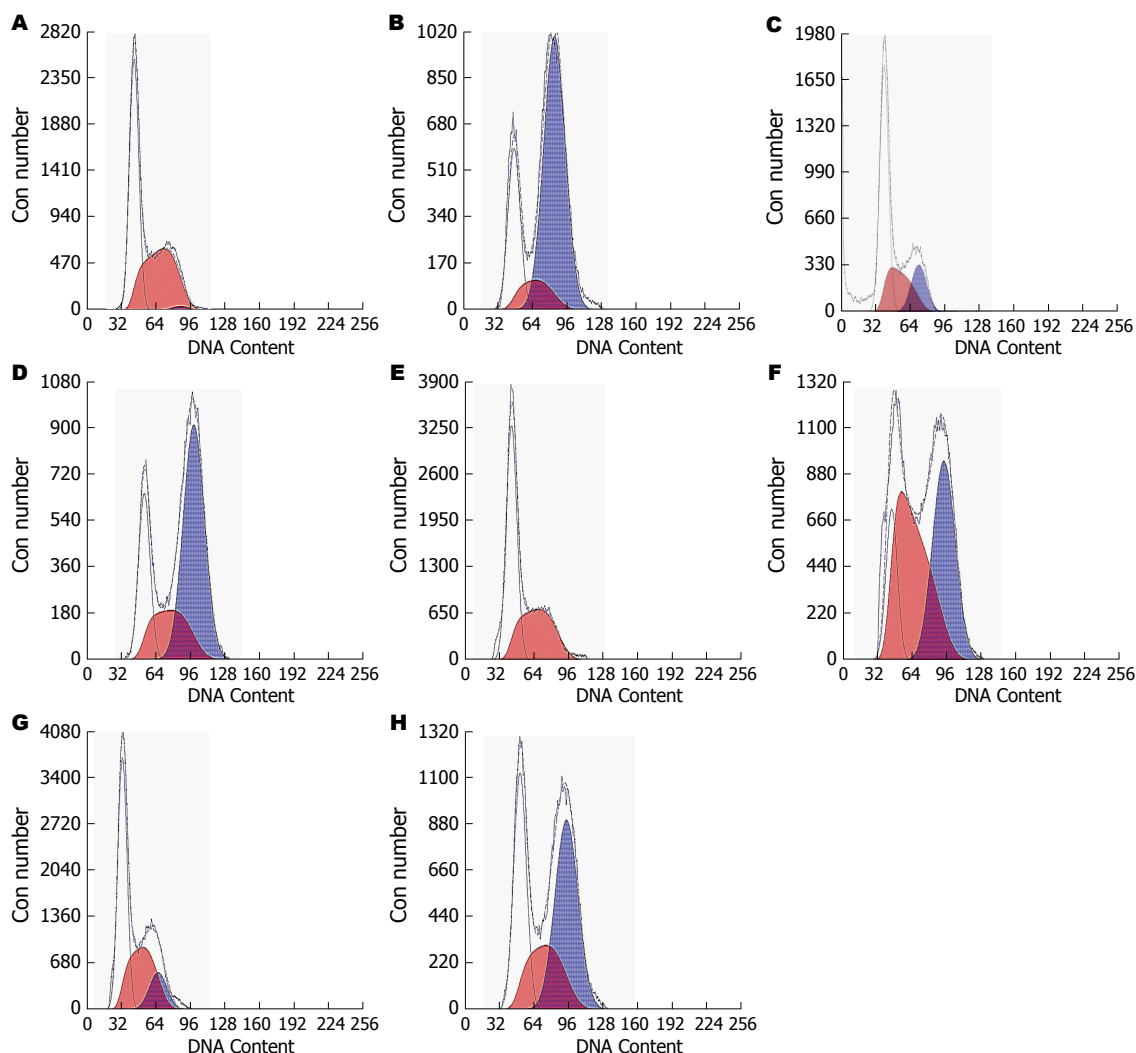


图4 P162对食管癌细胞株Eca109及Eca109R放射前后细胞周期的影响。A: Eca109; B: Eca109照射后24 h; C: Eca109R; D: Eca109R照射后24 h; E: Eca109+P162培养48 h; F: Eca109+P162培养48 h再照射后24 h; G: Eca109R+P162培养48 h; H: Eca109R+P162培养48 h再照射后24 h。

细胞修复创造条件,降低了放射线对肿瘤细胞的杀灭效应,从而使放射抗拒性增加<sup>[15]</sup>。

在肝癌<sup>[16]</sup>、胰腺癌<sup>[17]</sup>、前列腺癌<sup>[18]</sup>、肺癌<sup>[19]</sup>等多种恶性肿瘤中干扰Chk1和Chk2的表达可以促使肿瘤的凋亡。建立质粒连接的Chk1和Chk2 shRNA,经脂质体转染Eca109食管癌细胞后,Chk1和Chk2表达在mRNA及其蛋白水平均明显下降<sup>[20]</sup>。抑制Chk1和Chk2蛋白表达,可以消除肿瘤细胞照射后G<sub>2</sub>期阻滞,有效地提高放射线对肿瘤细胞的杀灭效应。

本研究发现,食管癌细胞株Eca109及Eca109R的细胞中存在少量的Chk1及Chk2表达,在经过6 Gy射线照射后,二者表达呈先上升后下降趋势,提示在经过射线照射后,细胞中自身有一定的修复功能,出现Chk、Chk2短期的变化,加用P162不照射时,二个细胞株中Chk1及Chk2表达均减少,加用P162并进行照射后,Chk1及

Chk2表达明显降低,且Chk1的降低幅度更大,即P162对Chk1及Chk2抑制明显增加,提示P162通过抑制Chk1及Chk2的表达即减少自身损伤修复来增加放射敏感性。细胞周期显示,食管癌细胞株Eca109及Eca109R经过6 Gy射线照射后,G<sub>2</sub>期明显增加,提示细胞经过照射后,发生G<sub>2</sub>期的阻滞,自身进行损伤修复,加用P162未经照射时的G<sub>2</sub>期略下降,然而加用P162经过6 Gy照射后24 h,细胞周期发生明显变化,G<sub>2</sub>期比例明显下降,甚至逆转,并且随着P162浓度加大,逆转更加明显。这些结果充分地表明P162能降低Chk1及Chk2的表达,通过抑制Chk1及Chk2的表达来解除照射后细胞G<sub>2</sub>/M期阻滞,减少自身修复,进而提高细胞的放射敏感性,起到放射增敏作用。

P162是利用计算机辅助筛选的一条具有抗癌机制的全新多肽,其结构与G3BP(Ras-GTPase-activating protein SH3 domain binding pro-

tein)的NTF2蛋白域发生特异性结合, 干预G3BP蛋白功能磷酸化<sup>[21]</sup>. Kennedy等<sup>[22]</sup>与Vognsen等<sup>[23]</sup>研究证实G3BP通过N端的NTF2样结构域与GAP的SH3结构域相联系, 参与到许多生长因子的信息传递通路, 如Ras通路、PI3K通路、NF- $\kappa$ B的调节和HER通路等, Ming等<sup>[24]</sup>与Li等<sup>[25]</sup>发现G3BP参与了p53的负性调节, 在肿瘤的发生中起重要的作用. p53的激活与ATM密切相关<sup>[26]</sup>, Chk1、Chk2是ATM下游的关键酶, 从而推断G3BP与ATM有关联, 而P162能干预G3BP的活性<sup>[8]</sup>, 所以我们考虑P162是通过这条途径来抑制Chk1及Chk2的表达, 抑制细胞DNA修复, 消除照射后G<sub>2</sub>期的阻滞, 使G<sub>2</sub>期末修复的细胞进入M期, 从而增加食管癌的放射敏感性.

我们经过射线反复照射, 成功诱导了食管癌细胞株Eca109R, 实验发现其Chk1、Chk2的表达较Eca109中Chk1、Chk2表达高, 而且细胞周期发生改变, 说明Eca109R比Eca109细胞株具有更高的放射抗拒性, 这与Fukuda等<sup>[27]</sup>研究一致, 而学者研究<sup>[28]</sup>认为反复分级放射诱导食管癌细胞株, 可以使细胞具有干细胞特性. 而干细胞比普通癌细胞具有更强的放射抗拒性<sup>[29]</sup>. 有学者认为P75NTR具有食管癌干细胞的特性<sup>[30]</sup>, 前期课题组研究证明<sup>[8]</sup>: 食管癌Eca109细胞株中存在P75NTR的表达, 由此我们是否可以推测Eca109R具有一定的干细胞特性? 这有待进一步实验证实.

Pajonk等<sup>[31]</sup>提出临床放射治疗失败是由于肿瘤细胞中的一小部分具有放射抗拒性的细胞(干细胞)造成的, 主要是4R机制介导的<sup>[5]</sup>: DNA的损伤修复、细胞周期重分布、细胞增殖机制及肿瘤细胞再氧合机制. 本实验从DNA损伤修复及细胞周期重分布为靶点研究, 为食管癌的治疗开辟了广阔的前景. 另外, 我们还可以从细胞增殖机制及细胞再氧合机制入手, 找到增加肿瘤治疗敏感性的靶点, 为其他恶性肿瘤的治疗提供思路.

**志谢:** 感谢吴清明教授、龙辉副教授、陈洁研究生协助设计完成此课题, 感谢武汉凯泰新生物技术有限公司陈建华博士提供多肽P162.

#### 4 参考文献

- 1 单保恩. 第十四届中国科协年会第17分会场: 环境危害与健康防护研讨会论文集. 河北医科大学, 2012
- 2 Muijs CT, Pruim J, Beukema JC, Berveling MJ, Plukker JT, Langendijk JA. Oesophageal tumour

progression between the diagnostic <sup>18</sup>F-FDG-PET and the <sup>18</sup>F-FDG-PET for radiotherapy treatment planning. *Radiother Oncol* 2013; 106: 283-287 [PMID: 23199654 DOI: 10.1016/j.radonc.2012.10.015]

- 3 郝捷, 邵康. 中国食管癌流行病学现状、诊疗现状及未来对策. *中国癌症杂志* 2011; 21: 501-504
- 4 Smit JK, Faber H, Niemantsverdriet M, Baanstra M, Bussink J, Hollema H, van Os RP, Plukker JT, Coppes RP. Prediction of response to radiotherapy in the treatment of esophageal cancer using stem cell markers. *Radiother Oncol* 2013; 107: 434-441 [PMID: 23684587 DOI: 10.1016/j.radonc.2013.03.027]
- 5 Nguyen GH, Murph MM, Chang JY. Cancer stem cell radioresistance and enrichment: where frontline radiation therapy may fail in lung and esophageal cancers. *Cancers (Basel)* 2011; 3: 1232-1252 [PMID: 21603589 DOI: 10.3390/cancers3011232]
- 6 Caputo F, Vegliante R, Ghibelli L. Redox modulation of the DNA damage response. *Biochem Pharmacol* 2012; 84: 1292-1306 [PMID: 22846600 DOI: 10.1016/j.bcp.2012.07.022]
- 7 Zhang H, Zhang S, He H, Zhao W, Ren K, Chen J, Shao RG. RasGAP-derived peptide 38GAP potentiates the cytotoxicity of cisplatin through inhibitions of Akt, ERK and NF- $\kappa$ B in colon carcinoma HCT116 cells. *Cancer Lett* 2011; 308: 62-70 [PMID: 21570766 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.04.014]
- 8 郑娇娇, 吴清明, 陈建华, 陈彩虹, 龙辉. P162对食管癌细胞株Eca109的放射增敏作用及其对p75NTR表达的影响. *中国病理生理杂志* 2013; 29: 103-107
- 9 Bensimon A, Aebersold R, Shiloh Y. Beyond ATM: the protein kinase landscape of the DNA damage response. *FEBS Lett* 2011; 585: 1625-1639 [PMID: 21570395 DOI: 10.1016/j.febslet.2011.05.013]
- 10 Fokas E, Prevo R, Hammond EM, Brunner TB, McKenna WG, Muschel RJ. Targeting ATR in DNA damage response and cancer therapeutics. *Cancer Treat Rev* 2014; 40: 109-117 [PMID: 23583268 DOI: 10.1016/j.ctrv.2013.03.002]
- 11 Toledo LI, Murga M, Fernandez-Capetillo O. Targeting ATR and Chk1 kinases for cancer treatment: a new model for new (and old) drugs. *Mol Oncol* 2011; 5: 368-373 [PMID: 21820372 DOI: 10.1016/j.molonc.2011.07.002]
- 12 Maugeri-Saccà M, Bartucci M, De Maria R. Checkpoint kinase 1 inhibitors for potentiating systemic anticancer therapy. *Cancer Treat Rev* 2013; 39: 525-533 [PMID: 23207059 DOI: 10.1016/j.ctrv.2012.10.007]
- 13 Hyun SY, Rosen EM, Jang YJ. Novel DNA damage checkpoint in mitosis: Mitotic DNA damage induces re-replication without cell division in various cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 423: 593-599 [PMID: 22704936 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.06.023]
- 14 Chen T, Stephens PA, Middleton FK, Curtin NJ. Targeting the S and G2 checkpoint to treat cancer. *Drug Discov Today* 2012; 17: 194-202 [PMID: 22192883 DOI: 10.1016/j.drudis.2011.12.009]
- 15 Stracker TH, Usui T, Petrini JH. Taking the time to make important decisions: the checkpoint effector kinases Chk1 and Chk2 and the DNA damage response. *DNA Repair (Amst)* 2009; 8: 1047-1054 [PMID: 19473886 DOI: 10.1016/j.dnarep.2009.04.012]
- 16 Moon DO, Kim MO, Choi YH, Hyun JW, Chang WY, Kim GY. Butein induces G(2)/M phase ar-

- rest and apoptosis in human hepatoma cancer cells through ROS generation. *Cancer Lett* 2010; 288: 204-213 [PMID: 19643530 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.07.002]
- 17 Boreddy SR, Srivastava SK. Pancreatic cancer chemoprevention by phytochemicals. *Cancer Lett* 2012 Oct 27. [Epub ahead of print] [PMID: 23111102 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.10.020]
- 18 Chen HM, Chang FR, Hsieh YC, Cheng YJ, Hsieh KC, Tsai LM, Lin AS, Wu YC, Yuan SS. A novel synthetic protoapigenone analogue, WYC02-9, induces DNA damage and apoptosis in DU145 prostate cancer cells through generation of reactive oxygen species. *Free Radic Biol Med* 2011; 50: 1151-1162 [PMID: 21256211 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2011.01.015]
- 19 Grabauskiene S, Bergeron EJ, Chen G, Chang AC, Lin J, Thomas DG, Giordano TJ, Beer DG, Morgan MA, Reddy RM. CHK1 levels correlate with sensitization to pemetrexed by CHK1 inhibitors in non-small cell lung cancer cells. *Lung Cancer* 2013; 82: 477-484 [PMID: 24113549 DOI: 10.1016/j.lungcan.2013.09.010]
- 20 王玉祥. RNA干扰细胞周期检测点激酶CHK1和CHK2表达对食管癌细胞照射后细胞周期阻滞的消除作用. 河北医科大学, 2005: 1-156
- 21 Pamonsinlapatham P, Hadj-Slimane R, Lepelletier Y, Allain B, Toccafondi M, Garbay C, Raynaud F. p120-Ras GTPase activating protein (RasGAP): a multi-interacting protein in downstream signaling. *Biochimie* 2009; 91: 320-328 [PMID: 19022332 DOI: 10.1016/j.biochi.2008.10.010]
- 22 Kennedy D, French J, Guitard E, Ru K, Tocque B, Mattick J. Characterization of G3BPs: tissue specific expression, chromosomal localisation and ras-GAP(120) binding studies. *J Cell Biochem* 2001; 84: 173-187 [PMID: 11746526]
- 23 Vognsen T, Kristensen O. Crystal structure of the Rasputin NTF2-like domain from *Drosophila melanogaster*. *Biochem Biophys Res Commun* 2012; 420: 188-192 [PMID: 22414690 DOI: 10.1016/j.bbrc.2012.02.140]
- 24 Ming M, He YY. PTEN in DNA damage repair. *Cancer Lett* 2012; 319: 125-129 [PMID: 22266095 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.01.003]
- 25 Li Y, Qu X, Qu J, Zhang Y, Liu J, Teng Y, Hu X, Hou K, Liu Y. Arsenic trioxide induces apoptosis and G2/M phase arrest by inducing Cbl to inhibit PI3K/Akt signaling and thereby regulate p53 activation. *Cancer Lett* 2009; 284: 208-215 [PMID: 19457607 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.04.035]
- 26 Yuan J, Luo K, Zhang L, Cheville JC, Lou Z. USP10 regulates p53 localization and stability by deubiquitinating p53. *Cell* 2010; 140: 384-396 [PMID: 20096447 DOI: 10.1016/j.cell.2009.12.032]
- 27 Fukuda K, Sakakura C, Miyagawa K, Kuriu Y, Kin S, Nakase Y, Hagiwara A, Mitsufuji S, Okazaki Y, Hayashizaki Y, Yamagishi H. Differential gene expression profiles of radioresistant oesophageal cancer cell lines established by continuous fractionated irradiation. *Br J Cancer* 2004; 91: 1543-1550 [PMID: 15365572]
- 28 Zhang X, Komaki R, Wang L, Fang B, Chang JY. Treatment of radioresistant stem-like esophageal cancer cells by an apoptotic gene-armed, telomerase-specific oncolytic adenovirus. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 2813-2823 [PMID: 18451249 DOI: 10.1158/1078-0432]
- 29 Peitzsch C, Kurth I, Kunz-Schughart L, Baumann M, Dubrovska A. Discovery of the cancer stem cell related determinants of radioresistance. *Radiother Oncol* 2013; 108: 378-387 [PMID: 23830195 DOI: 10.1016/j.radonc.2013.06.003]
- 30 孙志刚, 黄盛冬, 张宝仁, 徐志云, 刘晓红, 龚德军, 袁扬. 食管肿瘤干细胞的分选及鉴定的实验研究. 中华医学杂志 2009; 89: 291-295
- 31 Pajonk F, Vlashi E, McBride WH. Radiation resistance of cancer stem cells: the 4 R's of radiobiology revisited. *Stem Cells* 2010; 28: 639-648 [PMID: 20135685 DOI: 10.1002/stem.318]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# shRNA maspin/pGenesil-1.1表达载体的构建及意义

倪江涛, 杨紫汐, 易永芬

倪江涛, 杨紫汐, 泸州医学院病理教研室 四川省泸州市 646000

易永芬, 重庆医科大学病理教研室, 分子医学与肿瘤研究中心 重庆市 400016

倪江涛, 讲师, 主要从事消化系肿瘤的研究。

重庆市教委科研基金资助项目, No. 040310

作者贡献分布: 此课题由倪江涛与易永芬设计; 基因重组、RT-PCR和Western blot检测由倪江涛与杨紫汐完成; 数据分析由倪江涛完成; 论文写作由倪江涛与易永芬完成。

通讯作者: 易永芬, 教授, 400016, 重庆市渝中区医学院路1号, 重庆医科大学病理教研室, 分子医学与肿瘤研究中心。

yi Yongfen1953@yahoo.com.cn

电话: 023-68485789

收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2013-12-05

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-02-08

## Construction of a eukaryotic expression vector containing shRNA targeting maspin

Jiang-Tao Ni, Zi-Xi Yang, Yong-Fen Yi

Jiang-Tao Ni, Zi-Xi Yang, Department of Pathology, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Yong-Fen Yi, Department of Pathology, Molecular Medicine and Tumor Research Center, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Supported by: the Scientific Research Foundation of Chongqing Education Commission, No. 040310

Correspondence to: Yong-Fen Yi, Professor, Department of Pathology, Molecular Medicine and Tumor Research Center, Chongqing Medical University, 1 Medical University Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, China. yi Yongfen1953@yahoo.com.cn

Received: 2013-11-26 Revised: 2013-12-05

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To construct a eukaryotic expression vector containing short hairpin RNA (shRNA) targeting the *maspin* gene.

**METHODS:** A shRNA targeting the *maspin* gene was ligated to the pGenesil-1.1 plasmid expressing green fluorescent protein. Recombinant *maspin*/pGenesil positive plasmid and YX/pGenesil negative plasmid were constructed. After recombinant plasmids were transfected into MKN-28 cells, RT-PCR and Western blot were performed to detect *maspin* mRNA and protein expression, respectively.

**RESULTS:** The recombinant plasmids were validated by gel electrophoresis and DNA sequence analysis. RT-PCR and Western blot analyses indicated that after successful transfection, both *maspin* mRNA and protein expression in the *maspin*/pGenesil group was dramatically down-regulated, compared with that in the YX/pGenesil group ( $0.127 \pm 0.02$  vs  $0.510 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.24 \pm 0.10$  vs  $0.65 \pm 0.09$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The *maspin* shRNA recombinant plasmid has been constructed successfully. Transfection with the *maspin* shRNA recombinant plasmid could inhibit the expression of *maspin* mRNA and protein effectively in human gastric cancer cell line MKN-28.

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

**Key Words:** *Maspin*; shRNA; Gastric cancer

Ni JT, Yang ZX, Yi YF. Construction of a eukaryotic expression vector containing shRNA targeting *maspin*. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 469-475 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/469.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.469>

## 摘要

**目的:** 构建*maspin*基因shRNA真核表达载体, 为进一步研究*maspin*基因在胃癌细胞株MKN-28生长、浸润、转移中的作用奠定基础。

**方法:** 设计合成针对*maspin*基因的shRNA与表达绿色荧光蛋白的pGenesil-1.1质粒连接, 构建的重组质粒分别命名为阳性质粒*maspin*/pGenesil和阴性质粒YX/pGenesil。分别用RT-PCR和Western blot检测转染重组质粒前后胃癌细胞株MKN-28 *maspin*的表达变化。

**结果:** 通过凝胶电泳和DNA测序分析, 成功构建针对*maspin*特异性shRNA真核表达质粒*maspin*/pGenesil及YX/pGenesil。RT-PCR与Western blot检测发现转染成功后*maspin*/pGenesil组比YX/pGenesil组*maspin* mRNA的

## ■背景资料

Maspin是新发现的一种丝氨酸蛋白酶抑制剂, 可诱导多种肿瘤细胞出现凋亡、抑制血管形成、促进细胞与基底膜及细胞外基质黏附, 但有关*maspin*与胃癌的关系, 国内外少有报道, 本研究拟构建*maspin*/pGenesil-1.1表达载体沉默*maspin*的表达, 为后续进一步研究*maspin*基因在胃癌细胞生长、浸润、转移中的作用奠定基础。

## ■同行评议者

陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科

## ■ 研发前沿

*Maspin*基因在多种肿瘤中表现出抑癌活性,而在有些肿瘤,如卵巢癌中则相反,这个矛盾的结果还没有得到合理的解释,人们开始对*maspin*基因是否是抑癌基因提出了质疑。目前需要研究的是*maspin*基因是通过怎样的途径在肿瘤细胞中发挥作用的。

表达显著下降( $0.127 \pm 0.02$  vs  $0.510 \pm 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); *maspin*/pGenesil组比YX/pGenesil组*maspin*蛋白表达也显著下降( $0.24 \pm 0.10$  vs  $0.65 \pm 0.09$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** 成功构建了重组质粒*maspin*/pGenesil,经转染能有效抑制人胃癌细胞株MKN-28*maspin*基因的表达。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** *Maspin*; shRNA; 胃癌

**核心提示:** 根据shRNA设计原则,设计针对*maspin*基因编码区的RNA干扰靶位点,构建了2个RNAi质粒表达载体即: *maspin*/pGenesil(阳性对照)、YX/pGenesil(阴性对照)。最后,通过RT-PCR与Western blot检测发现阳性质粒转染成功后可显著下调胃癌细胞株*maspin*的表达。

倪江海, 杨紫汐, 易永芬. shRNA *maspin*/pGenesil-1.1表达载体的构建及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 469-475  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/469.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.469>

## 0 引言

*Maspin*是使用减数杂交和差异显示技术通过对正常乳腺上皮与乳腺癌进行比较研究时得到的一种肿瘤抑制基因,他是丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族成员之一,参与细胞外基质降解<sup>[1]</sup>。在体外,前列腺癌与乳腺癌细胞株中,*maspin*显示出抑制肿瘤细胞侵袭与运动的能力,在动物模型中降低癌细胞株转移的能力<sup>[2]</sup>。然而AbdEl-Wahed等<sup>[3]</sup>在研究卵巢肿瘤时发现卵巢良性上皮肿瘤与正常卵巢表面上皮均无*maspin*表达,却在卵巢恶性肿瘤中过表达。在胆囊癌<sup>[4]</sup>、胰腺癌、结直肠癌<sup>[5]</sup>及甲状腺癌<sup>[6]</sup>中也发现*maspin*表达上调,这两种截然相反的现象使人们开始质疑其是否为一抑癌基因。为此本课题组前期采用了基因重组的方法,构建*maspin*/PCR2.1重组质粒转染至胃癌细胞株,曾探索上调*maspin*的表达对胃癌细胞凋亡的影响<sup>[7]</sup>,证实了*maspin*基因与胃癌细胞凋亡密切相关,上调*maspin*的表达能够提高胃癌细胞对凋亡刺激信号的敏感性,诱导胃癌细胞发生凋亡,但是该基因在胃癌发生、浸润、转移中的作用究竟如何,有待通过实验进一步证实。为此,本实验拟构建针对*maspin*基因shRNA真核表达载体,转染胃癌细胞株MKN-28,为进一步研究*maspin*基因在胃癌

细胞株MKN-28生长、浸润、转移中的作用奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 胃癌细胞株MKN-28细胞,本实验室保存,真核表达质粒载体pGenesil-1.1、大肠杆菌DH5 $\alpha$ 购自武汉晶赛生物技术有限公司;各工具酶购自TaKaRa公司。RT-PCR及TRIzol试剂、阳离子脂质体Lipofectamine<sup>TM</sup>2000购自Invitrogen公司;PVDF膜是Whatman公司的产品;兔抗人*maspin*多克隆抗体购自Abzoom公司;小鼠抗人GAPDH多克隆抗体购自武汉博士德生物工程有限公司;无内毒素质粒中量抽提试剂盒购自Omega公司;小规模质粒纯化试剂盒为中鼎生物技术有限公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 *maspin*短发夹RNA(short hairpin RNA, shRNA)的设计与构建:** 根据shRNA设计原则,在GenBank中查阅人源*maspin*基因序列(GI: 453368),设计针对*maspin*基因编码区的RNA干扰(RNA interference, RNAi)靶位点1个,为: 1012-1031: 5'-GTGGCCCTATCAAATGTTA-3'。阴性对照为已明确的不针对任何人mRNA的RNAi靶位点,其序列为: 5'-GACTTCATA-AGGCGCATGC-3'。为此,共构建了2个RNAi质粒表达载体即: *maspin*/pGenesil、YX/pGenesil。两个基因片段均由武汉晶赛生物技术有限公司合成(表1)。各用25  $\mu$ L退火缓冲液溶解上述合成1 A单链目的基因片段。然后各取单链目的基因片段正链和负链,分别为2  $\mu$ L和16  $\mu$ L,退火缓冲液混匀。经95  $^{\circ}$ C水浴退火5 min,自然冷却至37  $^{\circ}$ C 1 h。用Eco31 I限制性内切酶酶切质粒载体pGenesil-1.1,使之线性化。接着使用T4 DNA连接酶将准备好的目的基因片段连接到线性化质粒载体pGenesil-1.1,22  $^{\circ}$ C水浴过夜,构建shRNA *maspin*/pGenesil-1.1重组质粒,转化入处于感受态大肠杆菌DH5 $\alpha$ ,随后接种在含卡那霉素罗氏培养基的培养皿中,37  $^{\circ}$ C过夜。

**1.2.2 shRNA *maspin*/pGenesil-1.1表达载体的鉴定:** 将提取的重组质粒经Sal I酶切后进行琼脂糖凝胶电泳,判断酶切产物大小;并将含重组质粒的菌液送武汉晶赛生物技术有限公司测序,以鉴定重组质粒是否构建成功。

**1.2.3 shRNA *maspin*/pGenesil-1.1转染MKN-28细胞:** 使用阳离子脂质体Lipofectamine<sup>TM</sup>2000

表 1 maspin shRNA的序列及结构

shRNA	序列及结构
maspin/pGenesil	5'-CACC GTGGCCCTATCAAATGTTA TTCAAGACG TAACATTTGATAGGGCCAC TTTTTT G-3' 5'-AGCTCAAAAAA GTGGCCCTATCAAATGTTA CGTCTTGAA TAACATTTGATAGGGCCAC-3'
YX/pGenesil	5'-CACCGACTTCATAAGGCGCATGCTTCAAGACGGCATGCGCCTTATGAAGTC TTTTTT G-3' 5'-AGCTCAAAAAAGACTTCATAAGGCGCATGC CGTCTTGAAGCATGCGCCTTATGAAGTC

CACC: 人工插入序列; TTTTTT和AAAAAA: 终止序列; TTCAAGACG和CGTCTTGAA: 茎环; AGCTC: *Sal* I 酶切位点。

表 2 合成的引物序列

名称	引物序列	大小(bp)
maspin	5'-CTCCAGGCCCGCAATGGAT-3' 5'-GGGCTATGCCAC TAAGGAG-3'	1240
GAPDH	5'-CCATGGAGAAGGCTGGGG-3' 5'-CAAAGTTGTCATGGATGA-3'	208

进行转染, 按照脂质体说明书操作. 将表达质粒 maspin/pGenesil、YX/pGenesil及空载体分别转染MKN-28细胞, 并用400  $\mu$ g/mL G418抗性筛选.

1.2.4 计算转染率: 取转染后的细胞常规铺片, 置于荧光显微镜下观察并计算转染率, 转染效率 = (发出绿色荧光的细胞数/可见光下总细胞数)  $\times$  100%.

1.2.5 RT-PCR检测转染细胞maspin在转录水平的表达: 用TRIzol提取细胞总RNA, 10 $\times$  RT Buffer 1  $\mu$ L, RNase Free H<sub>2</sub>O 3.75  $\mu$ L, dNTP Mixture(各 10 mmol/L 1  $\mu$ L, RNase inhibitor 0.25  $\mu$ L, AMV reverse transcriptase 0.5  $\mu$ L, Oligo dT-Adaptor Primer 0.5  $\mu$ L, 总RNA 1  $\mu$ L, 共10  $\mu$ L反应体系. 30  $^{\circ}$ C 10 min, 42  $^{\circ}$ C 20 min, 99  $^{\circ}$ C 5 min, 5  $^{\circ}$ C 5 min进行反转录反应, 所得产物用于PCR扩增. 瞬时离心3-5 s, 混匀后maspin与GAPDH(内参)按下列条件进行PCR反应: 94  $^{\circ}$ C 2 min, 94  $^{\circ}$ C 30 s, 55  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 30 s, 35个循环, 72  $^{\circ}$ C 5 min. PCR结束后各取5  $\mu$ L反应液1%琼脂糖凝胶电泳, 经Bio-Rad凝胶成像系统采集图像、保存, 用Quantity One 4.5.0软件进行分析, 将各目的基因与GAPDH灰度值的比值作为其mRNA表达量, 每样本重复3次. maspin与GAPDH的RT-PCR引物序列如表2, 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成.

1.2.6 Western blot检测转染细胞maspin蛋白表达: 收集实验组和对照组的细胞1 $\times$ 10<sup>6</sup>个, 提取蛋白, 每空80  $\mu$ g上样量, 10%聚丙烯酰胺凝胶电泳, 电转印蛋白质, 免疫反应时加入5%蛋白封闭液

稀释的HRP标记的羊抗鼠或者羊抗兔二抗体(工作浓度1:1000), 室温下在摇床上振摇60 min. 最后进行化学发光, 在BIO-RAD成像仪上进行图像采集、保存, 并用Quantity One 4.5.0软件分析, 将各目的基因与GAPDH灰度值的比值作为其蛋白表达量, 每样本重复3次.

**统计学处理** 使用SPSS11.5统计学软件进行统计分析. 数据以mean $\pm$ SD表示, 两两之间比较采用 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 重组质粒鉴定及转染率检测 在本研究中插入的目的基因片段里, 设计了一个*Sal* I 的酶切位点, 而质粒pGenesil-1.1本来就有*Sal* I 酶切位点, 如插入正确, 质粒就能被*Sal* I 酶切出一条长约916 bp的DNA片段. 经限制性内切酶*Sal* I 酶切鉴定分析: 重组质粒maspin/pGenesil与YX/pGenesil符合设计要求(图1A). 测序结果也证实设计基因序列正确插入质粒中, 成功构建重组质粒. 重组质粒maspin/pGenesil与YX/pGenesil在脂质体介导下转染胃癌细胞株MKN-28. 在转染后约6-12 h, 倒置荧光显微镜下即可观察到MKN-28细胞株内出现绿色荧光, 在48 h时荧光强度达到最强, 其转染效率约65%(图1B, C).

2.2 RT-PCR检测转染重组质粒对maspin转录水平表达的影响 实验组maspin/pGenesil与对照组[阴性对照YX/pGenesil、空白对照(仅加入脂质体)]细胞相比, 对照组细胞maspin mRNA表达明显较阴性对照和空白对照组减弱( $P = 0.0001$ ),

## ■ 相关报道

Maspin基因在体外, 前列腺癌与乳腺癌细胞株中, maspin显示出抑制肿瘤细胞侵袭与运动的能力. 在动物模型中降低癌细胞株转移的能力, 但在卵巢肿瘤中发现卵巢良性上皮肿瘤与正常卵巢表面上皮均无maspin表达, 却在卵巢恶性肿瘤中过表达.



## ■创新盘点

我们通过构建针对 *maspin* 基因的 shRNA 表达载体, 利用特异、高效、快捷的 RNA 干扰技术, 沉默胃癌细胞 *maspin* 基因, 为进一步研究 *maspin* 在胃癌细胞中的功能奠定基础。

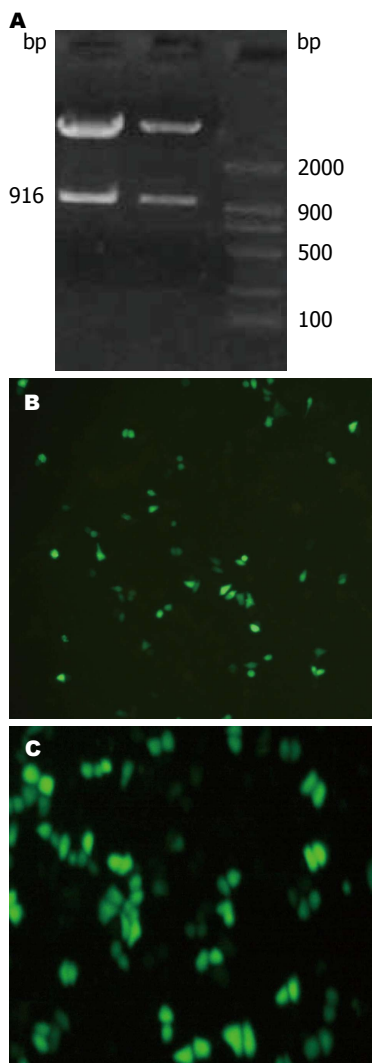


图 1 重组质粒 *Sal* I 酶切电泳图及荧光显微镜观察 MKN-28 细胞转染 *maspin/pGenesil* 的效率。A: 重组质粒 *Sal* I 酶切电泳图。1: *maspin/pGenesil*; 2: *YX/pGenesil*; 3: DL2000 Marker; B: MKN-28 细胞转染 *maspin/pGenesil* 24 h; C: MKN-28 细胞转染 *maspin/pGenesil* 48 h。

而阴性对照组与空白对照组之间的差异无统计学意义 ( $P = 0.334$ ) (表3, 图2)。

**2.3 Western blot 检测转染重组质粒对 *maspin* 蛋白表达的影响** 内参 GAPDH 条带粗细亮度基本一致, 没有显著差别 ( $P = 0.52$ ), 说明蛋白上样量一致 (三组细胞的 *maspin* 蛋白的表达情况如图3)。实验组与对照组相比, 实验组 *maspin* 蛋白表达明显低于阴性对照和空白对照组 (表4), 其差异有统计学意义 ( $P = 0.0001$ ), 而阴性对照组与空白对照组之间的差异无统计学意义 ( $P = 0.52$ ), 说明转染重组质粒 *maspin/pGenesil* 组的 *maspin* 蛋白表达受到抑制。

### 3 讨论

恶性肿瘤是严重危害人类健康的疾病。我国每

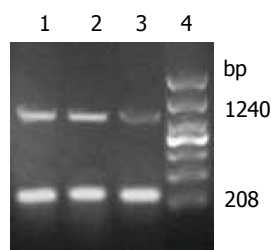


图 2 转染重组质粒的 MKN-28 细胞 *maspin* mRNA 的表达。1: Lipofectamine group; 2: *YX/pGenesil*; 3: *maspin/pGenesil*; 4: DL2000 Marker。

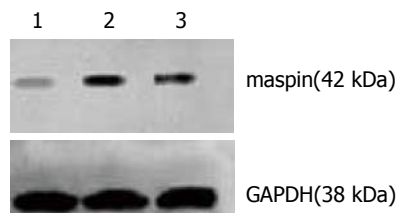


图 3 转染重组质粒的 MKN-28 细胞 *maspin* mRNA 的表达。1: *maspin/pGenesil*; 2: Lipofectamine group; 3: *YX/pGenesil*。

年约新增 312 万例恶性肿瘤患者, 因癌死亡超过 200 万例。胃癌是最常见的恶性肿瘤之一, 在消化系统中占第一位, 多种癌基因和抑癌基因的异常与胃癌的发生发展密切相关, 因此研究与胃癌密切相关的基因十分必要。

*maspin* 基因于 1994 年首次发现, 该基因定位于染色体 18q21.3-q23, 编码一种 42 kDa 的蛋白质<sup>[6,8]</sup>, 有研究表明 *maspin* 可诱导细胞凋亡、抑制血管形成、促进细胞与基底膜及细胞外基质黏附<sup>[9-13]</sup>, 可用于胆管癌的预后判断及化疗效果判断<sup>[14]</sup>。目前国内外关于 *maspin* 生物学功能的研究还处在初始阶段, *maspin* shRNA 对胃癌细胞的影响未见报道。RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 是近年发展起来的一种新技术, 是一种由双链 RNA (double-stranded RNA, dsRNA) 诱发的特定基因沉默技术, 在此过程中, 与双链 RNA 有同源序列的 mRNA 被降解, 从而达到沉默该基因表达的目的。由于其导致的基因沉默发生在转录后水平, 故又被称为转录后基因沉默 (post-transcriptional gene silencing, PTGS)<sup>[15,16]</sup>。RNAi 技术作为一种能使生物体特定基因沉默的新方法, 其出现为基因功能研究提供了新的方法<sup>[17,18]</sup>。RNAi 现象在多种生物中存在, 如: 植物<sup>[19]</sup>、线虫<sup>[20,21]</sup>以及果蝇<sup>[22-25]</sup>等。1999 年 Tuschl 等<sup>[26]</sup>报道在哺乳动物中也存在 RNAi 现象。2001 年, Elbashir 等<sup>[27]</sup>应用 RNAi 技术成功地在哺乳动物细胞中诱导了基因沉默现象。Meng 等<sup>[28]</sup>利用小干扰

表 3 maspin/pGenesil、YX/pGenesil及脂质体组细胞maspin mRNA灰度值(mean ± SD)

分组	maspin	GAPDH	比率
Lipofectamine	839.0 ± 70.3	1578.5 ± 109	0.531 ± 0.02
YX/pGenesil	802.3 ± 76.4	1571.6 ± 80.3	0.510 ± 0.01
maspin/pGenesil	203.1 ± 10.6	1588.6 ± 90.5	0.127 ± 0.02 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs YX/pGenesil组。

表 4 MKN-28 maspin蛋白表达的灰度值(mean ± SD)

分组	maspin	GAPDH	比率
Lipofectamine	25331.62 ± 2166.22	38142.45 ± 4566.32	0.66 ± 0.12
YX/pGenesil	24996.12 ± 3095.28	38562.70 ± 3912.55	0.65 ± 0.09
maspin/pGenesil	9121.15 ± 1897.02	38384.29 ± 3124.36	0.24 ± 0.10 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs YX/pGenesil组。

RNA(small interference RNA, siRNA)沉默胃癌细胞株SGC-7901中*Raf-1*基因后*Raf-1*蛋白水平明显下降, 两个血管生长促进因子: 血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial cell growth factor, VEGF)和低氧诱导因子-1(hypoxia inducible factor-1, HIF-1)表达也下调。Jinawath等<sup>[29]</sup>研究发现, 将核仁蛋白NOL8特异性siRNA转染ST-4、TMK-1和MKN45三种不同的胃癌细胞株, 可以有效地降低该基因的表达, 并能诱导这些细胞凋亡。

实施RNA干扰目前可以采用: (1)体外转录法; (2)载体表达法, 将DNA模板导入到细胞内后通过转录的方式再产生dsRNA<sup>[30]</sup>; (3)化学合成法, 人工制备siRNA, 然后导入细胞内。本实验根据siRNA载体表达法的原理, 构建针对*maspin*基因的shRNA重组质粒maspin/pGenesil, 将其转染入胃癌细胞株MKN-28中。当针对*maspin*基因的shRNA模板进入细胞内以后, 通过转录的方式产生dsRNA。所产生的dsRNA被一种双链RNA特异性的核酸内切酶(dsRNA-specific endonuclease, Dicer)识别, 切割成21-23个核苷酸的siRNA片段<sup>[31]</sup>。这些片段随后与该核酸酶的dsRNA结构域结合, 并且作为模板识别目的基因*maspin* mRNA。识别之后, *maspin* mRNA与dsRNA的有义链发生链互换, 原先dsRNA中的有义链被*maspin* mRNA代替, 从Dicer酶-dsRNA复合物中释放出来, 而*maspin* mRNA则处于原先的有义链所处的位置。随之, 形成RNA诱导的沉默复合物(RNA-

induced silencing complex, RISC), 继而RISC特异性地对目的基因*maspin* mRNA进行切割, 使*maspin* mRNA分子失去编码蛋白质的功能, 从而使*maspin*基因沉默, 产生RNA干扰现象。由此, 我们采用RT-PCR和Western blot分别在转录及蛋白水平检测*maspin*基因表达的时候, 发现maspin/pGenesil组都显著低于YX/pGenesil组。由于真核表达质粒携带有绿色荧光蛋白基因, 在荧光显微镜下可以观察到含有shRNA maspin/pGenesil的细胞, 从而计算转染效率。

总之, 在本实验中我们成功构建了maspin/pGenesil、YX/pGenesil重组质粒, 转染胃癌细胞株MKN-28后, *maspin*表达下调, 取得了沉默*maspin*表达的效果, 为深入研究*maspin*基因在胃癌细胞株MKN-28生长、浸润、转移中的作用奠定了基础。

#### 4 参考文献

- 1 Yatabe Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Maspin expression in normal lung and non-small-cell lung cancers: cellular property-associated expression under the control of promoter DNA methylation. *Oncogene* 2004; 23: 4041-4049 [PMID: 15048080 DOI: 10.1038/sj.onc.1207557]
- 2 Maass N, Hojo T, Zhang M, Sager R, Jonat W, Nagasaki K. Maspin--a novel protease inhibitor with tumor-suppressing activity in breast cancer. *Acta Oncol* 2000; 39: 931-934 [PMID: 11206999 DOI: 10.1080/02841860050215909]
- 3 Abd El-Wahed MM. Expression and subcellular localization of maspin in human ovarian epithelial neoplasms: correlation with clinicopathologic features. *J Egypt Natl Canc Inst* 2005; 17: 173-183 [PMID: 16799655]

#### ■应用要点

RNAi独特的作用机制以及其简便的操作流程和对*maspin*表达抑制的高效性, 为胃癌基因治疗打下一定的基础。

## ■名词解释

shRNA: 是short hairpin RNA 的缩写, 翻译为“短发夹RNA”, shRNA包括两个短反向重复序列, 随后再连上5-6个T作为RNA聚合酶Ⅲ的转录终止子。

- 4 Dong P, Zhang Y, Gu J, Wu W, Li M, Yang J, Zhang L, Lu J, Mu J, Chen L, Li S, Wang J, Liu Y. Wogonin, an active ingredient of Chinese herb medicine *Scutellaria baicalensis*, inhibits the mobility and invasion of human gallbladder carcinoma GBC-SD cells by inducing the expression of maspin. *J Ethnopharmacol* 2011; 137: 1373-1380 [PMID: 21855619 DOI: 10.1016/j.jep.2011.08.005]
- 5 Gurzu S, Szentirmay Z, Popa D, Jung I. Practical value of the new system for Maspin assessment, in colorectal cancer. *Neoplasma* 2013; 60: 373-383 [PMID: 23581409 DOI: 10.4149/neo\_2013\_049]
- 6 Berardi R, Morgese F, Onofri A, Mazzanti P, Pistelli M, Ballatore Z, Savini A, De Lisa M, Caramanti M, Rinaldi S, Pagliaretta S, Santoni M, Pierantoni C, Cascinu S. Role of maspin in cancer. *Clin Transl Med* 2013; 2: 8 [PMID: 23497644 DOI: 10.1186/2011-1326-2-8]
- 7 郑爱华, 易永芬, 周文文. MASPIN真核表达载体的构建及对胃癌细胞SGC7901的诱导凋亡作用. *癌症* 2008; 27: 1161-1165
- 8 邓伟, 易永芬, 刘丹丹. 胃癌组织Maspin, uPA, MMP-7表达的意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 660-661
- 9 Choy B, Findeis-Hosey JJ, Li F, McMahon LA, Yang Q, Xu H. High frequency of coexpression of maspin with p63 and p53 in squamous cell carcinoma but not in adenocarcinoma of the lung. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 2542-2547 [PMID: 24228118]
- 10 Fawzy AI, Gayyed MF, Elsaghir GA, Elbadry MS. Expression of Snail transcription factor in prostatic adenocarcinoma in Egypt: correlation with Maspin protein expression and clinicopathologic variables. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 1558-1566 [PMID: 23923074]
- 11 Wang Y, Sheng S, Zhang J, Dzinic S, Li S, Fang F, Wu N, Zheng Q, Yang Y. Elevated maspin expression is associated with better overall survival in esophageal squamous cell carcinoma (ESCC). *PLoS One* 2013; 8: e63581 [PMID: 23717449 DOI: 10.1371/journal.pone.0063581]
- 12 Kaplun A, Dzinic S, Bernardo M, Sheng S. Tumor suppressor maspin as a rheostat in HDAC regulation to achieve the fine-tuning of epithelial homeostasis. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 2012; 22: 249-258 [PMID: 23140166 DOI: 10.1615/CritRevEukarGeneExpr.v22.i3.80]
- 13 Zhang W, Shi HY, Zhang M. Maspin overexpression modulates tumor cell apoptosis through the regulation of Bcl-2 family proteins. *BMC Cancer* 2005; 5: 50 [PMID: 15907209 DOI: 10.1186/1471-2407-5-50]
- 14 Romani AA, Soliani P, Desenzani S, Borghetti AF, Crafa P. The associated expression of Maspin and Bax proteins as a potential prognostic factor in intrahepatic cholangiocarcinoma. *BMC Cancer* 2006; 6: 255 [PMID: 17067385 DOI: 10.1186/1471-2407-6-255]
- 15 Hannon GJ. RNA interference. *Nature* 2002; 418: 244-251 [PMID: 12110901 DOI: 10.1038/418244a]
- 16 McManus MT, Sharp PA. Gene silencing in mammals by small interfering RNAs. *Nat Rev Genet* 2002; 3: 737-747 [PMID: 12360232 DOI: 10.1038/nrg908]
- 17 Hohjoh H. Disease-causing allele-specific silencing by RNA interference. *Pharmaceuticals* (Basel) 2013; 6: 522-535 [PMID: 24276122 DOI: 10.3390/ph6040522]
- 18 Guo B, Zhang B, Zheng L, Tang T, Liu J, Wu H, Yang Z, Peng S, He X, Zhang H, Yue KK, He F, Zhang L, Qin L, Bian Z, Tan W, Liang Z, Lu A, Zhang G. Therapeutic RNA interference targeting CKIP-1 with a cross-species sequence to stimulate bone formation. *Bone* 2014; 59: 76-88 [PMID: 24246247 DOI: 10.1016/j.bone.2013.11.007]
- 19 Palauqui JC, Elmayan T, Pollien JM, Vaucheret H. Systemic acquired silencing: transgene-specific post-transcriptional silencing is transmitted by grafting from silenced stocks to non-silenced scions. *EMBO J* 1997; 16: 4738-4745 [PMID: 9303318 DOI: 10.1093/emboj/16.15.4738]
- 20 Tijsterman M, May RC, Simmer F, Okihara KL, Plasterk RH. Genes required for systemic RNA interference in *Caenorhabditis elegans*. *Curr Biol* 2004; 14: 111-116 [PMID: 14738731 DOI: 10.1016/j.cub.2003.12.029]
- 21 van Haaften G, Romeijn R, Pothof J, Koole W, Mullenders LH, Pastink A, Plasterk RH, Tijsterman M. Identification of conserved pathways of DNA-damage response and radiation protection by genome-wide RNAi. *Curr Biol* 2006; 16: 1344-1350 [PMID: 16824923 DOI: 10.1016/j.cub.2006.05.047]
- 22 Zamore PD, Tuschl T, Sharp PA, Bartel DP. RNAi: double-stranded RNA directs the ATP-dependent cleavage of mRNA at 21 to 23 nucleotide intervals. *Cell* 2000; 101: 25-33 [PMID: 10778853 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80620-0]
- 23 Xiong XP, Kurthkoti K, Chang KY, Lichinchi G, De N, Schneemann A, MacRae IJ, Rana TM, Perrimon N, Zhou R. Core small nuclear ribonucleoprotein particle splicing factor Smd1 modulates RNA interference in *Drosophila*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 16520-16525 [PMID: 24067655 DOI: 10.1073/pnas.1315803110]
- 24 Cernilogar FM, Burroughs AM, Lanzuolo C, Breiling A, Imhof A, Orlando V. RNA-interference components are dispensable for transcriptional silencing of the *drosophila* bithorax-complex. *PLoS One* 2013; 8: e65740 [PMID: 23785447 DOI: 10.1371/journal.pone.0065740]
- 25 Stotz SC, Clapham DE. Anion-sensitive fluorophore identifies the *Drosophila* swell-activated chloride channel in a genome-wide RNA interference screen. *PLoS One* 2012; 7: e46865 [PMID: 23056495 DOI: 10.1371/journal.pone.0046865]
- 26 Tuschl T, Zamore PD, Lehmann R, Bartel DP, Sharp PA. Targeted mRNA degradation by double-stranded RNA in vitro. *Genes Dev* 1999; 13: 3191-3197 [PMID: 10617568 DOI: 10.1101/gad.13.24.3191]
- 27 Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494-498 [PMID: 11373684 DOI: 10.1038/35078107]
- 28 Meng F, Ding J, Liu N, Zhang J, Shao X, Shen H, Xue Y, Xie H, Fan D. Inhibition of gastric cancer angiogenesis by vector-based RNA interference for Raf-1. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 113-117 [PMID: 15662129 DOI: 10.4161/cbt.4.1.1446]
- 29 Jinawath N, Furukawa Y, Nakamura Y. Identification of NOL8, a nucleolar protein containing an RNA recognition motif (RRM), which was overexpressed in diffuse-type gastric cancer. *Cancer Sci* 2004; 95: 430-435 [PMID: 15132771 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb03227.x]
- 30 Ohta A, Inoue A, Taira K. [Basic research on and



application of RNA interference]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2004; 31: 827-831 [PMID: 15222096]  
31 Hannon GJ, Conklin DS. RNA interference by short

hairpin RNAs expressed in vertebrate cells. *Methods Mol Biol* 2004; 257: 255-266 [PMID: 14770011 DOI: 10.1385/1-59259-750-5]

#### ■同行评价

本实验选题新颖、设计合理, 所得数据客观可信, 具有明显的临床意义。

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》出版流程

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

# 藤黄对人结肠癌HCT116细胞裸鼠原位移植模型的作用

竺平, 谷云飞, 杨柏霖, 林秋, 丁义江

## ■背景资料

结直肠癌是世界范围内发病率仅次于肺癌和乳腺癌的第三大恶性肿瘤, 近年来我国结直肠癌发病率和死亡率均呈上升趋势。以手术及放化疗为主的综合治疗目前仍然是结直肠癌的主要治疗方法, 手术的风险以及放化疗带来的并发症常让医生和患者陷入两难困局。因此迫切需要发现能够有效治疗结直肠癌的新方法。

竺平, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210046

谷云飞, 杨柏霖, 南京中医药大学附属医院肛肠科 江苏省南京市 210029

林秋, 江苏省中西医结合医院肛肠科 江苏省南京市 210028

丁义江, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科 江苏省南京市 210001

竺平, 在读博士, 主要从事结直肠疾病的临床及基础研究。

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2008457

南京中医药大学基础研究和重点培育基金资助项目, No. 09XPY01

作者贡献分布: 此课题由竺平、谷云飞及杨柏霖设计; 实验过程由竺平与杨柏霖操作完成; 数据分析由林秋完成; 本论文写作由竺平与丁义江共同完成。

通讯作者: 谷云飞, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 南京中医药大学附属医院肛肠科。guyunfei127@126.com  
电话: 025-86617141

收稿日期: 2013-10-30 修回日期: 2013-12-03

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-02-08

## Effects of gamboge in an orthotopic mouse model of colon cancer

Ping Zhu, Yun-Fei Gu, Bo-Lin Yang, Qiu Lin, Yi-Jiang Ding

Ping Zhu, the First Clinical Medical School, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210046, Jiangsu Province, China

Yun-Fei Gu, Bo-Lin Yang, Department of Colorectal Surgery, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Qiu Lin, Department of Colorectal Surgery, Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing 210028, Jiangsu Province, China

Yi-Jiang Ding, Department of Colorectal Surgery, the Third Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2008457; and the Basic Research Priorities Program Foundation of Nanjing University of Chinese Medicine, No. 09XPY01

Correspondence to: Yun-Fei Gu, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, the Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. guyunfei127@126.com

Received: 2013-10-30 Revised: 2013-12-03

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To study the antitumor and anti-metastatic effects of gamboge in an orthotopic mouse model developed with human colon cancer cell line HCT116.

**METHODS:** A colon cancer model was developed by surgical orthotopic implantation of green fluorescent protein (GFP)-expressing HCT 116 tumor in nude mice. Forty mice were equally randomized into four groups. Group 1 served as a negative control and received intragastric infusion of normal saline once daily. Group 2 received intraperitoneal injection of 5-fluorouracil at a dose of 25 mg/kg three times per week. Groups 3 and 4 received intragastric infusion of gamboge extract at a dose of 10 and 20 mg/kg, respectively, once daily. Each animal was checked for mortality and signs of morbidity every day. Primary tumor volume and metastasis for each animal were observed under a fluorescence imaging system twice a week, and body weights were measured as well. At the end of the experiment, all mice were sacrificed and open fluorescent images of tumors and metastases expressing GFP were acquired, and the tumor was removed from each mouse and weighed.

**RESULTS:** After initiation of different treatment regimens, the average tumor volume ( $\text{mm}^3$ ) was significantly smaller in the gamboge (20 mg/kg) group than the control group at each observation point (d4:  $104.5 \pm 35.5$  vs  $164.1 \pm 66.1$ ; d7:  $102.6 \pm 53.8$  vs  $286.2 \pm 132.0$ ; d11:  $137.6 \pm 70.5$  vs  $324.4 \pm 115.8$ ; d14:  $207.2 \pm 101.7$  vs  $434.2 \pm 169.3$ ; d21:  $229.8 \pm 99.8$  vs  $480.4 \pm 165.5$ ;  $P < 0.05$  for all). At the end of the study, the average tumor weight was significantly smaller in the gamboge group (20 mg/kg) than in the control group ( $0.58 \pm 0.26$  vs  $0.92 \pm 0.26$ ,  $P < 0.05$ ). There were no statistical differences between the gamboge (20 mg/kg) group and 5-fluorouracil group, as well as between the gamboge (10 mg/kg) group and control group, in term of average tumor volume and weight ( $P > 0.05$  for all). At the end of the experiment, open GFP imaging demonstrated that all groups presented metastasis of lymph nodes or the pancreas, although there were no significant differences between the four groups with regard to the metastasis rate ( $P > 0.05$  for all). No significant morbidity or weight loss was found in all tumor-bearing mice.

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

**CONCLUSION:** Gamboge at a dose of 20 mg/kg was able to suppress HCT 116 tumor growth in an orthotopic mouse model of colon cancer safely and effectively, and may possess clinical therapeutic potential for colorectal cancer.

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

**Key Words:** Gamboge; HCT116; Nude mice; Orthotopic model; Colorectal cancer

Zhu P, Gu YF, Yang BL, Lin Q, Ding YJ. Effects of gamboge in an orthotopic mouse model of colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 476-482 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/476.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.476>

## 摘要

**目的:** 研究藤黄对人结肠癌HCT116细胞建立的裸鼠外科原位移植瘤生长及转移的抑制作用。

**方法:** 通过外科原位移植能表达绿色荧光蛋白人结肠癌HCT116细胞的方法建立裸鼠结肠癌模型。40只模型裸鼠随机分为对照组(G1), 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)组(G2), 10、20 mg/kg藤黄组(G3、G4), 每组10只。G1组采用生理盐水灌胃, 1次/d; G2组用25 mg/kg的5-FU进行腹腔灌注, 3次/wk; G3、G4组分别给予相应剂量的藤黄提取物灌胃, 1次/d。每天观察受试裸鼠的并发症及死亡情况, 2次/wk在体外荧光影像系统下观察移植肿瘤大小并测量裸鼠体质量, 实验终点处死所有受试裸鼠在开放荧光系统下观察肿瘤生长及转移情况, 切除移植肿瘤进行称体质量。

**结果:** 药物干预后, 20 mg/kg藤黄组各观察点的平均肿瘤体积( $\text{mm}^3$ )均小于对照组(d4:  $104.5 \pm 35.5$  vs  $164.1 \pm 66.1$ ; d7:  $102.6 \pm 53.8$  vs  $286.2 \pm 132.0$ ; d11:  $137.6 \pm 70.5$  vs  $324.4 \pm 115.8$ ; d14:  $207.2 \pm 101.7$  vs  $434.2 \pm 169.3$ ; d21:  $229.8 \pm 99.8$  vs  $480.4 \pm 165.5$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。实验终点20 mg/kg藤黄组的平均肿瘤质量轻于对照组( $0.58 \text{ g} \pm 0.26 \text{ g}$  vs  $0.92 \text{ g} \pm 0.26 \text{ g}$ ), 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。20 mg/kg藤黄组与5-FU组之间比较, 10 mg/kg藤黄组与对照组比较, 无论是各观察点平均肿瘤体积还是实验终点肿瘤重量差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。实验终点开放体内荧光成像显示各组均出现了不同程度的胰腺及淋巴结转移, 比较组间淋巴结及胰腺转移率的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。实验过程中各组实验动物均未出现药物相关的不

良反应, 各组荷瘤裸鼠的平均体质量未出现明显波动。

**结论:** 藤黄在达到一定干预剂量(20 mg/kg)后能安全有效地抑制人结肠癌HCT116细胞裸鼠原位移植瘤的生长, 可能具有潜在的临床抗结直肠癌作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 藤黄; HCT116; 裸鼠; 原位移植模型; 结直肠癌

**核心提示:** 藤黄在达到一定干预剂量(20 mg/kg)后能有效地抑制人结肠癌HCT116细胞裸鼠原位移植瘤的生长, 该作用和5-氟尿嘧啶相似, 同时不会增加受试动物的不良反应, 提示藤黄可能具有潜在的临床抗结直肠癌作用。

竺平, 谷云飞, 杨柏霖, 林秋, 丁义江. 藤黄对人结肠癌HCT116细胞裸鼠原位移植模型的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 476-482 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/476.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.476>

## 0 引言

结直肠癌是世界范围内发病率仅次于肺癌和乳腺癌的第三大恶性肿瘤, 每年约有120万的新增病例和60万死亡病例<sup>[1]</sup>。近年来随着生活水平的提高和膳食结构的改变, 我国结直肠癌发病率和死亡率均呈上升趋势<sup>[2]</sup>。以手术及放化疗为主的综合治疗目前仍然是结直肠癌的主要治疗方法<sup>[3]</sup>。尽管近年来随着新型化疗药物如奥沙利铂, 伊立替康以及生物靶向制剂的应用将晚期结直肠癌的总生存期平均延长至2年左右<sup>[4-6]</sup>, 但5年生存率仍不能让人满意<sup>[7]</sup>, 且手术的风险以及放化疗带来的并发症常让医生和患者陷入两难困局。因此迫切需要发现能够有效治疗结直肠癌的新方法。近年来以紫杉醇、喜树碱衍生物为代表的诸多植物药显示出巨大抗肿瘤潜力, 因而得到越来越多的关注。研究证实中药藤黄及其主要成分藤黄酸可通过多种途径起到抑制肿瘤细胞的作用<sup>[8-13]</sup>。我们的前期研究证明藤黄提取物可有效抑制人结肠癌HCT116细胞的生长<sup>[14]</sup>。进一步研究发现这种抑制作用可能是通过调节Bax、Bcl-2、MLH-1、MSH2及p53等基因蛋白表达, 产生G<sub>2</sub>/M期阻滞, 诱导细胞凋亡等途径实现的。为了明确藤黄对动物在体结肠肿瘤是否具有同样的作用, 我们在本研究中运用经过绿色荧光转染的HCT116细胞建立了裸鼠

## ■ 研发前沿

近年来许多植物药显示出巨大抗肿瘤潜力, 因而得到越来越多的关注。现代研究证实中药藤黄及其主要成分藤黄酸可通过抑制肿瘤细胞增殖、促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤血管形成等多个途径起到抗恶性肿瘤的作用, 是一种多靶点的抗肿瘤天然药物。



## ■相关报道

藤黄中的主要抗肿瘤活性成分为藤黄酸和新藤黄酸。藤黄酸能够明显抑制人结肠癌细胞株SW480的增殖,诱导SW480细胞发生G<sub>2</sub>/M期阻滞,其作用机制可能与抑制VEGFR2表达有关。新藤黄酸通过下调细胞周期蛋白cyclin D1、cyclin E的表达和上调P21、P27的表达,使HCT116细胞阻滞在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,进而显著抑制HCT116细胞的增殖,并诱导其凋亡。

结肠癌原位移植模型,通过观察不同剂量藤黄干预后肿瘤的生长、转移情况,进一步确定藤黄的抗结直肠癌作用。

## 1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞株HCT116购自中国科学院上海细胞生物研究所;绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的表达质粒pEGFP-N3(-)购自美国BD Biosciences公司;逆转录病毒pLPCX购自日本Clontech Laboratories公司;RPMI 1640培养基、胎牛血清均购自美国Gibco公司;氯化钠注射液购自南京小营药业,浓度为250 mL: 2.25 g,批号为H32023209;5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)购自天津金耀氨基酸有限公司,浓度为10 mL: 0.25 g,批号为H12020959;藤黄购自南京中医药大学附属医院药剂科。♀ Balb/c裸鼠,鼠龄7 wk,体质量18-22 g购自扬州大学比较医学中心,实验动物许可证号为SCXK(苏)2007-0011,动物合格证号为0001868,在无特定病原体(specific-pathogen free, SPF)级屏障系统中进行饲养,饲料为钴60辐射灭菌过的大小鼠专用颗粒饲料购自江苏省协同医药生物工程有限公司。

### 1.2 方法

1.2.1 HCT116-GFP细胞株的构建和筛选: (1)人结肠癌细胞株HCT116在含10%胎牛血清, 100 IU/mL青霉素, 100 IU/mL链霉素的DMEM培养液中, 37 °C、5%CO<sub>2</sub>条件下培养, 传代; (2)绿色荧光蛋白逆转录病毒转染载体PT67-Plpcx-EGFP由南京源端生物科技公司参照文献[15]的方法构建。培养PT67-pLPCX-EGFP包装细胞, 收集包装细胞培养上清, 将上清分别加入培养的人结肠癌HCT116细胞中进行转染, 48 h后用含有浓度为800 µg/mL的新霉素(G418)进行筛选, 建立稳定表达GFP的细胞株, 配制成 $1.5 \times 10^7$ /mL的绿色荧光蛋白转染的人结肠癌细胞(HCT116-GFP)。

1.2.2 藤黄的制备: 参照文献[14]的方法, 取藤黄200 g, 依次用8倍量、6倍量的950 mL/L乙醇回流提取两次, 每次1 h, 合并滤液, 浓缩至无醇味, 用蒸馏水稀释至200 mL, 得醇提取物。取醇提取物100 mL, 加蒸馏水稀释至500 mL, 氢氧化钠调pH至8, 离心(转速3000 r/min, 离心10 min), 取上清液得浓度为0.1 g/mL药液, 避光储存在4 °C环境下, 使用前用生理盐水分别配置成1和2 mg/mL的实验浓度。

1.2.3 裸鼠结肠癌原位荧光移植模型的建立: 所有动物实验均在东南大学实验动物中心完成, 实验室使用许可证号为SYXK(苏)2007-0011。参照文献[16]的方法, 将浓度为 $5 \times 10^7$ /mL HCT116-GFP细胞悬液分别皮下接种于2只Balb/c裸鼠背部, 每只0.1 mL。稳定传代2次, 当肿瘤达10 mm × 10 mm时从皮下移植处取出, 在RPMI 1640培养液中将瘤块修剪成1 mm × 1 mm大小, 准备进行原位移植。选取40只♀ Balb/c裸鼠, 对受体裸鼠采用肌肉注射麻醉, 在裸鼠左下腹部做一1 cm的纵切口, 剪开皮肤和腹膜, 暴露回盲部并将其提出腹膜外, ×8外科手术显微(ZOOM645S, 江南禹成光学仪器有限公司)切开结肠浆膜, 用8-0外科缝线(上海浦东金环医疗用品有限公司)将1个瘤块贯穿后缝入结肠浆膜内以形成原位移植瘤, 将结肠放回腹腔并固定在腹膜上, 5-0外科缝线(上海浦东金环医疗用品有限公司)关闭腹腔。所有手术操作均在超净工作台中完成。

1.2.4 实验动物分组及药物干预: 在原位移植后18 d, 肿瘤体积达80 mm<sup>3</sup>, 将40只原位移植模型裸鼠, 随机分成4组, 每组10只, 分别进行药物干预(表1)。

1.2.5 临床观察及肿瘤测量: 开始药物干预后, 每天观察实验动物的日常行为、全身性表现、皮肤毛发及死亡情况。每周2次测量实验动物的体质量。药物干预后3 wk, 当对照组平均肿瘤体积达到480 mm<sup>3</sup>或动物状态不佳为实验终点, 遵照动物福利原则处死所有存活的荷瘤鼠, 打开腹腔进行尸检, 检查原发肿瘤及转移情况。切除原发肿瘤进行称质量并计算抑瘤率, 抑瘤率 = (对照组平均瘤质量 - 实验组平均瘤质量) / 对照组平均瘤质量 × 100%。

1.2.6 肿瘤生长荧光成像: 每周2次运用IFLUOR-100小动物活体荧光影像系统(南京东图数码科技有限公司)对实验动物进行体外整体荧光成像, 观察体内原发肿瘤生长情况。实验终点将裸鼠解剖并进行开放式荧光成像, 根据绿色荧光的表达来判断原位移植瘤的生长及转移情况。每个时间位点选取典型的原发灶在荧光影像系统下拍摄分辨率为1392 × 1040的照片, 用Image-Pro 5.1(美国Media Cybernetics公司)测量裸鼠原位肿瘤的长径(L)和短径(W), 并根据公式 $(L \times W^2) \times 1/2$ 计算肿瘤体积(V)。

1.2.7 组织学分析: 开放式荧光成像后, 切除实验裸鼠全部原发肿瘤和转移灶, 用电子天平(TANITA® KO-160)对原发肿瘤称质量, 并立即将所取

表 1 给药方法和剂量

分组	试验药物	实验剂量(mg/kg)	给药剂量( $\mu$ L)	给药频率	给药途径
G1	0.9%氯化钠	—	200	1次/d	灌胃
G2	5-氟尿嘧啶	25	200	3次/wk	腹腔灌注
G3	藤黄	10	200	1次/d	灌胃
G4	藤黄	20	200	1次/d	灌胃

## ■创新盘点

本研究发现藤黄只有在较高剂量时才能有效抑制受试动物结肠原位移植瘤的生长,提示藤黄的抗结肠肿瘤作用可能是剂量依赖性的。有效剂量的藤黄并不会增加实验动物的不良反应。

表 2 药物干预前后不同时间点荧光测量原发肿瘤的平均体积( $\text{mm}^3$ , mean  $\pm$  SD)

分组	治疗方法	药物干预前	第4天	第7天	第11天	第14天	第21天
G1	对照组	82.8 $\pm$ 23.9	164.1 $\pm$ 66.1	286.2 $\pm$ 132.0	324.4 $\pm$ 115.8	434.2 $\pm$ 169.3	480.4 $\pm$ 165.5
G2	5-氟尿嘧啶	82.1 $\pm$ 17.1	61.7 $\pm$ 26.0 <sup>a</sup>	89.6 $\pm$ 57.0 <sup>a</sup>	132.8 $\pm$ 90.9 <sup>a</sup>	172.0 $\pm$ 115.1 <sup>a</sup>	196.9 $\pm$ 123.8 <sup>a</sup>
G3	藤黄(10 mg/kg)	84.5 $\pm$ 29.4	138.3 $\pm$ 45.1	267.2 $\pm$ 150.4	312.6 $\pm$ 167.2	374.8 $\pm$ 250.4	423.3 $\pm$ 289.1
G4	藤黄(20 mg/kg)	83.4 $\pm$ 29.9	104.5 $\pm$ 35.5 <sup>a</sup>	102.6 $\pm$ 53.8 <sup>a</sup>	137.6 $\pm$ 70.5 <sup>a</sup>	207.2 $\pm$ 101.7 <sup>a</sup>	229.8 $\pm$ 99.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

表 3 实验终点各组裸鼠原发肿瘤重量及抑瘤率

分组	治疗方法	肿瘤重量(g) (mean $\pm$ SD)	$P$ 值	抑瘤率(%)
G1	对照组	0.92 $\pm$ 0.26	—	—
G2	5-氟尿嘧啶	0.51 $\pm$ 0.28	0.003 <sup>a</sup>	45
G3	藤黄(10 mg/kg)	0.71 $\pm$ 0.30	0.117 <sup>a</sup>	23
G4	藤黄(20 mg/kg)	0.58 $\pm$ 0.26	0.010 <sup>a</sup>	37

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

标本置于 $-196\text{ }^{\circ}\text{C}$ 液氮中, 2-3 h后转入 $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱中保存。另取部分原发肿瘤和转移灶置于4%甲醛中固定, 石蜡包埋并切片, 切片用H&E染色后通过显微镜观察病理性质。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行数据分析。计量资料用mean  $\pm$  SD表示, 采用 $t$ 检验进行比较; 计数资料用%表示, 多组间比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher精确概率法,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 藤黄对裸鼠原位移植肿瘤的抑制作用** 药物干预后, 每周2次采用整体荧光影像技术测量肿瘤体积, 计算各组模型动物原发肿瘤的平均体积。药物干预3 wk为实验终点, 处死存活的实验动物, 切除原发肿瘤称质量。结果显示20 mg/kg藤黄组各观察点的平均肿瘤体积及实验终点的肿瘤重量与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2, 3), 与5-FU组比较差异无统计学意

义( $P > 0.05$ )(表2, 3); 10 mg/kg藤黄组无论是各观察点平均肿瘤体积还是实验终点肿瘤重量与对照组比较无明显差异( $P > 0.05$ )(表2, 3)。根据瘤质量计算抑瘤率, 20 mg/kg藤黄组和5-FU组的抑瘤率分别为37%和45%, 10 mg/kg藤黄组的抑瘤率为23%(表3)。

**2.2 藤黄对肿瘤转移的作用** 药物干预3 wk为实验终点。处死所有存活的实验动物, 开放体内荧光成像检查肿瘤生长及转移情况, 荧光系统发现了肠系膜淋巴结、腰淋巴结及胰腺转移灶(图1)。用 $\chi^2$ 检验对4组间淋巴转移情况进行比较, 差异无统计学意义( $\chi^2 = 5.6000$ ,  $P > 0.05$ , 表4), 采用fisher精确概率法对胰腺转移情况进行分析, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表4)。对切除标本进行H&E染色显示移植肿瘤及转移淋巴结均为低分化腺癌(图2)。

**2.3 藤黄对裸鼠的不良反应观察** 考虑到藤黄毒性较强, 为了明确实验剂量的藤黄对受试动物的影响, 我们每日观察并记录了裸鼠的日常行

### ■应用要点

本研究通过外科原位移植能表达绿色荧光蛋白HCT116肿瘤的方法建立了裸鼠结肠癌模型,使观察者无需借助麻醉、造影剂及侵入性手术等方式即可在体外对活体肿瘤的生长和转移进行实时追踪观察,从而减少实验动物的死亡和实验偏差,是评估抗肿瘤药物作用的理想载体。

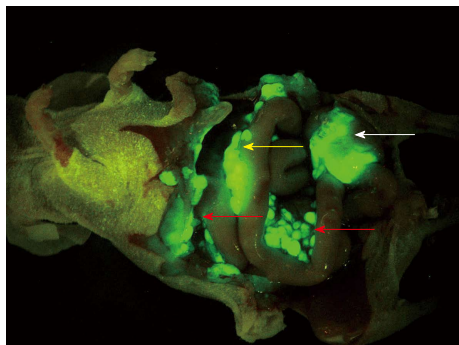


图1 开放荧光显示原位移植肿瘤,淋巴结及胰腺转移。白色箭头为结肠原位移植瘤;红色箭头为转移的淋巴结;黄色箭头为胰腺转移。

表4 实验终点时肿瘤转移情况

分组	治疗方法	淋巴结转移率	胰腺转移率
G1	对照组	7/10	1/10
G2	5-氟尿嘧啶	2/10	2/10
G3	藤黄(10 mg/kg)	6/10	5/10
G4	藤黄(20 mg/kg)	5/10	2/10

为、全身性表现、皮肤毛发及死亡情况,两个不同剂量藤黄组内的实验动物均未出现药物相关的不良反应,唯一的1只死亡系因肿瘤恶病质导致。每周测量裸鼠体质量2次,各组荷瘤裸鼠的平均体质量随着时间的推移逐渐减轻,但未出现明显波动(图3),4组裸鼠的最大体质量丢失量出现在药物干预后第21天(表5),均未超过基线体质量的20%。和对照组相比,20 mg/kg藤黄组和5-FU组的体质量丢失较少,而10 mg/kg藤黄组的体质量丢失较多(表5)。

### 3 讨论

藤黄系藤黄科植物藤黄树所分泌出的干燥树脂,主要产于东南亚地区,其性寒,味酸、辛、涩,有毒,具破血散结、解毒、止血、杀虫之功效,用于治疗瘰癧、痈疽、疔肿等顽疾<sup>[17]</sup>。现代研究证明藤黄可通过多种机制起到抗肿瘤效果,是一种多靶点的抗肿瘤天然药物。藤黄抗癌研究协作组发现藤黄对小鼠腹水型肝癌ECA、S180、S37、ARA4、W256有抑制作用,对体外培养的人肝癌细胞BEL-7402与宫颈癌HeLa细胞株也有程度不等的抑制作用<sup>[8]</sup>。刘若庸等<sup>[9]</sup>证实合用藤黄能提高小鼠肿瘤MA737的放疗效果。我们的体外研究证实藤黄可以有效抑制人结肠癌细胞HCT116的增殖,可能是潜在的抗结肠癌中药<sup>[14]</sup>。为了能更客观地评价藤黄的临床抗肿瘤

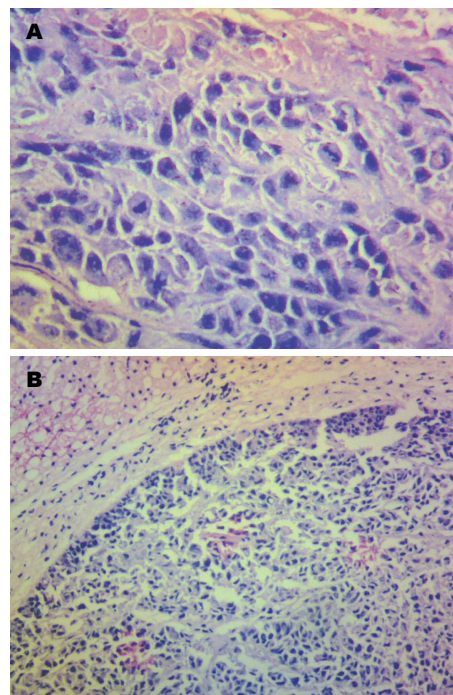


图2 病理结果显示原发肿瘤及转移的淋巴结均为低分化腺癌。A: 原位移植瘤(HE × 400); B: 转移的腰淋巴结(HE × 100)。

作用,还需要对能模拟人类结直肠癌特性的模型动物进行在体研究,否则无法提供有说服力的结果。

裸鼠皮下异种移植瘤模型虽然成瘤性高<sup>[18]</sup>,但由于生长环境的密闭性,导致该模型无法模拟人类结肠癌常见的局部和远处转移<sup>[19]</sup>。基因工程鼠可表现出类似于人类结直肠癌的基因学特点,但在肿瘤生物学及肿瘤谱方面存在不小差距,如自发性成瘤时间较长、无远处转移、容易发生淋巴瘤而非结肠癌等,因此在合适的基因小鼠模型出现前,异种移植小鼠模型仍是进行抗结直肠癌药物疗效评价的最佳载体<sup>[20]</sup>。我们利用绿色荧光转染的HCT116细胞建立了人结肠癌裸鼠外科原位移植模型(surgical orthotopic implantation, SOI),该模型是利用手术的方法将能稳定表达绿色荧光的结肠癌肿瘤组织原位移植到实验动物的结肠浆膜下,该模型可以为移植瘤提供最适宜的生长环境,具有和人类结直肠癌相似的生长和转移模式<sup>[16,21]</sup>。通过选择性肿瘤荧光成像,观察者无需借助麻醉、造影剂及侵入性手术等方式即可在体外对活体肿瘤的生长和转移进行实时追踪观察,从而减少实验动物的死亡和实验偏差,是评估抗肿瘤药物作用的理想载体<sup>[22]</sup>。

本研究结果显示,20 mg/kg藤黄具有显著



表 5 药物干预后裸鼠体质量变化情况

分组	治疗方法	裸鼠体质量(g) (d0)	裸鼠体质量(g) (d21)	最大体质量丢失量 (%)
G1	对照组	19.8 ± 0.9	17.2 ± 1.8	13
G2	5-氟尿嘧啶	19.9 ± 1.2	18.0 ± 2.1	9.5
G3	藤黄(10 mg/kg)	19.9 ± 0.9	16.6 ± 2.0	17
G4	藤黄(20 mg/kg)	20.2 ± 1.5	18.1 ± 2.4	10

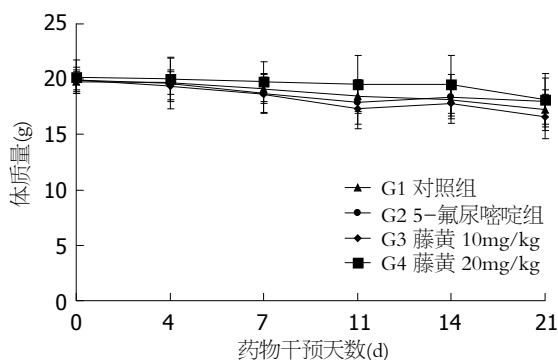


图 3 治疗期间各组模型动物的评价体质量变化。

抑制人结肠癌HCT116细胞裸鼠原位移植瘤生长的作用, 该作用与5-FU相似。10 mg/kg藤黄则对移植肿瘤的生长无明显抑制作用, 提示藤黄抗结肠癌的作用可能呈浓度依赖性, 这和我们之前应用藤黄对HCT116细胞进行体外干预的结果类似<sup>[14]</sup>。藤黄中的藤黄酸、新藤黄酸为抗肿瘤作用的有效成分, 具有抗癌谱广, 毒性较低的特点<sup>[23,24]</sup>。杨平等研究发现藤黄酸能够明显抑制人结肠癌细胞株SW480的增殖, 诱导SW480细胞发生G<sub>2</sub>/M期阻滞, 其作用机制可能与抑制VEGFR2表达有关<sup>[25]</sup>。周兰贞等<sup>[26]</sup>研究发现新藤黄酸通过下调细胞周期蛋白cyclin D1、cyclin E的表达和上调P21、P27的表达, 使HCT116细胞阻滞在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 进而显著抑制HCT116细胞的增殖, 并诱导其凋亡。我们进一步的研究结果提示藤黄对HCT116的抑制作用可能是通过调节*Bax*、*Bcl-2*、*MLH-1*、*MSH2*及*p53*等基因蛋白表达, 产生G<sub>2</sub>/M期阻滞, 诱导细胞凋亡等途径实现的。侵袭和转移是恶性肿瘤患者死亡的主要原因<sup>[27]</sup>, 转移的发生是一个多步骤的复杂过程, 包括细胞启动、细胞外基质蛋白水解、细胞外渗以及维持在远处脏器生长的能力等<sup>[28]</sup>。本实验终点各组均出现了不同程度的淋巴结及胰腺转移, 但未出现人结直肠癌常见的肝脏转移, 这和我们之前的实验结果有所区别<sup>[16,29]</sup>, 可能和本研究观察时间较短以及裸鼠原位移植模型和人结肠癌的

转移模式仍存在一定的差异有关。通过对转移情况的比较发现, 各组间的淋巴结及胰腺转移无显著差异, 提示干预期间各组药物并未表现出显著地抑制肿瘤转移作用。藤黄具有一定的毒性, 大剂量的藤黄可导致恶心、呕吐及峻泻<sup>[30]</sup>, 为了明确藤黄对实验动物的影响, 我们对受试裸鼠的日常行为、全身性表现、皮肤毛发、死亡情况以及体质量变化情况进行观察, 不同剂量藤黄组的裸鼠未出现药物相关的不良反应。各组受试裸鼠的体质量随着肿瘤的生长而逐渐减轻, 但未出现明显波动, 20 mg/kg藤黄组和5-FU组的体质量丢失量少于对照组和10 mg/kg藤黄组。以上结果提示裸鼠体质量的减轻可能和肿瘤消耗而非药物毒性有关, 通过对肿瘤生长的有效抑制可减少裸鼠因肿瘤消耗而引起的体质量减轻, 较大剂量的藤黄在提高抑瘤作用的同时不会增加实验动物的不良反应。

本研究中利用可稳定表达绿色荧光的裸鼠原位移植结肠癌模型对藤黄抗结肠癌作用进行了探索研究, 目前国内外尚未见相似报道。研究结果提示较高剂量的藤黄显示出了和5-FU相似的肿瘤抑制效果, 同时不会增加受试动物的毒性反应, 提示藤黄是一种非常有潜力的结肠癌治疗药物。其作用机制如何? 增加干预剂量是否能提高藤黄抑制肿瘤生长及转移的作用? 这些问题仍需进一步深入研究。

#### 4 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 陈琼, 刘志才, 程兰平, 宋国慧, 孙喜斌, 郑荣寿, 张思维, 陈万青. 2003-2007年中国结直肠癌发病与死亡分析. *中国肿瘤* 2012; 21: 179-182
- 3 Minsky BD. Adjuvant therapy of resectable rectal cancer. *Cancer Treat Rev* 2002; 28: 181-188 [PMID: 12363458 DOI: 10.1016/S0305-7372(02)00037-3]
- 4 Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff

#### 同行评价

本文内容新颖, 结构层次清晰, 条理分明, 提供了充足的有意义的信息, 具有较高的学术价值。

- P, Błasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Wolf M, Gansert J. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4697-4705 [PMID: 20921465 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.4860]
- 5 Sobrero A, Ackland S, Clarke S, Perez-Carrión R, Chiara S, Gapski J, Mainwaring P, Langer B, Young S. Phase IV study of bevacizumab in combination with infusional fluorouracil, leucovorin and irinotecan (FOLFIRI) in first-line metastatic colorectal cancer. *Oncology* 2009; 77: 113-119 [PMID: 19628950 DOI: 10.1159/000229787]
  - 6 Welch S, Spithoff K, Rumble RB, Maroun J. Bevacizumab combined with chemotherapy for patients with advanced colorectal cancer: a systematic review. *Ann Oncol* 2010; 21: 1152-1162 [PMID: 19942597]
  - 7 Meyerhardt JA, Mayer RJ. Systemic therapy for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2005; 352: 476-487 [PMID: 15689586 DOI: 10.1056/NEJMra040958]
  - 8 藤黄抗癌研究协作组. 藤黄(总体)抗癌实验与临床研究报告. *江西医药* 1982; (3): 1-5
  - 9 刘若庸, 李德华, 王洁, 陈绮. 藤黄制剂与放疗合用对小鼠肿瘤MA737的疗效观察. *天津药学* 1989; (6): 6-7
  - 10 Lu N, Yang Y, You QD, Ling Y, Gao Y, Gu HY, Zhao L, Wang XT, Guo QL. Gambogic acid inhibits angiogenesis through suppressing vascular endothelial growth factor-induced tyrosine phosphorylation of KDR/Flk-1. *Cancer Lett* 2007; 258: 80-89 [PMID: 17920764 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.08.015]
  - 11 Yang Y, Yang L, You QD, Nie FF, Gu HY, Zhao L, Wang XT, Guo QL. Differential apoptotic induction of gambogic acid, a novel anticancer natural product, on hepatoma cells and normal hepatocytes. *Cancer Lett* 2007; 256: 259-266 [PMID: 17693016 DOI: 10.1016/j.canlet.2007.06.014]
  - 12 Yu J, Guo QL, You QD, Zhao L, Gu HY, Yang Y, Zhang HW, Tan Z, Wang X. Gambogic acid-induced G2/M phase cell-cycle arrest via disturbing CDK7-mediated phosphorylation of CDC2/p34 in human gastric carcinoma BGC-823 cells. *Carcinogenesis* 2007; 28: 632-638 [PMID: 17012222 DOI: 10.1093/carcin/bgl168]
  - 13 Huang H, Chen D, Li S, Li X, Liu N, Lu X, Liu S, Zhao K, Zhao C, Guo H, Yang C, Zhou P, Dong X, Zhang C, Guanmei QP, Liu J. Gambogic acid enhances proteasome inhibitor-induced anticancer activity. *Cancer Lett* 2011; 301: 221-228 [PMID: 21216092 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.12.015]
  - 14 竺平, 谷云飞, 杨柏霖, 林秋, 陈红锦, 孙桂东, 丁义江. 有毒中药对人结肠癌HCT116和SW480细胞的生长抑制作用. *南京中医药大学学报* 2013; 29: 351-354
  - 15 Yang M, Jiang P, Sun FX, Hasegawa S, Baranov E, Chishima T, Shimada H, Moossa AR, Hoffman RM. A fluorescent orthotopic bone metastasis model of human prostate cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 781-786 [PMID: 10029062]
  - 16 Chen HJ, Yang BL, Chen YG, Lin Q, Zhang SP, Gu YF. A GFP-labeled human colon cancer metastasis model featuring surgical orthotopic implantation. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 4263-4266 [PMID: 23167325 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.9.4263]
  - 17 刘卫海, 赖小平, 周兴挺. 新藤黄酸的研究进展. *时珍国医国药* 2010; 21: 2347-2349
  - 18 Wang J, Sun L, Myeroff L, Wang X, Gentry LE, Yang J, Liang J, Zborowska E, Markowitz S, Willson JK. Demonstration that mutation of the type II transforming growth factor beta receptor inactivates its tumor suppressor activity in replication error-positive colon carcinoma cells. *J Biol Chem* 1995; 270: 22044-22049 [PMID: 7665626 DOI: 10.1074/jbc.270.37.22044]
  - 19 Fu XY, Besterman JM, Monosov A, Hoffman RM. Models of human metastatic colon cancer in nude mice orthotopically constructed by using histologically intact patient specimens. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 9345-9349 [PMID: 1924398 DOI: 10.1073/pnas.88.20.9345]
  - 20 Taketo MM, Edelman W. Mouse models of colon cancer. *Gastroenterology* 2009; 136: 780-798 [PMID: 19263594]
  - 21 Rajput A, Dominguez San Martin I, Rose R, Beko A, Levea C, Sharratt E, Mazurchuk R, Hoffman RM, Brattain MG, Wang J. Characterization of HCT116 human colon cancer cells in an orthotopic model. *J Surg Res* 2008; 147: 276-281 [PMID: 17961596 DOI: 10.1016/j.jss.2007.04.021]
  - 22 Katz MH, Takimoto S, Spivack D, Moossa AR, Hoffman RM, Bouvet M. A novel red fluorescent protein orthotopic pancreatic cancer model for the preclinical evaluation of chemotherapeutics. *J Surg Res* 2003; 113: 151-160 [PMID: 12943825 DOI: 10.1016/s0022-4804(03)00234-8]
  - 23 侯毅, 竺平, 陈昌岐, 朱秉宜, 谷云飞. 藤黄酸抗肿瘤机制的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 2412-2417
  - 24 刘卫海, 赖小平, 周兴挺. 新藤黄酸的研究进展. *时珍国医国药* 2010; 21: 2347-2349
  - 25 杨平, 曹杰, 张通, 王强, 孙政, 张伟健, 曾山崎. 藤黄酸对人结肠癌SW480细胞增殖及VEGFR2表达的影响. *中国中医基础医学杂志* 2012; 18: 520-522
  - 26 周兰贞, 晏烽根, 李庆林. 新藤黄酸诱导人结肠癌HCT116细胞凋亡的作用机制研究. *肿瘤* 2011; 31: 580-584
  - 27 Bates RC, Mercurio AM. The epithelial-mesenchymal transition (EMT) and colorectal cancer progression. *Cancer Biol Ther* 2005; 4: 365-370 [PMID: 15846061]
  - 28 Steeg PS. Metastasis suppressors alter the signal transduction of cancer cells. *Nat Rev Cancer* 2003; 3: 55-63 [PMID: 12509767 DOI: 10.1038/nrc967]
  - 29 Yang BL, Chen HJ, Chen YG, Gu YF, Zhang SP, Lin Q, Sun Y. Inhibitory effects of baicalin on orthotopic xenografts of colorectal cancer cells that are deficient in a mismatch repair gene in nude mice. *Int J Colorectal Dis* 2013; 28: 547-553 [PMID: 22914965 DOI: 10.1007/s00384-012-1562-z]
  - 30 Panthong A, Norkaew P, Kanjanapothi D, Taesotikul T, Anantachoke N, Reutrakul V. Anti-inflammatory, analgesic and antipyretic activities of the extract of gamboge from *Garcinia hanburyi* Hook f. *J Ethnopharmacol* 2007; 111: 335-340 [PMID: 17360136]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 不同剂量咪唑安定在肥胖患者无痛胃肠镜麻醉中的作用

李红培, 李皓, 刘毅, 张宏

李红培, 李皓, 刘毅, 张宏, 中国人民解放军总医院麻醉手术中心 北京市 100853

李红培, 医师, 在读硕士, 主要从事临床麻醉学的研究。

作者贡献分布: 本文研究设计由李红培与李皓完成; 手术中麻醉由李红培与李皓完成; 刘毅与张宏共同参与本研究。

通讯作者: 张宏, 教授, 主任医师, 100853, 北京市海淀区复兴路28号, 中国人民解放军总医院麻醉手术中心。

zhanghong\_301@163.com

收稿日期: 2013-11-11 修回日期: 2013-12-05

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## Midazolam for painless gastrointestinal endoscopy in obese patients

Hong-Pei Li, Hao Li, Yi Liu, Hong Zhang

Hong-Pei Li, Hao Li, Yi Liu, Hong Zhang, Anesthesia and Operation Center, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China

Correspondence to: Hong Zhang, Professor, Chief Physician, Anesthesia and Operation Center, General Hospital of Chinese PLA, 28 Fuxing Road, Haidian District, Beijing 100853, China. zhanghong\_301@163.com

Received: 2013-11-11 Revised: 2013-12-05

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To assess the efficacy and safety of different doses of midazolam for gastrointestinal endoscopy in obese patients.

**METHODS:** One hundred and twenty-six patients who underwent painless gastroscopy were randomly divided into four groups: A, B, C and D. Groups A, B, and C were intravenously given 0.01, 0.02, and 0.03 mg/kg of midazolam before the examination, respectively, while group D was not given midazolam. All patients were intravenously given fentanyl 1 µg/kg and propofol 1.0-2.0 mg/kg 3 min later. If the patient had somatic reaction, an additional propofol 0.3-0.5 mg/kg was given. The blood pressure (BP), heart rate (HR), SpO<sub>2</sub>, the initial and total doses of propofol, side effects, as well as the patient's and doctor's satisfaction were recorded.

**RESULTS:** The initial dose of propofol in groups A, B and C (95.62 mg ± 16.59 mg, 87.50 mg ± 13.81 mg, 79.09 mg ± 16.74 mg) were sig-

nificantly less than that in group D (126.67 mg ± 20.48 mg) ( $P < 0.05$  for all), while the total dose of propofol were less in groups B and C than in group D ( $P < 0.05$  for both), but had no statistical difference between groups A and D. The rates of hypoxemia and assisted ventilation in groups A, B and C (3.03%, 3.33%, 12.12%) were lower than that in group D (26.67%) ( $P < 0.05$  for all), but the incidence of dizziness and sleepiness in group C (51.51%) was significantly higher than those in the other groups ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** In obese patients, application of midazolam in painless gastrointestinal endoscopy is simple, safe and effective.

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

**Key Words:** Midazolam; Obesity; Gastrointestinal endoscopy

Li HP, Li H, Liu Y, Zhang H. Midazolam for painless gastrointestinal endoscopy in obese patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 483-487 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/483.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.483>

## 摘要

**目的:** 观察不同剂量咪唑安定用于肥胖患者无痛胃肠镜检查中的安全性以及最佳剂量。

**方法:** 126例肥胖患者随机分为A、B、C、D 4组。A、B、C 3组于镜检前分别静脉推注咪唑安定剂量0.01、0.02、0.03 mg/kg, D组为对照组, 不使用咪唑安定。同时4组患者静脉滴注芬太尼1 µg/kg, 3 min后缓慢静脉推注异丙酚1.0-2.0 mg/kg, 至患者睫毛反射消失, 进入睡眠状态后给予镜检。术中如有体动反应, 追加异丙酚0.3-0.5 mg/kg, 每次30-50 mg。观察各组血压、心率、SpO<sub>2</sub>、异丙酚用量以及不良反应的发生。记录患者和镜检医生的满意度。

**结果:** A、B、C组异丙酚首次剂量分别为95.62 mg ± 16.59 mg、87.50 mg ± 13.81 mg以及79.09 mg ± 16.74 mg明显少于D组(126.67 mg ± 20.48 mg, 具有统计学差异( $P < 0.05$ ), 异

## ■背景资料

肥胖常复合糖尿病、高血压、阻塞性睡眠呼吸暂停综合征、代谢综合征等疾病。肥胖患者下颌肥厚和胸部脂肪限制寰枢关节运动及颈椎屈曲, 颌下脂肪使开口受限, 舌体、口内软组织肥厚可造成气道狭窄, 使得麻醉风险尤其是呼吸风险大大增加。建立合理的麻醉方案对于肥胖患者无痛胃肠镜检查尤为重要。

## ■同行评议者

张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处



## ■研发前沿

肥胖患者由于肥胖和自身气道的因素使其麻醉的难度和风险较正常患者加大。肥胖患者采用联合用药,咪唑安定0.02 mg/kg既能减少异丙酚的用药首剂量和总剂量,同时并发症少苏醒快,满足术中镇静深度的要求,又能保证循环和呼吸功能的稳定。

丙酚总量B、C组( $128.83 \text{ mg} \pm 22.65 \text{ mg}$ )和( $125.30 \text{ mg} \pm 26.95 \text{ mg}$ )明显少于D组( $157.23 \text{ mg} \pm 33.39 \text{ mg}$ )( $P < 0.05$ ), A组( $146.64 \text{ mg} \pm 28.03 \text{ mg}$ )与D组无统计学差异( $P > 0.05$ )。A、B、C组术中低氧血症和面罩辅助呼吸发生率(3.03%、3.33%、12.12%)较D组(26.67%)减少,但C组头晕嗜睡情况发生率(51.51%)明显高于其他各组(15.15%、20.00%、13.33%)( $P < 0.05$ )。

**结论:**咪唑安定-芬太尼-异丙酚复合麻醉用于肥胖患者无痛胃肠镜检查是安全的,咪唑安定0.02 mg/kg既能减少异丙酚的用药首剂量和总剂量,同时并发症少苏醒快,可作为推荐剂量。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**咪唑安定;肥胖;无痛胃肠镜

**核心提示:**本文观察了不同剂量咪唑安定用于肥胖患者无痛胃肠镜检查中的安全性以及最佳剂量,经过观察得出咪唑安定-芬太尼-异丙酚复合麻醉用于肥胖患者无痛胃肠镜检查是安全的,咪唑安定0.02 mg/kg既能减少异丙酚的用药首剂量和总剂量,同时并发症少苏醒快,可作为推荐剂量。

李红培, 李皓, 刘毅, 张宏. 不同剂量咪唑安定在肥胖患者无痛胃肠镜麻醉中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 483-487  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/483.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.483>

## 0 引言

无痛胃肠镜检查术已广泛开展,其优点突出,越来越受到认可<sup>[1,2]</sup>。同时随着人民生活水平的提高,临床工作中肥胖患者比例也越来越高,此类患者行无痛胃肠镜风险远高于正常体质量者。本研究采用咪唑安定复合芬太尼异丙酚联合用药用于我院体检中心无痛胃肠镜检查的麻醉,旨在讨论不同剂量咪唑安定用于肥胖患者无痛胃肠镜检查中的安全性以及最佳剂量。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2013-05/2013-08于我院健康体检中心行无痛胃肠镜检查的患者126例,其中男111例,女15例,美国麻醉医师协会(American Society of Anesthesiologists, ASA)分级I-II级,年龄27-63岁,体质量指数(body mass index, BMI) $> 28 \text{ kg/m}^2$ ,一般情况良好。所有病例均在胃肠镜前行血常规、肝肾功、电解质、心电图、胸片检查,术前均无麻醉药物过敏史以及

胃潴留、上消化道大出血、重度贫血、心肺疾病等病史,检查时间8-25 min。采用随机对照开放式研究方法,将符合纳入、排除标准的126例患者根据就诊顺序,按随机数字表法分为4组: A组为0.01 mg/kg组、B组为0.02 mg/kg组、C组为0.03 mg/kg组和D组为对照组。所有患者于术前签署胃肠镜及经静脉药物麻醉知情同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 麻醉:**患者左侧卧位,内窥镜面罩吸氧,常规监测:心电图、每隔5 min测量无创血压、持续脉搏氧饱和度。A、B、C三组于镜检前分别静脉推注咪唑安定(江苏安华药业公司)剂量0.01、0.02、0.03 mg/kg, D组为对照组,不使用咪唑安定。同时4组患者静脉滴注芬太尼1  $\mu\text{g/kg}$ , 3 min后缓慢静脉推注异丙酚(Astrazeneca公司)1.0-2.0 mg/kg,至患者睫毛反射消失,进入睡眠状态后给予镜检。术中如有体动反应,追加异丙酚0.3-0.5 mg/kg,每次30-50 mg。检查过程中严密监测血压(blood pressure, BP)、心率(heart rate, HR)、静脉血氧饱和度(venous oxygen saturation, SpO<sub>2</sub>)以及患者的反应。SpO<sub>2</sub> $< 90\%$ 时托下颌使呼吸道通畅,持续时间 $> 1 \text{ min}$ 则面罩加压给氧,必要时给予气管插管控制气道。术中当收缩压(systolic blood pressure, SBP)低于90 mmHg,给予麻黄素10 mg处理;当HR低于50次/min,给予阿托品0.5 mg直至HR $> 50$ 次/min为止。整个实验过程中各参与者的分工固定,由技术熟练的消化内镜医生进行内镜操作。

**1.2.2 观察指标:**(1)监测数据:记录术前、术中及术后SpO<sub>2</sub>、HR、BP、麻醉后意识消失时间、手术时间(胃镜开始至肠镜结束的时间)、苏醒时间(回答切题,定向明确),患者苏醒后停止吸氧10 min后SpO<sub>2</sub>,记录异丙酚的首次剂量,结束时异丙酚总剂量;(2)并发症:观察镜检中低氧血症(SpO<sub>2</sub> $< 90\%$ )、心动过缓(HR $< 50$ 次/min)、低血压(SBP $<$ 术前70%或 $< 90 \text{ mmHg}$ )、术后恶心呕吐、头晕、嗜睡等发生情况;(3)满意度:镜检结束询问患者知晓情况,术后行镜检医生满意度评分(百分制)及患者整体满意度评分(5分为优,无任何痛苦;4分为良,有轻痛;3分为一般,多处不适但可以忍受;2分为差,很不舒适、痛苦不堪;1分为极差,十分痛苦以致无法忍受)。

**统计学处理** 应用SPSS19.0软件,计量资料以mean $\pm$ SD表示,采用方差分析,计数资料采用 $\chi^2$ 分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## ■相关报道

国内外文献报道应用咪唑安定以及芬太尼与异丙酚合用时,异丙酚的用量可以减少,在达到检查所需麻醉深度的同时,减少了各种并发症的发生率。

表 1 各组患者一般资料、术者及患者满意度评分比较(mean  $\pm$  SD)

分组	<i>n</i>	性别 (男/女)	年龄 (岁)	体质量指数 (kg/m <sup>2</sup> )	手术时间 (min)	镜检医生 满意度评分	患者满意 度评分
A	33	27/6	48.18 $\pm$ 7.25	29.74 $\pm$ 1.82	14.75 $\pm$ 4.50	97.57 $\pm$ 1.63	4.97 $\pm$ 0.18
B	30	27/3	48.20 $\pm$ 6.78	29.59 $\pm$ 1.44	12.60 $\pm$ 3.02	97.50 $\pm$ 1.71	5.00 $\pm$ 0.00
C	33	29/4	48.09 $\pm$ 7.21	31.14 $\pm$ 3.33	27.74 $\pm$ 1.82	97.87 $\pm$ 1.90	5.00 $\pm$ 0.00
D	30	28/2	47.40 $\pm$ 8.00	30.19 $\pm$ 2.06	27.74 $\pm$ 1.82	97.00 $\pm$ 1.48	4.90 $\pm$ 0.30

表 2 患者生命体征变化比较(mean  $\pm$  SD)

分 组	入室			胃镜开始		肠镜开始		出室		SpO <sub>2</sub>
	HR (次/min)	BP (mmHg)	SpO <sub>2</sub>	HR (次/min)	BP (mmHg)	HR (次/min)	BP (mmHg)	HR (次/min)	BP (mmHg)	
A	76.42 $\pm$ 11.26	129.81 $\pm$ 84.79	97.45 $\pm$ 1.52	74.85 $\pm$ 10.91	118.76 $\pm$ 13.74/77.60 $\pm$ 12.52	67.21 $\pm$ 10.04	114.39 $\pm$ 12.49/70.21 $\pm$ 11.36	65.72 $\pm$ 9.21	114.88 $\pm$ 11.43/71.06 $\pm$ 9.97	97.93 $\pm$ 1.53
B	75.83 $\pm$ 8.03	136.00 $\pm$ 82.97	97.27 $\pm$ 1.43	75.20 $\pm$ 10.83	124.97 $\pm$ 15.03/78.33 $\pm$ 12.44	68.86 $\pm$ 9.80	116.43 $\pm$ 12.25/72.77 $\pm$ 11.64	68.93 $\pm$ 8.17	116.63 $\pm$ 9.30/72.63 $\pm$ 10.10	97.76 $\pm$ 1.73
C	74.75 $\pm$ 12.78	135.18 $\pm$ 89.54	97.21 $\pm$ 1.57	73.82 $\pm$ 10.35	125.24 $\pm$ 16.09/80.84 $\pm$ 16.32	69.24 $\pm$ 9.35	119.57 $\pm$ 14.79/72.97 $\pm$ 13.19	69.27 $\pm$ 8.75	120.67 $\pm$ 11.01/75.88 $\pm$ 12.09	97.78 $\pm$ 1.69
D	72.50 $\pm$ 12.78	136.67 $\pm$ 85.5	97.10 $\pm$ 1.37	70.93 $\pm$ 10.11	124.10 $\pm$ 20.43/80.2 $\pm$ 15.81	68.17 $\pm$ 10.00	117.90 $\pm$ 16.36/75.27 $\pm$ 14.46	66.40 $\pm$ 10.04	118.90 $\pm$ 15.45/75.10 $\pm$ 11.10	97.50 $\pm$ 1.37

A组: 0.01mg/kg组; B组: 0.02 mg/kg组; C组: 0.03 mg/kg组; D组: 对照组. BP: 血压; HR: 心率; SpO<sub>2</sub>: 静脉血氧饱和度.

## 2 结果

2.1 各组患者一般资料、患者知晓情况及满意度评分比较 4组间年龄、性别、手术时间、BMI等相比, 无统计学差异. 各组患者均无术中知晓, 患者及镜检医生满意度评分各组之间无统计学差异(表1).

2.2 各组间患者生命体征变化比较 对比4组受检者胃镜检查操作前、中、后的生命体征(血压、心率、血氧饱和度数值)变化(表2). 4组收缩压及舒张压均成先下降后回升的态势, 操作过程中均控制在正常范围内. 心率与血压表现相似, 差异无显著性. 4组患者出室SpO<sub>2</sub>均有下降, 但在正常范围内.

2.3 麻醉药物用量以及苏醒时间比较 各组苏醒时间均无差异显著性. A、B、C组异丙酚首次剂量分别为95.62 mg  $\pm$  16.59 mg、87.50 mg  $\pm$  13.81 mg以及79.09 mg  $\pm$  16.74 mg明显少于D组(126.67 mg  $\pm$  20.48 mg), 具有统计学差异( $P < 0.05$ ), 异丙酚总量B、C组(128.83 mg  $\pm$  22.65 mg)和(125.30 mg  $\pm$  26.95 mg)明显少于D组(157.23 mg  $\pm$  33.39 mg)( $P < 0.05$ ), A组(146.64 mg  $\pm$  28.03 mg)与D组无统计学差异( $P > 0.05$ ). 苏醒后10 min SpO<sub>2</sub>均低于入室氧饱和度, 但仍在正

常范围之内,  $>95\%$ ( $P > 0.05$ )(表3).

2.4 各组间不良反应情况比较 各组均无苏醒延迟发生. 由于术前常规给予托烷司琼等止吐药物, 故而各组均无恶心呕吐发生. 心动过缓以及低血压均在D组发生, 但与A、B、C组比较无统计学差异. 随着咪唑安定用量增加, 异丙酚首剂量的减少, A、B、C组术中低氧血症和面罩辅助呼吸发生率(3.03%、3.33%、12.12%)较D组(26.67%)减少( $P < 0.05$ ), 给予托举下颌以及面罩加压通气等方法均得以缓解. 但随着咪唑安定用量的逐渐增加, 头晕嗜睡的发生率却相应增加, C组头晕嗜睡情况发生率(51.51%)明显高于其他各组(15.15%、20.00%、13.33%)( $P < 0.05$ )(表4).

## 3 讨论

胃肠镜检查是目前消化系统疾病诊治中最直接有效的检查方法, 应用普遍, 但检查过程中会给患者带来一定程度的痛苦<sup>[1]</sup>. 应用镇静麻醉开展无痛胃肠镜检查可以大大降低检查过程中不适感, 提高患者的舒适度和满意度<sup>[2]</sup>, 同时也增加了患者的依从性, 方便了检查者的操作.

体质量指数(body mass index, BMI)是一种近年来国际流行的标准体质量测量方法, 是世

### ■创新盘点

作者认为单用异丙酚或者异丙酚联合用药静脉麻醉都可以用于肥胖患者, 但在肥胖患者联合用药的药物配伍组合及用药剂量的选择, 国内外文献报道较少. 本文论证了咪唑安定0.02 mg/kg可作为推荐剂量有较强的实用意义.

## ■应用要点

咪唑安定-芬太尼-异丙酚复合麻醉用于肥胖患者无痛胃肠镜检查,起到了良好的镇静镇痛效果,还能消除单用丙泊酚麻醉的小足。患者不良反应少、麻醉效果好。该方法提高了肥胖患者无痛胃肠镜检查的安全性,值得临床推广。

表 3 麻醉药物用量以及苏醒时间比较(mean ± SD)

分组	n	异丙酚首剂量(mg)	异丙酚总量(mg)	苏醒时间(min)	苏醒后10 min SPO <sub>2</sub>
A	33	95.62 ± 16.59 <sup>a</sup>	146.64 ± 28.03	14.60 ± 4.53	95.44 ± 1.93
B	30	87.50 ± 13.81 <sup>a</sup>	128.83 ± 22.65 <sup>a</sup>	12.60 ± 3.02	95.27 ± 1.85
C	33	79.09 ± 16.74 <sup>a</sup>	125.30 ± 26.95 <sup>a</sup>	13.42 ± 3.31	95.00 ± 2.44
D	30	126.67 ± 20.48	157.23 ± 33.39	14.10 ± 3.90	95.70 ± 1.72

<sup>a</sup>P<0.05 vs D组。A组: 0.01 mg/kg组; B组: 0.02 mg/kg组; C组: 0.03 mg/kg组; D组: 对照组。

表 4 不良反应情况比较(mean ± SD)

分组	n	术中					术后
		低血压	心动过缓	低氧血症	恶心呕吐	头晕嗜睡	
A	33	0	0	1 <sup>a</sup>	0	5	0
B	30	0	0	1 <sup>a</sup>	0	6	0
C	33	0	1	4 <sup>a</sup>	0	17 <sup>a</sup>	0
D	30	1	2	8	0	4	0

<sup>a</sup>P<0.05 vs D组。A组: 0.01 mg/kg组; B组: 0.02 mg/kg组; C组: 0.03 mg/kg组; D组: 对照组。

世界卫生组织(WHO)推荐的国际统一使用的肥胖分型标准参数<sup>[3]</sup>。BMI = 体质量(kg)/身高(m)<sup>2</sup>。中华人民共和国国家卫生与计划生育委员会在2013年制定的成人体质量判定中制定了中国标准,当BMI>28 kg/m<sup>2</sup>为肥胖。肥胖常与糖尿病、高血压、阻塞性睡眠呼吸暂停综合征、代谢综合征等危险因素相伴出现<sup>[4,5]</sup>,肥胖患者下颌肥厚和胸部脂肪限制寰枢关节运动及颈椎屈曲,颌下脂肪使开口受限,舌体、口内软组织肥厚可造成气道狭窄,使得麻醉风险尤其是呼吸道风险大大增加。肥胖患者进行无痛胃肠镜检查,单独使用异丙酚达到所需的麻醉深度,剂量往往较大,容易导致麻醉偏深,出现苏醒延迟以及循环抑制等并发症<sup>[6,7]</sup>。同时由于自身气道条件,咽部空间小以及氧储备能力差,异丙酚促进咽部的塌陷,易造成呼吸道梗阻,发生低氧血症<sup>[8]</sup>。在上消化道胃镜操作中,内镜从口插入,这迫使麻醉医生与镜检医生共用气道,给麻醉医生的工作带来了更大的挑战<sup>[9]</sup>。故而本研究采取咪唑安定复合异丙酚及麻醉性镇痛药物的联合用药旨在减少不良反应的发生。国内文献报道应用咪唑安定以及芬太尼与异丙酚合用时,异丙酚的用量可以减少,在达到检查所需麻醉深度的同时,减少了各种并发症的发生率<sup>[10,11]</sup>。然而肥胖患者咪唑安定剂量的选择如何才能既能满足术中镇静深度的要求,又能保证循环和呼吸功能的稳定,是临床麻醉医师所关心的问题<sup>[12]</sup>,

国内外文献中相关报道较少。本研究在确定联合用药优于单一用药的基础上,探讨更适合肥胖患者的用药组合及用药剂量。

由于体检中心患者多为门诊患者,因此研究设定咪唑安定采用小剂量,在复合芬太尼、异丙酚后,A、B、C组在达到睡眠状态所用的异丙酚首次剂量明显减少,在异丙酚总量的统计中,B、C组明显减少。异丙酚首剂量减少,能减少肥胖患者在镜检初期发生呼吸抑制以及低氧的风险。有研究表明,无痛胃镜联合肠镜检查中,先进行无痛胃镜检查的总异丙酚剂量要小于先进行肠镜检查,这与胃镜检查对咽部的刺激较大有关<sup>[13]</sup>。本研究中均先进行胃镜检查再进行肠镜检查的顺序,降低了发生误吸的风险。以异丙酚为主辅以小剂量咪唑安定和芬太尼可有效地减轻或消除心因性应激或内镜检查所带来的某些不良反应<sup>[14]</sup>。三药合用可以减少每种药物的用量和不良反应,从而更大的发挥每种药物的优势,并且随着咪唑安定的剂量增加,达到胃肠镜检查所需麻醉深度的异丙酚的首剂量减少,这样既能满足操作者镜检过程的要求,同时减少肥胖患者呼吸抑制等围术期不良事件的发生。

随着异丙酚用量的增加,心动过缓及低血压的发生率也相应增多,导致麻黄素及阿托品使用增加,提示异丙酚用量增大对循环系统也有相应的抑制作用<sup>[15,16]</sup>。复合使用咪唑安定后减少了异丙酚的用量,提高了无痛胃肠镜检查麻醉



的平稳性。4组患者在检查过程中均出现了不同程度的低氧血症, 包括呼吸变慢、呼吸抑制、潮气量减少等。D组患者中 $\text{SpO}_2$ 下降者明显增多( $\text{SpO}_2 < 90\%$ 者占26.7%), 因 $\text{SpO}_2$ 过低, 不得不暂停检查、采取面罩加压给氧或口咽通气道等措施改善缺氧症状4例, 从而延误了胃肠镜检查时间。而A、B组患者中大多数能维持 $\text{SpO}_2$ 在正常水平, 各仅1例 $\text{SpO}_2$ 低于90%, 均可托举下颌后缓解。C组患者中4例发生低氧血症, 但与A、B组无统计学差异, 说明咪唑安定的复合可以减少肥胖患者低氧血症的发生率, 提高无痛胃肠镜检查术的安全性。同时, 复合使用咪唑安定的组中与未使用咪唑安定的组中均无恶心呕吐、苏醒延迟的发生。但随着咪唑安定用量的逐渐增加, C组患者苏醒后头晕嗜睡的发生明显增高, 使得在患者离院时间延长, 离开医院后增加了一定得风险。咪唑安定在0.03 mg/kg及以上, 肥胖患者嗜睡发生率明显高于0.01 mg/kg以及0.02 mg/kg组, 增加了患者术后呼吸抑制发生的风险, 因此不推荐使用咪唑安定使用剂量超过0.03 mg/kg。

总之, 咪唑安定-芬太尼-异丙酚复合麻醉用于肥胖患者无痛胃肠镜检查, 起到了良好的镇静镇痛效果, 提高了肥胖患者检查的安全性, 值得临床推广。咪唑安定0.02 mg/kg既能减少异丙酚的用药首剂量和总剂量, 同时并发症少苏醒快, 能降低血氧症、呼吸循环抑制、苏醒延迟、头晕嗜睡等不良反应的发生, 可作为推荐剂量。

#### 4 参考文献

- 1 李妍蔚. 麻醉药物在无痛消化内镜中的应用研究. 胃肠病学 2010; 15: 632-634
- 2 姜陆洋, 冯艺. 镇静镇痛药在无痛胃肠镜检查中的应用. 临床药物治疗杂志 2012; 10: 25-28
- 3 朱智明, 段立平, 臧贵明, 费宇行, 高连如, 张照馥, 石湘芸. 应用3种肥胖判定计算方法及标准对2825例成人肥胖判定结果的对比分析. 中国临床康复 2004; 8: 2810-2811
- 4 庞华英, 尚汉翼, 朱宝宽. 关于中国人肥胖标准的探讨. 医学研究通讯 2002; 31: 45-48
- 5 Fanti L, Agostoni M, Gemma M, Radaelli F, Conigliaro R, Beretta L, Rossi G, Guslandi M, Testoni PA. Sedation and monitoring for gastrointestinal endoscopy: A nationwide web survey in Italy. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 726-730 [PMID: 21640673 DOI: 10.1016/j.dld.2011.04.012]
- 6 Madan AK, Tichansky DS, Isom J, Minard G, Bee TK. Monitored anesthesia care with propofol versus surgeon-monitored sedation with benzodiazepines and narcotics for preoperative endoscopy in the morbidly obese. *Obes Surg* 2008; 18: 545-548 [PMID: 18386111 DOI: 10.1007/s11695-007-9338-1]
- 7 舒丽娟, 魏新川. 联合用药在肥胖患者无痛胃镜中的应用. 实用医学杂志 2011; 22: 4142-4144
- 8 Bale E, Berreth R. The obese patient. Anaesthetic issues: airway and positioning. *J Perioper Pract* 2010; 20: 294-299 [PMID: 20860190]
- 9 金华, 衡新华, 李德亮, 唐天云, 李勇军, 唐晓丹. 胃镜检查患者异丙酚复合咪唑安定、芬太尼麻醉的效果. 中华麻醉学杂志 2006; 26: 375-376
- 10 Beitz A, Riphaut A, Meining A, Kronshage T, Geist C, Wagenpfeil S, Weber A, Jung A, Bajbouj M, Pox C, Schneider G, Schmid RM, Wehrmann T, von Delius S. Capnographic monitoring reduces the incidence of arterial oxygen desaturation and hypoxemia during propofol sedation for colonoscopy: a randomized, controlled study (ColoCap Study). *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1205-1212 [PMID: 22641306 DOI: 10.1038/ajg.2012.136]
- 11 Heuss LT, Froehlich F, Beglinger C. Nonanesthesiologist-administered propofol sedation: from the exception to standard practice. Sedation and monitoring trends over 20 years. *Endoscopy* 2012; 44: 504-511 [PMID: 22389232 DOI: 10.1055/s-0031-1291668]
- 12 宗明江, 赵豫华, 周丽萍, 常存, 邢书生, 李志强, 李清. 咪唑安定或丙泊酚伍用芬太尼对镇静深度和呼吸、循环的影响. 临床麻醉学杂志 2005; 21: 13-16
- 13 孙昕, 王园园, 王青. 麻醉下胃肠镜联合检查不同时序的效果. 中华现代护理杂志 2010; 16: 330-333
- 14 杨恒, 骆宏. 酒石酸布托啡诺复合丙泊酚、咪达唑仑在胃肠镜检查中的应用. 临床麻醉学杂志 2011; 27: 825-826
- 15 Padmanabhan U, Leslie K. Australian anaesthetists' practice of sedation for gastrointestinal endoscopy in adult patients. *Anaesth Intensive Care* 2008; 36: 436-441 [PMID: 18564807]
- 16 Faigel DO, Baron TH, Goldstein JL, Hirota WK, Jacobson BC, Johanson JF, Leighton JA, Mallery JS, Peterson KA, Waring JP, Fanelli RD, Wheeler-Harbaugh J. Guidelines for the use of deep sedation and anesthesia for GI endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 613-617 [PMID: 12397263]

#### 同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 对临床内镜麻醉具有实用价值和指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 胃食管反流病中西医治疗的进展

汪晓奕, 朱凌云

## ■背景资料

作为消化系统中的一种常见病, 尽管胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)呈现出一个良性过程, 但其症状本身却可严重影响患者的日常生活, 且其发病率正逐年升高, 因而也成为了当今消化领域中的一个热点, 对其深入的研究具有重要的临床意义。

汪晓奕, 朱凌云, 上海市中医医院消化内科 上海市 200071  
汪晓奕, 硕士, 主要从事中医消化内科的研究。  
作者贡献分布: 本文综述由汪晓奕完成; 朱凌云审校。  
通讯作者: 朱凌云, 副教授, 主任医师, 200071, 上海市闸北区芷江中路274号, 上海市中医医院消化内科。  
zhulingyun2211@hotmail.com  
电话: 021-56639828  
收稿日期: 2013-09-11 修回日期: 2013-11-19  
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-02-08

## Progress in treatment of gastroesophageal reflux disease by traditional Chinese medicine and Western medicine

Xiao-Yi Wang, Ling-Yun Zhu

Xiao-Yi Wang, Ling-Yun Zhu, Department of Gastroenterology, Shanghai Traditional Chinese Medicine Hospital, Shanghai 200071, China  
Correspondence to: Ling-Yun Zhu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Shanghai Traditional Chinese Medicine Hospital, 274 Zhijiang Middle Road, Zhabei District, Shanghai 200071, China. zhulingyun2211@hotmail.com  
Received: 2013-09-11 Revised: 2013-11-19  
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is one of the most common digestive system diseases. Although the disease is benign, its symptoms can seriously affect the patient's daily life. The etiology and pathogenesis of GERD are complex. Currently, great progress has been made in the diagnosis of GERD; however, its treatment is still confined to the inhibition of gastric acid secretion, with the use of proton pump inhibitors (PPIs) being the main means of treatment. However, long-term use or discontinued use of PPIs has many disadvantages and limitations. Traditional Chinese medicine based on disease differentiation treatment combined with syndrome differentiation treatment is a comprehensive treatment and has certain advantages in the treatment of GERD.

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

**Key Words:** Gastroesophageal reflux disease; Pathogenesis; Traditional Chinese medicine; Western medicine; Proton pump inhibitors

Wang XY, Zhu LY. Progress in treatment of gastroesophageal reflux disease by traditional Chinese medicine and Western medicine. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 488-493 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/488.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.488>

## 摘要

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)作为消化系统中最常见的疾病之一, 尽管该疾病呈现一个良性过程, 但症状本身却可严重影响患者的日常生活. 其病因及发病机制复杂, 目前西医在诊断GERD方面取得了较大进步, 但在治疗方面仍然以抑制胃酸分泌, 尤其是质子泵抑制剂(pump inhibitors, PPI)的使用作为主要手段. 但长期维持或一旦停用此类药物后均有其局限性. 中医药作为一种综合治疗手段, 基于中医传统理论, 通过辨病论治与辨证施治相结合的方法对该病进行对因对症治疗, 具有一定优势.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胃食管反流病; 发病机制; 中西医治疗; 质子泵抑制剂; 进展

**核心提示:** 目前西医在诊断胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease)方面取得了较大进步, 但在治疗方面仍以抑酸作为主要手段. 但长期维持或一旦停用后均有局限性. 中医药作为一种综合治疗手段, 通过辨病论治与辨证施治相结合的方法对该病进行对因对症治疗, 具有一定优势.

汪晓奕, 朱凌云. 胃食管反流病中西医治疗的进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 488-493 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/488.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.488>

## 0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)系指胃内容物反流入食管, 引起不适症

## ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

状和/或并发症的一种疾病。其临床表现主要为与反流相关的症状群, 包括典型和常见的因反流物所致的食管内刺激症状如烧心、反酸, 其他非典型但与之密切相关的症状如吞咽困难、胸痛、嗝气、上腹不适等, 此外还有与反流相关但却易被人忽略的食管外症状如咳嗽、哮喘、咽喉炎等<sup>[1]</sup>。GERD可分为非糜烂性反流病(non-erosive reflux disease, NERD)、糜烂性食管炎(erosive esophagitis, EE)和Barrett食管(Barrett's esophagus, BE)三种类型<sup>[2-5]</sup>。GERD在世界各地的发病率不同<sup>[6]</sup>, 在西欧和北美GERD症状的患病率为10%-25%<sup>[7]</sup>。国内尚缺少GERD全国范围内的流行病学资料, 近年来的调查显示浙江省10地市初筛患病率为7.28%<sup>[8]</sup>, 北京市GERD的检出率为8.77%<sup>[9]</sup>。虽然在亚洲地区, GERD报道的患病率普遍低于欧美国家, 但相关资料显示反流性食管炎的检出率正在逐年升高<sup>[10-12]</sup>, 因而他也成为了当今消化领域研究中的一个热点。本文就当前中西医对本病的发病机制、治疗方案及用药等做一总结, 现综述如下。

## 1 西医对GERD病因及发病机制阐述

随着GERD发病率的逐年升高, 近年来对其病因及发病机制也进行了多项研究。从GERD的病理生理角度来看, 其病因复杂, 大致表现在以下几个方面<sup>[13,14]</sup>: (1)抗反流屏障削弱: 包括食管下括约肌压力(lower esophageal sphincter pressure, LES)降低、一过性下食管括约肌松弛(transit LES relaxation, TLESR)、食管裂孔疝(hiatus hernia, HH)、食管解剖结构缺陷等; (2)反流物的攻击作用, 包括胃酸、胆汁、消化酶、酒精、刺激性药食物等; (3)食管黏膜防御作用减弱; (4)食管清除能力降低: 主要为食管体部运动功能障碍(ineffective esophageal motility, IEM)、唾液分泌减少等; (5)胃动力障碍: 主要为胃排空延迟; (6) Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)数量减少和功能障碍; (7)其他因素: 如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染、食管感觉异常、自主神经功能紊乱、心理因素等。2008年在三亚召开的胃食管反流病高峰论坛上, 多位消化病专家一致认为<sup>[15]</sup>: 食管下括约肌和食管体部运动障碍、胃排空障碍及胃十二指肠协调运动障碍是GERD发病的启动因素, 食管下括约肌压力降低及一过性下食管括约肌松弛过度是导致反流发生的基础, 而食管体部运动异常减弱了食管的酸清除能力, 导致过多的胃内容

物(主要是胃酸)反流入食管能对胃黏膜产生直接侵蚀作用, 因而其可认为是GERD发病的直接致病因素。

## 2 西医对GERD的治疗

美国GERD指南及中国胃食管反流病治疗共识意见中都明确指出, GERD的治疗目标是: 缓解反流症状、治愈食管炎、提高生活质量以及预防复发和并发症<sup>[4,5,16-20]</sup>。其内容主要包括以下几方面。

**2.1 生活方式改变** 大量研究表明, 戒烟、减少脂肪餐摄入、抬高床头、避免餐后3 h平卧等可以减少食管远端的酸暴露。而某些确定的食物(如巧克力、酒精、薄荷油, 还有大蒜和洋葱等)可以降低食管括约肌的压力<sup>[21]</sup>。一些研究者认为, 有20%-30%的安慰剂反应率应归因于生活方式的改变, 但其对患者生活质量的潜在负面影响目前尚未有研究<sup>[22]</sup>。

### 2.2 药物治疗

**2.2.1 抑酸药物:** 美国胃肠病学会的GERD治疗指南中将抑制胃酸分泌作为具有一级证据的首选治疗方法, 而中国GERD的共识意见中亦确定质子泵抑制剂(pump inhibitor, PPI)是用于治疗GERD最有效的首选抑酸药物<sup>[15,21-24]</sup>。PPI治疗GERD的疗效已在世界各国得到认可<sup>[4]</sup>。既往研究证实<sup>[25]</sup>, PPI对糜烂性食管炎治疗8 wk的愈合率为78%-93%, 连续用药12 mo显示持续愈合率为80%-90%, 对非糜烂性胃食管反流病的疗效与之相似, 对Barrett食管症状的缓解率也可高达80%。PPI通过强大的抑酸作用可明显减少胃液分泌量, 缓解胃酸对食管黏膜的攻击作用, 并能最大程度控制24 h胃内pH值, 减少酸反流, 治愈食管炎<sup>[26]</sup>, 这点在2008三亚召开的胃食管反流病高峰论坛上也得到了诸多消化病专家的一致认同<sup>[15]</sup>。目前维持治疗的方法主要有: 维持原剂量或减量、间歇用药或按需治疗, 其具体治疗方案应个体化<sup>[17-19,21]</sup>。

然而作为抑酸治疗的首选药物, PPI仅从攻击因子角度进行治疗, 而非改变引起反流的动力因素<sup>[27]</sup>, 因此在停用PPI后, 糜烂性食管炎的复发率为75%-92%, 这些复发患者再用PPI仍可获得缓解, 但再次停药后, 其再次复发的机会约为90%左右<sup>[28,29]</sup>。且由于其对胃酸的强效抑制作用, 有部分文献报道长期服用PPI可能造成高胃泌素血症、肠道细菌过度生长、肠道感染以及营养吸收不良等<sup>[30]</sup>。另外, 因需长期进行维持性治疗

## ■ 研发前沿

近年来西医有关胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)病因学分类及诊断方法的研究已有了较大的进展, 但在治疗方面, 抑酸仍为首选手段。然而对于长期维持服药产生的不良反应等, 西医仍未找到良好的解决办法。中医通过辨证论治途径为GERD的治疗开拓了新的思路。



### ■相关报道

美国胃食管反流疾病指南中指出,目前已经明确有部分患者应用传统、常规剂量的PPI治疗效果不佳,对于这些患者,加大剂量并且每日加大到2倍剂量才合适。难治性GERD常是抗反流手术甚至是正在发展的内镜下治疗技术的基本适应证。

用药将不可避免会导致其敏感性下降,必须通过加大剂量才能抑制反流症状,然而其长久使用的不良反应又可导致肝损害的危险<sup>[31]</sup>。而近年来相关研究也已证实,GERD在标准剂量(每日1次,每次1片)PPI治疗下,症状仍未见缓解(每周至少有1次症状发生)的PPI治疗失效患者正在日渐增多,其比例可高达20%-30%<sup>[32]</sup>。

**2.2.2 促动力药物:** 尽管动力异常是GERD的发病基础,但目前尚未研制出有效的靶点药物<sup>[15]</sup>。当前的治疗仅在抑酸药物治疗效果不佳时,考虑联合应用促动力药物,特别是对于伴有胃排空延迟的患者,其机制主要是通过增加LES张力以促进胃、食管排空而减少胃食管反流的发生<sup>[21]</sup>。因此促动力药仅作为GERD治疗的辅助用药,而非根本治疗措施<sup>[24]</sup>。目前临床上多使用多潘立酮、莫沙必利、伊托必利等药物<sup>[33]</sup>。

**2.2.3 新研发药物:** 下食管括约肌一过性松弛(transient lower esophageal sphincter relaxation, TLESR)是GERD的重要病理生理机制,降低TLESR频率,可减少食管远端酸暴露和弱酸反流<sup>[34]</sup>。因此,针对TLESR的靶向药物,如γ-氨基丁酸B受体(γ-aminobutyric acid, GABA-B)激动药和亲代谢谷氨酸盐受体5调节药(mGluR5)成为目前临床研究的热点<sup>[35,36]</sup>。其中GABA-B受体激动剂巴氯芬是当前控制TLESR发生最具应用前景的药物<sup>[37]</sup>。目前正期待这些药物在GERD患者中的临床疗效及评价反馈。

**2.3 非药物治疗** 其中包括手术治疗及内镜治疗。抗反流手术在缓解不适症状和愈合食管炎方面的疗效与药物治疗相当<sup>[24]</sup>。虽现已证实有癌变的BE患者原则上应进行手术治疗,但对症状不典型、抑酸治疗效果差的患者,手术疗效通常不能达到预期目标<sup>[21]</sup>,且相当一部分患者术后仍需规则用药<sup>[20]</sup>。而短期初步研究提示,内镜治疗可改善GERD症状量表积分,减少PPI使用量,提高患者生活质量和满意度<sup>[24]</sup>。然而,目前仍然缺乏长期的包括假治疗组在内的随机双盲对照试验<sup>[22]</sup>,而临床上也观察到一些少见但严重的并发症(包括穿孔、死亡等)<sup>[24]</sup>。

### 3 中医对GERD病因病机的认识

因GERD以烧心、反酸、胸骨后或心窝部烧灼样疼痛等症状为其主要临床表现,故可将此病归属于中医“吞酸”、“吐酸”、“嘈杂”、“反胃”、“噎膈”、“胸痹”等范畴。在1997年国家技术监督局发布的国家标准《中医

临床诊疗术语》中将本病称为“食管瘕”,其与GERD的症候较为相近,但仍不十分准确<sup>[38]</sup>。祖国医学认为,其病位主要在胃及食管,与肝、胆、脾、肺密切相关。本病总体上属本虚标实之证,其中以脾胃虚弱为本,气郁、食滞、痰火、湿浊为标。多由情志不遂、忧思怒嗔导致肝失疏泄,横逆脾胃,胃气上逆;或饮食失调,过食辛辣刺激之物、嗜烟饮酒等灼伤胃经,气机受阻,胃失和降;或素患胆病,邪毒蕴积,胆热犯胃,胃气不和,反逆呕苦;或劳逸不均、久病伤脾,脾失健运,痰湿内生导致痰气交阻,肺气上逆等而引发此病<sup>[39]</sup>。由此可见,本病的主要机制变化可归结为脏腑气机失调导致胃失和降上逆所致。

### 4 中医对GERD的治疗

**4.1 治法思路** 蔡淦<sup>[40]</sup>认为本病为本虚标实之证,主要因脾虚肝失疏泄、肝火挟浊邪上泛引起,以健脾和胃、疏肝清热为基本治法。赵荣荣<sup>[41]</sup>认为本病的总病机为胃失和降、胃气上逆。宗东垣之法,在辨证论治的基础上从调理脾胃升降功能着手,并配以宽胸快膈之法。王庆其<sup>[42]</sup>认为该病病位涉及胃、肝、胆、脾,病机主要责之于气机升降失常。在治疗上其主张以清代医家吴鞠通提出的“治中焦如衡,非平不安”为准绳,以调理脾胃气机升降为原则,以辛开苦降为大法。张国伦<sup>[43]</sup>认为本病病位在胃与食管,与肝关系密切,肝气犯胃、胃失和降是其病机关键,故在治疗中总以疏肝和胃、行气降逆之法贯穿始终,并遵循《临证指南医案》中“纳食主胃,运化在脾,太阴湿土,得阳始运,阳明燥土,得阴自安”之论,时时顾护脾胃。田德禄<sup>[44]</sup>认为本病病在食管,属胃所主,与肝、胆、脾密切相关。肝胃不和,郁而化热,肝移热于胆,胆气不降,胆热挟持胃气上逆是本病的主要病机。故对本病的治疗亦多从疏肝清胆、和胃通降立法,肝胃同治。

**4.2 辨证论治** 2009年在深圳召开的中华中医药学会脾胃病分会第21届全国脾胃病学术会议上通过审定的《胃食管反流病中医诊疗共识意见》中指出本病的辨证可分为肝胃郁热、胆热犯胃、中虚气逆、气郁痰阻、瘀血阻络等五型治疗<sup>[45]</sup>。而近现代医家则多根据自己的临床经验和体会进行辨证施治:徐景藩<sup>[46]</sup>将本病辨证为四型治疗:气郁证以理气解郁、和胃降逆为法,方用木香调气散、吴氏新制橘皮竹茹汤、解郁

合欢汤加减; 痰气交阻证以理气解郁、化痰散结为法, 方用半夏厚朴汤加减; 肝胃郁热证以清泄肝胃郁热、理气降逆为法, 方用左金丸、大黄甘草汤、济生橘皮竹茹汤加减; 气滞血瘀证以行气化瘀为法, 方用血府逐瘀汤随证加减, 临床疗效甚佳。贺仲华<sup>[47]</sup>将反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)视为GERD的较严重阶段, 并将其分四型辨证施治: 肝胃郁热型: 多在RE的早中期, 治拟疏肝清胆、和胃降逆法, 用化肝煎、左金丸、济生橘皮竹茹汤加减; 肝郁痰结型: 在RE的中后期, 治拟疏肝解郁、化痰散结、和胃降逆法, 用半夏厚朴汤、温胆汤合旋覆代赭汤加减; 肝胃血瘀型: 在RE的后期, 治拟疏肝行气活血、和胃降逆止痛法, 用血府逐瘀汤合启膈散加减; 肝胃阴虚型: 在RE的恢复期, 治拟养阴柔肝和胃降逆法, 用一贯煎、益胃汤加减。汪荫华<sup>[48]</sup>将本病分为七种证型, 据证施治: 肝胃不和证, 治以疏肝理气、和胃降逆, 常用柴胡疏肝散加减; 肝(胆)胃郁热证, 治以泄肝利胆、和胃降逆, 常用左金丸合化肝煎加减; 气郁痰阻证, 治以理气解郁、化痰散结, 常用旋覆半夏汤加味; 寒热错杂证, 治以调气和胃、辛开苦降, 常用左金丸合甘草泻心汤加减; 气滞血瘀证, 治以行气化瘀、和胃降逆, 常用血府逐瘀汤合旋覆代赭汤加减; 脾虚气逆证, 治以益气健脾、和胃降逆, 常用香砂六君子汤合旋覆代赭汤加减; 胃阴不足证, 治以滋阴养胃、润燥降逆, 常用沙参麦冬汤合益胃汤加减。

**4.3 专方专药** 张方东等<sup>[49]</sup>采用合蒲七汤加味治疗66例GERD, 基本方用: 黄连6 g、吴茱萸3 g、白芍15 g、炙甘草6 g、丹参15 g、砂仁9 g、檀香6 g、蒲公英15 g、三七粉5 g、佛手10 g、陈皮10 g、姜半夏9 g、枳壳10 g、白术15 g、白及12 g、制大黄3 g、厚朴花6 g。治疗2个疗程8 wk后, 治疗组总有效率92.43%明显高于兰索拉唑、莫沙必利联合铝碳酸镁的对照组。殷利娜<sup>[50]</sup>采用半夏泻心汤加味治疗60例GERD, 基本方用: 姜半夏12 g、黄连8 g、甘草、大枣、枳实、黄芩各10 g、干姜6 g、海螵蛸20 g、煅瓦楞30 g、党参、白及各15 g、代赭石30 g。经过1个疗程60 d治疗, 总有效率达93.33%。李保双等<sup>[51]</sup>采用复方枳苏汤治疗40例GERD, 基本方用: 紫苏梗10 g、枳壳10 g、香附10 g、半夏10 g、陈皮10 g、厚朴10 g、虎杖10 g、海螵蛸30 g、茯苓15 g、甘草3 g。治疗1 mo后, 有效率97.5%, 治疗前后主要症状积分及总分与治疗前比较均明显减低。冀秀

萍等<sup>[52]</sup>采用大柴胡汤加减治疗45例GERD, 基本方用: 柴胡10 g、黄芩10 g、清半夏10 g、白芍20 g、炒枳实15 g、厚朴12 g、生大黄3 g、炙甘草6 g、生姜9 g、大枣3枚。治疗8 wk后, 治疗组总有效率达91.1%高于奥美拉唑联合多潘立酮的对照组, 且在临床主要症候疗效比较上, 治疗组各项也均高于对照组。

**4.4 其他治疗** 现代经穴研究表明, 刺激相关穴位能增强胃蠕动、抑制胃酸分泌、增加胃排空, 对GERD具有一定的防治效果<sup>[53]</sup>。卢岱静<sup>[54]</sup>将RE患者分为4组: 针刺组30例, 采用针刺内关、公孙、阳陵泉治疗; 中药组30例, 内服和胃降逆功效之中药; 针药组30例, 采用针刺加内服中药; 西药组30例, 采用奥美拉唑肠溶胶囊口服。结果显示针药组、针刺组、中药组及西药组治疗后胃动素和胃泌素水平均较治疗前水平明显升高; 治疗后针药组血浆胃动素和胃泌素水平明显高于其他组; 且针药组症状改善率及胃镜下炎症改善明显高于其他组。朱东晓<sup>[55]</sup>根据中医辨证论治理论和经络学说, 应用低频脉冲电刺激加耳穴磁疗法相结合治疗GERD患者60例。治疗组采用无创低频脉冲电加耳穴磁疗法, 对照组口服西药普瑞博思。两组均以7 d为1个疗程。治疗后, 治疗组总有效率为91.7%高于对照组为80.0%。蒋守忠<sup>[56]</sup>将60例GERD患者随机分为两组, 治疗组予以白酒浸泡中药所制成的药液涂敷于双侧足太阳膀胱经、肝胆俞、脾胃俞上, 并配合手法操作, 对照组口服奥美拉唑肠溶片及西沙比利片, 疗程均为3 wk。结果显示, 治疗组总体疗效明显高于对照组。

## 5 结论

作为消化系统中的一种常见病, 近年来有关于GERD病因学分类及诊断方法的研究已有了较大的进展, 但在治疗方面, PPI抑酸治疗仍然是目前的主要治疗手段, 然而长期维持服用的药物不良反应及对某些难治性患者的无效性, 西医仍未找到良好的解决办法。作为中医药治疗的优势病种, 中医在GERD治疗方面独辟蹊径, 以辨病与辨证相结合、整体与局部相兼治, 可以弥补现代医学对难治性反流性食管炎、夜间酸突破等疑难复杂病例治疗方案的不足, 也能减少西药长期服用给机体带来的不良反应。但目前临床报道诊断和选例标准过于笼统, 疗效判定不统一, 不利于本病的准确诊治。如何制定出符合临床实际的辨证分型方法和诊断疗效标准, 筛选出最佳的治疗

## ■创新盘点

本文就中西医治疗GERD的相关进展作一综述, 并着重在中医辨证分型治疗、专方专药及中医特色疗法方面进行了详细介绍。

## ■应用要点

作为中医药治疗的优势病种, 中医在GERD治疗方面独辟蹊径, 以辨病与辨证相结合、整体与局部相兼治, 可以弥补现代医学对难治性反流性食管炎、夜间酸突破等疑难复杂病例治疗方案的不足, 也能减少西药长期服用给机体带来的不良反应等。

方案和方法, 以加快中医药对此病诊疗的现代化进程确是当今中医治疗GERD的一大难点, 值得我们进一步去探究和完善。

## 6 参考文献

- Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1900-1920; quiz 1943 [PMID: 16928254 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00630.x]
- Fock KM, Talley N, Hunt R, Fass R, Nandurkar S, Lam SK, Goh KL, Sollano J. Report of the Asia-Pacific consensus on the management of gastroesophageal reflux disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 357-367 [PMID: 15012771 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03419.x]
- Armstrong D, Marshall JK, Chiba N, Enns R, Fallone CA, Fass R, Hollingworth R, Hunt RH, Kahrilas PJ, Mayrand S, Moayyedi P, Paterson WG, Sadowski D, van Zanten SJ. Canadian Consensus Conference on the management of gastroesophageal reflux disease in adults - update 2004. *Can J Gastroenterol* 2005; 19: 15-35 [PMID: 15685294]
- DeVault KR, Castell DO. Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 190-200 [PMID: 15654800 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41217.x]
- Playford RJ. New British Society of Gastroenterology (BSG) guidelines for the diagnosis and management of Barrett's oesophagus. *Gut* 2006; 55: 442 [PMID: 16531521 DOI: 10.1136/gut.2010.235259]
- 袁耀宗, 邹多武, 汤玉茗, 许国铭. 胃食管反流病的蒙特利尔(Montreal)定义和分类—基于循证医学的全球共识. *中华消化杂志* 2006; 26: 686-689
- Dent J, El-Serag HB, Wallander MA, Johansson S. Epidemiology of gastro-oesophageal reflux disease: a systematic review. *Gut* 2005; 54: 710-717 [PMID: 15831922 DOI: 10.1136/gut.2004.051821]
- 章宏, 徐晶, 厉有名, 虞朝辉, 许国强, 陈春晓, 季峰. 浙江省内科门诊人群胃食管反流病及危险因素流行病学调查. *中华消化杂志* 2007; 27: 443-446
- 胡水清, 张玫, 牛小羽, 周俊. 门诊患者胃食管反流病的流行病学调查. *实用医学杂志* 2009; 25: 141-143
- 李兆申, 徐晓蓉, 许国铭, 邹多武, 孙振兴, 王雯, 叶萍, 陆建萍. 反流性食管炎的临床特征分析. *中华消化内镜杂志* 2005; 22: 315-318
- 胡兆元, 周丽雅, 林三仁, 薛艳. 十年间2088例反流性食管炎临床分析. *中华消化杂志* 2005; 25: 717-719
- 瞿国强, 胡宏艳, 李安, 郭金芝, 梁先发, 汤胜君, 龙翔, 钱立康, 程雪霞, 曹彬. 胃食管反流病患者生活质量调查187例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 834-838
- 方莉, 孟立娜. 胃食管反流病的发病机制相关因素及其药物治疗. *胃肠病学* 2008; 13: 696-698
- 涂蕾, 侯晓华. 胃食管反流病的病因和发病机制. 现代消化与介入诊疗 2011; 16: 37-41
- 中华消化杂志编委会, 中华医学会消化病学分会动力学分组. 2008胃食管反流病高峰论坛(三亚). *中华消化杂志* 2009; 29: 145-147
- Moss SF, Armstrong D, Arnold R, Ferenci P, Fock KM, Holtmann G, McCarthy DM, Moraes-Filho JP, Mutschler E, Playford R, Spechler SJ, Stanghellini V, Modlin IM. GERD 2003 -- a consensus on the way ahead. *Digestion* 2003; 67: 111-117 [PMID: 12853722]
- Bautista, Jimmy M. The rising trend of on-demand and intermittent proton pump inhibitor therapy in

gastroesophageal reflux disease: What is the evidence? *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 112-114 [DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04713.x]

- Khean-Lee Goh. "On-demand" therapy for gastroesophageal reflux disease: Are current proton pump inhibitors good candidates? *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 115-118 [DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04714.x]
- Ting K Cheung, Benjamin CY Wong. Proton-pump inhibitor failure/resistance: Proposed mechanisms and therapeutic algorithm. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 119-124 [DOI: 10.1111/j.1440-1746.2006.04716.x]
- 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会. 胃食管反流病中西医结合诊疗共识意见(2010). *中国中西医结合杂志* 2011; 31: 1551-1552
- 中华医学会消化病学分会胃肠动力学组. 胃食管反流病治疗共识意见(2007, 西安). *中华消化杂志* 2007; 27: 689-690
- 李巍, 张澍田. 美国胃食管反流疾病诊断和治疗指南评介. *中国实用内科学杂志* 2006; 26: 1992-1997
- Katz PO, Gerson LB, Vela MF. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 308-328; quiz 329 [PMID: 23419381 DOI: 10.1038/ajg.2012.444]
- 中国胃食管反流病共识意见专家组. 中国胃食管反流病共识意见(2006-10, 三亚). *中华内科杂志* 2007; 46: 170-173
- Vigneri S, Termini R, Leandro G, Badalamenti S, Pantalena M, Savarino V, Di Mario F, Battaglia G, Mela GS, Pilotto A. A comparison of five maintenance therapies for reflux esophagitis. *N Engl J Med* 1995; 333: 1106-1110 [PMID: 7565948 DOI: 10.1056/NEJM199510263331703]
- 王智凤, 柯美云, 蓝宇. 正常人和胃食管反流者的昼夜食管pH和动态变化. *中华消化杂志* 1998; 18: 242
- 柯美云, 孙晓红. 重视胃食管反流病整体治疗的重要性. *中华消化杂志* 2006; 26: 145-146
- Harris RA, Kuppermann M, Richter JE. Prevention of recurrences of erosive reflux esophagitis: a cost-effectiveness analysis of maintenance proton pump inhibition. *Am J Med* 1997; 102: 78-88 [PMID: 9209204 DOI: 10.1016/S0002-9343(96)00301-4]
- 王虹. PPI治疗胃食管反流病失效的原因和对策. *国外医学(消化系疾病分册)* 2005; 25: 305-308
- Savarino V, Di Mario F, Scarpignato C. Proton pump inhibitors in GORD An overview of their pharmacology, efficacy and safety. *Pharmacol Res* 2009; 59: 135-153 [PMID: 18977444 DOI: 10.1016/j.phrs.2008.09.016]
- 宗亮, 田耀洲. 胃食管反流病的中西医治疗进展. *浙江中西医结合杂志* 2009; 19: 189-190
- 危北海. 胃食管反流病中西医治疗的现状和展望. *北京中医药* 2008; 27: 163-164
- 方莉, 孟立娜. 胃食管反流病的发病机制相关因素及其药物治疗. *胃肠病学* 2008; 13: 696-698
- 赵洪川. 胃食管反流病的治疗进展. *临床药物治疗杂志* 2010; 8: 37-41
- Lehmann A. Novel treatments of GERD: focus on the lower esophageal sphincter. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2008; 12 Suppl 1: 103-110 [PMID: 18924449]
- Vakil N. New pharmacological agents for the treatment of gastroesophageal reflux disease. *Rev Gastroenterol Disord* 2008; 8: 117-122 [PMID: 18641594]
- Cicciaglione AF, Marzio L. Effect of acute and chron-

## ■名词解释

**Barrett食管:** 指食管下段的鳞状上皮被柱状上皮覆盖. 普遍认为是获得性, 并与反流性食管炎相关, 并有发生腺癌的可能. 其表现主要是胃食管反流及并发症所引起的相关症状;

**食管裂孔疝:** 指腹腔内脏器(主要是胃)通过膈食管裂孔进入胸腔所致的疾病. 食管裂孔疝患者可以无症状或症状轻微, 裂孔疝和反流性食管炎可同时也可独立存在, 其症状轻重与疝囊大小、食管炎症的严重程度无关。



- ic administration of the GABA B agonist baclofen on 24 hour pH metry and symptoms in control subjects and in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 2003; 52: 464-470 [PMID: 12631652 DOI: 10.1136/gut.52.4.464]
- 38 周鸿, 陈鸣艳, 吕宾. 难治性胃食管反流病中西医治疗现状. *环球中医药* 2011; 4: 16-19
- 39 朱生樑, 李勇, 朱晓燕, 马淑颖. 胃食管反流病证型研究. *上海中医药杂志* 2002; 36: 12-13
- 40 刘群. 蔡淦治疗胃食管反流性疾病经验. *上海中医药杂志* 2005; 39: 27-28
- 41 翟军鹏, 李晓宁, 陈詒. 赵荣莱教授治疗胃食管反流病经验. *北京中医药* 2008; 27: 19-20
- 42 薛辉, 陈正, 宋琦. 王庆其治疗胃肠病学术经验摘要. *江苏中医药* 2009; 41: 17-19
- 43 杨海卿, 王科峰. 张国伦教授治疗胃食管反流病经验. *云南中医中药杂志* 2009; 30: 1-2
- 44 李晓林. 田德禄教授治疗胃食管反流病经验. *北京中医药大学学报(中医临床版)* 2011; 18: 30-31
- 45 中华中医药学会脾胃病分会. 胃食管反流病中医诊疗共识意见(2009, 深圳). *中医杂志* 2010; 51: 844-847
- 46 徐景藩. 关于诊治胃食管反流病的几点管见. *江苏中医药* 2010; 42: 1-2
- 47 胡梅. 贺仲华治疗胃食管反流病经验. *世界中西医结合杂志* 2011; 6: 555-556
- 48 潘存生. 汪荫华治疗胃食管反流病的经验与特色. *江苏中医药* 2012; 44: 11-12
- 49 张方东, 林建泉, 高乾良. 三合蒲七汤加味治疗胃食管反流病66例临床观察. *光明中医* 2012; 27: 1765-1766
- 50 殷利娜. 半夏泻心汤加味治疗胃食管反流病60例. *陕西中医* 2012; 33: 1135-1136
- 51 李保双, 常婧舒. 复方枳苏汤治疗胃食管反流病40例临床观察. *河北中医* 2012; 34: 19-23
- 52 冀秀萍, 马骋宇. 大柴胡汤加减治疗胃食管反流病45例临床观察. *江苏中医药* 2013; 45: 36-37
- 53 解然勇, 侯超, 王璇, 王灿, 秦博, 高军杰. 电针足三里联合甲氧氯普胺注射治疗上消化道术后胃肠功能紊乱50例. *陕西中医* 2013; 34: 744-745
- 54 卢岱静. 针药并用对反流性食管炎患者胃泌素、胃动素的影响. *上海针灸杂志* 2010; 29: 218-220
- 55 朱东晓. 低频脉冲配合耳穴贴磁治疗胃食管反流60例. *云南中医中药杂志* 2010; 31: 41-42
- 56 蒋守忠. 药穴指针疗法治疗60例胃食管反流病的疗效观察. *中国当代医药* 2012; 19: 93-96

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



## ■同行评价

文章立题有依据, 综述内容集中, 观点明确, 讨论简洁, 在中医辨证分型治疗和单方治疗方面叙述详细, 对GERD中医治疗的研究有一定的参考意义。

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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

# 肿瘤干细胞相关信号通路在胃癌发生发展中的研究进展

席小龙, 姜波健, 俞继卫

## ■背景资料

胃癌是世界范围内最常见的恶性肿瘤之一, 最新统计数据表明, 胃癌在癌症相关肿瘤死亡中居第3位。胃癌的发病率高、进展快, 手术治疗后易复发和转移成为胃癌治疗的难题。胃癌干细胞相关信号通路的改变是导致胃癌侵袭、转移及化疗耐药的主要原因。

席小龙, 姜波健, 俞继卫, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科 上海市 201900

席小龙, 安徽省蚌埠医学院研究生部 安徽省蚌埠市 233000

席小龙, 硕士, 主要从事胆囊癌和胃癌的临床和基础研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101850

上海市教育委员会基金资助项目, No. 12YZ047

作者贡献分布: 席小龙负责文献收集和初稿撰写; 姜波健负责初稿修改; 俞继卫负责文章终审和修改。

通讯作者: 俞继卫, 副主任医师, 201900, 上海市宝山区漠河路280号, 上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科。

jiweiyu919@hotmail.com

收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2013-12-10

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## Cancer stem cell-related signaling pathways in development of gastric cancer

Xiao-Long Xi, Bo-Jian Jiang, Ji-Wei Yu

Xiao-Long Xi, Bo-Jian Jiang, Ji-Wei Yu, Department of General Surgery, No. 3 People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, Shanghai 201900, China

Xiao-Long Xi, Graduate School of Bengbu Medical College, Bengbu 233000, Anhui Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81101850; the Shanghai Municipal Education Commission Funded Project, No. 12YZ047

Correspondence to: Ji-Wei Yu, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, No. 3 People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University School of Medicine, 280 Mohe Road, Baoshan District, Shanghai 201900, China. jiweiyu919@hotmail.com

Received: 2013-11-07 Revised: 2013-12-10

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Cancer stem cells are a subset of cancer cells with self-renewal and differentiation capacity. They play an important role in gastric carcinogenesis, proliferation, migration, invasion and metastasis and are involved in resistance to chemotherapy. Numerous studies indicate that stem cell-related signaling pathways (such as Wnt, Notch, Hedgehog, PI3K, and BMP) are activated in the occurrence and development of gastric cancer. Inhibition of tumor self-renewal-related signaling pathways can significantly improve the prognosis of patients with gastric cancer. In this paper we will review the roles of these cancer stem cell-related signaling pathways in gastric cancer.

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

Key Words: Cancer stem cells; Wnt; Notch; Hedgehog; PI3K/AKT; BMP

Xi XL, Jiang BJ, Yu JW. Cancer stem cell-related signaling pathways in development of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 494-500 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/494.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.494>

## 摘要

肿瘤干细胞是肿瘤组织中一群具有自我更新和多向分化能力的干细胞亚群。胃癌干细胞在胃癌的发生、增殖、迁移、侵袭及转移中起重要作用, 并参与了化疗耐药。大量的研究表明干细胞相关信号通路(如: Wnt、Notch、Hedgehog、PI3K/AKT和BMP等)在胃癌的发生与发展中被激活。抑制相肿瘤自我更新相关信号通路则明显改善胃癌患者的预后。本文就上述肿瘤干细胞相关信号通路在胃癌中的作用研究作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肿瘤干细胞; Wnt; Notch; Hedgehog; PI3K; BMP

**核心提示:** 本文着重阐述了肿瘤干细胞相关信号通路(Wnt、Notch、Hedgehog、PI3K/AKT和BMP)在胃癌的发生发展、侵袭转移及化疗耐药中的作用, 并阐述了这些通路与胃癌干细胞的关系, 为胃癌治疗提供了新的思路及治疗策略。

席小龙, 姜波健, 俞继卫. 肿瘤干细胞相关信号通路在胃癌发生发展中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 494-500 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/494.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.494>

## 0 引言

在实体肿瘤中存在小部分具有干细胞特性即自我更新和多向分化能力的干细胞亚群, 这部分细胞亚群被称为肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs). CSCs在一定条件下, 可以分化成多种功

## ■同行评议者

徐浚, 副主任医师, 上海复旦大学附属中山医院



能细胞. 肿瘤干细胞最早由Dick等<sup>[1]</sup>在白血病的研究中得到证实, 后来相继有研究报导在体内多种器官实体瘤中发现肿瘤干细胞, 如: 结肠癌、肝癌及脑肿瘤<sup>[2-4]</sup>. 肿瘤干细胞对肿瘤的存活、增殖、转移、复发及化疗耐药性中都有着重要影响. 大量研究表明肿瘤干细胞相关信号通路(如: Wnt、Notch和Hedgehog等)与胃癌的发生与发展有密切关系<sup>[5-7]</sup>. 肿瘤干细胞相关信号转导通路的阐明, 必将给肿瘤干细胞的治疗带来新的希望, 从而最终治愈肿瘤.

## 1 胃癌干细胞

寻找胃癌干细胞(gastric cancer stem cells, GC-SCs)特异性标志物或基因一直是胃癌研究的重点. 最近国外研究初步显示, CD133、CD44、Musashi-1及 $\beta$ 1-integrin等可能是胃肠肿瘤干细胞候选标志物, 这些标志物阳性的肿瘤细胞与其他普通肿瘤细胞相比, 在动物体内具有更高的致癌潜能, 在体外则具有较高的增殖、克隆形成能力及侵袭能力.

最早关于胃癌干细胞的来源目前有两种观点: 一种是胃癌干细胞来源于正常的胃干细胞(gastric stem cells, GSCs), 另一种观点认为胃癌干细胞起源于骨髓源性细胞(bone marrow derived cells, BMDCs). 胃癌干细胞研究主要使用CD133、CD44等作为胃癌干细胞表面标志物. Hashimoto等<sup>[8]</sup>在对189例胃癌患者的研究中发现, 在细胞质阳性表达CD133的胃癌细胞与阴性表达的胃癌细胞相比具有更高的致癌能力, 并与癌症的进展、化疗耐药、复发及预后呈正相关. 研究还表明CD133的表达与缺氧诱导因子1- $\alpha$ (hypoxia inducible factor 1- $\alpha$ , HIF1- $\alpha$ )的表达相关. 而Lee等<sup>[9]</sup>研究发现CD133的表达与化疗耐药和胃癌复发有关. Zieker等<sup>[10]</sup>在对MKN45胃癌细胞株的研究时发现, 当把分选后的胃癌细胞接种到裸鼠体内观测肿瘤的形成时, CD44<sup>+</sup>组可在体内形成肿瘤, 而CD44<sup>-</sup>组则不能成瘤<sup>[10]</sup>. Takaishi等<sup>[11]</sup>研究发现, 在胃癌细胞株MKN-45、MKN-74和NCI-N87中, CD44<sup>+</sup>组细胞具有干细胞的自我更新和产生有差异的后代的能力, 并能产生CD44<sup>-</sup>细胞. 而当使用shRNA干扰CD44<sup>+</sup>细胞后, 其克隆球形成能力明显降低, 克隆球体积与未干扰组比明显缩小. 而CD44<sup>-</sup>细胞的致瘤和成瘤能力明显低于CD44<sup>+</sup>组.

## 2 相关信号传导通路

微环境中产生的信号通路(Wnt、Hedgehog、

Notch、PI3K和BMP信号通路等)调控胃干细胞特性、细胞的迁移及分化. 多种复杂因素(PI3K/AKT信号通路、Wnt信号通路异常等)导致胃干细胞恶性转化为胃肿瘤干细胞, 后者无限制的克隆化是启动胃癌发生、发展的关键所在.

2.1 Notch信号通路 哺乳动物Notch通路包括一个保守的跨膜受体家族(Notch1-4)和一些与之相互作用的特异性配体(DLL1、DLL3、DLL4、Jagged1和Jagged2), 通过配受体见得相互作用进而调节细胞的命运. Notch受体是一种跨膜蛋白, 含有一个细胞外段(可与表皮生长因子样配体结合)和一个细胞内段(intracellular domain, ICD). Notch配体也是一种跨膜转运蛋白, 因此Notch信号通路的激活发生在细胞间的直接接触. 将Notch配体结合到Notch受体胞外部分后触发两个连续的蛋白水解酶(a disintegrin and metalloprotease, ADAM酶和 $\gamma$ -分泌酶)裂解受体, 释放一个活跃的细胞内段(notch intracellular domain, NICD). NICD是Notch受体的活化形式, 可以转移到细胞核, 在细胞核NICD被装配成一个大的转录激活复合物并与保守的转录因子CSL相互作用, 激活CSL依赖的下游基因转录, 如: *HES/HEY*、*NF- $\kappa$ B*、*PI3K*、*AKT*、*cyclinD1*、*p21*和*p27*<sup>[12]</sup>. Notch信号通路在许多肿瘤的自我更新中的作用已被证实, 如乳腺癌、成神经管细胞瘤、胰腺癌<sup>[13]</sup>. 虽然在胃癌干细胞中没有直接的证据支持Notch的作用, 但Notch信号的异常激活被发现. 大约75%的早期胃癌表达Notch配体Jagged1, 并与胃癌的组织侵犯及患者的生存率相关<sup>[5]</sup>. 该研究还发现Notch信号促进胃癌细胞的集落形成、迁移和侵袭部分是通过环氧化酶2(cyclooxygenase-2, Cox-2)起作用的. 另外一项研究<sup>[14]</sup>显示Notch信号通过表达Twist和信号转导和转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription, STAT3)促进胃癌的发展. Yao等<sup>[15]</sup>在研究研究胃癌细胞株SGC7901时发现, 细胞外信号调节激酶1/2(ERK1/2)抑制剂PD98059可增强组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitor, HDACI)曲古抑菌素A(trichostatin A, TSA)诱导的细胞生长停滞、细胞凋亡和*p21WAF1/CIP1*基因活化. 因此, PD98059联合TSA可为胃癌患者提供一个新的治疗策略. 另有研究表明, CD44<sup>+</sup>胃癌干细胞与CD44<sup>-</sup>胃癌细胞相比, 增殖能力增加, 而增殖能力的增加与Notch1的高表达有关. 另外CD44<sup>+</sup>胃癌干细胞有更强的体外克隆球形成, 更高的体

### ■研究前沿

本文主要探讨了肿瘤干细胞相关信号通路的激活在胃癌发生发展中的作用, 阐明了相关通路在胃癌中的作用机制, 可为胃癌的治疗提供一定的参考价值.



## ■创新盘点

本文重点详细介绍了Wnt、Notch、Hedgehog、PI3K/AKT和BMP信号通路在胃癌中的最新研究进展,信号通路阐述较齐全、新颖,基本代表了目前的最新研究结果。

内致癌能力,并与微血管密度相关。而榄香烯 $\beta$ 在体外可通过抑制Notch1抑制胃癌干细胞的生长,在体内通过干扰Notch1的表达抑制肿瘤的生长并减少肿瘤的血管浸润<sup>[16]</sup>。

**2.2 Wnt信号通路** Wnt通路有两条,一条是经典的Wnt通路,Wnt信号通过 $\beta$ -连环蛋白通路参与决定细胞的命运。另一条非经典Wnt信号通路,Wnt信号通过一个独立的 $\beta$ -连环蛋白通路,参与细胞的运动和极性。虽然很多研究显示了其在胚胎行程中的重要作用,但很少有关于其在癌干细胞生物学中作用的研究。在经典的Wnt信号通路中,Wnt配体结合受体复合物Frizzled和LRP5/6(低密度脂蛋白受体家族成员),稳定 $\beta$ -连环蛋白信号。在没有Wnt信号时, $\beta$ -连环蛋白结合于蛋白APC和Axin上,形成一个降解复合物。在降解复合物的参与下, $\beta$ -连环蛋白连续地被CK1和GSK3 $\beta$ 上保守的丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化。磷酸化的信号募集含 $\beta$ -TrCP的E3泛素连接酶, $\beta$ -连环蛋白随后被相关蛋白水解酶水解。在存在Wnt信号时,Wnt结合Frizzled/LRP5/6受体复合物,激活蛋白Dishevelled(Dvl),Dvl可阻断降解复合物的形成,从而阻止了 $\beta$ -连环蛋白的磷酸化而保持了其稳定性,使 $\beta$ -连环蛋白在细胞质中积累。细胞质中积累的 $\beta$ -连环蛋白易位到细胞核内,取代阻遏蛋白Groucho和组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC),并与TCF/LEF转录因子结合,激活Wnt相关靶基因(如*c-myc*、*cyclinD1*)的表达。Wnt信号通路在肿瘤干细胞自我更新能力中的重要作用已经在多种恶性肿瘤中被证实,如结肠癌、乳腺癌、白血病<sup>[17]</sup>。Cai等<sup>[6]</sup>研究发现,使用Wnt信号通路抑制剂DKK-1可降低胃癌MKN-45细胞系干细胞克隆球中细胞的自我更新能力,而使用Wnt通路激活剂氯化锂则可提高胃癌干细胞的自我更新能力。Oshima等<sup>[18]</sup>对小鼠动物实验的研究表明Wnt信号通路在胃癌的发展中起重要作用。该研究发现携带K19-Wnt1的转基因小鼠在胃黏膜表达WNT1,使用角蛋白19(keratin 19, K19)启动子,显著地抑制癌前病变上皮细胞的分化。而携带K19-Wnt1/C2mE复合基因的小鼠在胃组织中表达Cox-2和其下游的分子微粒体前列腺素E合酶1(microsomal prostaglandin E synthase-1, mPGES-1),使胃的黏液细胞出现化生,进一步出现非典型增生及胃肿瘤。最近一项研究表明,携带Wnt通路拮抗基因Dickkopf-1(DKK1)的腺病毒Ad5/35-DKK1转染CD44<sup>+</sup>细胞后,可有效的抑

制内源性的Wnt信号的表达。DKK1的过表达抑制CD44<sup>+</sup>细胞的生存、克隆球形成和侵袭能力,而这种抑制作用可被GSK-3特异性抑制剂BIO-acetoxime逆转。更重要的是,引入DKK1可消除CD44<sup>+</sup>细胞的体内成瘤能力。而腺病毒Ad5/35-DKK1对正常组织起源细胞只有很小的不良反应<sup>[19]</sup>。Huang等<sup>[20]</sup>发现,促红细胞生成肝细胞A2(*EphA2*)基因可通过Wnt通路促进胃癌细胞出现上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT)。该研究发现在胃癌细胞系SGC7901和AGS中,过表达EphA2可上调EMT相关基因(如:*N-cadherin*、*Snail*和 $\beta$ -catenin)的表达,降低E-cadherin的表达,与此同时Wnt通路靶基因*TCF4*、*Cyclin-D1*和*c-Myc*表达也增加,而使用EphA2的特异性shRNA干扰后得出了相反的结果。另外,在EphA2过表达组中使用Wnt通路抑制剂XAV939降低Wnt通路相关蛋白表达的同时可降低EphA2及EMT相关蛋白的过表达,而在EphA2沉默组使用Wnt通路激活剂LiCl可增加EphA2及EMT相关蛋白的表达。

**2.3 Hedgehog信号通路** Hedgehog(Hh)信号通路最初在果蝇的胚胎发育研究中被发现。哺乳动物Hh通路包括Sonic(SHH)、Desert(DHH)和Indian(IHH)3种配体,细胞膜受体Patched(PTCH1/2)、G蛋白偶联受体、信号转导蛋白Smoothened(SMO)和下游基因表达调节蛋白GLI1、GLI2和GLI3。在没有Hh信号存在时,GLIs为信号通路的抑制剂。在没有相关配体存在时,PTCH1抑制SMO,阻断GLI的调节作用。当Hh配体与受体PTCH结合时,可释放被抑制的信号转导蛋白SMO,SMO进而诱导GLI的表达。GLIs作为激活剂或抑制剂调节相关蛋白(如:*c-myc*和*cyclinD1*等)的表达。Hh信号在癌症干细胞中的作用已经在许多癌症,包括多发性骨髓瘤、胶质母细胞瘤、胰腺癌等被描述<sup>[21]</sup>。而在胃癌中,Song等<sup>[22]</sup>研究表明,Hh信号在维持胃癌干细胞特性中起重要作用。他们发现在胃癌肿瘤干细胞球落中Hh信号过表达,应用环杷明或5E1抗体干扰Hh信号通路可降低胃癌细胞的自我更新能力。Zhang等<sup>[7]</sup>从胃癌细胞株AGS中分离提取的CD44<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>胃癌细胞具有自我更新和多向分化潜能,而且与CD44<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup>对照组相比表达Hh通路信号分子(包括SHH、PTCH1和GLI3)升高。另外一项在对41例胃癌患者的胃癌组织标本研究中发现<sup>[23]</sup>,Hh信号通路的激活与胃癌患者的预后有关。该研究显示在癌组织中的免疫组织化

学中, Hh信号通路相关分子表达增高, 但与肿瘤的临床病理因素没有显著的相关性. PTCH1与肿瘤分化型患者的不良预后相关. SHH和PTCH1 mRNA水平高与不良预后相关, 多因素分析显示PTCH1 mRNA水平升高是肝转移的独立预后因素. 大量研究表明Hh信号的过度表达促进胃癌细胞的增殖和生存, 而且与胃癌的低分化、侵袭性呈正相关<sup>[24-26]</sup>. Lee等<sup>[27]</sup>发现, 512例胃癌患者组织样本中分别有105例(20.0%)、83例(16.3%)、130例(25.5%)、61例(12.0%)和206例(40.8%)阳性表达*IHH*、*PTCH1*、*GLI2*、*SMO*和*FOXA2*基因. PTCH1在中高等分化程度胃管状腺癌、肠型胃癌和分期较低的胃癌中表达较高, GLI2与淋巴管血管浸润及肠型胃癌的发生相关. 多变量分析研究发现癌肿分期高和PTCH1阴性表达分别是胃癌患者低总体生存率的独立影响因素( $P<0.001$ , 0.045). 而*IHH*、*SMO*和*FOXA2*的表达与肿瘤的临床病理分期及对患者预后的影响无统计学意义. 另有研究发现人硫酸酯酶1(HSulf-1)可通过抑制Hh通路抑制胃癌细胞株MKN28细胞的增殖和生长. HSulf-1可抑制GLI介导的转录并下调Hh包括*GLI1*、*PTCH1*、*HHIP*、*CCND1*、*C-myc*和*BCL-2*等下游靶基因的表达<sup>[28]</sup>.

**2.4 PI3K/AKT信号通路** PI3K/AKT通路即磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B信号通路. PI3K是细胞内重要的信号转导分子, 主要由催化亚基P110和调节亚基P85组成. AKT即蛋白激酶B, 是一种丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶. 在生长因子、细胞因子、激素等细胞外信号刺激作用下, PI3K被激活, 使细胞膜磷脂肌醇磷酸化, 产生3,4二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol biphosphate, PIP2)、3,4,5三磷酸磷脂酰肌醇(PIP3), PIP2、PIP3作为第二信使在细胞质内与AKT结合, 促进AKT的Ser473和Thr308位点磷酸化而激活AKT, 激活的AKT通过促进mTOR、BAD、GSK3、Caspase3等下游底物的磷酸化而发挥生物学效应, 如细胞增殖、凋亡等. 在肝细胞癌、乳腺癌、胶质瘤、急性髓系白血病等肿瘤中, PI3K/AKT信号通路参与了肿瘤干细胞的增殖、分化及化疗耐药<sup>[29-32]</sup>. 在胃癌中, PI3K/AKT信号通路的激活与抑制与胃癌细胞的增殖、化疗耐药等密切相关. Dun等<sup>[33]</sup>研究发现, 霉酚酸通过抑制PI3K/AKT/mTOR通路的激活抑制胃癌细胞株AGS的细胞增殖. 而在胃癌细胞株SGC7901、AGS中, 高表达磷酸化的AKT可因细胞黏附分

子L1(*L1cam*)基因的干扰而降低, 而在细胞株HGC27、MKN28中, 低表达磷酸化的AKT可因*L1cam*基因的过表达而上调. 裸鼠体内实验显示, *L1cam*促进肿瘤细胞的侵袭及迁移作用可因干扰*L1cam*的表达或用LY294002(PI3K抑制剂)抑制PI3K/AKT激活而被抑制<sup>[34]</sup>. 另有研究表明, 用LY294002抑制AKT的表达可恢复胃癌细胞因转录因子FOXO1的过表达而导致的顺铂耐药<sup>[35]</sup>. 在幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染相关的胃癌细胞株AGS中, 含缬酪肽蛋白通过PI3K/AKT通路降低细胞的监管作用而逃避细胞凋亡<sup>[36]</sup>.

**2.5 BMP信号通路** BMP即骨髓形态发生蛋白(bone morphogenetic protein), 属于转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor  $\beta$ , TGF- $\beta$ )超家族的成员之一, 分布于人体多种组织及细胞中. BMP与BMP受体的细胞膜外结构域结合, 激活SMAD1、5、8蛋白, 随后结合SMAD4蛋白形成SMAD蛋白复合物, 进入细胞核与转录因子结合调节基因的表达. BMP信号通路的激活与肺癌<sup>[37]</sup>、乳腺癌<sup>[38]</sup>、肾细胞癌<sup>[39]</sup>、结直肠癌<sup>[40]</sup>等密切相关. 在胃癌中, Zhang等<sup>[41]</sup>研究表明, BMP-2可抑制胃癌细胞的生长, 使G<sub>1</sub>期细胞增加, 使S期的细胞减少. 另有报道显示, 在弥漫型胃癌中, BMP-2和BMP-4的表达抑制细胞的增殖<sup>[42]</sup>. 在对胃癌侵袭及转移的研究中, Kang等<sup>[43]</sup>研究发现PI3K/AKT、ERK通路参与了BMP-2介导的胃癌细胞运动及侵袭. 最新一项研究发现, 在巨噬细胞与胃癌细胞共培养时, 巨噬细胞可通过TGF- $\beta$ /BMPs通路上调胃癌细胞侵袭相关基因的表达而提高胃癌的侵袭能力, 而抑制TGF- $\beta$ /BMPs通路则下调胃癌细胞侵袭相关基因的表达及胃癌的侵袭能力<sup>[44]</sup>.

### 3 肿瘤微环境与胃癌

肿瘤微环境由多种细胞(如间充质细胞、血管内皮细胞、肿瘤相关成纤维细胞、脂肪细胞、炎症细胞等)、细胞外基质及多种细胞生长因子、趋化因子、激素、酶等组成. 目前越来越多的研究表明, 胃癌微环境与胃癌的发生发展及胃癌干细胞通路的激活密切相关. Donnelly等<sup>[45]</sup>发现, 激活SHH通路可介导骨髓源性间充质干细胞(bone-marrow-derived mesenchymal stem cells, BM-MSCs)的增殖, 并可促使其转移到胃上皮, 促进胃癌的发展<sup>[46]</sup>. 另有研究研究表明, BM-MSCs可激活WNT和TGF- $\beta$ 信号通路, 为胃癌干

#### ■应用要点

通过本文的研究, 可为胃癌的临床治疗提供新的思路, 比如使用化疗药物联合信号通路抑制剂治疗耐药性胃癌.

■同行评价  
本文具有一定指  
导意义。

细胞特性的维持及胃癌的发展提供有利的肿瘤微环境。

#### 4 *H. pylori*与胃癌

*H. pylori*是一种螺旋状、革兰染色阴性的微需氧菌,定居于几乎一半人类的胃上皮细胞中。*H. pylori*感染胃上皮细胞可导致急性胃炎,进一步发展可导致慢性胃炎、肠上皮化生,最终导致了胃癌的发生<sup>[47,48]</sup>。有报道表明*H. pylori*与CSCs相互作用调节胃癌的发生与发展<sup>[49]</sup>。最新研究发现,*H. pylori*可通过细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A, *CagA*)的表达促进胃上皮细胞出现EMT,并表达肿瘤干细胞标志物CD44,感染*H. pylori*的胃上皮细胞的迁移、侵袭能力增强。在体外,只在*H. pylori*诱导的CD44<sup>+</sup>细胞出现间质细胞表型,而CD44<sup>-</sup>细胞中没有出现间质细胞表型。小鼠体内试验显示,与CD44<sup>-</sup>细胞相比,CD44<sup>+</sup>细胞具有更高的成瘤能力<sup>[50]</sup>。

#### 5 结论

通过寻找特异性干细胞标志物如CD133、CD44等分离筛选胃癌干细胞并针对性消除这些细胞有利于胃癌的治疗。已有很多证据表明在胃癌中多种信号转导通路的调节出现异常。然而这些信号通路在胃癌发生发展中的相对重要性以及激活时间先后顺序仍未研究透彻。这些细胞信号通路的激活或抑制导致多种胃癌恶性表型的发生发展,如细胞增殖力的增加、细胞抗凋亡和侵袭力的增强。阐明这些信号通路的激活时间及作用机制,有助于抗胃癌药物的开发及应用。胃癌细胞中信号转导系统是一个复杂的、相互作用的网络体系,目前大部分靶向治疗药物一般仅能针对一个靶点发挥效应,疗效都不确切,因此多靶点联合用药将是胃癌分子靶向治疗的热点研究方向。因此我们预测,依据不同类型胃癌的信号通路异常改变,针对性地通过靶向治疗同时抑制多种信号通路可能会提高胃癌治疗的效果,改善患者的生存和预后,并且可能阻止胃癌化疗耐药性的发生及发展。

#### 6 参考文献

- Bonnet D, Dick JE. Human acute myeloid leukemia is organized as a hierarchy that originates from a primitive hematopoietic cell. *Nat Med* 1997; 3: 730-737 [PMID: 9212098]
- Cai Z, Ke J, He X, Yuan R, Chen Y, Wu X, Wang L, Wang J, Lan P, Wu X. Significance of mTOR Signaling and Its Inhibitor Against Cancer Stem-Like Cells in Colorectal Cancer. *Ann Surg Oncol* 2014; 21:

- 179-188 [PMID: 23907312]
- Wilson GS, Hu Z, Duan W, Tian A, Wang XM, McLeod D, Lam V, George J, Qiao L. Efficacy of using cancer stem cell markers in isolating and characterizing liver cancer stem cells. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 2655-2664 [PMID: 23638793 DOI: 10.1089/scd.2012.0703]
- Choi SA, Lee JY, Phi JH, Wang KC, Park CK, Park SH, Kim SK. Identification of brain tumour initiating cells using the stem cell marker aldehyde dehydrogenase. *Eur J Cancer* 2014; 50: 137-149 [PMID: 24103144 DOI: 10.1016/j.ejca.2013.09.004]
- Yeh TS, Wu CW, Hsu KW, Liao WJ, Yang MC, Li AF, Wang AM, Kuo ML, Chi CW. The activated Notch1 signal pathway is associated with gastric cancer progression through cyclooxygenase-2. *Cancer Res* 2009; 69: 5039-5048 [PMID: 19491270 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-4021]
- Cai C, Zhu X. The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1191-1196 [PMID: 22367735 DOI: 10.3892/mmr.2012.802]
- Zhang C, Li C, He F, Cai Y, Yang H. Identification of CD44<sup>+</sup>CD24<sup>+</sup> gastric cancer stem cells. *J Cancer Res Clin Oncol* 2011; 137: 1679-1686 [PMID: 21882047 DOI: 10.1007/s00432-011-1038-5]
- Hashimoto K, Aoyagi K, Isobe T, Kouhiji K, Shirouzu K. Expression of CD133 in the cytoplasm is associated with cancer progression and poor prognosis in gastric cancer. *Gastric Cancer* 2014; 17: 97-106 [PMID: 23558457]
- Lee HH, Seo KJ, An CH, Kim JS, Jeon HM. CD133 expression is correlated with chemoresistance and early recurrence of gastric cancer. *J Surg Oncol* 2012; 106: 999-1004 [PMID: 22674531 DOI: 10.1002/jso.23178]
- Zieker D, Bühler S, Ustündag Z, Königsrainer I, Manncke S, Bajaeifer K, Vollmer J, Fend F, Northoff H, Königsrainer A, Glatzle J. Induction of tumor stem cell differentiation--novel strategy to overcome therapy resistance in gastric cancer. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 603-608 [PMID: 23412594 DOI: 10.1007/s00423-013-1058-5]
- Takaishi S, Okumura T, Tu S, Wang SS, Shibata W, Vigneshwaran R, Gordon SA, Shimada Y, Wang TC. Identification of gastric cancer stem cells using the cell surface marker CD44. *Stem Cells* 2009; 27: 1006-1020 [PMID: 19415765 DOI: 10.1002/stem.30]
- Wang Z, Li Y, Sarkar FH. Notch signaling proteins: legitimate targets for cancer therapy. *Curr Protein Pept Sci* 2010; 11: 398-408 [PMID: 20491628]
- Pannuti A, Foreman K, Rizzo P, Osipo C, Golde T, Osborne B, Miele L. Targeting Notch to target cancer stem cells. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3141-3152 [PMID: 20530696 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2823]
- Hsu KW, Hsieh RH, Huang KH, Fen-Yau Li A, Chi CW, Wang TY, Tseng MJ, Wu KJ, Yeh TS. Activation of the Notch1/STAT3/Twist signaling axis promotes gastric cancer progression. *Carcinogenesis* 2012; 33: 1459-1467 [PMID: 22581828 DOI: 10.1093/carcin/bgs165]
- Yao J, Qian CJ, Ye B, Zhang X, Liang Y. ERK inhibition enhances TSA-induced gastric cancer cell apoptosis via NF- $\kappa$ B-dependent and Notch-independent mechanism. *Life Sci* 2012; 91: 186-193 [PMID: 22781708 DOI: 10.1016/j.lfs.2012.06.034]
- Yan B, Zhou Y, Feng S, Lv C, Xiu L, Zhang Y, Shi J, Li Y, Wei P, Qin Z.  $\beta$ -Elemene-Attenuated Tumor



- Angiogenesis by Targeting Notch-1 in Gastric Cancer Stem-Like Cells. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 268468 [PMID: 23710217 DOI: 10.1155/2013/268468]
- 17 Takahashi-Yanaga F, Kahn M. Targeting Wnt signaling: can we safely eradicate cancer stem cells? *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3153-3162 [PMID: 20530697 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2943]
  - 18 Oshima H, Matsunaga A, Fujimura T, Tsukamoto T, Taketo MM, Oshima M. Carcinogenesis in mouse stomach by simultaneous activation of the Wnt signaling and prostaglandin E2 pathway. *Gastroenterology* 2006; 131: 1086-1095 [PMID: 17030179]
  - 19 Wang B, Liu J, Ma LN, Xiao HL, Wang YZ, Li Y, Wang Z, Fan L, Lan C, Yang M, Hu L, Wei Y, Bian XW, Chen D, Wang J. Chimeric 5/35 adenovirus-mediated Dickkopf-1 overexpression suppressed tumorigenicity of CD44+ gastric cancer cells via attenuating Wnt signaling. *J Gastroenterol* 2013; 48: 798-808 [PMID: 23188090 DOI: 10.1007/s00535-012-0711-z]
  - 20 Huang J, Xiao D, Li G, Ma J, Chen P, Yuan W, Hou F, Ge J, Zhong M, Tang Y, Xia X, Chen Z. EphA2 promotes epithelial-mesenchymal transition through the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in gastric cancer cells. *Oncogene* 2013 Jun 10. [Epub ahead of print] [PMID: 23752181 DOI: 10.1038/onc.2013.238]
  - 21 Merchant AA, Matsui W. Targeting Hedgehog--a cancer stem cell pathway. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3130-3140 [PMID: 20530699 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2846]
  - 22 Song Z, Yue W, Wei B, Wang N, Li T, Guan L, Shi S, Zeng Q, Pei X, Chen L. Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *PLoS One* 2011; 6: e17687 [PMID: 21394208 DOI: 10.1371/journal.pone.0017687]
  - 23 Saze Z, Terashima M, Kogure M, Ohsuka F, Suzuki H, Gotoh M. Activation of the sonic hedgehog pathway and its prognostic impact in patients with gastric cancer. *Dig Surg* 2012; 29: 115-123 [PMID: 22456124 DOI: 10.1159/000336949]
  - 24 Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425: 846-851 [PMID: 14520411]
  - 25 Han ME, Lee YS, Baek SY, Kim BS, Kim JB, Oh SO. Hedgehog signaling regulates the survival of gastric cancer cells by regulating the expression of Bcl-2. *Int J Mol Sci* 2009; 10: 3033-3043 [PMID: 19742123 DOI: 10.3390/ijms10073033]
  - 26 Lee SY, Han HS, Lee KY, Hwang TS, Kim JH, Sung IK, Park HS, Jin CJ, Choi KW. Sonic hedgehog expression in gastric cancer and gastric adenoma. *Oncol Rep* 2007; 17: 1051-1055 [PMID: 17390043]
  - 27 Lee SJ, Do IG, Lee J, Kim KM, Jang J, Sohn I, Kang WK. Gastric cancer (GC) patients with hedgehog pathway activation: PTCH1 and GLI2 as independent prognostic factors. *Target Oncol* 2013; 8: 271-280 [PMID: 23371028 DOI: 10.1007/s11523-013-0253-1]
  - 28 Ma HY, Zhang F, Li J, Mo ML, Chen Z, Liu L, Zhou HM, Sheng Q. HSulf-1 suppresses cell growth and down-regulates Hedgehog signaling in human gastric cancer cells. *Oncol Lett* 2011; 2: 1291-1295 [PMID: 22848304]
  - 29 Lee TK, Castilho A, Cheung VC, Tang KH, Ma S, Ng IO. Lupeol targets liver tumor-initiating cells through phosphatase and tensin homolog modulation. *Hepatology* 2011; 53: 160-170 [PMID: 20979057 DOI: 10.1002/hep.24000]
  - 30 Korkaya H, Paulson A, Charafe-Jauffret E, Ginestier C, Brown M, Dutcher J, Clouthier SG, Wicha MS. Regulation of mammary stem/progenitor cells by PTEN/Akt/ $\beta$ -catenin signaling. *PLoS Biol* 2009; 7: e1000121 [PMID: 19492080 DOI: 10.1371/journal.pbio.1000121]
  - 31 Kahana S, Finniss S, Cazacu S, Xiang C, Lee HK, Brodie S, Goldstein RS, Roitman V, Slavin S, Mikelsen T, Brodie C. Proteasome inhibitors sensitize glioma cells and glioma stem cells to TRAIL-induced apoptosis by PKC $\epsilon$ -dependent downregulation of AKT and XIAP expressions. *Cell Signal* 2011; 23: 1348-1357 [PMID: 21440622 DOI: 10.1016/j.cellsig.2011.03.017]
  - 32 Sykes SM, Lane SW, Bullinger L, Kalaitzidis D, Yusuf R, Saez B, Ferraro F, Mercier F, Singh H, Brumme KM, Acharya SS, Scholl C, Tothova Z, Attar EC, Fröhling S, DePinho RA, Armstrong SA, Gilliland DG, Scadden DT. AKT/FOXO signaling enforces reversible differentiation blockade in myeloid leukemias. *Cell* 2011; 146: 697-708 [PMID: 21884932 DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.032]
  - 33 Dun B, Xu H, Sharma A, Liu H, Yu H, Yi B, Liu X, He M, Zeng L, She JX. Delineation of biological and molecular mechanisms underlying the diverse anti-cancer activities of mycophenolic acid. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 2880-2886 [PMID: 24294374]
  - 34 Chen DL, Zeng ZL, Yang J, Ren C, Wang DS, Wu WJ, Xu RH. L1cam promotes tumor progression and metastasis and is an independent unfavorable prognostic factor in gastric cancer. *J Hematol Oncol* 2013; 6: 43 [PMID: 23806079 DOI: 10.1186/1756-8722-6-43]
  - 35 Park J, Ko YS, Yoon J, Kim MA, Park JW, Kim WH, Choi Y, Kim JH, Cheon Y, Lee BL. The forkhead transcription factor FOXO1 mediates cisplatin resistance in gastric cancer cells by activating phosphoinositide 3-kinase/Akt pathway. *Gastric Cancer* 2013 Nov 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24202965]
  - 36 Yu CC, Yang JC, Chang YC, Chuang JG, Lin CW, Wu MS, Chow LP. VCP phosphorylation-dependent interaction partners prevent apoptosis in *Helicobacter pylori*-infected gastric epithelial cells. *PLoS One* 2013; 8: e55724 [PMID: 23383273 DOI: 10.1371/journal.pone.0055724]
  - 37 Langenfeld E, Deen M, Zachariah E, Langenfeld J. Small molecule antagonist of the bone morphogenetic protein type I receptors suppresses growth and expression of Id1 and Id3 in lung cancer cells expressing Oct4 or nestin. *Mol Cancer* 2013; 12: 129 [PMID: 24160469]
  - 38 Garulli C, Kalogris C, Pietrella L, Bartolacci C, Andreani C, Falconi M, Marchini C, Amici A. Dorsomorphin reverses the mesenchymal phenotype of breast cancer initiating cells by inhibition of bone morphogenetic protein signaling. *Cell Signal* 2014; 26: 352-362 [PMID: 24280125 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.11.022]
  - 39 Wang L, Park P, Zhang H, La Marca F, Claeson A, Than K, Rahman S, Lin CY. BMP-2 inhibits tumor growth of human renal cell carcinoma and induces bone formation. *Int J Cancer* 2012; 131: 1941-1950 [PMID: 22275155 DOI: 10.1002/ijc.27444]

- 40 Lombardo Y, Scopelliti A, Cammareri P, Todaro M, Iovino F, Ricci-Vitiani L, Gulotta G, Dieli F, de Maria R, Stassi G. Bone morphogenetic protein 4 induces differentiation of colorectal cancer stem cells and increases their response to chemotherapy in mice. *Gastroenterology* 2011; 140: 297-309 [PMID: 20951698 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.10.005]
- 41 Zhang J, Ge Y, Sun L, Cao J, Wu Q, Guo L, Wang Z. Effect of bone morphogenetic protein-2 on proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. *Int J Med Sci* 2012; 9: 184-192 [PMID: 22359486 DOI: 10.7150/ijms.3859]
- 42 Shirai YT, Ehata S, Yashiro M, Yanagihara K, Hirakawa K, Miyazono K. Bone morphogenetic protein-2 and -4 play tumor suppressive roles in human diffuse-type gastric carcinoma. *Am J Pathol* 2011; 179: 2920-2930 [PMID: 21996676 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.08.022]
- 43 Kang MH, Oh SC, Lee HJ, Kang HN, Kim JL, Kim JS, Yoo YA. Metastatic function of BMP-2 in gastric cancer cells: the role of PI3K/AKT, MAPK, the NF- $\kappa$ B pathway, and MMP-9 expression. *Exp Cell Res* 2011; 317: 1746-1762 [PMID: 21570392 DOI: 10.1016/j.yexcr.2011.04.006]
- 44 Shen Z, Kauttu T, Cao J, Seppänen H, Vainionpää S, Ye Y, Wang S, Mustonen H, Puolakkainen P. Macrophage coculture enhanced invasion of gastric cancer cells via TGF- $\beta$  and BMP pathways. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 466-472 [PMID: 23517295 DOI: 10.3109/00365521.2013.772226]
- 45 Donnelly JM, Chawla A, Houghton J, Zavros Y. Sonic hedgehog mediates the proliferation and recruitment of transformed mesenchymal stem cells to the stomach. *PLoS One* 2013; 8: e75225 [PMID: 24069395 DOI: 10.1371/journal.pone.0075225]
- 46 Nishimura K, Semba S, Aoyagi K, Sasaki H, Yokozaki H. Mesenchymal stem cells provide an advantageous tumor microenvironment for the restoration of cancer stem cells. *Pathobiology* 2012; 79: 290-306 [PMID: 22688186 DOI: 10.1159/000337296]
- 47 Ding SZ, Zheng PY. Helicobacter pylori infection induced gastric cancer; advance in gastric stem cell research and the remaining challenges. *Gut Pathog* 2012; 4: 18 [PMID: 23217022 DOI: 10.1186/1757-4749-4-18]
- 48 Uehara T, Ma D, Yao Y, Lynch JP, Morales K, Ziobert A, Feldman M, Ota H, Sepulveda AR. H. pylori infection is associated with DNA damage of Lgr5-positive epithelial stem cells in the stomach of patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 140-149 [PMID: 22945475 DOI: 10.1007/s10620-012-2360-8]
- 49 Pilpilidis I, Kountouras J, Zavos C, Katsinelos P. Upper gastrointestinal carcinogenesis: H. pylori and stem cell cross-talk. *J Surg Res* 2011; 166: 255-264 [PMID: 20452613 DOI: 10.1016/j.jss.2010.02.012]
- 50 Bessède E, Staedel C, Acuña Amador LA, Nguyen PH, Chambonnier L, Hatakeyama M, Belleannée G, Mégraud F, Varon C. Helicobacter pylori generates cells with cancer stem cell properties via epithelial-mesenchymal transition-like changes. *Oncogene* 2013 Oct 7. [Epub ahead of print] [PMID: 24096479 DOI: 10.1038/onc.2013.380]

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

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

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。

# 长链非编码RNA在胃癌中的研究进展

胡 谦, 胡小云

胡谦, 胡小云, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

胡谦, 主要从事胃癌的相关研究.

作者贡献分布: 本文综述由胡谦完成; 胡小云审校.

通讯作者: 胡小云, 教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科.

huxiaoyun1965@163.com

电话: 0791-86301536

收稿日期: 2013-11-23 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## Long non-coding RNAs and gastric carcinoma

Qian Hu, Xiao-Yun Hu

Qian Hu, Xiao-Yun Hu, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China

Correspondence to: Xiao-Yun Hu, Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. huxiaoyun1965@163.com

Received: 2013-11-23 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Long non-coding RNAs (lncRNAs) are a group of RNA molecules which are longer than 200 nucleotides. They do not contain functional open reading frames and can not encode proteins. A large number of transcribed lncRNAs in the genome are becoming the new hot spot in cancer research after microRNA due to their carcinogenic and tumor suppressor properties. Recently, several studies indicated that lncRNAs participate in epigenetic modification and play an important role in gene expression regulation. lncRNAs were related to gastric carcinoma development, invasion and metastasis. Further research on the relationship between lncRNAs and gastric carcinoma may provide new strategies for gastric carcinoma prevention, diagnosis and treatment. This article reviews the latest studies on lncRNAs in gastric carcinoma.

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

Key Words: Long non-coding RNAs; Gastric carcinoma;

Research progress

Hu Q, Hu XY. Long non-coding RNAs and gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 501-507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/501.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.501>

## 摘要

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度大于200核苷酸, 缺少特异开放阅读框, 不具备蛋白质编码功能的一类RNA分子. 在基因组中大量转录的lncRNA, 因其在致癌与抑癌途径中显露出的潜在作用, 成为继微RNA(microRNA, miRNA)后肿瘤研究的新热点. 近年来研究显示, lncRNA参与表观遗传修饰, 在基因表达调控中起重要作用, lncRNA与胃癌的发生、发展、肿瘤侵袭、转移密切相关. 深入研究lncRNA与胃癌的发病关系有望为胃癌的预防和诊治提供新的策略. 本文结合国内外最新报道, 对lncRNA在胃癌中的研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 长链非编码RNA; 胃癌; 研究进展

**核心提示:** 长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是当前分子生物学和遗传性研究的热门. 已有研究表明lncRNA与癌症的发生、发展、转移、复发存在密切关系, 近年来, 关于lncRNA与胃癌之间的关系的初步显示, 许多lncRNA在胃癌发生发展、转移中起重要作用.

胡谦, 胡小云. 长链非编码RNA在胃癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 501-507 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/501.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.501>

## 0 引言

全球癌症统计中, 胃癌发病率排名第4位, 亚洲胃癌患者占全球总数的60%, 中国胃癌患者在亚洲又是最多的<sup>[1-3]</sup>. 尽管诊断技术在不断提高, 以手术治疗为主的综合治疗手段越来越丰富(包括化疗、靶向治疗等), 但胃癌仍旧是全球第二

## ■背景资料

在基因组中大量转录的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA), 因其在致癌与抑癌途径中显露出的潜在作用, 成为继microRNA后肿瘤研究的新热点. 深入研究lncRNA与胃癌的发病关系有望为胃癌的预防和诊治提供新的策略.

## ■同行评议者

潘阳林, 副主任医师, 副教授, 中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科



## ■ 研发前沿

本文结合国内外最新报道,对lncRNA在胃癌中的研究进展作一综述,为将来研究提供理论支持。

大癌症致死性疾病<sup>[4]</sup>。因此,探索胃癌发生发展的分子机制,寻找可靠的生物标志物作早期诊断依据和可靠的治疗靶点,提高胃癌患者的生存期显得尤为迫切。在基因组中大量转录的长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA),因其在致癌与抑癌途径中显露出的潜在作用,成为继microRNA后肿瘤研究的新热点。

## 1 lncRNA概述

基因组测序工程显示人类基因组包括约20000种蛋白编码基因,仅占总基因的约2%,超过90%的转录子是非编码RNA。非编码RNA不具有开放阅读框,无蛋白翻译功能。根据非编码RNA的长短分为三种类型,长链、中链、短链非编码RNA。lncRNA是一类转录本长度大于200个核苷酸不编码蛋白质的RNA分子,短链RNA是一类转录本长度界于18-25个核苷酸不编码蛋白质的RNA分子<sup>[5-7]</sup>,microRNA属于短链RNA,已有研究证实microRNA不仅在基因调控中起关键作用,而且在癌肿中扮演重要角色<sup>[8]</sup>。继microRNA后,lncRNA的研究已然成为当前全球生物研究的热点。近来研究表明,在人类机体中,估计有15000种lncRNA,大部分lncRNA显示了不同的组织特异性<sup>[9]</sup>。lncRNA具有不同的亚细胞定位,并在不同的细胞定位中起不同的作用,尤其是在细胞核中。根据他们在基因组上相对于蛋白编码基因的位置和特征,可将lncRNA分为五大类:(1)正义lncRNA(sense lncRNA):与同一条链上蛋白编码基因转录方向相同;(2)反义lncRNA(anti-sense lncRNA):与同一条链上蛋白编码基因转录方向相反;(3)双向lncRNA(bidirectional lncRNA):可同时向同一条链上蛋白编码基因转录方向相同或相反的方向转录;(4)基因内lncRNA(intronic lncRNA):从基因的内含子区转录得到;(5)基因间lncRNA(intergenic lncRNA):从两个基因间的区域转录得到,即lincRNA<sup>[10]</sup>。

## 2 lncRNA与肿瘤

lncRNA发现时被认为是转录噪音,但越来越多的研究表明,lncRNA不仅参与多种生物学进程及扮演多种角色(如剪接、转录干扰、转录后调控、基因组印迹、染色质修饰、细胞周期调控、表观遗传学调控、免疫监视等)<sup>[11,12]</sup>,而且广泛参与机体的生理和病理过程。研究证实,异常的lncRNA表达跟许多疾病相关<sup>[13,14]</sup>,能够导

致包括肿瘤在内的多种疾病<sup>[15,16]</sup>,尽管具体的机制尚不清楚,但在不同的癌肿中,许多lncRNA扮演着双重角色,即致癌及抑癌。因此,在庞大的与癌肿相关的机制网络中,探究与癌症相关的lncRNA以及lncRNA在癌肿形成、转移、肿瘤耐药中的分子生物学机制显得尤为重要。

## 3 lncRNA与胃癌的关系

已有研究表明lncRNA与癌症的发生、发展、转移、复发存在密切关系<sup>[17,18]</sup>,近来,Cao等<sup>[19]</sup>利用生物信息学方法筛查80对胃癌病理组织和正常胃组织中lncRNA表达的情况。首先,他们从GEO(Gene Expression Omnibus)下载了2套公开发表的针对胃癌的外显子序列,又下载了关于相关对应的正常胃组织的数据。然后,将外显子序列重新注解,做成新的探针,获取探针回馈的lncRNA基因水平。最终发现,有88种lncRNA在胃癌组织中异常表达。王亚芳等<sup>[20]</sup>的研究发现缺氧诱导的胃癌细胞与常氧的胃癌细胞比较,lncRNA表达谱发生显著变化,提示差异性表达的lncRNA可能参与了缺氧环境下胃癌细胞多种恶性表型的变化。近年来,关于lncRNA与胃癌的关系出现许多研究,研究初步显示,许多lncRNA在胃癌发生发展、转移中起重要作用。

**3.1 lncRNA-GACAT1** lncRNA-GACAT1(gastric cancer-associated transcript 1)长度为577核苷酸,缺乏完整的开放阅读框,由位于染色体2上的GACAT1基因编码。Sun等<sup>[21]</sup>对78例胃癌组织进行研究,发现与正常组织相比,lncRNA-AC096655.1-002在59%(46/78)的胃癌组织中低表达。对临床病理资料研究显示AC096655.1-002与TNM分期有关,其表达水平可对胃癌的远处转移( $P<0.001$ )、肿瘤分化( $P<0.05$ )和浸润深度( $P<0.05$ )具有明显的预测作用。在Sun的研究发表不久后,AC096655.1-002被基因命名委员会(HUGO Gene Nomenclature Committee, HGNC)命名为GACAT1<sup>[22]</sup>。Sun的研究提示GACAT1在胃癌中的诊治中具有潜在的应用价值。

**3.2 lncRNA-H19** H19基因系母系等位基因,父系印迹,在哺乳动物中呈现进化上的保守性,是最早被鉴定的印迹基因之一。H19基因位于人染色体11p15.5,共有5个外显子及4个内含子,H19基因编码一个2.3 kb的非编码RNA分子,命名为H19,H19是第一个发现与癌症相关的lncRNA。H19在胚胎发育期呈高表达,主要集中表达于内胚层及中胚层来源的组织,出生后H19的表

达降低, 仅在心肌及骨骼肌中有一定的表达<sup>[23]</sup>. *H19/Igf2*印迹基因隶属于一个基因印迹群, 在进化上具有高度的保守性. *H19*基因为母源性印迹基因, 而*Igf2*基因为父源性印迹基因, 两者相距90 kb, 皆受*H19*基因上游4 kb处差异甲基化区(differentially methylated region, DMR)或印记调控区(imprinting control region, ICR)调控<sup>[24]</sup>.

一些研究证实H19在一些癌症中高表达, 存在致癌作用, 比如乳腺癌<sup>[25]</sup>, 也有一些研究表明, H19在一些癌症中低表达, 比如肝癌<sup>[26]</sup>. H19在不同肿瘤中扮演致癌与抑癌的双面角色, 这种矛盾角色可能与H19本身的功能多样性以及组织特异性有关<sup>[27]</sup>. 为了探究H19与胃癌的关系, Yang等<sup>[28]</sup>应用RT-PCR检测了胃癌组织和正常胃组织中lncRNA H19的表达水平, 结果显示, H19在胃癌组织中的表达升高. 体外细胞试验发现过表达H19明显促进胃癌AGS细胞的增长, 而利用siRNA沉默H19表达后则可诱导胃癌AGS细胞的凋亡. 表明了lncRNA H19在胃癌生长分子病因学中的重要性. 另外, 为了探究H19导致癌细胞增殖的机制, Yang等<sup>[28]</sup>利用免疫沉淀方法, 在AGS胃癌细胞株中利用抗体结合P53, 结果发现P53与抗体结合后, 细胞株AGS的H19表达明显上调, 体外细胞功能实验发现H19不仅能结合P53, 而且可以抑制P53的活性并降低P53下游靶基因*Bax*(凋亡相关基因)的水平, 从而促进胃癌细胞增殖和逃逸凋亡. Song等<sup>[29]</sup>的研究同样证实, H19在胃癌组织中的表达明显高于非肿瘤组织. Song等<sup>[29]</sup>的体外细胞试验和Yang等<sup>[28]</sup>的研究结果一样, 在胃癌细胞株, H19明显高表达. Arita等<sup>[30]</sup>的研究也证实, 胃癌患者的血清H19水平比对照组(正常人血清)的升高. 通过这些研究初步表明lncRNA H19参与胃癌生长分子病因学中的机制, 深入研究, 可能揭示H19在胃癌诊治中的应用价值.

**3.3 HOTAIR HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)**是第一个被发现具有反式转录调控作用的lncRNA, 定位于12q13.13, 其功能片段位于5'端1-300 nt和3'端1500-2146 nt区域, HOTAIR不编码蛋白, 而是作为一个分子支架, 结合至少2个不同的组蛋白修饰复合物: (1)5'端结合多梳抑制复合体2(polycomb repressive complex 2, PRC2), 介导染色体组蛋白H3K27甲基化(histone H3 tri-methylated at lysine 27, H3K27me3); (2)3'端结合组蛋白赖氨酸去甲基化酶(lysine specific demethylase1, LSD1), 介

导染色体组蛋白H3K4Me2的去甲基作用(histone H3 dimethyl Lys4, H3K4me2). HOTAIR并介导这2种复合体结合到特异性的基因组位点, 位于染色体2的HOXD是PRC2的一个靶点, 与HOXD结合后使该位点上一段40 kb的区域发生转录沉默<sup>[31]</sup>. Gupta等<sup>[32]</sup>研究发现在乳腺癌中, 发生上述联级反应导致乳腺上皮细胞的基因表达方式变得更类似于胚胎成纤维细胞, 而且肿瘤转移能力表现出某种程度上依赖于PRC2而增强, 针对HOTAIR进行siRNA干扰, 能够抑制肿瘤转移, 尤其是在PRC2过度活跃的细胞中. 已有研究发现结直肠癌、胰腺癌、非小细胞肺癌、鼻咽癌与HOTAIR相关<sup>[33-36]</sup>. 为了探究HOTAIR与胃癌的关系, Endo等<sup>[37]</sup>研究发现, 与正常胃组织对比, 胃癌组织中HOTAIR显著高表达, 而且对临床资料研究显示HOTAIR高表达与淋巴结转移、血管侵犯、生存期短成正相关性. 这些对临床资料的研究结果与Hajjari等<sup>[38]</sup>和Xu等<sup>[39]</sup>的研究结果一致. 但是, Endo的实验并未显示HOTAIR表达与胃癌细胞生长存在明显关系, 与H19不同. 活体动物实验, NOG鼠建模, 结果显示NOG HOTAIR阳性组与NOGHOTAIR阴性组对比, 二者肿瘤生长无明显差异, 但HOTAIR的高表达与胃癌肝转移率升高相关, 而沉默HOTAIR, 胃癌腹膜转移率降低, 动物实验同样显示了HOTAIR与胃癌转移的关系. Xu等<sup>[39]</sup>的研究还采用siRNA干扰技术, 在胃癌AGS细胞株使HOTAIR沉默, 结果显示AGS细胞株的侵袭力显著减弱, 将HOTAIR转染至AGS胃癌细胞株中并表达, 结果显示, 这些AGS胃癌细胞株的繁殖情况和凋亡情况较无转染的AGS细胞株无明显差别. 以上研究结果提示HOTAIR参与胃癌转移中的分子病因学机制, 可能与原发癌灶生长无明显关系. 为了探究胃癌组织中HOTAIR高表达的机制, Hajjari等<sup>[38]</sup>的研究初步显示HOTAIR与*SUZ12*基因存在一定关系, 具体机制有待进一步研究. 为了探究胃癌组织中HOTAIR高表达与胃癌侵袭力提高相关的作用机制, Xu等<sup>[39]</sup>采用RT-PCR技术, 结果显示HOTAIR表达与ICAM-1及MMPs家族相关(包括MMP1、MMP3、MMP9), HOTAIR沉默后MMP1、MMP3表达显著下降. 另外, 细胞试验证实HOTAIR上调将促进胃癌细胞的上皮间充质转化(epithelial-mesenchymal transition, EMT), 这又可使胃癌细胞侵袭能力增加, 沉默HOTAIR可使EMT逆转. Xu等的研究还显示: 利用HOTAIR高表达来作为预测是否存在淋巴结

#### ■相关报道

本文结合国内外最新报道, 对lncRNA在胃癌中的研究进展作一综述. 具体相关报道见综述全文.

## ■创新盘点

本文结合国内外最新报道,对lncRNA在胃癌中的研究进展作一综述。

转移的指标,其诊断性ROC曲线下面积达到0.8,提示HOTAIR高表达有很好的预测淋巴结转移的价值。他们采用多因素分析显示HOTAIR表达可作为总生存的独立预后因素;在淋巴转移分级为N2、N3a的胃癌患者中,HOTAIR低表达的患者相比HOTAIR高表达的患者,中位生存时间显著延长。

总之,HOTAIR在胃癌中表达与胃癌转移相关,具体机制有待进一步研究,研究结果初步显示HOTAIR可较好的预测淋巴结转移和预后,有较大的潜在临床应用价值。

3.4 CCAT1 近来Nissan等<sup>[40]</sup>的研究显示结肠癌病理组织中lncRNA-CCAT1较结肠正常组织表达显著增高。Yang等<sup>[41]</sup>的研究发现lncRNA-CCAT1(colon cancer associated transcript 1)在胃癌组织中也呈高表达,并且临床病理资料研究显示CCAT1在胃癌组织中的表达与胃癌原发瘤灶大小、淋巴结转移、远处转移相关。活体动物试验研究显示,通过染色质免疫共沉淀技术证实CCAT1启动子区域,c-Myc和E-box(enhancer-box)的相互作用激活CCAT1的表达,体外细胞研究显示CCAT1的表达与胃癌细胞的增殖和迁移密切相关。

3.5 MEG3 母系印记基因3(maternal imprinted genes 3, *MEG3*)是首次由Miyoshi等<sup>[42]</sup>在2000年发现的,MEG3 lncRNA长约1.6 kb,缺乏完整的开放阅读框,由位于染色体14q32上的*MEG3*基因编码。在多种正常组织中均有表达,在脑膜瘤、结肠癌、鼻咽癌以及白血病等多种肿瘤中其表达水平降低或出现缺失。此外,还发现异位表达MEG3可抑制不同种类的人类癌细胞系的生长,可能是潜在的肿瘤抑制基因<sup>[43]</sup>。目前对*MEG3*基因的功能尚不完全清楚,特别是对*MEG3*基因编码的lncRNA-MEG3在胃癌中是如何发挥作用的还知之甚少。为了研究其在胃癌中的情况,Sun等<sup>[44]</sup>利用RT-PCR检测发现,与对照组正常胃组织比较,MEG3 lncRNA在胃癌组织中表达低,而且临床病理资料研究显示肿瘤分期越晚,表达下降更为明显,低MEG3 lncRNA表达比高表达的患者生存期更短,提示MEG3 lncRNA低表达的患者预后不良。体外细胞试验证实,很多胃癌细胞株中无MEG3 lncRNA表达。为了探究胃癌细胞株中MEG3 lncRNA低表达甚至不表达的机制,Sun在细胞试验研究发现DNA甲基化可导致MEG3 lncRNA不表达,提示DNA甲基化可能与MEG3 lncRNA在胃癌中低

表达/不表达相关,他们还证实高表达MEG3 lncRNA可抑制胃癌细胞生长并促进细胞凋亡,沉默MEG3可促进胃癌细胞增殖。为了探究MEG3 lncRNA影响胃癌细胞生长与凋亡的机制,Sun研究发现,在AGS胃癌细胞株中,MEG3 lncRNA的表达可刺激p53蛋白表达,从而抑制胃癌细胞生长并促进细胞凋亡。这些结果提示,胃癌的分子病因学中,MEG3 lncRNA低表达扮演重要角色,并提示MEG3 lncRNA可作为判断胃癌预后的一项指标。

3.6 SUMO1P3 基因组中存在一些与正常基因非常相似但不能表达的DNA序列,称为伪基因(pseudogene),其编码的lncRNA也是lncRNA家族成员之一。*SUMO*(small ubiquitin-like modifier)基因是泛素样基因家族中的一员,编码SUMO蛋白。和泛素(ubiquitin)结合底物蛋白后引起底物蛋白降解的作用不同,SUMO蛋白和相应的底物蛋白结合后不会引起底物蛋白的降解,而是调节底物蛋白的功能,在转录、DNA修复、核质转运、染色体分离及染色体代谢等方面发挥重要调控作用<sup>[45]</sup>。已发现越来越多的和癌症相关的蛋白都存在SUMO-1修饰<sup>[46]</sup>。SUMO1P3(small ubiquitin-like modifier1 pseudogene 3) lncRNA是与*SUMO*基因非常相似的伪基因编码的lncRNA,为了研究SUMO1P3 lncRNA表达与胃癌的关系,Mei等<sup>[47]</sup>利用RT-PCR检测发现,SUMO1P3 lncRNA在胃癌中表达上调,而且临床病理资料研究显示与患者年龄、性别、肿瘤大小、肿瘤分化、淋巴转移、肿瘤侵袭和CEA水平显著相关。分化程度较高的胃癌组织中SUMO1P3 lncRNA表达更高。与胃癌中CEA阴性的对比,胃癌中CEA升高的SUMO1P3 lncRNA表达更高。

3.7 BM742401 Park等<sup>[48]</sup>利用RNA序列技术对比胃癌组织和正常胃组织中lncRNA的表达情况,研究发现31种新的lncRNA在胃癌中表达异常。BM742401证实无开发阅读框,无翻译蛋白功能,并被证实其为胃癌转移相关表型而不是胃癌增殖相关表型,与HOTAIR相似,但目前未被HGNC具体命名。提示BM742401参与胃癌转移的分子机制,并可能成为胃癌治疗的新靶点。

## 4 结论

lncRNA有些在胃癌中过表达,有些在胃癌中低表达或者不表达,相关研究也初步揭示引起lncRNA在胃癌中异常表达的机制以及lncRNA异常表达对胃癌生长、侵袭、转移影响的机制,



但更具体的机制还有待更进一步的研究. 上述针对lncRNA与胃癌的生长、侵袭、转移关系的研究为进一步寻找胃癌的治疗方法奠定了理论基础. 是否可以利用阻断在胃癌中过表达的lncRNA或者上调在胃癌中低表达甚至不表达的lncRNA作为潜在的胃癌治疗策略, 需有待更深入的研究和探索. lncRNA与胃癌的耐药是否有关还需进一步研究<sup>[49]</sup>. lncRNA作为临床诊断与临床预后预测的指标, 必须经过长期的临床实践检验<sup>[50]</sup>. 同时, 由于lncRNA本身的特殊性, 其种类繁多, 哪些与胃癌密切相关是以后研究面临的难题; 不像蛋白质的序列可被分成不同的类别, 而且蛋白质的这些类别可代表他们各自的功能, lncRNA保守, 其原始序列所包含的信息少, 因此难以预测其功能, 序列相差很大的lncRNA可能具有相似的功能, 序列相似的lncRNA又可能功能相差很大; 另外, 同一种lncRNA在胃癌中可能有多种作用机制, 不同机制间错综复杂的网络关系又会给研究带来巨大困难.

总之, 寻找与胃癌相关的lncRNA, 深入研究他们在胃癌发生发展中的作用及机制, 并将其作为临床早期诊断和预后判断的指标以及抗肿瘤的靶点, 可能为胃癌的临床诊治开辟新的途径, 带来重大突破.

## 5 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Villanueva MT. Combination therapy: update on gastric cancer in East Asia. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 690 [PMID: 22048625 DOI: 10.1038/nrclinonc.2011.171]
- Lin Y, Ueda J, Kikuchi S, Totsuka Y, Wei WQ, Qiao YL, Inoue M. Comparative epidemiology of gastric cancer between Japan and China. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4421-4428 [PMID: 22110269 DOI: 10.3748/wjg.v17.i39.4421]
- Hartgrink HH, Jansen EP, van Grieken NC, van de Velde CJ. Gastric cancer. *Lancet* 2009; 374: 477-490 [PMID: 19625077 DOI: 10.1016/S0140-6736(09)60617-6]
- ENCODE Project Consortium, Birney E, Stamatoyannopoulos JA, Dutta A, Guigó R, Gingeras TR, Margulies EH, Weng Z, Snyder M, Dermitzakis ET, Thurman RE, Kuehn MS, Taylor CM, Neph S, Koch CM, Asthana S, Malhotra A, Adzhubei I, Greenbaum JA, Andrews RM, Flicek P, Boyle PJ, Cao H, Carter NP, Clelland GK, Davis S, Day N, Dhami P, Dillon SC, Dorschner MO, Fiegler H, Girosi PG, Goldy J, Hawrylycz M, Haydock A, Humbert R, James KD, Johnson BE, Johnson EM, Frum TT, Rosenzweig ER, Karnani N, Lee K, Lefebvre GC, Navas PA, Neri F, Parker SC, Sabo PJ, Sandstrom R, Shafer A, Vetrie D, Weaver M, Wilcox S, Yu M, Collins FS, Dekker J, Lieb JD, Tullius TD, Crawford GE, Sunyaev S, Noble WS, Dunham I, Denoeud F, Reymond A, Kapranov P, Rozowsky J, Zheng D, Castelo R, Frankish A, Harrow J, Ghosh S, Sandelin A, Hofacker IL, Baertsch R, Keefe D, Dike S, Cheng J, Hirsch HA, Sekinger EA, Lagarde J, Abril JF, Shahab A, Flamm C, Fried C, Hackermüller J, Hertel J, Lindemeyer M, Missal K, Tanzer A, Washietl S, Korbel J, Emanuelsson O, Pedersen JS, Holroyd N, Taylor R, Swarbreck D, Matthews N, Dickson MC, Thomas DJ, Weirauch MT, Gilbert J, Drenkow J, Bell I, Zhao X, Srinivasan KG, Sung WK, Ooi HS, Chiu KP, Foissac S, Alioto T, Brent M, Pachter L, Tress ML, Valencia A, Choo SW, Choo CY, Ucla C, Manzano C, Wyss C, Cheung E, Clark TG, Brown JB, Ganesh M, Patel S, Tammana H, Chrast J, Henriksen CN, Kai C, Kawai J, Nagalakshmi U, Wu J, Lian Z, Lian J, Newburger P, Zhang X, Bickel P, Mattick JS, Carninci P, Hayashizaki Y, Weissman S, Hubbard T, Myers RM, Rogers J, Stadler PF, Lowe TM, Wei CL, Ruan Y, Struhl K, Gerstein M, Antonarakis SE, Fu Y, Green ED, Karaöz U, Siepel A, Taylor J, Liefer LA, Wetterstrand KA, Good PJ, Feingold EA, Guyer MS, Cooper GM, Asimenos G, Dewey CN, Hou M, Nikolaev S, Montoya-Burgos JI, Löytynoja A, Whelan S, Pardi F, Massingham T, Huang H, Zhang NR, Holmes I, Mullikin JC, Ureta-Vidal A, Paten B, Srinivasan M, Church D, Rosenbloom K, Kent WJ, Stone EA; NISC Comparative Sequencing Program; Baylor College of Medicine Human Genome Sequencing Center; Washington University Genome Sequencing Center; Broad Institute; Children's Hospital Oakland Research Institute, Batzoglou S, Goldman N, Hardison RC, Haussler D, Miller W, Sidow A, Trinklein ND, Zhang ZD, Barrera L, Stuart R, King DC, Ameur A, Enroth S, Bieda MC, Kim J, Bhinge AA, Jiang N, Liu J, Yao F, Vega VB, Lee CW, Ng P, Shahab A, Yang A, Moqtaderi Z, Zhu Z, Xu X, Squazzo S, Oberley MJ, Inman D, Singer MA, Richmond TA, Munn KJ, Rada-Iglesias A, Wallerman O, Komorowski J, Fowler JC, Couttet P, Bruce AW, Dovey OM, Ellis PD, Langford CF, Nix DA, Euskirchen G, Hartman S, Urban AE, Kraus P, Van Calcar S, Heintzman N, Kim TH, Wang K, Qu C, Hon G, Luna R, Glass CK, Rosenfeld MG, Aldred SF, Cooper SJ, Halees A, Lin JM, Shulha HP, Zhang X, Xu M, Haidar JN, Yu Y, Ruan Y, Iyer VR, Green RD, Wadelius C, Farnham PJ, Ren B, Harte RA, Hinrichs AS, Trumbower H, Clawson H, Hillman-Jackson J, Zweig AS, Smith K, Thakkapallayil A, Barber G, Kuhn RM, Karolchik D, Armengol L, Bird CP, de Bakker PI, Kern AD, Lopez-Bigas N, Martin JD, Stranger BE, Woodroffe A, Davydov E, Dimas A, Eyraes E, Hallgrímsson IB, Huppert J, Zody MC, Abecasis GR, Estivill X, Bouffard GG, Guan X, Hansen NF, Idol JR, Maduro VV, Maskeri B, McDowell JC, Park M, Thomas PJ, Young AC, Blakesley RW, Muzny DM, Sodergren E, Wheeler DA, Worley KC, Jiang H, Weinstock GM, Gibbs RA, Graves T, Fulton R, Mardis ER, Wilson RK, Clamp M, Cuff J, Gnerre S, Jaffe DB, Chang JL, Lindblad-Toh K, Lander ES, Koriabine M, Nefedov M, Osoegawa K, Yoshinaga Y, Zhu B, de Jong PJ. Identification and analysis of functional elements in 1% of the human genome by the ENCODE pilot project. *Nature* 2007; 447: 799-816 [PMID: 17571346]

## ■应用要点

寻找与胃癌相关的lncRNA, 深入研究他们在胃癌发生发展中的作用及机制, 并将其作为临床早期诊断和预后判断的指标以及抗肿瘤的靶点, 可能为胃癌的临床诊治开辟新的途径, 带来重大突破.

# 同行评价

本文对lncRNA进行了较为全面的介绍,重点阐述了若干lncRNA在胃癌中的表达及功能,准确反映了lncRNA胃癌领域的研究进展。

- 6 Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, Huarte M, Zuk O, Carey BW, Cassady JP, Cabili MN, Jaenisch R, Mikkelsen TS, Jacks T, Hacohen N, Bernstein BE, Kellis M, Regev A, Rinn JL, Lander ES. Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 2009; 458: 223-227 [PMID: 19182780 DOI: 10.1038/nature07672]
- 7 Nagano T, Fraser P. No-nonsense functions for long noncoding RNAs. *Cell* 2011; 145: 178-181 [PMID: 21496640 DOI: 10.1016/j.cell.2011.03.014]
- 8 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945 DOI: 10.1038/nrc1997]
- 9 Derrien T, Johnson R, Bussotti G, Tanzer A, Djebali S, Tilgner H, Guernec G, Martin D, Merkel A, Knowles DG, Lagarde J, Veeravalli L, Ruan X, Ruan Y, Lassmann T, Carninci P, Brown JB, Lipovich L, Gonzalez JM, Thomas M, Davis CA, Shiekhata R, Gingeras TR, Hubbard TJ, Notredame C, Harrow J, Guigó R. The GENCODE v7 catalog of human long noncoding RNAs: analysis of their gene structure, evolution, and expression. *Genome Res* 2012; 22: 1775-1789 [PMID: 22955988 DOI: 10.1101/gr.132159.111]
- 10 Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell* 2009; 136: 629-641 [PMID: 19239885 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.006]
- 11 Louro R, Smirnova AS, Verjovski-Almeida S. Long intronic noncoding RNA transcription: expression noise or expression choice? *Genomics* 2009; 93: 291-298 [PMID: 19071207 DOI: 10.1016/j.ygeno.2008.11.009]
- 12 Mercer TR, Dinger ME, Mattick JS. Long non-coding RNAs: insights into functions. *Nat Rev Genet* 2009; 10: 155-159 [PMID: 19188922 DOI: 10.1038/nrg2521]
- 13 Wapinski O, Chang HY. Long noncoding RNAs and human disease. *Trends Cell Biol* 2011; 21: 354-361 [PMID: 21550244 DOI: 10.1016/j.tcb.2011.04.001]
- 14 Esteller M. Non-coding RNAs in human disease. *Nat Rev Genet* 2011; 12: 861-874 [PMID: 22094949 DOI: 10.1038/nrg3074]
- 15 Prensner JR, Chinnaiyan AM. The emergence of lncRNAs in cancer biology. *Cancer Discov* 2011; 1: 391-407 [PMID: 22096659 DOI: 10.1158/2159-8290.CD-11-0209]
- 16 Gibb EA, Brown CJ, Lam WL. The functional role of long non-coding RNA in human carcinomas. *Mol Cancer* 2011; 10: 38 [PMID: 21489289 DOI: 10.1186/1476-4598-10-38]
- 17 Gutschner T, Diederichs S. The hallmarks of cancer: a long non-coding RNA point of view. *RNA Biol* 2012; 9: 703-719 [PMID: 22664915 DOI: 10.4161/rna.20481]
- 18 Mitra SA, Mitra AP, Triche TJ. A central role for long non-coding RNA in cancer. *Front Genet* 2012; 3: 17 [PMID: 22363342 DOI: 10.3389/fgene.2012.00017]
- 19 Cao WJ, Wu HL, He BS, Zhang YS, Zhang ZY. Analysis of long non-coding RNA expression profiles in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3658-3664 [PMID: 23801869 DOI: 10.3748/wjg.v19.i23.3658]
- 20 王亚芳, 刘理礼, 靳海峰, 张慧, 张宏博, 聂勇战, 吴开春, 樊代明. LncRNA在缺氧诱导的胃癌细胞中表达谱的变化. *现代肿瘤医学* 2013; 21: 225-228
- 21 Sun W, Wu Y, Yu X, Liu Y, Song H, Xia T, Xiao B, Guo J. Decreased expression of long noncoding RNA AC096655.1-002 in gastric cancer and its clinical significance. *Tumour Biol* 2013; 34: 2697-2701 [PMID: 23645148 DOI: 10.1007/s13277-013-0821-0]
- 22 Xiao B, Guo J. Long noncoding RNA AC096655.1-002 has been officially named as gastric cancer-associated transcript 1, GACAT1. *Tumour Biol* 2013; 34: 3271 [PMID: 23754450 DOI: 10.1007/s13277-013-0916-7]
- 23 Hao Y, Crenshaw T, Moulton T, Newcomb E, Tycko B. Tumour-suppressor activity of H19 RNA. *Nature* 1993; 365: 764-767 [PMID: 7692308 DOI: 10.1038/365764a0]
- 24 Thorvaldsen JL, Duran KL, Bartolomei MS. Deletion of the H19 differentially methylated domain results in loss of imprinted expression of H19 and Igf2. *Genes Dev* 1998; 12: 3693-3702 [PMID: 9851976 DOI: 10.1101/gad.12.23.3693]
- 25 Berteaux N, Lottin S, Monté D, Pinte S, Quatannens B, Coll J, Hondermarck H, Curgy JJ, Dugimont T, Adriaenssens E. H19 mRNA-like noncoding RNA promotes breast cancer cell proliferation through positive control by E2F1. *J Biol Chem* 2005; 280: 29625-29636 [PMID: 15985428 DOI: 10.1074/jbc.M504033200]
- 26 Zhang L, Yang F, Yuan JH, Yuan SX, Zhou WP, Huo XS, Xu D, Bi HS, Wang F, Sun SH. Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2013; 34: 577-586 [PMID: 23222811 DOI: 10.1093/carcin/bgs381]
- 27 Hajjari M, Khoshnevisan A. Potential long non-coding RNAs to be considered as biomarkers or therapeutic targets in gastric cancer. *Front Genet* 2013; 4: 210 [PMID: 24151500 DOI: 10.3389/fgene.2013.00210]
- 28 Yang F, Bi J, Xue X, Zheng L, Zhi K, Hua J, Fang G. Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *FEBS J* 2012; 279: 3159-3165 [PMID: 22776265 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08694.x]
- 29 Song H, Sun W, Ye G, Ding X, Liu Z, Zhang S, Xia T, Xiao B, Xi Y, Guo J. Long non-coding RNA expression profile in human gastric cancer and its clinical significances. *J Transl Med* 2013; 11: 225 [PMID: 24063685 DOI: 10.1186/1479-5876-11-225]
- 30 Arita T, Ichikawa D, Konishi H, Komatsu S, Shiozaki A, Shoda K, Kawaguchi T, Hirajima S, Nagata H, Kubota T, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Circulating long non-coding RNAs in plasma of patients with gastric cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 3185-3193 [PMID: 23898077]
- 31 Rinn JL, Kertesz M, Wang JK, Squazzo SL, Xu X, Brugmann SA, Goodnough LH, Helms JA, Farnham PJ, Segal E, Chang HY. Functional demarcation of active and silent chromatin domains in human HOX loci by noncoding RNAs. *Cell* 2007; 129: 1311-1323 [PMID: 17604720 DOI: 10.1016/j.cell.2007.05.022]
- 32 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076 [PMID: 20393566 DOI: 10.1038/nature08975]
- 33 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K,

- Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021]
- 34 Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, Kim S, Safe S. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* 2013; 32: 1616-1625 [PMID: 22614017 DOI: 10.1038/onc.2012.193]
- 35 Nakagawa T, Endo H, Yokoyama M, Abe J, Tamai K, Tanaka N, Sato I, Takahashi S, Kondo T, Satoh K. Large noncoding RNA HOTAIR enhances aggressive biological behavior and is associated with short disease-free survival in human non-small cell lung cancer. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 436: 319-324 [PMID: 23743197 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.05.101]
- 36 Nie Y, Liu X, Qu S, Song E, Zou H, Gong C. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker for nasopharyngeal carcinoma progression and survival. *Cancer Sci* 2013; 104: 458-464 [PMID: 23281836 DOI: 10.1111/cas.12092]
- 37 Endo H, Shioki T, Nakagawa T, Yokoyama M, Tamai K, Yamanami H, Fujita T, Sato I, Yamaguchi K, Tanaka N, Iijima K, Shimosegawa T, Sugamura K, Satoh K. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e77070 [PMID: 24130837 DOI: 10.1371/journal.pone.0077070]
- 38 Hajjari M, Behmanesh M, Sadeghizadeh M, Zeinodini M. Up-regulation of HOTAIR long non-coding RNA in human gastric adenocarcinoma tissues. *Med Oncol* 2013; 30: 670 [PMID: 23888369 DOI: 10.1007/s12032-013-0670-0]
- 39 Xu ZY, Yu QM, Du YA, Yang LT, Dong RZ, Huang L, Yu PF, Cheng XD. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR suppresses tumor invasion and reverses epithelial-mesenchymal transition in gastric cancer. *Int J Biol Sci* 2013; 9: 587-597 [PMID: 23847441 DOI: 10.7150/ijbs.6339]
- 40 Nissan A, Stojadinovic A, Mitrani-Rosenbaum S, Halle D, Grinbaum R, Roistacher M, Bochem A, Dayanc BE, Ritter G, Gomceli I, Bostanci EB, Akgolu M, Chen YT, Old LJ, Gure AO. Colon cancer associated transcript-1: a novel RNA expressed in malignant and pre-malignant human tissues. *Int J Cancer* 2012; 130: 1598-1606 [PMID: 21547902 DOI: 10.1002/ijc.26170]
- 41 Yang F, Xue X, Bi J, Zheng L, Zhi K, Gu Y, Fang G. Long noncoding RNA CCAT1, which could be activated by c-Myc, promotes the progression of gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 437-445 [PMID: 23143645 DOI: 10.1007/s00432-012-1324-x]
- 42 Miyoshi N, Wagatsuma H, Wakana S, Shiroishi T, Nomura M, Aisaka K, Kohda T, Surani MA, Kaneko-Ishino T, Ishino F. Identification of an imprinted gene, Meg3/Gtl2 and its human homologue MEG3, first mapped on mouse distal chromosome 12 and human chromosome 14q. *Genes Cells* 2000; 5: 211-220 [PMID: 10759892 DOI: 10.1046/j.1365-2443.2000.00320.x]
- 43 Zhou Y, Zhang X, Klibanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *J Mol Endocrinol* 2012; 48: R45-R53 [PMID: 22393162 DOI: 10.1530/JME-12-0008]
- 44 Sun M, Xia R, Jin F, Xu T, Liu Z, De W, Liu X. Downregulated long noncoding RNA MEG3 is associated with poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer. *Tumour Biol* 2013 Sep 5. [Epub ahead of print] [PMID: 24006224 DOI: 10.1007/s13277-013-1142-z]
- 45 Martin S, Nishimune A, Mellor JR, Henley JM. SUMOylation regulates kainate-receptor-mediated synaptic transmission. *Nature* 2007; 447: 321-325 [PMID: 17486098 DOI: 10.1038/nature05736]
- 46 Baek SH. A novel link between SUMO modification and cancer metastasis. *Cell Cycle* 2006; 5: 1492-1495 [PMID: 16861889 DOI: 10.4161/cc.5.14.3008]
- 47 Mei D, Song H, Wang K, Lou Y, Sun W, Liu Z, Ding X, Guo J. Up-regulation of SUMO1 pseudogene 3 (SUMO1P3) in gastric cancer and its clinical association. *Med Oncol* 2013; 30: 709 [PMID: 23996296 DOI: 10.1007/s12032-013-0709-2]
- 48 Park SM, Park SJ, Kim HJ, Kwon OH, Kang TW, Sohn HA, Kim SK, Moo Noh S, Song KS, Jang SJ, Sung Kim Y, Kim SY. A known expressed sequence tag, BM742401, is a potent lincRNA inhibiting cancer metastasis. *Exp Mol Med* 2013; 45: e31 [PMID: 23846333 DOI: 10.1038/emmm.2013.59]
- 49 王颖, 樊代明. 长链非编码RNA DMTF1v4(NR\_024549)在胃癌多药耐药中的作用及机制研究. 第四军医大学, 2012: 1-138
- 50 Qi P, Du X. The long non-coding RNAs, a new cancer diagnostic and therapeutic gold mine. *Mod Pathol* 2013; 26: 155-165 [PMID: 22996375 DOI: 10.1038/modpathol.2012.160]

编辑 田滢 电编 闫晋利





# 锌指蛋白A20对炎症反应和细胞凋亡的调控作用及其在炎症性肠病中的影响

季蓉, 吴焕淦, 施茵

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD) 一种病因不明的慢性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 其发病机制可能因感染、遗传、免疫等因素引起肠道免疫反应紊乱导致肠组织炎症病变与结构破坏。该病在欧美国家多发, 但近年来研究表明该病在我国的发展呈上升趋势。

季蓉, 上海中医药大学岳阳临床医学院 上海市 200437  
吴焕淦, 施茵, 上海市针灸经络研究所 上海市 200030  
季蓉, 在读硕士, 主要从事针灸治疗炎症性肠病的相关研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81273844  
国家重点基础研究发展计划(973计划)基金资助项目, No. 2009CB522900

作者贡献分布: 本文综述由季蓉完成, 吴焕淦与施茵负责指导审核。  
通讯作者: 施茵, 博士, 主任医师, 博士生导师, 200030, 上海市宛平南路650号, 上海市针灸经络研究所。flysy0636@hotmail.com  
电话: 021-64383910 传真: 021-64644238  
收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-12-03  
接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-02-08

## Regulatory effect of zinc finger protein A20 on inflammation and apoptosis: Implications for inflammatory bowel disease

Rong Ji, Huan-Gan Wu, Yin Shi

Rong Ji, Yueyang Clinical College of Shanghai University of TCM, Shanghai 200437, China  
Huan-Gan Wu, Yin Shi, Shanghai Institute of Acupuncture-Moxibustion and Meridian, Shanghai 200030, China  
Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81273844; the National Basic Research Program of China (973 Program), No. 2009CB522900  
Correspondence to: Yin Shi, Chief Physician, Shanghai Institute of Acupuncture-Moxibustion and Meridian, 650 Wanping South Road, Shanghai 200030, China. flysy0636@hotmail.com  
Received: 2013-09-02 Revised: 2013-12-03  
Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Zinc finger protein A20, also known as tumor necrosis factor alpha-induced protein 3 (TNFAIP3), is a protein with dual enzyme activities: ubiquitination and deubiquitination. It can negatively regulate inflammation and apoptosis mediated by a variety of signal transduction pathway, playing an important role in the occurrence, development and prognosis of inflammatory diseases, especially inflammatory bowel diseases. In recent years, the role of zinc finger protein A20 in inflammation and apoptosis has gained growing concern. This paper gives a brief overview of the biological effects of zinc finger protein A20 on inflammation and apoptosis

mediated by tumor necrosis factor alpha/tumor necrosis factor receptor 1, nuclear factor kappa B, lipopolysaccharide/lipopolysaccharide - nuclear factor kappa B, oxidized low density lipoprotein and other pathways as well as the negative regulatory effect of zinc finger protein A20 on intestinal inflammation and epithelial apoptosis in inflammatory bowel disease.

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

Key Words: Zinc finger protein A20; Inflammation; apoptosis; Inflammatory bowel disease

Ji R, Wu HG, Shi Y. Regulatory effect of zinc finger protein A20 on inflammation and apoptosis: Implications for inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 508-514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.508>

## 摘要

锌指蛋白A20, 又称肿瘤坏死因子 $\alpha$ 诱导蛋白3(tumor necrosis factor alpha-induced protein 3, TNFAIP3), 是一种具有泛素化和去泛素化双重酶活性蛋白, 能负调控多种信号转导途径介导的炎症反应和细胞凋亡, 在炎症性疾病[尤其是炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)]的发生、发展以及转归中发挥着重要作用。近年来, 有关A20蛋白在炎症反应和细胞凋亡中的影响作用已日益受到关注。本文旨从A20的生物学效应以及对肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumour necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )/肿瘤坏死因子受体-1(tumour necrosis factor receptor 1, TNFR1)、核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/LPS-NF- $\kappa$ B、氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, OxLDL)等途径介导的炎症反应和细胞凋亡及其对IBD的肠道炎症和肠上皮细胞凋亡的负调控作用等方面作一简要概述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

## ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

**关键词:** 锌指蛋白A20; 炎症反应; 细胞凋亡; 炎症性肠病

**核心提示:** A20能抑制肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumour necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )/肿瘤坏死因子受体-1(tumour necrosis factor receptor 1, TNFR1)、核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)、脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)/LPS-NF- $\kappa$ B、氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, OxLDL)等途径介导的炎症反应和细胞凋亡. 并通过对这些途径的抑制作用而起到对炎症性肠病的肠道组织炎症和肠上皮细胞凋亡的负调控作用.

季蓉, 吴焕淦, 施茵. 锌指蛋白A20对炎症反应和细胞凋亡的调控作用及其在炎症性肠病中的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 508-514 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/508.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.508>

## 0 引言

锌指蛋白A20<sup>[1]</sup>, 又称肿瘤坏死因子 $\alpha$ 诱导蛋白3(tumor necrosis factor alpha-induced protein 3, TNFAIP3), 是一种具有高度生物学活性的蛋白. 1990年由美国密西根州医科大学病理系Dixit等<sup>[2,3]</sup>在经肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumour necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )处理后的人脐静脉内皮细胞中首次发现该基因, 测序后发现其可读框编码一个新型锌指蛋白, 故命名为锌指蛋白A20(简称A20). 人类A20基因定位于染色体6q23.3, 全长790个氨基酸, 分子量为90 kDa, 鼠则较人的少15个氨基酸. 他含有两个功能结构域<sup>[4]</sup>: 即N(氨基)末端的包含去泛素化酶(deubiquitylating enzymes, DUB)的卵巢肿瘤(ovarian tumor, OTU)结构域和C(羧基)末端的锌指结构(zinc fingers, ZnFs)包含E3连接酶的结构域. N末端区是A20的特征性结构区, 为一种去泛素化酶, 能够将信号转导通路中的多种蛋白诸如核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路中的受体作用蛋白(receptor-interacting protein, RIP)等发生去泛素化, 从而抑制蛋白酶对其的降解作用; C末端区是锌指区, 含有7个重复的Cys2/Cys2型结构(两个半胱氨酸残基和两个半胱氨酸残基通过与位于中心的锌离子以配位键结合, 形成的一个稳定的指状结构), 是一种泛素化酶, 能够使RIP Lys48泛素化<sup>[5-7]</sup>. A20的这两种功能结构域(酶)的活性共同作用, 以控制泛素化和去泛素化修饰. 泛素化是继磷酸化后第二大蛋白质修饰作用, 与磷酸化相似, 泛素化也是一个可逆

的过程, 他由泛素化酶和去泛素化酶相互调节, 因此, 具有多种重要的生理功能.

随着对该基因的不断深入研究发现, 锌指蛋白A20能负调控多种信号转导途径介导的炎症反应和细胞凋亡. 而近年来通过大量研究证实, TNF- $\alpha$ 是介导炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)肠道炎症以及肠上皮细胞凋亡的主要炎性因子之一, 由此推测由TNF- $\alpha$ 诱导产生的A20或TNFAIP3在IBD的发生、发展以及转归中可能发挥着重要作用. 笔者查阅了近年来有关A20调控不同途径介导的炎症反应和细胞凋亡的相关研究文献进行综述, 以期对A20或TNFAIP3的生物学效应以及在IBD的作用有更进一步的认知.

## 1 锌指蛋白A20抑制TNF- $\alpha$ /TNFR1介导的炎症反应和细胞凋亡

TNF- $\alpha$ 作为促炎因子的核心成员, 通过与其不同受体[肿瘤坏死因子受体1(tumour necrosis factor receptor 1, TNFR1)和/或TNFR2]结合而发挥不同的调节作用. TNF- $\alpha$ 通过与TNFR1结合后, 一种途径是由TNFR1胞内区的DD与含有死亡结构域的肿瘤坏死因子受体结合蛋白(TNFR1-associated death domain, TRADD)结合, TRADD中的DD与RIP结合成信号复合体后, 再与Fas相关的死亡结构域(Fas-associated death domain, FADD)结合并使其激活, 即通过TNFR1-TRADD-FADD途径招募FLICE(FADD-like ICE)PMACH(MORT1-associated CED-3 homolog)/Caspase8, 再激活Caspase3来诱导细胞凋亡<sup>[8-10]</sup>; 另一种途径是由TNFR1胞内区的DD与含有死亡结构域的TRADD结合, TRADD中的DD与RIP结合成信号复合体后, 再与肿瘤坏死因子受体相关因子(TNF receptor-associated factors, TRAFs)结合进而激活NF- $\kappa$ B, 活化的NF- $\kappa$ B可以调控各种基因(其中包括调控细胞凋亡和炎症反应的基因)表达, 抑制细胞凋亡和促进炎症反应<sup>[11]</sup>. TNFR2的生物学功能主要在于配体传递, 使配体集中在TNFR1附近, 并增强TNFR1信号传导. TNFR2活化不直接参与细胞凋亡, 而是通过诱导内源性TNF- $\alpha$ 的分泌, 后者活化TNFR1后诱导细胞凋亡, 但是活化的TNFR2可通过肿瘤坏死因子受体相关因子2(TNF receptor-associated factor 2, TRAF2)大大增强TNFR1诱导的细胞凋亡<sup>[12]</sup>. 而锌指蛋白A20由于具有阻止TNF- $\alpha$ 诱导的包括外周血白细胞等在内的许多组织细

## ■ 研发前沿

近年来随着人们对A20的深入研究, 日渐发现其作为一种泛素化修饰酶, 在天然和获得性免疫调节中均有着重要作用. 其能负调控多种信号转导途径介导的炎症反应和细胞凋亡.

## ■相关报道

郑翠芳, 黄瑛等在《锌指蛋白A20在炎症性肠病患者肠黏膜中的表达及意义》一文中对57例患儿肠道黏膜标本进行分析发现: IBD患儿存在肠道炎症反应过度而A20表达水平上调不足的现象. 认为A20表达水平的异常可能参与了IBD的发生和发展.

胞发生凋亡的作用, 因此在凋亡研究领域, A20又被称为抗凋亡蛋白A20<sup>[13]</sup>. He等<sup>[9]</sup>通过研究发现, Jurkat T细胞中A20蛋白能抑制TNF- $\alpha$ /TNFR1途径介导的细胞凋亡, 其可以阻止Caspase8酶原裂解成有催化活性的亚单位以及随后的瀑布式级联反应, 从而抑制细胞凋亡. 进一步的研究发现, A20能抑制死亡结构域接头蛋白TRADD和RIP聚集到TNFR1胞浆内死亡结构域部分, 由此阻碍信号的传递, 达到抑制TNF- $\alpha$ /TNFR1途径细胞凋亡的发生. Lee等<sup>[14]</sup>观察到A20缺陷小鼠对TNF- $\alpha$ 的敏感性异常增高, 注射0.1 mg/kg的TNF- $\alpha$ , 2 h内小鼠全部死亡; 而野生型对照组小鼠即使注射0.4 mg/kg的TNF- $\alpha$ , 小鼠仍然能够全部存活. 吴丽娟等<sup>[15]</sup>研究发现锌指蛋白A20表达可以减少炎症细胞因子TNF- $\alpha$ 的分泌, 提示A20表达可以下调细胞炎症反应. 该结果从一定角度解释了A20缺陷小鼠对TNF- $\alpha$ 的敏感性异常增高的现象. Vincenz等<sup>[16]</sup>发现细胞受TNF- $\alpha$ 刺激时, A20通过与14-3-3蛋白(一个在真核生物中广泛表达的酸性蛋白家族, 主要以同源/异源二聚体形式存在, 通过磷酸化丝/苏氨酸作用与靶蛋白或靶蛋白的两个结构域结合)结合, 进一步加强了与TRAF2的作用, 而且14-3-3二聚体作为一种桥梁, 介导A20和c-Raf-1之间相互作用, 共同抑制TNF- $\alpha$ 诱导的细胞凋亡.

## 2 锌指蛋白A20抑制NF- $\kappa$ B介导的炎症反应和细胞凋亡

NF- $\kappa$ B是一种介导促炎反应的高度保守的核转录因子, 研究发现NF- $\kappa$ B与细胞凋亡的关系也相当密切, 其参与多种凋亡相关基因的转录调控, 具有抑制和促进细胞凋亡的双向作用<sup>[17]</sup>. 生理情况下, NF- $\kappa$ B二聚体以非活性状态存在于细胞胞浆中, 而NF- $\kappa$ B的抑制蛋白(inhibitor of NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B)的锚蛋白重复序列结构域能够使NF- $\kappa$ B维持这种非活性状态<sup>[18]</sup>. 经过外界的炎症细胞因子或者微生物感染的刺激之后, I $\kappa$ B激酶(I $\kappa$ B kinase, IKK)复合体(包括IKK $\alpha$ 、IKK $\beta$ 、IKK $\gamma$ )使I $\kappa$ B磷酸化, 触发I $\kappa$ B从NF- $\kappa$ B上脱落并被泛素化, 继而被蛋白酶体介导降解, 使得NF- $\kappa$ B由非活性状态被激活, 最终NF- $\kappa$ B进入细胞核调控目的基因表达, 由此介导炎症反应和细胞凋亡的发生<sup>[19]</sup>. 因此, NF- $\kappa$ B信号通路的调控对于炎症反应和细胞凋亡有着重要的意义<sup>[20]</sup>. A20是一种有效的NF- $\kappa$ B信号抑制因子, 其不仅能够抑制NF- $\kappa$ B的活性, 还能进一步阻断NF- $\kappa$ B所调

控的相关蛋白和多种炎症因子的释放<sup>[1,10]</sup>. A20通过其泛素化和去泛素化的双重酶作用, 使NF- $\kappa$ B信号通路中的关键接头分子肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6)去泛素化及受体作用蛋白1(receptor-interacting protein, RIP1)泛素化而降解, 从而抑制NF- $\kappa$ B信号通路的活化<sup>[21]</sup>. 近年的研究发现, TRAF6的活化和下游的信号转导必须依赖于E2酶复合体Ubc13/Uev1a. Shembade等<sup>[22]</sup>发现A20可干扰TRAF6与E2酶Ubc13和UbcH5c的结合, 再通过蛋白酶体途径降解Ubc13和UbcH5c. 对于RIP1, A20可先切割RIP1上的K63多聚泛素化链, 继而结合K48多聚泛素链至RIP1上来降解RIP1<sup>[23]</sup>. 最新研究发现, A20还能通过其第7锌指与IKK $\gamma$ (又名NEMO)特异性结合, 阻断IKK被转化生长因子 $\beta$ 激活激酶(transforming growth factor beta-activated kinase 1, TAK1)磷酸化, 同样能抑制NF- $\kappa$ B的信号通路<sup>[24]</sup>. Lee等<sup>[14]</sup>与吴丽娟等<sup>[25]</sup>发现敲除或人工突变A20基因的动物对脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)的敏感性异常增高, 体内炎症反应失控, 发生严重的多器官炎症, 死亡率大幅提高, 而正常个体A20则能够抑制炎症的发展. Onose等<sup>[26]</sup>与Heyninck等<sup>[27]</sup>发现A20表达升高可以抑制NF- $\kappa$ B的过度激活, 在流感病毒感染人和小鼠时, 支气管上皮NF- $\kappa$ B表达增高, 而经A20转染的细胞则可明显抑制NF- $\kappa$ B的活性. 桂俊等<sup>[28]</sup>研究发现, A20不仅能显著抑制TNF- $\alpha$ 上调的NF- $\kappa$ B启动子活性; 并能抑制柯萨奇病毒CVB3上调的NF- $\kappa$ B启动子活性. 由此提示A20可调节病毒介导的炎症信号通路, 为进一步研究A20参与抗病毒免疫调节机制奠定了基础.

## 3 锌指蛋白A20抑制LPS或LPS-NF- $\kappa$ B介导的炎症反应和细胞凋亡

内毒素是革兰氏阴性细菌细胞壁外层成分, 主要化学成分是LPS. LPS可以激活单核巨噬细胞, 刺激NF- $\kappa$ B的活化, 从而诱导炎症细胞因子如TNF- $\alpha$ 、白介素(interleukin, IL)-1、IL-6、IL-8等大量表达, 引发机体炎症反应. Lee等<sup>[14]</sup>发现A20缺陷小鼠对LPS的敏感性异常增高, 注射5 mg/kg的LPS, 2 h内小鼠全部死亡; 而野生型对照组小鼠即使注射25 mg/kg的LPS, 动物仍全部存活, 病理检查无明显异常. Heyninck等<sup>[29]</sup>研究发现, A20能显著抑制LPS诱导的内皮细胞凋亡; 同时, A20还可抑制LPS诱导的Caspase3表达, 说明A20可能是通过影响Caspase3的表达,



从而抑制其诱导的内皮细胞凋亡. 糜建红<sup>[30]</sup>观察到A20能够抑制LPS所致的内皮细胞凋亡以及90%的E-选择素表达. E-选择素是一种典型的糖蛋白, 对感染和炎症过程的发展起着重要作用. 其启动子近侧含有3个NF- $\kappa$ B结合位点, 因此, A20的作用机制可能是通过负调控NF- $\kappa$ B的活性而抑制E-选择素的表达, 从而对内毒素性内皮细胞的损伤起到保护作用<sup>[31]</sup>. 另外在转染外源性A20基因对内毒素诱导的内皮细胞IL-8表达的实验研究中发现, 内毒素刺激6 h后, IL-8在内皮细胞中的分泌量明显增加, 而转染A20基因的内皮细胞能减少70%以上内毒素诱导的IL-8分泌, 其机制可能是IL-8含有NF- $\kappa$ B结合位点, 而A20能抑制内毒素诱导的NF- $\kappa$ B活化, 从而减少内毒素诱导的内皮细胞分泌IL-8, 进而抑制其介导的炎症反应<sup>[32]</sup>. LPS还能激活Toll样受体4(Toll-like receptor 4, TLR4), 活化的TLR4与其下游信号分子构成胞浆信号复合物, 诱导I $\kappa$ B磷酸化及随后降解, 引起NF- $\kappa$ B移位入核, 介导炎症反应. 邹循亮等<sup>[33]</sup>用脂质体转染A20基因至大鼠腹膜间皮细胞(rat peritoneal mesothelial cells, RPMCs), Western blot结果显示, 6 h后RPMCs的A20蛋白水平显著增高且持续高表达, 显著抑制LPS诱导的TLR4蛋白的表达、延缓I $\kappa$ B的降解. 孟召友等<sup>[34]</sup>利用LPS诱导人脐静脉内皮细胞产生炎症反应, 利用Western blot检测A20蛋白及NF- $\kappa$ B p65的表达情况, 结果显示LPS刺激后A20基因的人工锌指转录因子(zinc finger-artificial transcription factor, ZF-ATF)转染组NF- $\kappa$ B p65的表达( $19.8 \pm 4.5$ )较空载体组( $90.2 \pm 5.9$ )及空白组( $96.3 \pm 3.3$ )显著下调( $P < 0.01$ ). 证明A20通过阻断NF- $\kappa$ B通路从而抑制了炎症反应. 提示A20可对LPS介导的炎症信号通路多个环节产生抑制效应, 保护机体免受LPS所介导的炎症损害.

#### 4 锌指蛋白A20抑制氧化低密度脂蛋白介导的细胞凋亡

氧化低密度脂蛋白(oxidized low density lipoprotein, OxLDL)能够通过各种不同的途径诱导多种组织细胞(如内皮细胞、平滑肌细胞和巨噬细胞等)的凋亡. 目前公认的主要方式有两种<sup>[35]</sup>, 一种是Fas(可以识别一种表达于髓样细胞、T淋巴细胞和成纤维细胞表面的未知分子, 并诱导多种人细胞凋亡的单克隆抗体)及其配体FasL途径(Fas/FasL途径), 另一种是线粒体途径. 前者是OxLDL通过线粒体膜上的Caspase依赖性和非

依赖性途径上调Fas死亡受体. 死亡受体与配体结合后使受体胞质区的“死亡区域”相聚, 并与特定的接头蛋白的“死亡区域”再聚, 在接头蛋白作用下Caspase8聚集成大分子复合物凋亡酶体, 且Caspase8能自身切割成有活性的Caspase酶, 进而切割Caspase3酶原而成Caspase3, 诱导细胞凋亡<sup>[36]</sup>. 后者是OxLDL可直接作用于线粒体, 导致线粒体膜电位的变化、细胞色素C释放入胞质以及活性氧簇产生和膜相关基因表达, 从而诱导细胞凋亡<sup>[37]</sup>. A20蛋白能够显著降低Fas的表达以及细胞表面FasL的密度, 降低Caspase8的活性, 从而有效地阻断OxLDL诱导的细胞凋亡作用; 在受到OxLDL刺激后, 巨噬细胞能大量表达A20蛋白, 同时Bax和Bak抗凋亡基因表达增强而Bcl-xL和Bcl-2凋亡基因表达减弱; 转染了A20蛋白的巨噬细胞表现出了强大的抗OxLDL诱导细胞凋亡的能力, 各种促凋亡基因的表达明显减少; 同时, 线粒体向胞质内释放的细胞色素C以及其他一些有毒物质显著减少. 这表明A20蛋白能够拮抗由OxLDL介导的两种途径的细胞凋亡<sup>[38]</sup>.

#### 5 锌指蛋白A20对IBD的肠道炎症和肠上皮细胞凋亡的负调控作用

IBD包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD), 目前IBD的确切病因和发病机制仍不甚清楚. 但近年来研究发现, 由众多炎症细胞因子参与并介导的肠上皮屏障损伤在IBD的发病和进程中扮演重要角色, 其中TNF- $\alpha$ 已被认为是IBD发病的关键性细胞因子<sup>[38,39]</sup>, 其诱导其他多种炎症介质(如IL-1、IL-6、IFN- $\gamma$ 等)释放, 激活全身和肠道局部免疫系统, 引起免疫级联反应诱导肠道局部甚至全身炎症反应. 本课题组研究证实TNF- $\alpha$ 可通过其受体(主要是TNFR1)途径诱导肠上皮细胞过度凋亡<sup>[40,41]</sup>和肠上皮细胞紧密连接蛋白及其mRNA表达减少或分布异常<sup>[42]</sup>, 从而导致IBD肠上皮屏障损伤及肠道持续炎症.

锌指蛋白A20通过其泛素化和去泛素化功能对多种途径介导的炎症反应起到负调控的作用. 近年来通过对IBD的大量研究, 提示TNF- $\alpha$ 介导的NF- $\kappa$ B-MLCK紧密连接途径和TRADD-FADD细胞凋亡途径是介导肠上皮损伤的重要环节之一. 其中NF- $\kappa$ B-MLCK紧密连接途径是由TNF- $\alpha$ 与肠上皮细胞膜表面的TNFR1结合后, 通过RIP1、TRAF6等一系列信号分子转导活化

#### ■创新盘点

本文就锌指蛋白A20对炎症反应和细胞凋亡的调控作用及其在IBD中的影响进行了较为系统的综述, 以期今后深入研究A20以及指导IBD等炎症性疾病的临床治疗提供新的思路.

### ■应用要点

IBD是由肠上皮细胞凋亡而致的肠上皮屏障损伤和肠道组织炎症所致,而A20能负调控炎症反应和细胞凋亡,两者相结合将为今后的研究方向提供新的思路,并在指导IBD的治疗中发挥重要作用。

NF- $\kappa$ B;活化的NF- $\kappa$ B再与肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK)转录启动子下游的NF- $\kappa$ B结合区域相结合进而激活MLCK启动子,引起MLCK的转录<sup>[43,44]</sup>;MLCK是肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC)的专一底物酶,当MLCK受钙调蛋白等激活后,使得含有紧密连接蛋白的细胞膜被细胞内吞或降解,出现肠上皮细胞紧密连接松弛而形成细胞间隙,造成肠上皮通透性增加<sup>[45,46]</sup>。而TRADD-FADD细胞凋亡途径是TNF- $\alpha$ 与TNFR1结合成寡聚体后,通过TNFR1胞内区的DD与TRADD结合,继而TRADD的DD与RIP结合成信号复合体后,再与FADD结合并使其激活,激活的FADD再依次活化FADD样ICE蛋白(FADD-like interleukin-1 $\beta$ -converting enzyme protease, FLICE)/MACH(MORT1-associated CED-3 homolog)、Caspase8和Caspase3等,将死亡信号依次下传,最终诱导肠上皮细胞凋亡,造成肠上皮通透性增加和肠上皮屏障损伤。因此,TNF- $\alpha$ /TNFR1可通过NF- $\kappa$ B-MLCK途径,造成肠上皮细胞紧密连接蛋白重排或缺失和肠上皮通透性增加;同时TNF- $\alpha$ /TNFR1还可通过TRADD-FADD途径诱导肠上皮细胞大量凋亡,是介导肠上皮屏障损伤和肠道炎症的重要环节之一。而锌指蛋白A20则能通过其双重的泛素化和去泛素化的酶活性,影响RIP、TRAF6、TRADD等接头分子在TNFR1信号复合体中的募集及信号转导,因此,A20在TNF- $\alpha$ 介导的NF- $\kappa$ B-MLCK途径和TRADD-FADD细胞凋亡途径中发挥负调控作用<sup>[47]</sup>。除此之外,A20还被认为是IBD的易感基因之一,其表达下调或缺失对IBD的肠上皮屏障调控具有重要影响。郑翠芳等<sup>[48]</sup>收集了57例2008-2010年就诊并行肠镜检查的患儿肠道黏膜标本,通过对其研究发现IBD患儿存在肠道炎症反应过度而A20表达水平不足的现象。这进一步证明了A20对IBD的发生与发展有重要意义。

## 6 结论

目前关于锌指蛋白A20对炎症反应和细胞凋亡的调控机制研究逐渐受到关注,A20蛋白可通过抑制TNF- $\alpha$ /TNFR1、NF- $\kappa$ B、LPS/LPS-NF- $\kappa$ B以及OxLDL等多条信号途径来调控炎症反应和细胞凋亡,为炎症性疾病的诊治提供了有力的证据。但将A20与特定炎症性疾病相结合,研究其在相应炎症性疾病中所起的作用研究还尚少;尤其是A20在IBD发病机制中的作用研究也刚

起步,目前尚不能将A20对炎症反应和细胞凋亡的调控机制运用于指导IBD的临床治疗。但是A20以其独特的泛素化和去泛素化双重酶活性的生物学特性,在今后指导IBD的治疗中将发挥重要作用。本文对A20蛋白在炎症反应和细胞凋亡中的调控作用及其在IBD中的影响作了简要介绍,希望能为今后深入研究A20以及指导IBD等炎症性疾病临床治疗提供新的思路。

## 7 参考文献

- 1 Vereecke L, Beyaert R, van Loo G. The ubiquitin-editing enzyme A20 (TNFAIP3) is a central regulator of immunopathology. *Trends Immunol* 2009; 30: 383-391 [PMID: 19643665 DOI: 10.1016/j.it.2009.05.007]
- 2 Pipari AW, Boguski MS, Dixit VM. The A20 cDNA induced by tumor necrosis factor alpha encodes a novel type of zinc finger protein. *J Biol Chem* 1990; 265: 14705-14708 [PMID: 2118515]
- 3 Dixit VM, Green S, Sarma V, Holzman LB, Wolf FW, O'Rourke K, Ward PA, Prochownik EV, Marks RM. Tumor necrosis factor-alpha induction of novel gene products in human endothelial cells including a macrophage-specific chemotaxin. *J Biol Chem* 1990; 265: 2973-2978 [PMID: 2406243]
- 4 王静,倪秀雄. 锌指蛋白A20的结构特点及其对树突状细胞成熟和凋亡的影响. *海峡医药* 2012; 24: 8-10
- 5 Coornaert B, Carpentier I, Beyaert R. A20: central gatekeeper in inflammation and immunity. *J Biol Chem* 2009; 284: 8217-8221 [PMID: 19008218 DOI: 10.1074/jbc.R800032200]
- 6 Lin SC, Chung JY, Lamothe B, Rajashankar K, Lu M, Lo YC, Lam AY, Darnay BG, Wu H. Molecular basis for the unique deubiquitinating activity of the NF-kappaB inhibitor A20. *J Mol Biol* 2008; 376: 526-540 [PMID: 18164316 DOI: 10.1016/j.jmb.2007.11.092]
- 7 Xu M, Skaug B, Zeng W, Chen ZJ. A ubiquitin replacement strategy in human cells reveals distinct mechanisms of IKK activation by TNFalpha and IL-1beta. *Mol Cell* 2009; 36: 302-314 [PMID: 19854138 DOI: 10.1016/j.molcel.2009.10.002]
- 8 Li HL, Wang AB, Zhang R, Wei YS, Chen HZ, She ZG, Huang Y, Liu DP, Liang CC. A20 inhibits oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis through negative Fas/Fas ligand-dependent activation of caspase-8 and mitochondrial pathways in murine RAW264.7 macrophages. *J Cell Physiol* 2006; 208: 307-318 [PMID: 16646083 DOI: 10.1002/jcp.20665]
- 9 He KL, Ting AT. A20 inhibits tumor necrosis factor (TNF) alpha-induced apoptosis by disrupting recruitment of TRADD and RIP to the TNF receptor 1 complex in Jurkat T cells. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 6034-6045 [PMID: 12167698 DOI: 10.1128/mcb.22.17.6034-6045.2002]
- 10 Daniel S, Arvelo MB, Patel VI, Longo CR, Shrikhande G, Shukri T, Mahiou J, Sun DW, Motley C, Grey ST, Ferran C. A20 protects endothelial cells from TNF-, Fas-, and NK-mediated cell death by inhibiting caspase 8 activation. *Blood* 2004; 104: 2376-2384 [PMID: 15251990 DOI: 10.1182/blood-2003-02-0635]
- 11 Micheau O, Tschopp J. Induction of TNF receptor

- I-mediated apoptosis via two sequential signaling complexes. *Cell* 2003; 114: 181-190 [PMID: 12887920 DOI: 10.1016/s0092-8674903000521-x]
- 12 Depuydt B, van Loo G, Vandenabeele P, Declercq W. Induction of apoptosis by TNF receptor 2 in a T-cell hybridoma is FADD dependent and blocked by caspase-8 inhibitors. *J Cell Sci* 2005; 118: 497-504 [PMID: 15657078 DOI: 10.1242/jcs.01640]
  - 13 Yusupov MM, Yusupova GZ, Baucom A, Lieberman K, Earnest TN, Cate JH, Noller HF. Crystal structure of the ribosome at 5.5 Å resolution. *Science* 2001; 292: 883-896 [PMID: 11283358 DOI: 10.1126/science.1060089]
  - 14 Lee EG, Boone DL, Chai S, Libby SL, Chien M, Lodolce JP, Ma A. Failure to regulate TNF-induced NF-kappaB and cell death responses in A20-deficient mice. *Science* 2000; 289: 2350-2354 [PMID: 11009421 DOI: 10.1126/science.289.5488.2350]
  - 15 吴丽娟, 刘国栋, 陈伟, 蒋建新, 朱佩芳. 锌指蛋白A20对人单核细胞LPS应答的影响. 第三军医大学学报 2007; 29: 1388-1390
  - 16 Vincenz C, Dixit VM. 14-3-3 proteins associate with A20 in an isoform-specific manner and function both as chaperone and adapter molecules. *J Biol Chem* 1996; 271: 20029-20034 [PMID: 8702721 DOI: 10.1074/jbc.271.33.20029]
  - 17 Dutta J, Fan Y, Gupta N, Fan G, Gélinas C. Current insights into the regulation of programmed cell death by NF-kappaB. *Oncogene* 2006; 25: 6800-6816 [PMID: 17072329 DOI: 10.1038/sj.onc.1209938]
  - 18 Karin M, Ben-Neriah Y. Phosphorylation meets ubiquitination: the control of NF-[kappa]B activity. *Annu Rev Immunol* 2000; 18: 621-663 [PMID: 10837071 DOI: 10.1146/annurev.immunol.18.1.621]
  - 19 Hayden MS, Ghosh S. Signaling to NF-kappaB. *Genes Dev* 2004; 18: 2195-2224 [PMID: 15371334 DOI: 10.1101/gad.1228704]
  - 20 Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a001651 [PMID: 20457564 DOI: 10.1101/cshperspect.a001651]
  - 21 Evans PC, Ovaa H, Hamon M, Kilshaw PJ, Hamm S, Bauer S, Ploegh HL, Smith TS. Zinc-finger protein A20, a regulator of inflammation and cell survival, has de-ubiquitinating activity. *Biochem J* 2004; 378: 727-734 [PMID: 14748687 DOI: 10.1042/bj20031377]
  - 22 Shembade N, Ma A, Harhaj EW. Inhibition of NF-kappaB signaling by A20 through disruption of ubiquitin enzyme complexes. *Science* 2010; 327: 1135-1139 [PMID: 20185725 DOI: 10.1126/science.1182364]
  - 23 Wertz IE, O'Rourke KM, Zhou H, Eby M, Aravind L, Seshagiri S, Wu P, Wiesmann C, Baker R, Boone DL, Ma A, Koonin EV, Dixit VM. De-ubiquitination and ubiquitin ligase domains of A20 downregulate NF-kappaB signalling. *Nature* 2004; 430: 694-699 [PMID: 15258597 DOI: 10.1038/nature02794]
  - 24 Skaug B, Chen J, Du F, He J, Ma A, Chen ZJ. Direct, noncatalytic mechanism of IKK inhibition by A20. *Mol Cell* 2011; 44: 559-571 [PMID: 22099304 DOI: 10.1016/j.molcel.2011.09.015]
  - 25 吴丽娟, 陈潇, 冯建男, 但刚, 龚杨彬, 曾平. 锌指蛋白A20突变体转基因小鼠腺毒症肺损伤的研究. 第三军医大学学报 2010; 5: 435-437
  - 26 Onose A, Hashimoto S, Hayashi S, Maruoka S, Kumasawa F, Mizumura K, Jibiki I, Matsumoto K, Gon Y, Kobayashi T, Takahashi N, Shibata Y, Abiko Y, Shibata T, Shimizu K, Horie T. An inhibitory effect of A20 on NF-kappaB activation in airway epithelium upon influenza virus infection. *Eur J Pharmacol* 2006; 541: 198-204 [PMID: 16765340 DOI: 10.1016/j.ejphar.2006.03.073]
  - 27 Heyninck K, Beyaert R. The cytokine-inducible zinc finger protein A20 inhibits IL-1-induced NF-kappaB activation at the level of TRAF6. *FEBS Lett* 1999; 442: 147-150 [PMID: 9928991 DOI: 10.1016/s0014-5793(98)01645-7]
  - 28 桂俊, 李桥, 熊思东, 徐薇. 肿瘤坏死因子α诱导蛋白3对NF-κB信号通路的抑制作用. 现代免疫学 2011; 31: 107-112
  - 29 Heyninck K, De Valck D, Vanden Berghe W, Van Crielinge W, Contreras R, Fiers W, Haegeman G, Beyaert R. The zinc finger protein A20 inhibits TNF-induced NF-kappaB-dependent gene expression by interfering with an RIP- or TRAF2-mediated trans-activation signal and directly binds to a novel NF-kappaB-inhibiting protein ABIN. *J Cell Biol* 1999; 145: 1471-1482 [PMID: 10385526 DOI: 10.1083/jcb.145.7.1471]
  - 30 糜建红, 朱楚洪, 应大君. 锌指蛋白基因对内毒素诱导选择素表达的影响. 解剖学报 2004; 35: 548-550
  - 31 朱楚洪, 应大君, 糜建红, 张伟, 孙建森. 锌指蛋白A20在内毒素所致人脐静脉内皮细胞损伤中的作用. 解剖学报 2003; 34: 629-632
  - 32 糜建红, 朱楚洪, 应大君. 转染锌指蛋白基因A20抑制内毒素诱导的内皮细胞IL-8表达的研究. 第三军医大学学报 2004; 26: 591-593
  - 33 邹循亮, 鄢巨振, 徐刚, 吴平. 锌指蛋白A20对脂多糖诱导的大鼠腹膜间皮细胞炎症效应的影响. 中国血液净化 2012; 11: 554-558
  - 34 孟召友, 赵海霞, 黄嘉璐, 汪思嘉, 陈康宁, 周振华. A20人工锌指转录因子真核载体的构建及其对内皮细胞炎症反应的影响. 第三军医大学学报 2013; 35: 509-512
  - 35 赖玲玲, 李文庭, 贺永文. 锌指蛋白A20及其对细胞凋亡的抑制作用. 国际流行病学传染病学杂志 2007; 34: 122-124
  - 36 Lemasters JJ, Nieminen AL, Qian T, Trost LC, Elmore SP, Nishimura Y, Crowe RA, Cascio WE, Bradham CA, Brenner DA, Herman B. The mitochondrial permeability transition in cell death: a common mechanism in necrosis, apoptosis and autophagy. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1366: 177-196 [PMID: 9714796 DOI: 10.1016/s0005-2728(98)00112-1]
  - 37 Madesh M, Ramachandran A, Balasubramanian KA. Nitric oxide prevents anoxia-induced apoptosis in colonic HT29 cells. *Arch Biochem Biophys* 1999; 366: 240-248 [PMID: 10356289 DOI: 10.1006/abbi.1999.1185]
  - 38 van Dulleman HM, van Deventer SJ, Hommes DW, Bijl HA, Jansen J, Tytgat GN, Woody J. Treatment of Crohn's disease with anti-tumor necrosis factor chimeric monoclonal antibody (cA2). *Gastroenterology* 1995; 109: 129-135 [PMID: 7797011 DOI: 10.1016/0016-5085(95)90277-5]
  - 39 Kindler V, Sappino AP, Grau GE, Piguet PF, Vassalli P. The inducing role of tumor necrosis factor in the development of bactericidal granulomas during BCG infection. *Cell* 1989; 56: 731-740 [PMID: 2647299 DOI: 10.1016/0092-8674(89)90676-4]
  - 40 施茵, 包春辉, 吴焕淦, 陈巍峰, 秦秀娣, 张榕, 吴璐一. 隔药灸结合针刺对克罗恩病患者肠黏膜TNF-α、TNFR1、TNFR2表达及肠上皮细胞凋亡的影响. 上海中医药杂志 2011; 45: 46-50

## ■名词解释

A20: 又称肿瘤坏死因子α诱导蛋白3, 是一种具有高度生物学活性的蛋白;

LPS: 又称脂多糖是脂质和多糖的复合物及革兰氏阴性细菌细胞壁的主要成分, 是内毒素和重要群特异性抗原(O抗原); OxLDL: 又称氧化低密度脂蛋白, 是天然的低密度脂蛋白经氧化修饰形成的脂蛋白。



## ■同行评价

本文较为全面地综述了锌指蛋白A20对炎症反应和细胞凋亡的调控作用,以及A20在IBD中的影响。但A20在特定疾病以及在IBD发病机制中的作用研究刚刚起步,目前尚不能运用于指导IBD的临床治疗,但是在今后指导IBD的治疗中将发挥重要作用。

- 41 Shi Y, Zhou EH, Wu HG, Zhou CL, Wang QY, Qi L. Moxibustion treatment restoring the intestinal epithelium barrier in rats with Crohn's disease by down-regulating tumor necrosis factor alpha, tumor necrosis factor receptor 1, and tumor necrosis factor receptor 2. *Chin J Integr Med* 2011; 17: 212-217 [PMID: 21359923 DOI: 10.1007/s11655-011-0669-3]
- 42 Bao CH, Wu LY, Shi Y, Wu HG, Liu HR, Zhang R, Yu LQ, Wang JH. Moxibustion down-regulates colonic epithelial cell apoptosis and repairs tight junctions in rats with Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4960-4970 [PMID: 22174545 DOI: 10.3748/wjg.v17.i45.4960]
- 43 Ye D, Ma I, Ma TY. Molecular mechanism of tumor necrosis factor-alpha modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G496-G504 [PMID: 16474009 DOI: 10.1152/ajpgi.00318.2005]
- 44 Shen L, Black ED, Witkowski ED, Lencer WI, Guerriero V, Schneeberger EE, Turner JR. Myosin light chain phosphorylation regulates barrier function by remodeling tight junction structure. *J Cell Sci* 2006; 119: 2095-2106 [PMID: 16638813 DOI: 10.1242/jcs.02915]
- 45 Ma TY, Iwamoto GK, Hoa NT, Akotia V, Pedram A, Boivin MA, Said HM. TNF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappa B activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G367-G376 [PMID: 14766535 DOI: 10.1152/ajpgi.00173.2003]
- 46 崔巍, 刘冬妍, 马力, 刘沛. TNF- $\alpha$ 对肠上皮细胞紧密连接蛋白表达的作用. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1788-1793
- 47 Kolodziej LE, Lodolce JP, Chang JE, Schneider JR, Grimm WA, Bartulis SJ, Zhu X, Messer JS, Murphy SF, Reddy N, Turner JR, Boone DL. TNFAIP3 maintains intestinal barrier function and supports epithelial cell tight junctions. *PLoS One* 2011; 6: e26352 [PMID: 22031828 DOI: 10.1371/journal.pone.0026352]
- 48 郑翠芳, 黄瑛. 锌指蛋白A20在炎症性肠病患者肠黏膜中的表达及意义. *中华儿科杂志* 2011; 49: 261-265

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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

# 半乳糖凝集素-9与炎症性肠病关系的研究进展

朱丽萍, 王鹏举, 刘 静, 李林静, 李治国, 江红艳, 冯百岁

朱丽萍, 刘静, 李林静, 李治国, 江红艳, 冯百岁, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

王鹏举, 郑州大学第一附属医院中英分子肿瘤学研究中心 河南省郑州市 450052

朱丽萍, 硕士, 主要从事炎症性肠病免疫学发病机制的研究。  
国家自然科学基金面上资助项目, No. 81070288, 81270452  
河南省医学科技攻关计划基金资助项目, No. 201001004  
河南省医学科技学术带头人出国培训计划基金资助项目, No. 201201013

作者贡献分布: 本综述由朱丽萍资料整理、分析、总结; 王鹏举、刘静、李林静、李治国及江红艳收集资料、翻译完成; 冯百岁审校。

通讯作者: 冯百岁, 教授, 主任医师, 博士生导师, 450052, 河南省郑州市二七区建设路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。fbs163@163.com

电话: 0371-66862052

收稿日期: 2013-10-23 修回日期: 2013-12-03

接受日期: 2013-12-04 在线出版日期: 2014-02-08

## Galectin-9 and inflammatory bowel disease

Li-Ping Zhu, Peng-Ju Wang, Jing Liu, Lin-Jing Li, Zhi-Guo Li, Hong-Yan Jiang, Bai-Sui Feng

Li-Ping Zhu, Jing Liu, Lin-Jing Li, Zhi-Guo Li, Hong-Yan Jiang, Bai-Sui Feng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Peng-Ju Wang, Sino-British Research Centre for Molecular Oncology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070288 and 81270452; the Medical Science and Technique Foundation of He'nan Province, No. 201001004; the Foundation for Leaders of Overseas Training in Medical Science and Technique of He'nan Province, No. 201201013

Correspondence to: Bai-Sui Feng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, He'nan Province, China. fbs163@163.com

Received: 2013-10-23 Revised: 2013-12-03

Accepted: 2013-12-04 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Galectin-9 (Gal-9), a beta-galactoside binding lectin, is a tandem-repeat-type member of the galectin family which can specifically recognize and bind to galactosidase associated with diverse biological processes. Gal-9 is widely expressed in various tissues, plays a role in cell growth, polarization, adhesion, aggregation, and

apoptosis, and has important functions in inflammatory diseases, autoimmune diseases, tumors, and infections. Our recent studies showed that Gal-9 is strongly associated with the genesis and development of inflammatory bowel disease. Here we will review the progress in understanding the role of Gal-9 in the pathogenesis of inflammatory bowel disease.

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

Key Words: Galectin-9; Inflammatory bowel disease; Tim-3; Immunity

Zhu LP, Wang PJ, Liu J, Li LJ, Li ZG, Jiang HY, Feng BS. Galectin-9 and inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 515-520 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.515>

## 摘要

半乳糖凝集素-9(galectin-9, Gal-9)是能特异性识别、结合半乳糖苷的半乳糖凝集素家族成员之一。该蛋白广泛表达于机体组织, 参与细胞生长、分化、黏附、聚集、凋亡等, 与炎症性疾病、自身免疫性疾病、肿瘤、细菌病毒感染等多类疾病密切相关。近年研究发现, Gal-9与炎症性肠病的发生、发展关系密切, 本文就Gal-9与炎症性肠病的关系进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 半乳糖凝集素-9; 炎症性肠病; Tim-3; 免疫

核心提示: 半乳糖凝集素-9(galectin-9, Gal-9)负性调控Th1/Th17细胞免疫应答, 介导相应免疫细胞细胞凋亡, Gal-9及其相关调控因子表达异常参与炎症性肠病(inflammatory bowel disease)的发生发展。

朱丽萍, 王鹏举, 刘静, 李林静, 李治国, 江红艳, 冯百岁. 半乳糖凝集素-9与炎症性肠病关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 515-520 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/515.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.515>

## ■背景资料

早期研究发现半乳糖凝集素-9(galectin-9, Gal-9)参与细胞生长、分化、黏附、聚集、凋亡等多种生物学活动, 与炎症性疾病、自身免疫性疾病、肿瘤、细菌病毒感染等多类疾病密切相关, 近年来研究显示, Gal-9在免疫调节中发挥广泛且复杂的作用, 与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的关系受到越来越多学者的关注。

## ■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

## ■ 研发前沿

Gal-9与IBD的发生、发展关系密切,但不同学者提出不同的信号通路,何种信号通路在IBD中起决定作用尚不清楚,这是当今乃至今后的研究热点。

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种发病机制不明确,与环境、遗传、免疫等因素相关反复发作的慢性肠道炎症性疾病,包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)、克罗恩病(Crohn's disease, CD)。近年来IBD发病率有逐渐增高的趋势,但其确切发病机制还不十分清楚。肠道内环境与宿主不恰当的免疫应答正受到密切关注,目前一般认为IBD是遗传易感人群肠道黏膜损伤后,过量细菌侵入黏膜下层,激发固有及适应性异常免疫应答所致。半乳糖凝集素-9(galectin-9, Gal-9)是能特异性识别、结合半乳糖苷的半乳糖凝集素(galectin)家族成员之一,可与多种糖蛋白连接发挥作用,并参与细胞生长、分化、黏附、聚集、凋亡等多种生物学活动,与炎症性疾病、自身免疫性疾病、肿瘤、细菌病毒感染等多类疾病密切相关<sup>[1]</sup>,尤其与炎症性肠病的发生、发展的关系受到越来越多学者关注。

## 1 Gal-9的生物学功能

**1.1 Gal-9概述** 半乳糖凝集素-9(galectin-9, Gal-9)是1997年由Wada等<sup>[2]</sup>从鼠胚肾组织中首次分离出来的能特异性识别、结合半乳糖苷,具有嗜酸性粒细胞趋化性<sup>[1]</sup>的半乳糖凝集素(galectin)家族成员之一,他存在于多种物种,并在组织分布上具有广泛性。他由2个串联的糖识别结构域(carbohydrate-recognition domains, CRD)通过一条肽链相连而成,其中C-CRD是受体识别、诱导T细胞凋亡的最主要决定区域<sup>[3,4]</sup>,而N-CRD在激活树突状细胞(dendritic-like cells, DCs)方面更有效<sup>[4]</sup>。在结构上可分为膜结合型、可溶型两种,根据CRD连接肽段的长短可分为L、M、S三种亚型, T细胞有选择性的高表达Gal-9(M)、Gal-9(L),低表达Gal-9(S),而在结肠癌细胞血管黏附上Gal-9(L)具有抑制作用, Gal-9(S)、Gal-9(M)具有促进作用<sup>[5]</sup>。人Gal-9基因位于人类染色体17q11.1,包括11个外显子,转录区长度约为1.7 kb,编码蛋白相对分子量约34-39 kDa,在人体肝脏、脾脏、小肠、肾脏、肺脏、骨骼肌、免疫细胞等组织中广泛表达。不同位置的Gal-9其功能或是相反的,如胞内的Gal-9可触发单核细胞释放促炎因子<sup>[1]</sup>,而胞外的Gal-9可诱导单核细胞凋亡<sup>[6]</sup>。

**1.2 Gal-9与免疫调节** Gal-9是一种新发现的以Tim-3、CD44为主要受体分子的嗜酸性粒细胞

趋化因子,其以浓度依赖的方式延长嗜酸性粒细胞的存活,并抑制其凋亡<sup>[7]</sup>。因Tim-3表达于特异性T细胞<sup>[8]</sup>、固有免疫细胞<sup>[9]</sup>,故Gal-9在免疫调节中发挥着重要作用。在单纯疱疹病毒感染中Gal-9对CD8<sup>+</sup> T细胞具有抑制作用,潜伏感染时上调的Gal-9表达可致CD8<sup>+</sup> T细胞免疫活性减弱,而Gal-9基因敲除的小鼠, CD8<sup>+</sup> T细胞免疫活性较强<sup>[10,11]</sup>。Gal-9/Tim-3反应可激活CD4<sup>+</sup> T细胞,在HIV-1感染中抑制持续的免疫激活及相关的组织损伤。丙型肝炎患者的肝脏库普弗细胞有更多的Gal-9表达,并伴有循环血中Gal-9升高<sup>[12]</sup>,通过与Tim-3结合参与固有免疫应答及适应性Th1/Tc1功能失调,最终导致HCV持续感染<sup>[13]</sup>。

**1.3 Gal-9与细胞黏附、聚集** Gal-9在机体组织中广泛表达,其黏附、聚集作用在多种生物活动中发挥重要的调节作用。成纤维细胞膜上的Gal-9在干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )的诱导下表达增多,这些胞膜Gal-9表达量升高的细胞即可被嗜酸性粒细胞有选择性地黏附<sup>[14]</sup>。该蛋白对CD44依赖的白细胞识别、黏附细胞外基质发挥调节作用,是其抑制气道过敏性炎症和气道高反应的重要机制<sup>[15]</sup>。除参与炎症反应外, Gal-9在肿瘤转移中也发挥重要作用。有研究指出,当Gal-9表达降低时,乳腺癌细胞聚集表现被抑制,而增殖、黏附、侵袭作用增强<sup>[16]</sup>,与之前有关黑色素瘤的研究结果类似<sup>[17]</sup>。

**1.4 Gal-9与细胞凋亡** Gal-9在细胞凋亡中发挥重要作用,如在丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染患者肝库普弗细胞表面, Gal-9可通过活化Caspase8途径诱导HCV特异性CD8<sup>+</sup> T细胞凋亡<sup>[12]</sup>,而抗蛋白酶的重组Gal-9(hGal-9)可通过Caspase8、9、3诱导5种骨髓瘤细胞的凋亡<sup>[18]</sup>。此外, Gal-9还可促使DC、Tim-3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> T细胞活化增殖,产生更多的穿孔素、颗粒酶B诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[19]</sup>。而Gal-9通过钙-钙蛋白酶-Caspase1信号通路诱导如MOLT-4(T细胞)、THP-1(巨噬细胞)等多种免疫细胞凋亡<sup>[20,21]</sup>,是其参与机体炎症反应的重要机制之一。

## 2 Gal-9与IBD的关系

IBD是一种发病机制不明确,与环境、遗传、免疫等因素相关反复发作的慢性肠道炎症性疾病<sup>[22]</sup>。近年来,其发病率有逐渐增高的趋势,但其确切发病机制还不十分清楚。目前一般认为IBD是遗传易感人群肠道黏膜损伤后,过量细菌侵入黏膜下层,激发固有及适应性异常免疫



反应所致, 其中涉及肠道感染, 肠上皮屏障破坏, 固有及适应性免疫激活等。

**2.1 Gal-9与Th1/Th17** 近年来, 炎症性肠病的发生、发展与免疫应答异常尤其是与Th1/Th17失调的关系已受到越来越多学者的密切关注。Rovedatti等<sup>[23]</sup>对IBD患者进行组织病理学研究发现, IBD患者肠黏膜炎症处比非炎症处Th17、Th1/Th17均增加, IL-17表达上调。后有学者在动物实验中也发现了类似结果, 并且应用Th1型细胞因子IL-12的抗体对炎症性肠病动物模型进行治疗, 炎症可在一定程度上得到缓解, 而Th1型细胞因子IFN- $\gamma$ 缺陷小鼠不能诱导结肠炎的发生<sup>[24,25]</sup>。Gal-9对Th1、Th2、Th17、Tregs、嗜酸性粒细胞等免疫细胞具有调节作用已得到大量研究的支持; 其与Tim-3结合, 下调自身免疫性疾病, 诱导免疫耐受也成为近年来免疫异常类疾病的研究热点。因Gal-9与Tim-3结合可诱导Th1细胞凋亡, 阻止Th1、Th17细胞因子的释放(保护作用), 负性调节Th1/Th17, 上调调节性T细胞(Tregs)<sup>[26]</sup>, 可推测Gal-9/Tim-3与炎症性肠病的发生发展密切相关, Gal-9与Tim-3结合或有下调IBD炎症反应的作用。

另有学者研究发现, 溃疡性结肠炎患者及结肠炎模型小鼠体内Tim-3、Gal-9较正常者明显降低, 并伴有Th17响应升高, Treg细胞响应衰减, Th1反应明显降低。应用外源性Gal-9干预可改变不同T细胞亚群间的平衡, 减轻小鼠结肠炎症状<sup>[27]</sup>, 这与Veenstra等<sup>[28]</sup>在GVHD的研究中发现, 应用Tim-3抗体或利用Tim-3基因敲除方法阻断Tim-3/Gal-9反应, 可增高T细胞增殖及GVHD肠道炎症表现的结果一致。提示了Tim-3/Gal-9通路异常与结肠炎关系密切, 或是UC的发病机制之一。Li等<sup>[29]</sup>在TNBS-结肠炎建模前12 h腹腔注射重组Tim-3蛋白能够明显加重小鼠结肠炎症状, 且结肠炎症状与小鼠体内Tim-3<sup>+</sup>细胞成正相关, 前炎性因子IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL-23水平明显升高, 而抗炎性因子IL-4、TGF- $\beta$ 水平明显下降; 经典的Treg细胞群表达CD25、FoxP3的CD4<sup>+</sup> T细胞数目减少, 肠系膜淋巴结细胞CD80表达水平下降, 同时CD4<sup>+</sup> T细胞CTLA-4的表达降低, 而CD28的表达升高。提示了Tim-3分子可能通过对共刺激分子CD28、CD80、CTLA-4的调节, 影响CD4<sup>+</sup> T效应细胞不同亚群的极化, 发挥对结肠炎的负调节作用, 提示了Gal-9相对减少或增加结肠炎的炎症反应。同样有研究发现, CD患者黏膜下及外周血中Th1表面Tim-3表达较对照组

明显降低, 并伴有Th1表面Tim-3上调异常, Tim-3的相对减少或致CD发病<sup>[30]</sup>。提示Tim-3/Gal-9通路或在UC、CD的发病中发挥不同的调节作用, 或为IBD治疗提供新思路。

**2.2 Gal-9与固有免疫** 大量研究证明, 肥大细胞增殖、脱颗粒增多可激活固有免疫、适应性免疫, 介导神经免疫相互作用, 进而破坏肠上皮屏障, 而参与IBD发病<sup>[31,32]</sup>。我们前期研究发现, 肥大细胞还可通过Fc- $\gamma$ 受体与鞭毛蛋白特异性结合后脱颗粒, 在肠道炎症反应中发挥重要作用<sup>[33]</sup>。而已有学者在过敏性肠炎的研究中发现, 肠上皮细胞、血清中Gal-9表达与急性过敏的皮肤反应, 肥大细胞脱颗粒, Th1、Treg细胞分化成负相关<sup>[34]</sup>。而Gal-9调节作用是通过参与调节外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)分泌IFN- $\gamma$ 、IL-10的过程实现的<sup>[35]</sup>。另有研究发现, 肥大细胞产生的类胰蛋白酶可激活T84细胞的PAR-2受体, 进而诱导T84细胞表达Gal-9增多, 应用外源性Gal-9抗体阻断Gal-9作用则可抑制抗原特异性Th2反应, 小鼠肠道炎症减轻<sup>[36]</sup>, 这与前文Shi、Li等<sup>[2-29,33]</sup>指出的Gal-9具有抑制结肠炎症的作用不一致, 或许是Gal-9在不同类型的结肠炎中参与的免疫通路不同, 对于不同类型肠道炎症的调节作用或许相反, 因此Gal-9在IBD中的具体免疫调节机制有待进一步研究。此外, 肥大细胞也可分泌Gal-9, 且可发挥自分泌调节作用, 抑制IgE与抗原结合后诱导的肥大细胞过度脱颗粒<sup>[37]</sup>。由此可推测Gal-9或是通过调节肥大细胞免疫功能从而调节IBD发病。我们前期研究发现, 应用美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎后, 患者血清TNF- $\alpha$ 及IL-8较柳氮磺吡啶对照组降低, 且临床症状缓解、镜下黏膜修复优于对照组<sup>[38]</sup>。后进一步研究发现实验性结肠炎小鼠结肠黏膜有大量炎性细胞浸润并TNF mRNA水平明显升高, 抗TNF-单克隆抗体治疗可有效地阻断慢性结肠炎的发生, 降低CD4<sup>+</sup> T细胞和单核巨噬细胞浸润及CD4<sup>+</sup> T细胞效应应答<sup>[39]</sup>。TLR2介导HMC-1细胞对PGN的吸收, 致T84单层屏障功能破坏, 阻断TLR2可阻断HMC-1被激活, 及其引起的T84单层屏障功能减退<sup>[40]</sup>。人固有免疫的单核/巨噬细胞特异性受体(刺激性的有TLR, 抑制性的有Tim-3)与微生物产物结合后, 进行识别、应答。有研究发现, 其他细胞表达的Gal-9与单核/巨噬细胞表达的Tim-3结合后, 可负性调节TLR介导的IL-12表达。而单核细胞表达的强效的或沉默的Gal-9可通过

#### ■相关报道

大量研究证实, Gal-9负性调控Th1/Th17细胞免疫应答, Tim-3表达失调参与自身免疫性疾病、过敏性疾病、病毒及细菌感染相关疾病等多种疾病。

### ■创新盘点

本文从Gal-9的生物学功能及其与IBD的关系两部分进行了较为系统的阐述,指出Gal-9在IBD发生、发展中的可能参与的信号通路,或是IBD治疗的新靶点。

加强的TLR信号通路调节*Tim-3*、*IL-12/IL-23*基因转录<sup>[41]</sup>。另有研究也发现, Gal-9可下调巨噬细胞TNF- $\alpha$ 、TLR2表达,降低小鼠体内的促炎因子、趋化因子,如TNF- $\alpha$ 、IL-1B、IL-6及角化细胞衍生细胞因子。而Gal-9缺陷小鼠急性炎症明显,中性粒细胞、TNF- $\alpha$ 升高,应用Gal-9治疗后炎症减轻<sup>[42]</sup>。由此可推测, Gal-9或通过固有免疫中发挥重要的调节作用而参与IBD的发病。

**2.3 Gal-9与肠道感染** IBD是一种病因及发病机制尚不完全明确的非特异性慢性肠道炎症性疾病,目前,肠道微生物及微生物产物因素越来越受到重视。我们前期研究发现,肠上皮细胞可转运肽聚糖与肥大细胞表面TLR2受体结合,呈递于胞内NOD2受体,进而肥大细胞活化脱颗粒释放组胺等炎症介质参与肠道炎症的发生<sup>[43]</sup>。UC患者血清中鞭毛蛋白抗体及黏膜下鞭毛蛋白量较对照组明显增多,且与病情呈正相关<sup>[44]</sup>。最近的流行病学分析发现,急性弯曲菌肠炎可诱发易感人群发生IBD或使IBD患者病情加重<sup>[45,46]</sup>,这可能因为肠上皮细胞受到相应抗原刺激后发生M样细胞变化,发挥转运、胞吞抗原的作用,而这种可逆性分化与Caco-2细胞、淋巴滤泡相关上皮细胞Gal-9表达上调有关<sup>[47]</sup>。Kalischuk等<sup>[48]</sup>发现空肠弯曲菌可诱导非侵入性共生菌通过上皮转胞吞作用移位,破坏肠上皮屏障功能;而受弯曲菌感染的单层肠上皮表达Gal-9的增高,肠绒毛结构缺失及与吸收功能相关的分子表达明显减少<sup>[49]</sup>,提示了IBD与肠道细菌感染发病相关,而Gal-9或参与肠上皮屏障破坏及激活免疫应答,但其确切机制还有待进一步研究。

**2.4 Gal-9与凝血** 已有研究发现,IBD患者体内存在与凝血激活和全身炎症反应中的血小板聚集有关的较高血栓风险<sup>[50]</sup>,应用氯吡格雷抑制血小板聚集可降低IBD模型小鼠的CMDI、DAI、MPO积分、减轻体重降低<sup>[51]</sup>,此外,已有学者指出, Gal-9还可激活凝血酶,促使血小板聚集,在凝血中发挥重要调节作用<sup>[52]</sup>。由此可推测, Gal-9或是IBD高凝状态的始动因子,但需进一步研究证实。

### 3 结论

Gal-9作为一种作用复杂,分布广泛的半乳糖结合蛋白,在免疫调节中发挥重要作用,为IBD的研究提供了一个新思路。其参与固有及适应性免疫调节,与IBD的发生、发展关系密切,并有望成为IBD治疗的新靶点。但因其表达广泛、作用复杂而在IBD研究中的具体机制尚不完全明确,尚需进一步研究。

### 4 参考文献

- 1 Wiersma VR, de Bruyn M, Helfrich W, Bremer E. Therapeutic potential of Galectin-9 in human disease. *Med Res Rev* 2013; 33 Suppl 1: E102-E126 [PMID: 21793015 DOI: 10.1002/med.20249]
- 2 Wada J, Kanwar YS. Identification and characterization of galectin-9, a novel beta-galactoside-binding mammalian lectin. *J Biol Chem* 1997; 272: 6078-6086 [PMID: 9038233 DOI: 10.1074/jbc.272.9.6078]
- 3 Bi S, Earl LA, Jacobs L, Baum LG. Structural features of galectin-9 and galectin-1 that determine distinct T cell death pathways. *J Biol Chem* 2008; 283: 12248-12258 [PMID: 18258591 DOI: 10.1074/jbc.M800523200]
- 4 Bose KS, Sarma RH. Delineation of the intimate details of the backbone conformation of pyridine nucleotide coenzymes in aqueous solution. *Biochem Biophys Res Commun* 1975; 66: 1173-1179 [PMID: 2 DOI: 10.1016/j.molimm.2010.11.011]
- 5 Zhang F, Zheng M, Qu Y, Li J, Ji J, Feng B, Lu A, Li J, Wang M, Liu B. Different roles of galectin-9 isoforms in modulating E-selectin expression and adhesion function in LoVo colon carcinoma cells. *Mol Biol Rep* 2009; 36: 823-830 [PMID: 18401566 DOI: 10.1007/s11033-008-9251-1]
- 6 Matsuura A, Tsukada J, Mizobe T, Higashi T, Mouri F, Tanikawa R, Yamauchi A, Hirashima M, Tanaka Y. Intracellular galectin-9 activates inflammatory cytokines in monocytes. *Genes Cells* 2009; 14: 511-521 [PMID: 19335620 DOI: 10.1111/j.1365-2443.2009.01287.x]
- 7 Matsumoto R, Hirashima M, Kita H, Gleich GJ. Biological activities of egalectin: a novel eosinophil-activating factor. *J Immunol* 2002; 168: 1961-1967 [PMID: 11823532 DOI: 10.1007/s11033-008-9251-2]
- 8 Zhu C, Anderson AC, Schubart A, Xiong H, Imitola J, Khoury SJ, Zheng XX, Strom TB, Kuchroo VK. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity. *Nat Immunol* 2005; 6: 1245-1252 [PMID: 16286920 DOI: 10.1038/ni1271]
- 9 Freeman GJ, Casasnovas JM, Umetsu DT, DeKruyff RH. TIM genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity. *Immunol Rev* 2010; 235: 172-189 [PMID: 20536563 DOI: 10.1111/j.0101]
- 10 Sehrawat S, Reddy PB, Rajasagi N, Suryawanshi A, Hirashima M, Rouse BT. Galectin-9/TIM-3 interaction regulates virus-specific primary and memory CD8 T cell response. *PLoS Pathog* 2010; 6: e1000882 [PMID: 20463811 DOI: 10.1371/journal.ppat.10]
- 11 Reddy PB, Sehrawat S, Suryawanshi A, Rajasagi NK, Mulik S, Hirashima M, Rouse BT. Influence of galectin-9/Tim-3 interaction on herpes simplex virus-1 latency. *J Immunol* 2011; 187: 5745-5755 [PMID: 22021615 DOI: 10.4049/jimmunol.1102105]
- 12 Mengshol JA, Golden-Mason L, Arikawa T, Smith M, Niki T, McWilliams R, Randall JA, McMahan R, Zimmerman MA, Rangachari M, Dobrinskikh E, Busson P, Polyak SJ, Hirashima M, Rosen HR. A crucial role for Kupffer cell-derived galectin-9 in regulation of T cell immunity in hepatitis C infection.

- tion. *PLoS One* 2010; 5: e9504 [PMID: 20209097 DOI: 10.1371/journal.pone.0009504]
- 13 Bitensky L, Cashman B, Johnstone JJ, Chayen J. Effect of glucocorticoids on the hexose monophosphate pathway in human rheumatoid synovial lining cells in vitro and in vivo. *Ann Rheum Dis* 1977; 36: 448-452 [PMID: 21637 DOI: 10.1371/journal.pone.0019664]
  - 14 Asakura H, Kashio Y, Nakamura K, Seki M, Dai S, Shirato Y, Abedin MJ, Yoshida N, Nishi N, Imaizumi T, Saita N, Toyama Y, Takashima H, Nakamura T, Ohkawa M, Hirashima M. Selective eosinophil adhesion to fibroblast via IFN-gamma-induced galectin-9. *J Immunol* 2002; 169: 5912-5918 [PMID: 12421975]
  - 15 Katoh S, Ishii N, Nobumoto A, Takeshita K, Dai SY, Shinonaga R, Niki T, Nishi N, Tominaga A, Yamauchi A, Hirashima M. Galectin-9 inhibits CD44-hyaluronan interaction and suppresses a murine model of allergic asthma. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 27-35 [PMID: 17446336 DOI: 10.1164/rccm]
  - 16 Zhang ZY, Dong JH, Chen YW, Wang XQ, Li CH, Wang J, Wang GQ, Li HL, Wang XD. Galectin-9 acts as a prognostic factor with antimetastatic potential in hepatocellular carcinoma. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2503-2509 [PMID: 22938412]
  - 17 Kageshita T, Kashio Y, Yamauchi A, Seki M, Abedin MJ, Nishi N, Shoji H, Nakamura T, Ono T, Hirashima M. Possible role of galectin-9 in cell aggregation and apoptosis of human melanoma cell lines and its clinical significance. *Int J Cancer* 2002; 99: 809-816 [PMID: 12115481 DOI: 10.103]
  - 18 Kobayashi T, Kuroda J, Ashihara E, Oomizu S, Terui Y, Taniyama A, Adachi S, Takagi T, Yamamoto M, Sasaki N, Horiike S, Hatake K, Yamauchi A, Hirashima M, Taniwaki M. Galectin-9 exhibits anti-myeloma activity through JNK and p38 MAP kinase pathways. *Leukemia* 2010; 24: 843-850 [PMID: 20200560 DOI: 10.1038/leu.2010.25]
  - 19 Nagahara K, Arikawa T, Oomizu S, Kontani K, Nobumoto A, Tateno H, Watanabe K, Niki T, Katoh S, Miyake M, Nagahata S, Hirabayashi J, Kuchroo VK, Yamauchi A, Hirashima M. Galectin-9 increases Tim-3+ dendritic cells and CD8+ T cells and enhances antitumor immunity via galectin-9-Tim-3 interactions. *J Immunol* 2008; 181: 7660-7669 [PMID: 19017954]
  - 20 Lu LH, Nakagawa R, Kashio Y, Ito A, Shoji H, Nishi N, Hirashima M, Yamauchi A, Nakamura T. Characterization of galectin-9-induced death of Jurkat T cells. *J Biochem* 2007; 141: 157-172 [PMID: 17167046 DOI: 10.1093/jb/mvm019]
  - 21 Kashio Y, Nakamura K, Abedin MJ, Seki M, Nishi N, Yoshida N, Nakamura T, Hirashima M. Galectin-9 induces apoptosis through the calcium-calpain-caspase-1 pathway. *J Immunol* 2003; 170: 3631-3636 [PMID: 12646627]
  - 22 Functional bowel symptoms in quiescent inflammatory bowel diseases: role of epithelial barrier disruption and low-grade inflammation. *Gut* 2013 Jul 22. [Epub ahead of print] [PMID: 23878165]
  - 23 Rovedatti L, Kudo T, Biancheri P, Sarra M, Knowles CH, Rampton DS, Corazza GR, Monteleone G, Di Sabatino A, Macdonald TT. Differential regulation of interleukin 17 and interferon gamma production in inflammatory bowel disease. *Gut* 2009; 58: 1629-1636 [PMID: 19740775 DOI: 10.1136/gut.2009.182170]
  - 24 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nat]
  - 25 Sarra M, Pallone F, Macdonald TT, Monteleone G. IL-23/IL-17 axis in IBD. *Inflamm Bowel Dis* 2010; 16: 1808-1813 [PMID: 20222127 DOI: 10.1002/ibd.21248]
  - 26 Seki M, Oomizu S, Sakata KM, Sakata A, Arikawa T, Watanabe K, Ito K, Takeshita K, Niki T, Saita N, Nishi N, Yamauchi A, Katoh S, Matsukawa A, Kuchroo V, Hirashima M. Galectin-9 suppresses the generation of Th17, promotes the induction of regulatory T cells, and regulates experimental autoimmune arthritis. *Clin Immunol* 2008; 127: 78-88 [PMID: 18282810 DOI: 10.1016/j.clim.2008.01.006]
  - 27 Shi F, Guo X, Jiang X, Zhou P, Xiao Y, Zhou T, Chen G, Zhao Z, Xiao H, Hou C, Li X, Yang X, Wang R, Feng J, Shen B, Li Y, Han G. Dysregulated Tim-3 expression and its correlation with imbalanced CD4 helper T cell function in ulcerative colitis. *Clin Immunol* 2012; 145: 230-240 [PMID: 23117395 DOI: 10.1016/j.clim.2]
  - 28 Veenstra RG, Taylor PA, Zhou Q, Panoskaltsis-Mortari A, Hirashima M, Flynn R, Liu D, Anderson AC, Strom TB, Kuchroo VK, Blazar BR. Contrasting acute graft-versus-host disease effects of Tim-3/galectin-9 pathway blockade dependent upon the presence of donor regulatory T cells. *Blood* 2012; 120: 682-690 [PMID: 22677125 DOI: 10.1182/blood-2011-10-387977]
  - 29 Li X, Chen G, Li Y, Wang R, Wang L, Lin Z, Gao X, Feng J, Ma Y, Shen B, Li Y, Han G. Involvement of T cell Ig Mucin-3 (Tim-3) in the negative regulation of inflammatory bowel disease. *Clin Immunol* 2010; 134: 169-177 [PMID: 19913460 DOI: 10.1016/j.clim.2009.09.012]
  - 30 Morimoto K, Hosomi S, Yamagami H, Watanabe K, Kamata N, Sogawa M, Machida H, Okazaki H, Tanigawa T, Nagahara H, Noda E, Tominaga K, Watanabe T, Fujiwara Y, Maeda K, Hirakawa K, Arakawa T. Dysregulated upregulation of T-cell immunoglobulin and mucin domain-3 on mucosal T helper 1 cells in patients with Crohn's disease. *Scand J Gastroenterol* 2011; 46: 701-709 [PMID: 21463244 DOI: 10.3109/00365521.2011.568518]
  - 31 De Winter BY, van den Wijngaard RM, de Jonge WJ. Intestinal mast cells in gut inflammation and motility disturbances. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1822: 66-73 [PMID: 21497195 DOI: 10.1016/j.bbdis.2011.03.016]
  - 32 Wierzbicki M, Brzezińska-Błaszczak E. [The role of mast cells in the development of inflammatory bowel diseases]. *Postepy Hig Med Dosw (Online)* 2008; 62: 642-650 [PMID: 19037190]
  - 33 Chen X, Feng BS, Zheng PY, Liao XQ, Chong J, Tang SG, Yang PC. Fc gamma receptor signaling in mast cells links microbial stimulation to mucosal immune inflammation in the intestine. *Am J Pathol* 2008; 173: 1647-1656 [PMID: 18974296 DOI: 10.2353/ajpath]
  - 34 de Kivit S, Saeland E, Kraneveld AD, van de Kant HJ, Schouten B, van Esch BC, Knol J, Sprickelman AB, van der Aa LB, Knippels LM, Garssen J, van Kooyk Y, Willemsen LE. Galectin-9 induced by dietary synbiotics is involved in suppression of allergic symptoms in mice and humans. *Allergy* 2012; 67: 343-352 [PMID: 22229637]

# 应用要点

Gal-9与其配体及相关调控因子在IBD中表达失调或功能异常,有望通过改变其表达或修复其功能,指导临床疗效评估及药物靶向治疗。



## ■同行评价

本文选题较为新颖, 文献调研较充分, 内容也较全面, 具有一定指导意义。

- 35 de Kivit S, Kraneveld AD, Knippels LM, van Kooyk Y, Garssen J, Willemsen LE. Intestinal epithelium-derived galectin-9 is involved in the immunomodulating effects of nondigestible oligosaccharides. *J Innate Immun* 2013; 5: 625-638 [PMID: 23735749 DOI: 10.1159/000350515]
- 36 Chen X, Song CH, Liu ZQ, Feng BS, Zheng PY, Li P, In SH, Tang SG, Yang PC. Intestinal epithelial cells express galectin-9 in patients with food allergy that plays a critical role in sustaining allergic status in mouse intestine. *Allergy* 2011; 66: 1038-1046 [PMID: 21426359 DOI: 10.1111/j.1398-9995.2011.02585.x]
- 37 Niki T, Tsutsui S, Hirose S, Aradono S, Sugimoto Y, Takeshita K, Nishi N, Hirashima M. Galectin-9 is a high affinity IgE-binding lectin with anti-allergic effect by blocking IgE-antigen complex formation. *J Biol Chem* 2009; 284: 32344-32352 [PMID: 19776007]
- 38 冯百岁, 刘占举, 牛正先. 美沙拉嗪治疗溃疡性结肠炎的临床疗效及对血清TNF- $\alpha$ 和IL-8的影响. *郑州大学学报(医学版)* 2006; 41: 830-832
- 39 冯百岁, 刘占举. 抗肿瘤坏死因子- $\alpha$ 单克隆抗体与小鼠发生的慢性结肠炎的关系. *中国实用内科杂志* 2006; 26: 280-282
- 40 冯百岁, 张文萍, 陈永忠. TLR和NOD2在肥大细胞激活中的作用. *河南医学研究* 2008; 17: 301-304
- 41 Ma CJ, Li GY, Cheng YQ, Wang JM, Ying RS, Shi L, Wu XY, Niki T, Hirashima M, Li CF, Moorman JP, Yao ZQ. Cis association of galectin-9 with Tim-3 differentially regulates IL-12/IL-23 expressions in monocytes via TLR signaling. *PLoS One* 2013; 8: e72488 [PMID: 23967307 DOI: 10.1371/journal.pone.0072488]
- 42 Kojima K, Arikawa T, Saita N, Goto E, Tsumura S, Tanaka R, Masunaga A, Niki T, Oomizu S, Hirashima M, Kohrogi H. Galectin-9 attenuates acute lung injury by expanding CD14<sup>+</sup> plasmacytoid dendritic cell-like macrophages. *Am J Respir Crit Care Med* 2011; 184: 328-339 [PMID: 21562126 DOI: 10.1164/rccm.20]
- 43 Wu L, Feng BS, He SH, Zheng PY, Croitoru K, Yang PC. Bacterial peptidoglycan breaks down intestinal tolerance via mast cell activation: the role of TLR2 and NOD2. *Immunol Cell Biol* 2007; 85: 538-545 [PMID: 17563761 DOI: 10.1164/rccm.201010-1566O]
- 44 周川, 郝卉杰, 薛福敏, 张建立, 石朝阳, 杨万荷, 全亚林, 冯百岁. 溃疡性结肠炎患者血清和结肠上皮细胞中细菌鞭毛蛋白的表达. *郑州大学学报(医学版)* 2012; 47: 454-456
- 45 Masclee GM, Penders J, Jonkers DM, Wolffs PF, Pierik MJ. Is clostridium difficile associated with relapse of inflammatory bowel disease? results from a retrospective and prospective cohort study in the Netherlands. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 2125-2131 [PMID: 23867869 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318297d222]
- 46 O'Hara JR, Feener TD, Fischer CD, Buret AG. Campylobacter jejuni disrupts protective Toll-like receptor 9 signaling in colonic epithelial cells and increases the severity of dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Infect Immun* 2012; 80: 1563-1571 [PMID: 22311925 DOI: 10.1128/IAI.06066-11]
- 47 Pielage JF, Cichon C, Greune L, Hirashima M, Kucharzik T, Schmidt MA. Reversible differentiation of Caco-2 cells reveals galectin-9 as a surface marker molecule for human follicle-associated epithelia and M cell-like cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2007; 39: 1886-1901 [PMID: 17596995]
- 48 Kalischuk LD, Inglis GD, Buret AG. Campylobacter jejuni induces transcellular translocation of commensal bacteria via lipid rafts. *Gut Pathog* 2009; 1: 2 [PMID: 19338680 DOI: 10.1186/1757-4749-1-2]
- 49 Kalischuk LD, Leggett F, Inglis GD. Campylobacter jejuni induces transcytosis of commensal bacteria across the intestinal epithelium through M-like cells. *Gut Pathog* 2010; 2: 14 [PMID: 21040540 DOI: 10.1186/1757]
- 50 Stadnicki A. Involvement of coagulation and hemostasis in inflammatory bowel diseases. *Curr Vasc Pharmacol* 2012; 10: 659-669 [PMID: 22272910 DOI: 10.2174/157016112801784495]
- 51 Patel SH, Rachchh MA, Jadav PD. Evaluation of anti-inflammatory effect of anti-platelet agent-clopidogrel in experimentally induced inflammatory bowel disease. *Indian J Pharmacol* 2012; 44: 744-748 [PMID: 23248405 DOI: 10.4103/0253-7613.103278]
- 52 Nishi N, Itoh A, Shoji H, Miyanaka H, Nakamura T. Galectin-8 and galectin-9 are novel substrates for thrombin. *Glycobiology* 2006; 16: 15C-20C [PMID: 16868247 DOI: 10.1093/glycob/cw1028]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 炎症性肠病与间充质干细胞的研究进展

林 艳, 郑长青

林艳, 郑长青, 中国医科大学附属盛京医院第二消化内科 辽宁省沈阳市 110022

林艳, 讲师, 主治医师, 主要从事炎症性肠病的研究.

沈阳市科学技术基金资助项目, No. F13-318-1-42

作者贡献分布: 本文综述由林艳完成; 郑长青审核.

通讯作者: 林艳, 讲师, 主治医师, 110022, 辽宁省沈阳市铁西区滑翔路39号, 中国医科大学附属盛京医院第二消化内科. lin\_yan02@sina.com

电话: 024-96615-26211

收稿日期: 2013-11-20 修回日期: 2013-12-25

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-08

## Inflammatory bowel disease and mesenchymal stem cells

Yan Lin, Chang-Qing Zheng

Yan Lin, Chang-Qing Zheng, Second Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110022, Liaoning Province, China

Supported by: the Science and Technology Project of Shenyang, No. F13-318-1-42

Correspondence to: Yan Lin, Lecturer, Attending Physician, Second Department of Gastroenterology, Shengjing Hospital, China Medical University, 39 Huaxiang Street, Tiexi District, Shenyang 110022, Liaoning Province, China. lin\_yan02@sina.com

Received: 2013-11-20 Revised: 2013-12-25

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a group of chronic non-specific inflammatory disease with unknown etiology; it is associated with genetic factors, immune factors, intestinal flora, infection, and other factors. In recent years, mesenchymal stem cells (MSCs) have attracted more and more attention in the treatment of IBD, and the therapeutic effects may be associated with their anti-inflammatory and immunomodulatory effects as well as intestinal epithelium reconstruction. In this article, we will review the causes of IBD and possible mechanisms of MSCs in treating IBD.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; Mesenchymal stem cells; Etiology; Treatment

Lin Y, Zheng CQ. Inflammatory bowel disease and

mesenchymal stem cells. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(4): 521-526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/521.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.521>

## 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组病因未明的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 其发病与遗传、免疫、肠道菌群、感染等多方面因素有关. 近年来间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)在IBD治疗中的作用得到越来越多的重视, 其治疗IBD可能与其抗炎、免疫调节及肠上皮重建等多方面机制有关. 本研究将对IBD的病因以及MSCs在治疗IBD中的可能机制进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 炎症性肠病; 间充质干细胞; 病因; 治疗

**核心提示:** 炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)作为一种病因尚未完全明确的慢性非特异性肠道炎症性疾病, 其传统的治疗方法多不能使患者的病情得到长期的缓解及控制复发. 而间充质干细胞在IBD治疗中的作用得到了较多的认可和一定程度的进展. 本文通过综述国内外文献对上述问题进行探讨.

林艳, 郑长青. 炎症性肠病与间充质干细胞的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 521-526 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/521.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.521>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病, 其具体的病因还未完全明确, IBD主要分为溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(Crohn's disease, CD)两种类型. 本病呈慢性复发迁延病程, 治疗效果不佳, 多数患者的生活质量受到严重影响<sup>[1]</sup>. 近年来, 随着人们不断提高的生活水平以及类似于西方化生活方式的转变, 我国IBD的

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)呈慢性复发迁延病程, 传统的治疗效果不佳. 近年来, 间充质干细胞移植来修复机体的受损组织从而治疗或者治愈疾病成为医学界的热点研究. 本文将对间充质干细胞与IBD的研究进展进行综述, 探讨间充质干细胞治疗IBD的可能机制.

## ■同行评议者

潘秀珍, 教授, 主任医师, 福建省立医院消化科

## ■ 研发前沿

本文通过对国内外文献的综述来探讨IBD的可能病因以及间充质干细胞治疗IBD的可能机制,为间充质干细胞在临床中的应用提出一定的理论依据。

发病率逐年上升。其明确的病因和发病机制尚未完全清楚,最有可能的是具有易感基因的人群在环境和肠道菌群作用下,发生免疫紊乱以及炎症反应失调。目前IBD的治疗主要还是集中在控制IBD患者的炎症活动和调节IBD患者的免疫紊乱两个方向,5-氨基水杨酸、糖皮质激素、免疫抑制剂和生物制剂往往是临床治疗过程中常采取的方案,但上述治疗均存在一定的不良反应,且不能使IBD患者的病情得到长期的缓解及控制复发。近年来,利用干细胞移植来修复机体的受损组织从而治疗或者治愈疾病成为医学界的热点研究,并且在国内外也有较多的报道证明了干细胞移植在IBD患者治疗中的作用,所以说这为IBD的治疗提供了新的选择。在国内外外的研究中,间充质干细胞在IBD治疗中的作用得到了较多的认可和一定程度的进展。因此,本文将对间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)与IBD的研究进展作一综述,探讨MSCs治疗IBD的可能机制。

## 1 IBD的病因

IBD是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病,包括UC与CD,两者在组织学和临床表现上具有较大的差异。其中CD可发生于消化系统的任何部位(从口腔至肛门均可以受累),但多见于末段回肠和邻近的结肠,呈现出非连续性的肉芽肿性病变,表现为节段性或跳跃性的分布,病变间的黏膜正常;UC最常见于直肠和结肠,其病变累及部位多自肛端的直肠逆行向近段发展,病变局限于黏膜层以及黏膜下层,呈连续性病变,表现为肠道黏膜充血水肿以及糜烂或者浅溃疡形成。目前国内外的学者多认为IBD是多因素共同作用的结果,现将其病因简述如下:(1)易感基因:IBD具有家族聚集的现象和遗传倾向,目前多数研究显现出IBD的地域、种族的差异以及单卵双生子的高共患率,以上这些均证明了遗传因素在IBD的发病过程当中起着重要的作用,当前的研究指出*NOD2/CARD15*和*ATG16L1*基因是西方犹太人与白种人群CD的重要易感基因<sup>[2,3]</sup>,此外CD的相关基因*IL23R*、*PTPN2*也被认为与CD患者的自主免疫紊乱有关联<sup>[4]</sup>;而对于UC的患者而言,*MICA*和*MICB*发生基因突变之后,其与受体NKG2D的结合能力可能发生改变,进而可以影响免疫系统的活性,诱发UC的发病<sup>[5]</sup>;此外*TNF-308A*基因发生突变以后,TNF- $\alpha$ 的活性增加或者是分泌增多进而可以导致患者肠

道黏膜致炎因子与抑炎因子的失衡,提示*TNF-308A*可能为UC患者的易感基因<sup>[6]</sup>;(2)肠道微生物:国内外众多的学者经过研究认为肠道内大量的微生物可能在IBD的发病过程有着一定的作用,由致病菌分泌的毒素能够同肠道上皮细胞膜表面的特异性受体相结合,从而导致肠道黏膜损伤或诱发炎症反应<sup>[7]</sup>,Antonelli等<sup>[8]</sup>通过研究指出空肠弯曲菌、难辨性梭状芽孢杆菌以及巨细胞病毒可能参与在IBD患者的急性发作过程中。其中,难辨性梭状芽孢杆菌在IBD患者的发病以及转归的过程之中,尤其是在使用了抗生素治疗的患者当中可能发挥着重要的作用<sup>[9,10]</sup>;(3)肠道黏膜上皮的损伤:肠黏膜屏障是肠道防御的重要组成部分,肠黏膜上皮细胞是肠内容物与固有层免疫细胞之间的天然屏障,其与IBD间的关系一直受到较为广泛的关注,曾敬清等<sup>[11]</sup>通过研究指出肠黏膜上皮细胞在病原微生物的刺激下可在炎症的早期即通过转化行使DC样专职抗原提呈细胞的作用,从而诱发肠黏膜Th2促炎应答进而参与IBD患者的发病,而Dotan等<sup>[12]</sup>通过研究指出IBD患者的肠道黏膜上皮细胞通过增强Th0细胞的活化和增殖并使其向Th1细胞分化,分泌干扰素- $\gamma$ (interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )等炎症因子,加重结肠的炎症反应;(4)肠道免疫:免疫因素,无论是肠黏膜的固有免疫还是肠黏膜的获得性免疫,均在IBD的发病中起着重要的作用和地位,这一点也得到了国内外学者和专家的广泛认可,各国学者也在肠道免疫方向进行着较多和深入的研究。最新的研究发现,肠黏膜组织中固有性免疫应答调节功能的异常与缺失在IBD患者的发病过程中发挥着重要的地位和作用<sup>[13,14]</sup>。肠道内的致病微生物抗原特异性激活IBD患者肠道黏膜内的淋巴细胞[如B细胞、T细胞、自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)、M $\phi$ 和DC细胞等]是IBD患者免疫学的重要特点<sup>[15-17]</sup>。上述免疫系统的异常应答可以导致体内多种炎症因子如介白素(interleukin, IL)-12、IL-1 $\beta$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-17、IL-4、IL-13等分泌增加,引发或者加重肠道黏膜的免疫损伤。此外,近年来也有较多的证据表明miRNA在肠道黏膜上皮的差异性表达对肠道的屏障功能也有着显著的影响,miRNA也与IBD的发生以及发展过程密切相关<sup>[18]</sup>,miRNA表达谱也有可能成为IBD患者有效的诊断工具与治疗靶点<sup>[19]</sup>;(5)其他因素,如维生素,Ikoma等<sup>[20]</sup>通过研究指出补充了维生素D和维生素E对IBD的模型大鼠肠道黏



膜的愈合具有明显的促进作用, 以上研究表明维生素在IBD患者的发病过程可能发挥着一定的作用。

## 2 间充质干细胞与IBD

**2.1 间充质干细胞** MSCs最初是20世纪70年代由Friedenstein等<sup>[21]</sup>发现的基质细胞, 随后的进一步研究证实了这些细胞的可塑性并被命名为MSCs。MSCs不仅可以来源于骨髓, 还可以来源于成人的组织如脂肪、肝脏、肺、羊水、肌肉以及肾脏等, MSCs具有较强的自我更新能力和多向分化的潜能, 在适当的诱导条件下MSCs能够向成骨细胞、脂肪细胞、肌细胞、神经细胞、肝脏细胞、心肌细胞和表皮细胞分化<sup>[22]</sup>。国际细胞治疗协会将MSCs定义<sup>[23]</sup>为: (1)贴壁性, 具有类似脂肪细胞的形态; (2)表达基质细胞的表面抗原, 但不表达造血细胞表面抗原; (3)拥有向成骨细胞、脂肪细胞以及软骨细胞分化的潜能。目前在临床和基础研究中使用的MSCs主要来自骨髓以及脐带血。

**2.2 间充质干细胞治疗IBD的可能机制** MSCs用于治疗IBD在国内外均有相关的报道, Garcia-Olmo等<sup>[24]</sup>报道了将自体MSCs局部注射进入克隆氏病患者的9个瘻管中, 8 wk后复查发现75%的瘻管愈合。我国学者刘静等<sup>[25]</sup>亦报道了对1例顽固性溃疡性结肠炎患者采用脐带血MSCs治疗得到了良好的效果。通过国内外大量的动物实验和临床试验研究, 考虑MSCs治疗IBD的可能机制主要有以下几个方面。

**2.2.1 MSCs在IBD治疗中的抗炎作用:** MSCs对IBD患者损伤和炎症的部位具有很强的趋向性<sup>[26,27]</sup>, MSCs这类在体内微环境下主动迁徙至损伤部位并且进行修复的作用被称为MSCs的“归巢”作用<sup>[28-31]</sup>。段征等<sup>[32]</sup>对UC大鼠模型的均尾静脉注射入1 mL使用了荧光标记的骨髓间充质干细胞并进行观察, 发现第14天时UC模型大鼠病变部位的LA值高于同组其余消化系各段以及正常组大鼠的结肠( $P<0.05$ ), 这指出迁移至炎性或损伤部位的结肠的骨髓间充质干细胞要显著高于正常的结肠。MSCs具有分泌抗炎细胞因子, 如前列腺素E2(prostaglandin E2, PGE2)、IL-10、吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)的功能, 也有促进Th2细胞和DC祖细胞释放IL-4、IL-10的作用<sup>[33]</sup>, Aggarwal等<sup>[34]</sup>通过研究发现MSCs可以分泌PGE2, 在培养基中加入TNF- $\alpha$ 或IFN- $\gamma$ , MSCs分泌PGE2增加,

这进一步说明炎症因子可增强MSCs分泌PGE2, 从而进一步去抑制T细胞、DC以及NK细胞。Liang等<sup>[35]</sup>利用人脐带血来源的MSCs治疗肠炎模型的小鼠, 发现人脐带血来源的MSCs不仅能够抑制IFN- $\gamma$ 基因的表达, 还能够阻断肠黏膜固有层内浸润的单核细胞释放IL-17, 进而使炎症和损伤处的IFN- $\gamma$ 、IL-17含量降低。以上这些均证明了MSCs可以通过其“归巢”作用迁移至肠黏膜的受损部位, 并通过其抗炎的作用治疗IBD。

**2.2.2 MSCs在IBD治疗中的免疫调节作用:** 上文已指出, 尽管目前IBD的发病机制尚不完全清楚, 但国内外许多学者都认为自身免疫异常和紊乱在IBD患者的发病过程中起着重要的作用, 多种免疫性淋巴细胞在IBD患者的免疫异常与紊乱过程中有着重要的地位。MSCs具有多种免疫调节的作用, MSCs可以通过抑制T细胞的增殖、抑制DC的成熟和功能、抑制B细胞的增殖以及最后的分化进行免疫调节, 对其他的免疫细胞如NK细胞和巨噬细胞也有着免疫调节的作用<sup>[36]</sup>。Krampera等<sup>[37]</sup>通过对小鼠模型的研究指出MSCs可通过细胞接触依赖机制进而明显下调幼稚性T细胞以及记忆性抗原特异性T细胞对其同源肽的反应。Comoli等<sup>[38]</sup>通过研究指出MSCs可以阻止外周血单核细胞中富集的B细胞产生免疫球蛋白, Krampera等<sup>[37]</sup>也同样通过研究证明了MSCs具有影响B细胞的分化、抗体产生和趋化行为的能力。Aggarwal等<sup>[34]</sup>通过研究提出MSCs可以导致髓样DC细胞TNF- $\alpha$ 表达的下降, 上调淋巴样DC细胞IL-1的表达; Nauta等<sup>[39]</sup>通过研究表明MSCs可以通过产生IL-6抗体和抗巨噬细胞集落刺激因子抗体进而阻断DC的免疫抑制。Sotiropoulou等<sup>[40]</sup>通过研究证明MSCs可抑制被IL-2激活的NK细胞分泌IL-10、TNF- $\alpha$ 、INF- $\gamma$ 等炎症因子。以上学者的研究证实了MSCs可能是通过对多种免疫细胞的调节而影响IBD病程中的免疫异常与紊乱, 从而达到治疗IBD的目的。

**2.2.3 MSCs在IBD治疗中的上皮重建作用:** 在IBD的治疗过程中, MSCs可以定植在受损的肠道组织中修复肠上皮, 其可能机制在于以下三个方面: (1)MSCs分化为肠上皮细胞和内皮细胞修复受损肠上皮: Komori等<sup>[41]</sup>将来源于转基因小鼠且表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)的骨髓移植进入使用三硝基苯磺酸(trinitro-benzene-sulfonic acid, TNBS)诱导的结肠炎大鼠体内, 发现给予TNBS 28 d以后, 大鼠结肠上皮细胞中的表达GFP阳性的细胞占到

### ■相关报道

Garcia-Olmo等报道了将自体MSCs局部注射进入克隆氏病患者的9个瘻管中, 8 wk后复查发现75%的瘻管愈合。我国学者刘静等亦报道了对1例顽固性溃疡性结肠炎患者采用脐带血MSCs治疗得到了良好的效果。

## ■ 创新盘点

本文回顾大量文献,对间充质干细胞治疗IBD的机制及研究进展进行了较全面综述。

总数的37.6%,这些表明骨髓MSCs是肠黏膜中再生细胞的重要来源。Brittan等<sup>[42]</sup>通过研究指出,TNBS结肠炎模型小鼠行异基因骨髓移植以后,骨髓来源的内皮细胞、周细胞和血管平滑肌细胞散在分布于血管壁上,且能够见到完全由骨髓来源的细胞构成的血管。这说明MSCs能够分化成肠道上皮细胞以及内皮细胞,进而发挥修复肠道组织的功能;(2)MSCs分泌细胞因子促进肠上皮重建:Kim等<sup>[43]</sup>通过研究显示MSCs能够分泌粒细胞集落刺激因子、粒-巨噬细胞集落刺激因子、巨噬细胞集落刺激因子等多种集落刺激因子。而Liu等<sup>[44]</sup>通过对脐带血来源的MSCs的检测发现其能够分泌较多IL-6、IL-8、基质金属蛋白酶抑制剂1(tissue inhibitor of metalloproteinases 1, TIMP-1)、TIMP-2等细胞因子。Weil等<sup>[45]</sup>通过研究证实MSCs可以通过旁分泌IL-6、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)和血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等多种细胞,并且通过下调凋亡信号通路进而使受到缺氧而损伤的胎儿肠黏膜上皮细胞的存活和增殖能力增强。上述细胞因子在肠道黏膜屏障的保护和肠道上皮的修复的过程中发挥着关键性的作用。IL-6可以通过调节bcl-2和fas抑制由于缺氧而诱导的肠黏膜细胞的凋亡<sup>[46]</sup>;HGF能够通过抑制肠上皮细胞凋亡,进而诱导肠黏膜的再生<sup>[47]</sup>;VEGF能够促进血管的生成,提高移植的干细胞的成活率<sup>[48]</sup>。所以说,MSCs可以通过直接或间接分泌多种细胞因子促进肠上皮的重建;(3)MSCs调节肠道干细胞微环境促进肠上皮重建:国外学者<sup>[49,50]</sup>通过研究表明在受损的肠黏膜组织中,MSCs不但可以分化为肌成纤维细胞进而修复受损组织,而且在肠上皮组织自我更新的过程也发挥着关键性的作用。Brittan等<sup>[51]</sup>通过研究发现骨髓来源的成纤维细胞能够分泌多种细胞因子,进而调节肠黏膜上皮干细胞的微环境,进而间接维持肠黏膜上皮的稳定。所以说,移植的MSCs与其定植部位肠道的微环境间存在相互作用的效应。

### 3 结论

MSCs是近年来IBD治疗的重点,具有广泛的研究空间与前景。但MSCs对IBD的治疗仍然处于一个实验性的时期,仍有许多临床研究或者基础研究的问题需要解决,如MSCs移植的途径与数量和最佳时机的选择,MSCs移植后的免疫重建、分化途径以及在其IBD治疗中的具体作用,

MSCs在机体内存活以及维持效应的有效时间, MSCs在体内是否会诱发肿瘤等,以上仍有较多的问题需要在以后的研究中不断探索。但相信,随着MSCs移植技术的不断发展,会有更多的IBD患者从中受益,也为未来IBD的治疗提供了一个新的方法及方向。

### 4 参考文献

- 1 Wing K, Sakaguchi S. Regulatory T cells exert checks and balances on self tolerance and autoimmunity. *Nat Immunol* 2010; 11: 7-13 [PMID: 20016504 DOI: 10.1038/ni.1818]
- 2 Gersemann M, Wehkamp J, Stange EF. Innate immune dysfunction in inflammatory bowel disease. *J Intern Med* 2012; 271: 421-428 [PMID: 22324936 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2012.02515.x]
- 3 Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 298-306 [PMID: 21677746 DOI: 10.1038/nature10208]
- 4 Xavier RJ, Podolsky DK. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2007; 448: 427-434 [PMID: 17653185 DOI: 10.1038/nature06005]
- 5 Li Y, Xia B, Lü M, Ge L, Zhang X. MICB0106 gene polymorphism is associated with ulcerative colitis in central China. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 153-159 [PMID: 19662431 DOI: 10.1007/s00384-009-0787-y]
- 6 Fan W, Maoqing W, Wangyang C, Fulan H, Dandan L, Jiaojiao R, Xinshu D, Binbin C, Yashuang Z. Relationship between the polymorphism of tumor necrosis factor- $\alpha$ -308 G & gt; A and susceptibility to inflammatory bowel diseases and colorectal cancer: a meta-analysis. *Eur J Hum Genet* 2011; 19: 432-437 [PMID: 21248737 DOI: 10.1038/ejhg.2010.159]
- 7 Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercoe E, Moore RA, Holt RA. Fusobacterium nucleatum infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 299-306 [PMID: 22009989 DOI: 10.1101/gr.126516.111]
- 8 Antonelli E, Baldoni M, Giovenali P, Villanacci V, Essatari M, Bassotti G. Intestinal superinfections in patients with inflammatory bowel diseases. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 154-159 [PMID: 22325169 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.07.012]
- 9 Kariv R, Navaneethan U, Venkatesh PG, Lopez R, Shen B. Impact of Clostridium difficile infection in patients with ulcerative colitis. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 34-40 [PMID: 21272802 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.09.007]
- 10 Cornely OA, Crook DW, Esposito R, Poirier A, Somero MS, Weiss K, Sears P, Gorbach S. Fidaxomicin versus vancomycin for infection with Clostridium difficile in Europe, Canada, and the USA: a double-blind, non-inferiority, randomised controlled trial. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 281-289 [PMID: 22321770 DOI: 10.1016/S1473-3099(11)70374-7]
- 11 曾敬清, 刘伟, 林凯, 杨芬, 张彦洁, 章丽雅, 王俊祺, 周同, 许春娣. DC SIGN在小鼠炎症性肠病上皮细胞表达及其黏膜损伤的免疫调节. *现代免疫学* 2012; 32: 109-1114
- 12 Dotan I, Allez M, Nakazawa A, Brimnes J, Schulder-Katz M, Mayer L. Intestinal epithelial cells from

- inflammatory bowel disease patients preferentially stimulate CD4<sup>+</sup> T cells to proliferate and secrete interferon-gamma. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G1630-G1640 [PMID: 17347451 DOI: 10.1152/ajpgi.00294.2006]
- 13 Marks DJ. Defective innate immunity in inflammatory bowel disease: a Crohn's disease exclusivity? *Curr Opin Gastroenterol* 2011; 27: 328-334 [PMID: 21483259 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283463b45]
  - 14 Casanova JL, Abel L. Revisiting Crohn's disease as a primary immunodeficiency of macrophages. *J Exp Med* 2009; 206: 1839-1843 [PMID: 19687225 DOI: 10.1084/jem.20091683]
  - 15 Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380: 1606-1619 [PMID: 22914296 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0]
  - 16 Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet* 2012; 380: 1590-1605 [PMID: 22914295 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60026-9]
  - 17 Manichanh C, Borrueh N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 599-608 [PMID: 22907164 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.152]
  - 18 Pekow JR, Kwon JH. MicroRNAs in inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 187-193 [PMID: 21425211 DOI: 10.1002/ibd.21691]
  - 19 Archanioti P, Gazouli M, Theodoropoulos G, Vaio-poulou A, Nikiteas N. Micro-RNAs as regulators and possible diagnostic bio-markers in inflammatory bowel disease. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 520-524 [PMID: 22115369 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.05.007]
  - 20 Ikoma D, Ichikawa D, Tani N, Ikoma H, Tomita H, Sai S, Okamoto K, Kikuchi S, Fujiwara H, Ueda Y, Hagiwara A, Yamagishi H. [Plasma methylation-specific polymerase chain reaction as a diagnostic tool for esophageal cancer patients]. *Gan To Kagaku Ryoho* 2006; 33: 1717-1719 [PMID: 17212085]
  - 21 Friedenstien AJ, Deriglasova UF, Kulagina NN, Panasuk AF, Rudakowa SF, Luriá EA, Ruadkow IA. Precursors for fibroblasts in different populations of hematopoietic cells as detected by the in vitro colony assay method. *Exp Hematol* 1974; 2: 83-92 [PMID: 4455512]
  - 22 Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res* 2007; 100: 1249-1260 [PMID: 17495232 DOI: 10.1161/01.RES.0000265074.83288.09]
  - 23 Horwitz EM, Le Blanc K, Dominici M, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini FC, Deans RJ, Krause DS, Keating A. Clarification of the nomenclature for MSC: The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2005; 7: 393-395 [PMID: 16236628 DOI: 10.1080/14653240500319234]
  - 24 García-Olmo D, García-Arranz M, Herreros D, Pascual I, Peiro C, Rodríguez-Montes JA. A phase I clinical trial of the treatment of Crohn's fistula by adipose mesenchymal stem cell transplantation. *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 1416-1423 [PMID: 15933795 DOI: 10.1007/s10350-005-0052-6]
  - 25 刘静, 韩冬梅, 薛梅, 朱玲, 王志东, 闫洪敏, 郭子宽, 王恒湘. 脐带间充质干细胞输注治疗顽固性溃疡性结肠炎. *组织工程与重建外科杂志* 2011; 7: 258-260
  - 26 Le Blanc K, Ringdén O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med* 2007; 262: 509-525 [PMID: 17949362 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2007.01844.x]
  - 27 Ozaki K, Sato K, Oh I, Meguro A, Tatara R, Muroi K, Ozawa K. Mechanisms of immunomodulation by mesenchymal stem cells. *Int J Hematol* 2007; 86: 5-7 [PMID: 17675259 DOI: 10.1532/IJH97.07003]
  - 28 Wu Y, Wang J, Scott PG, Tredget EE. Bone marrow-derived stem cells in wound healing: a review. *Wound Repair Regen* 2007; 15 Suppl 1: S18-S26 [PMID: 17727462 DOI: 10.1111/j.1524-475X.2007.00221.x]
  - 29 Kuo TK, Hung SP, Chuang CH, Chen CT, Shih YR, Fang SC, Yang VW, Lee OK. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells. *Gastroenterology* 2008; 134: 2111-2121, 2121.e1-3 [PMID: 18455168 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.015]
  - 30 Tögel F, Yang Y, Zhang P, Hu Z, Westenfelder C. Bioluminescence imaging to monitor the in vivo distribution of administered mesenchymal stem cells in acute kidney injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 295: F315-F321 [PMID: 18480180 DOI: 10.1152/ajprenal.00098.2008]
  - 31 Hara M, Murakami T, Kobayashi E. In vivo bioimaging using photogenic rats: fate of injected bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *J Autoimmun* 2008; 30: 163-171 [PMID: 18222064 DOI: 10.1016/j.jaut.2007.12.007]
  - 32 段征, 徐艳华, 陈小云, 汪维伟. 间充质干细胞移植后在溃疡性结肠炎大鼠体内的迁移. *重庆医科大学学报* 2010; 35: 367-369
  - 33 Auletta JJ, Deans RJ, Bartholomew AM. Emerging roles for multipotent, bone marrow-derived stromal cells in host defense. *Blood* 2012; 119: 1801-1809 [PMID: 22228625 DOI: 10.1182/blood-2011-10-384354]
  - 34 Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105: 1815-1822 [PMID: 15494428 DOI: 10.1182/blood-2004-04-1559]
  - 35 Liang L, Dong C, Chen X, Fang Z, Xu J, Liu M, Zhang X, Gu DS, Wang D, Du W, Zhu D, Han ZC. Human umbilical cord mesenchymal stem cells ameliorate mice trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS)-induced colitis. *Cell Transplant* 2011; 20: 1395-1408 [PMID: 21396175 DOI: 10.3727/096368910X557245]
  - 36 Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35: 213-221 [PMID: 22370776 DOI: 10.1007/s12272-012-0202-z]
  - 37 Krampera M, Cosmi L, Angeli R, Pasini A, Liotta F, Andreini A, Santarlasci V, Mazzinghi B, Pizzolo G, Vinante F, Romagnani P, Maggi E, Romagnani S, Annunziato F. Role for interferon-gamma in the immunomodulatory activity of human bone marrow mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 2006; 24: 386-398 [PMID: 16123384 DOI: 10.1634/stemcells.2005-0008]
  - 38 Comoli P, Ginevri F, Maccario R, Avanzini MA, Marconi M, Groff A, Cometa A, Cioni M, Porretti L, Barberi W, Frassoni F, Locatelli F. Human mesenchymal stem cells inhibit antibody production induced in vitro by allostimulation. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1196-1202 [PMID: 18029377 DOI: 10.1093/ndt/gfm740]
  - 39 Nauta AJ, Kruisselbrink AB, Lurvink E, Willemze R, Fibbe WE. Mesenchymal stem cells inhibit generation and function of both CD34<sup>+</sup>-derived and monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2006; 177: 2080-2087 [PMID: 16887966]

## ■应用要点

通过本文对国内外文献的综述, 为将来在临床工作中应用间充质干细胞治疗IBD提出了一定的理论依据。

## ■名词解释

间充质干细胞 (mesenchymal stem cells, MSCs) 定义为: (1) 贴壁性, 具有类似脂肪细胞的形态; (2) 表达基质细胞表面抗原, 但不表达造血细胞表面抗原; (3) 拥有向成骨细胞、脂肪细胞以及软骨细胞分化的潜能。



## ■同行评价

本文综述立题有依据,目的明确,内容集中,举例贴切,分析讨论客观,参考文献适中,较全面综述MSCs治疗IBD的疗效及其疗效机制,对IBD的临床治疗研究有参考意义。

- 40 Sotiropoulou PA, Perez SA, Gritzapis AD, Baxevanis CN, Papamichail M. Interactions between human mesenchymal stem cells and natural killer cells. *Stem Cells* 2006; 24: 74-85 [PMID: 16099998 DOI: 10.1634/stemcells.2004-0359]
- 41 Komori M, Tsuji S, Tsujii M, Murata H, Iijima H, Yasumaru M, Nishida T, Irie T, Kawano S, Hori M. Involvement of bone marrow-derived cells in healing of experimental colitis in rats. *Wound Repair Regen* 2005; 13: 109-118 [PMID: 15659043 DOI: 10.1111/j.1067-1927.2005.130114.x]
- 42 Brittan M, Chance V, Elia G, Poulosom R, Alison MR, MacDonald TT, Wright NA. A regenerative role for bone marrow following experimental colitis: contribution to neovasclogenesis and myofibroblasts. *Gastroenterology* 2005; 128: 1984-1995 [PMID: 15940631 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.03.028]
- 43 Kim DH, Yoo KH, Choi KS, Choi J, Choi SY, Yang SE, Yang YS, Im HJ, Kim KH, Jung HL, Sung KW, Koo HH. Gene expression profile of cytokine and growth factor during differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cell. *Cytokine* 2005; 31: 119-126 [PMID: 15919213 DOI: 10.1016/j.cyto.2005.04.004]
- 44 Liu CH, Hwang SM. Cytokine interactions in mesenchymal stem cells from cord blood. *Cytokine* 2005; 32: 270-279 [PMID: 16377203 DOI: 10.1016/j.cyto.2005.11.003]
- 45 Weil BR, Markel TA, Herrmann JL, Abarbanell AM, Meldrum DR. Mesenchymal stem cells enhance the viability and proliferation of human fetal intestinal epithelial cells following hypoxic injury via paracrine mechanisms. *Surgery* 2009; 146: 190-197 [PMID: 19628073 DOI: 10.1016/j.surg.2009.03.031]
- 46 Rollwagen FM, Madhavan S, Singh A, Li YY, Wolcott K, Maheshwari R. IL-6 protects enterocytes from hypoxia-induced apoptosis by induction of bcl-2 mRNA and reduction of fas mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 2006; 347: 1094-1098 [PMID: 16870148 DOI: 10.1016/j.bbrc.2006.07.016]
- 47 Schwartz MZ, Kato Y, Yu D, Lukish JR. Growth-factor enhancement of compromised gut function following massive small-bowel resection. *Pediatr Surg Int* 2000; 16: 174-175 [PMID: 10786975 DOI: 10.1007/s003830050716]
- 48 von Dobschuetz E, Meyer S, Thorn D, Marme D, Hopt UT, Thomusch O. Targeting vascular endothelial growth factor pathway offers new possibilities to counteract microvascular disturbances during ischemia/reperfusion of the pancreas. *Transplantation* 2006; 82: 543-549 [PMID: 16926599 DOI: 10.1097/01.tp.0000229434.92523.99]
- 49 Hayashi Y, Tsuji S, Tsujii M, Nishida T, Ishii S, Nakamura T, Eguchi H, Kawano S. The transdifferentiation of bone-marrow-derived cells in colonic mucosal regeneration after dextran-sulfate-sodium-induced colitis in mice. *Pharmacology* 2007; 80: 193-199 [PMID: 17587885 DOI: 10.1159/000104148]
- 50 Tanaka H, Arimura Y, Yabana T, Goto A, Hosokawa M, Nagaishi K, Yamashita K, Yamamoto H, Sasaki Y, Fujimiya M, Imai K, Shinomura Y. Myogenic lineage differentiated mesenchymal stem cells enhance recovery from dextran sulfate sodium-induced colitis in the rat. *J Gastroenterol* 2011; 46: 143-152 [PMID: 20848145 DOI: 10.1007/s00535-010-0320-7]
- 51 Brittan M, Hunt T, Jeffery R, Poulosom R, Forbes SJ, Hodivala-Dilke K, Goldman J, Alison MR, Wright NA. Bone marrow derivation of pericryptal myofibroblasts in the mouse and human small intestine and colon. *Gut* 2002; 50: 752-757 [PMID: 12010874 DOI: 10.1136/gut.50.6.752]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# IGRA及TB-PCR在肠结核与克罗恩病鉴别诊断中的价值

张俊, 高峰

张俊, 高峰, 新疆维吾尔自治区人民医院消化内科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830001

作者贡献分布: 本文综述由张俊完成; 高峰审校。

通讯作者: 高峰, 副教授, 主任医师, 830001, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市天池路91号, 新疆维吾尔自治区人民医院消化内科。

xjgf@sina.com

电话: 0991-8563847

收稿日期: 2013-11-09 修回日期: 2013-11-27

接受日期: 2013-11-29 在线出版日期: 2014-02-08

## Value of interferon- $\gamma$ release assay and polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis* in differentiation of intestinal tuberculosis from Crohn's disease

Jun Zhang, Feng Gao

Jun Zhang, Feng Gao, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Xinjiang Uyghur Autonomous Region, Urumqi 830001, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China

Correspondence to: Feng Gao, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Xinjiang Uyghur Autonomous Region, 91 Tianchi Road, Urumqi 830001, Xinjiang Uyghur Autonomous Region, China. xjgf@sina.com

Received: 2013-11-09 Revised: 2013-11-27

Accepted: 2013-11-29 Published online: 2014-02-08

### Abstract

China is one of the countries having the highest burden of tuberculosis. The number of patients with Crohn's disease (CD) is gradually increasing in China. Sometimes intestinal tuberculosis (ITB) and CD are quite similar in clinical manifestations and the findings of radiological and endoscopic examinations, and it is difficult to differentiate the two diseases; however, the treatments and prognosis of the two diseases are completely different. Besides clinical characteristics, radiological examinations, endoscopic examinations, histopathological examinations, acid-fast staining, *Mycobacterium tuberculosis* culture, serum markers and tuberculin skin test (TST), interferon- $\gamma$  release assay (IGRA) and polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis* (TB-PCR) have recently been used to differentiate ITD from CD. Both IGRA and TB-

PCR have a high sensitivity and specificity in diagnosis of ITB when differentiating ITB from CD. This review focuses on the value of IGRA and TB-PCR in the differentiation of ITB from CD.

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

Key Words: Interferon- $\gamma$  release assay; Polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis*; Intestinal tuberculosis; Crohn's disease; Differential diagnosis

Zhang J, Gao F. Value of interferon- $\gamma$  release assay and polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis* in differentiation of intestinal tuberculosis from Crohn's disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 527-532 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.527>

### 摘要

中国是结核病高负担国家之一,加之目前我国克罗恩病(Crohn's disease, CD)患者数量在逐步增加,而肠结核(intestinal tuberculosis, ITB)和CD的临床表现、放射学检查及内镜检查结果等方面有时很相似。两者的鉴别有时很困难,然而两者的治疗方案及预后截然不同。除了从传统的临床表现、放射学检查、内镜检查、组织病理学检查、抗酸染色、结核分枝杆菌培养、血清标志物及结核菌素皮肤试验(tuberculin skin test, TST)等方面鉴别这两种疾病,近年来的研究用 $\gamma$ 干扰素释放分析(interferon- $\gamma$  release assay, IGRA)及结核分枝杆菌聚合酶链反应(polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis*, TB-PCR)来鉴别ITB与CD。在鉴别ITB和CD时,IGRA及TB-PCR诊断ITB的敏感度及特异度均较高。本文就IGRA与TB-PCR在鉴别ITB和CD中的价值进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词:  $\gamma$ 干扰素释放分析; 结核分枝杆菌聚合酶链反应; 肠结核; 克罗恩病; 鉴别诊断

核心提示: 肠结核(intestinal tuberculosis, ITB)临床

### ■背景资料

目前我国结核病年发病约为130万例,占全球发病的14.3%,位居全球第2位。肠结核(intestinal tuberculosis, ITB)属于结核病的一种类型,我国近十多年来克罗恩病(Crohn's disease, CD)就诊人数呈逐步增加的趋势非常明显,而ITB临床上与CD酷似,而治疗方法完全不同,两病的鉴别一直是个难题。

### ■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

## ■相关报道

Kim等报道肠结核组 $\gamma$ 干扰素释放分析(interferon- $\gamma$  release assay, IGRA)阳性率较克罗恩病组高,差异具有统计意义,且诊断ITB的敏感度为67%,特异度为90%。而Ramadass等研究报道粪便TB-PCR诊断ITB的敏感度为79%,特异度为88%。研究结果显示IGRA及TB-PCR诊断ITB的敏感度及特异度均较高。

上与克罗恩病(Crohn's disease, CD)酷似,两病的鉴别一直是我们所面对目前难题。传统的鉴别方法在鉴别ITB与CD时具有诸多局限性,而近年来的研究用 $\gamma$ 干扰素释放分析(interferon- $\gamma$  release assay, IGRA)及结核分枝杆菌聚合酶链反应(polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis*, TB-PCR)来鉴别ITB与CD。结果显示IGRA及TB-PCR诊断ITB的敏感度及特异度均较高,这为两病的鉴别提供了有价值的新方法,两病的鉴别是目前及今后相当长时间内的研究热点。

张俊, 高峰. IGRA及TB-PCR在肠结核与克罗恩病鉴别诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 527-532 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/527.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.527>

## 0 引言

我国是全球22个结核病流行严重的国家之一,目前我国结核病年发病人数约为130万,占全球发病的14.3%,位居全球第2位<sup>[1]</sup>。发展中国家是结核病的高发区,肠结核(intestinal tuberculosis, ITB)是常见的肺外结核病<sup>[2]</sup>。肺外结核占全球所有结核病的15%-20%<sup>[3]</sup>,欧盟国家肺外结核占所有结核病的比例从2002年的16.4%上升到2011年的22.4%<sup>[4]</sup>。ITB是结核分枝杆菌引起的肠道慢性特异性感染。克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因尚不十分清楚的胃肠道慢性炎性肉芽肿性疾病<sup>[5]</sup>。研究表明CD在欧美国家是常见病<sup>[6-9]</sup>,CD属于炎症性肠病的一种类型,发展中国家炎症性肠病的发病率呈上升趋势<sup>[10]</sup>。Prideaux等<sup>[11]</sup>报道近20年来,亚洲国家炎症性肠病发病率和患病率呈逐年增加趋势。在我国,近十多年来CD就诊人数呈逐步增加的趋势非常明显<sup>[12]</sup>,并且CD存在东西方差异<sup>[13]</sup>。CD的临床表现缺乏特异性,极易导致误诊<sup>[14]</sup>。何瑶等<sup>[15]</sup>进行的回结肠CD与ITB临床及内镜特征比较研究发现半数患者不能依靠活检病理和临床内镜评分获得比较可靠的诊断。传统的鉴别方法在鉴别ITB与CD时具有诸多局限性。ITB临床上与CD酷似,而治疗方法完全不同,两病的鉴别一直是个难题<sup>[16]</sup>。近年来的研究用 $\gamma$ 干扰素释放分析(interferon- $\gamma$  release assay, IGRA)及结核分枝杆菌聚合酶链反应(polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis*, TB-PCR)来鉴别ITB与CD。在鉴别ITB与CD时,IGRA及TB-PCR诊断ITB的敏感度及特异度均较高,提示有较好的应用价值及应用前景。

## 1 IGRA在ITB与CD鉴别诊断中的价值

研究表明结核分枝杆菌(*mycobacterium tuberculosis*, MTB)基因中含有RD1基因序列,该序列编码产生的培养滤液蛋白-10(culture filtrate protein-10, CFP-10)和早期分泌靶向抗原-6(early secretory antigenic target-6, ESAT-6)是MTB的特异性抗原<sup>[17]</sup>。当MTB的特异性抗原再次刺激感染MTB后的记忆性T淋巴细胞,记忆性T淋巴细胞就会释放 $\gamma$ 干扰素,IGRA通过检测 $\gamma$ 干扰素的分泌情况来诊断有无MTB感染<sup>[18]</sup>。近年来国外的研究表明IGRA在检测MTB感染中有较好的敏感度和特异度<sup>[19-22]</sup>。目前应用在ITB与CD鉴别诊断中的IGRA包括QuantiFERON-TB gold test(QFT-G)和结核杆菌T细胞斑点试验(T cell spot of tuberculosis test, T-SPOT.TB)。

1.1 QFT-G QFT-G利用MTB特异性蛋白质ESAT-6和CFP-10刺激宿主全血中的淋巴细胞,如果宿主曾经暴露于MTB,暴露于MTB后的致敏淋巴细胞经ESAT-6和CFP-10再次刺激就会释放 $\gamma$ 干扰素,然后用酶联免疫吸附试验检测释放的 $\gamma$ 干扰素来诊断有无MTB感染。卡介苗及环境分枝杆菌可能导致TST出现假阳性结果,而不能导致QFT-G出现假阳性结果,所以QFT-G特异度比TST更好,美国FDA已批准用QFT-G作为一种辅助检查来诊断结核病和结核的潜伏期<sup>[23,24]</sup>。Klein等<sup>[25]</sup>研究报道在行抗肿瘤坏死因子- $\alpha$ 治疗的患者中检测潜伏期结核QFT-G的特异度比TST更好。Khalil等<sup>[26]</sup>研究得出检测活动性肺结核时QFT-G的敏感度比TST更好,且其敏感度不受之前接种过卡介苗及暴露过环境分枝杆菌的影响。ITB属于肺外结核病, Fan等<sup>[27]</sup>进行的Meta分析得出QFT-G诊断肺外结核的总敏感度和特异度分别为72%(95%CI: 65%-79%)和82%(95%CI: 78%-87%)。Kim等<sup>[28]</sup>研究报道ITB组QFT-G阳性率为66.7%,CD组QFT-G阳性率为9.7%,ITB组QFT-G阳性率较CD组高,差异具有统计学意义;对于抗酿酒酵母抗体(anti-saccharomyces cerevisiae antibodies, ASCA)阳性或QFT-G阴性的病例,ASCA诊断CD的敏感度为44.4%、特异度为96%、阳性预测值为91.4%、阴性预测值为64.3%。在ITB很普遍的韩国,ASCA是一种有价值的诊断CD的方法,尤其将ASCA与QFT-G联合起来用于鉴别CD与ITB时,这种联合诊断法可能在CD与ITB的鉴别诊断中非常有用。另外, Kim等<sup>[29]</sup>研究发现QFT-G与TST有很好的一致性,ITB组的QFT-G阳性率(67%)较



CD组阳性率(9%)高, 差异具有统计学意义; ITB组的TST阳性率(67%)较CD组阳性率(16%)高, 差异具有统计学意义. QFT-G诊断ITB的敏感度为67%, 特异度为90%, 阳性预测值为87%, 阴性预测值为73%, 虽然QFT-G具有一定的局限性, 但QFT-G结合TST在诊断ITB时的效能是令人满意的. 目前QFT-G用于鉴别ITB与CD的研究较T-SPOT.TB用于鉴别ITB与CD的研究少, 待今后进一步研究来证实QFT-G在ITB与CD鉴别诊断中的价值.

**1.2 T-SPOT.TB** T-SPOT.TB是应用酶联免疫斑点技术检测经MTB特异性抗原ESAT-6和CFP-10刺激后外周血中释放 $\gamma$ 干扰素的T细胞<sup>[30]</sup>. TST中使用的纯蛋白衍化物的某些抗原成分与卡介苗和环境分枝杆菌的抗原成分相同, 可发生交叉反应, 导致TST的特异性较低; 并且TST对于免疫受损患者的敏感度较低<sup>[31]</sup>. 国外报道T-SPOT.TB诊断结核的敏感度为83%-97%<sup>[32]</sup>. Feng等<sup>[33]</sup>研究报道T-SPOT.TB诊断结核病的敏感度及特异度均较TST更好. Meier等<sup>[34]</sup>研究报道在确诊为结核病的72例患者中有70例T-SPOT.TB呈阳性, T-SPOT.TB诊断结核的敏感度为97.2%. 并对其中45例T-SPOT.TB阳性患者行TST, 发现TST的阳性率为89%, 对这45例T-SPOT.TB阳性患者而言, T-SPOT.TB的阳性率(100%)与TST的阳性率(89%)的差异无统计学意义. ITB属于肺外结核病, Liao等<sup>[35]</sup>研究报道T-SPOT.TB诊断肺外结核的敏感度和特异度分别为79.8%和81.6%. Fan等<sup>[27]</sup>的Meta分析得出T-SPOT.TB诊断肺外结核的总敏感度和特异度分别为90%(95%CI: 86%-93%)和68%(95%CI: 64%-73%). Baek等<sup>[36]</sup>研究得出T-SPOT.TB诊断ITB的敏感度为100%、特异度为78.1%、阳性预测值为68.9%、阴性预测值为100%, 当ITB与CD的鉴别有困难时, T-SPOT.TB的鉴别诊断价值较高: 阴性结果可基本排除ITB. Li等<sup>[37]</sup>研究得出T-SPOT.TB诊断ITB的敏感度为84.2%, 特异度为75.4%, 阳性预测值为50.0%, 阴性预测值为94.2%; 在结核流行地区鉴别ITB和CD时, 鉴于T-SPOT.TB有很高的阴性预测值可很好地排除ITB, 所以他可能是一种在实践中有价值的诊断方法. Lee等<sup>[38]</sup>研究报道T-SPOT.TB诊断ITB的敏感度为100%、特异度为83.3%、阳性预测值为60.0%、阴性预测值为100%, 当鉴别ITB与CD有困难时, T-SPOT.TB可能是一种可快速排除ITB的有用方法. Lei等<sup>[39]</sup>研究得出T-SPOT.TB诊断

ITB的敏感度为86%、特异度为93%、阳性预测值为88%、阴性预测值为91%, 由于T-SPOT.TB在诊断ITB时具有很高的特异性及阴性预测值, 其在排除ITB时具有较高的价值. 雷少妮等<sup>[40]</sup>研究报道CD组、ITB组、肠外结核组及其他疾病组T-SPOT.TB阳性率分别为6.7%、85.7%、70%及0%, 各组间差异具有统计学意义; T-SPOT.TB检测ITB的敏感度为85.7%、特异度为93.3%, 阴性预测值为12.5%.

## 2 TB-PCR在ITB与CD鉴别诊断中的价值

PCR可使DNA的合成量呈指数增长, 可用PCR检测MTB DNA, TB-PCR是一种在鉴别ITB及CD时的快速病原学诊断方法. 在目前的研究中, TB-PCR的引物来自MTB的特异性IS6110序列, IS6110序列具有较高的敏感性和特异性<sup>[41]</sup>. 目前TB-PCR可用于肠黏膜组织和粪便中的MTB DNA检测.

**2.1 粪便MTB DNA检测** Ramadass等<sup>[42]</sup>研究得出结核在印度很普遍, 在鉴别ITB与CD时, 从确诊为ITB或CD患者的粪便中提取DNA, 并实施TB-PCR, 粪便TB-PCR诊断ITB的敏感度为79%, 特异度为88%, 阳性预测值为79%, 阴性预测值为88%. Balamurugan等<sup>[43]</sup>研究报道12例已确诊ITB患者中有11例粪便TB-PCR阳性, 而15例健康对照者的粪便TB-PCR全为阴性, ITB组和健康对照组TB-PCR阳性率的差异具有统计学意义并且粪便TB-PCR的敏感度优于病理检查及肠黏膜组织MTB培养. Sucharita等<sup>[44]</sup>对27例未治疗的ITB及48例CD实施粪便TB-PCR, ITB组TB-PCR阳性率为77.8%, CD组TB-PCR阳性率为14.6%, 差异具有统计学意义; TB-PCR的敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别为75%、87%、77%及85%. Balamurugan等<sup>[45]</sup>研究报道粪便TB-PCR阳性率在未治疗的ITB组、治疗过的ITB组、痰涂片阳性肺结核组及对照组分别为88.8%(16/18)、0%(0/8)、85.7%(12/14)及0%(0/30); 粪便TB-PCR诊断ITB的敏感度、特异度、阳性预测值及阴性预测值分别为88.8%、100%、100%及93.7%.

**2.2 肠黏膜组织MTB DNA检测** 1994年Anand等<sup>[46]</sup>对1例慢性腹泻患者的肠黏膜组织实施TB-PCR, 与MTB探针杂交结果呈阳性, 该患者在抗结核治疗后内镜下异常病变完全消失, 该研究表明在诊断ITB时可对肠黏膜活检组织行TB-PCR. 甘华田等<sup>[47]</sup>对36例ITB肠黏膜组织及26例CD

### ■创新盘点

本文详细而全面介绍从细胞免疫方面及生物分子水平来鉴别肠结核及克罗恩病.

### ■应用要点

本文着重综述 IGRA 及 TB-PCR 在肠结核与克罗恩病鉴别诊断中的价值, IGRA 从细胞免疫方面及 TB-PCR 从病原学方面为解决肠结核及克罗恩病的鉴别难题开辟了一条新的途径。

肠黏膜组织实施 TB-PCR 发现 ITB 组及 CD 组的 TB-PCR 阳性率分别为 75% 和 0%。Jin 等<sup>[48]</sup>认为病理组织学检查与 TB-PCR 联用是鉴别诊断 CD 与 ITB 的最佳方法, 对确诊为 ITB 或 CD 的患者进行病理组织研究, 并实施 TB-PCR, TB-PCR 诊断 ITB 的敏感度和特异度分别为 88.9% 和 100%; 发现病理特征结合了组织 TB-PCR 后, 依据病理特征诊断 ITB 的敏感度可显著提高。Amarapurkar 等<sup>[49]</sup>进行了一项超过 3 年的前瞻性研究发现: 与 ITB 鉴别时, 发热、便血、腹泻和病程在诊断 CD 时的准确度最高, 其准确度为 84.62%; 而对活检组织实施 TB-PCR 的准确度为 82.6%。陈瑜君等<sup>[50]</sup>研究得出 TB-PCR 在 ITB 与 CD 的鉴别诊断中, TB-PCR 诊断 ITB 的敏感度为 32%, 特异度为 100%, 阳性预测值为 100%, 阴性预测值为 59.5%。甘华田等<sup>[51]</sup>研究得出 TB-PCR 检测 MTB DNA 在 ITB 组的总阳性率为 63.2%, 在与 CD 肉芽肿形态相同的 ITB 组中的阳性率为 71.4%, 在无肉芽肿病变的 ITB 组中的阳性率为 64.7%, 在 CD 组全为阴性; 而抗酸染色在 ITB 组总阳性率为 21.1%, TB-PCR 在 ITB 组的总阳性率较抗酸染色高, 差异具有统计学意义, 该研究得出内镜活检病理对肠结核与 CD 的鉴别诊断有一定局限, PCR 技术是鉴别 ITB 和 CD 极有价值的一种新方法。Amarapurkar 等<sup>[52]</sup>研究报道肠黏膜组织 TB-PCR 在 ITB 组的阳性率仅 21.6%, 在 CD 组的阳性率为 5%, TB-PCR 诊断 ITB 的特异性达 95%, 故 TB-PCR 在 ITB 与 CD 的鉴别诊断中可能有价值。

### 3 结论

我国是结核病高发国家之一, 且我国 CD 的发病率呈增高趋势, 然而 ITB 和 CD 在许多方面极为相似, 有时两者的鉴别非常困难, 然而两者的治疗及预后截然不同, 误诊率非常高, 错误的治疗甚至可能危及患者的生命, 传统的鉴别方法具有诸多局限性。在 ITB 和 CD 的鉴别诊断中, IGRA 诊断 ITB 的敏感度及特异度均较高, 尤其较高的阴性预测值可快速排除 ITB, 且 IGRA 具有不受卡介苗及环境分枝杆菌的影响, 结果客观, 非侵入性及方便快捷等优点; 在 ITB 和 CD 的鉴别诊断中, TB-PCR 诊断 ITB 的敏感度及特异度均较高, 尤其极高的特异度在临床诊断中有极好的应用价值及应用前景, 已有的研究表明通过控制主客观因素可减少 TB-PCR 的假阳性及假阴性结果, 并且可提高 TB-PCR 敏感度。TB-PCR 出结果快, 尤其粪便 TB-PCR 具有方便检测及非

侵入性等优点, 但是 TB-PCR 技术要求高。希望今后寻找到除了 MTB 的特异性 IS6110 序列以外 MTB 的其他特异性序列以提高 TB-PCR 的敏感性。虽然传统的鉴别 ITB 与 CD 的方法具有诸多局限性, 但其具有费用低、技术要求不高等优点, IGRA、TB-PCR 及某些传统方法的结合可能提高诊断的效能而并不大大增加医疗费用。希望今后进行大样本量的前瞻性研究以评价 IGRA 和 TB-PCR 在鉴别 ITB 和 CD 中的价值。

### 4 参考文献

- 1 张元浩. 卫生部介绍全国肺结核疫情现状. 中国全科医学(医生读者版) 2011; 14: 43
- 2 Dye C. Global epidemiology of tuberculosis. *Lancet* 2006; 367: 938-940 [PMID: 16546542]
- 3 Mehta PK, Raj A, Singh N, Khuller GK. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis by PCR. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 66: 20-36 [PMID: 22574812 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00987.x]
- 4 Sandgren A, Hollo V, van der Werf MJ. Extrapulmonary tuberculosis in the European Union and European Economic Area, 2002 to 2011. *Euro Surveill* 2013; 18: pii: 20431 [PMID: 23557943]
- 5 陆再英, 钟南山. 内科学. 第7版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 415
- 6 Gasche C, Scholmerich J, Brynskov J, D'Haens G, Hanauer SB, Irvine EJ, Jewell DP, Rachmilewitz D, Sachar DB, Sandborn WJ, Sutherland LR. A simple classification of Crohn's disease: report of the Working Party for the World Congresses of Gastroenterology, Vienna 1998. *Inflamm Bowel Dis* 2000; 6: 8-15 [PMID: 10701144]
- 7 Herrinton LJ, Liu L, Fireman B, Lewis JD, Allison JE, Flowers N, Hutfless S, Velazquez FS, Abramson O, Altschuler A, Perry GS. Time trends in therapies and outcomes for adult inflammatory bowel disease, Northern California, 1998-2005. *Gastroenterology* 2009; 137: 502-511 [PMID: 19445944 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.04.063]
- 8 Silverberg MS, Satsangi J, Ahmad T, Arnott ID, Bernstein CN, Brant SR, Caprilli R, Colombel JF, Gasche C, Geboes K, Jewell DP, Karban A, Loftus EV, Peña AS, Riddell RH, Sachar DB, Schreiber S, Steinhart AH, Targan SR, Vermeire S, Warren BF. Toward an integrated clinical, molecular and serological classification of inflammatory bowel disease: report of a Working Party of the 2005 Montreal World Congress of Gastroenterology. *Can J Gastroenterol* 2005; 19 Suppl A: 5A-36A [PMID: 16151544]
- 9 Amre DK, Mack DR, Morgan K, Krupoves A, Costea I, Lambrette P, Grimard G, Dong J, Feguerly H, Bucionis V, Deslandres C, Levy E, Seidman EG. Autophagy gene ATG16L1 but not IRGM is associated with Crohn's disease in Canadian children. *Inflamm Bowel Dis* 2009; 15: 501-507 [PMID: 18985712 DOI: 10.1002/ibd.20785]
- 10 Rogler G, Bernstein CN, Sood A, Goh KL, Yamamoto-Furusho JK, Abbas Z, Fried M. Role of biological therapy for inflammatory bowel disease in developing countries. *Gut* 2012; 61: 706-712 [PMID: 21997549 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300613]
- 11 Prideaux L, Kamm MA, De Cruz PP, Chan FK,

- Ng SC. Inflammatory bowel disease in Asia: a systematic review. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1266-1280 [PMID: 22497584 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07150.x]
- 12 APDW2004 Chinese IBD Working Group. Retrospective analysis of 515 cases of Crohn's disease hospitalization in China: nationwide study from 1990 to 2003. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1009-1015 [PMID: 16724987]
- 13 Wang YF, Zhang H, Ouyang Q. Clinical manifestations of inflammatory bowel disease: East and West differences. *J Dig Dis* 2007; 8: 121-127 [PMID: 17650222]
- 14 沈志坤. 中国大陆地区克罗恩病临床误诊的汇总分析. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 2460-2463
- 15 何瑶, 陈瑜君, 杨红, 胡仁伟, 欧阳春辉, 黄梅芳, 廖旺娣, 钱家鸣, 欧阳钦, 吴小平, 夏冰, 吕衣华, 胡品津. 回结肠克罗恩病与肠结核临床及内镜特征比较. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 325-328
- 16 胡品津. 我们能解决克罗恩病与肠结核鉴别诊断的难题吗? *中华消化杂志* 2011; 31: 192-194
- 17 Lalvani A. Spotting latent infection: the path to better tuberculosis control. *Thorax* 2003; 58: 916-918 [PMID: 14586040]
- 18 Pai M, Riley LW, Colford JM. Interferon-gamma assays in the immunodiagnosis of tuberculosis: a systematic review. *Lancet Infect Dis* 2004; 4: 761-776 [PMID: 15567126]
- 19 Diel R, Lodenkemper R, Nienhaus A. Evidence-based comparison of commercial interferon-gamma release assays for detecting active TB: a metaanalysis. *Chest* 2010; 137: 952-968 [PMID: 20022968 DOI: 10.1378/chest.09-2350]
- 20 Riazi S, Zeligs B, Yeager H, Peters SM, Benavides GA, Di Mita O, Bellanti JA. Rapid diagnosis of Mycobacterium tuberculosis infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). *Allergy Asthma Proc* 2012; 33: 217-226 [PMID: 22584190 DOI: 10.2500/aap.2012.33.3574]
- 21 Fathy MM, Asaad A, Mansour M, El-Said H, El-Haddad OK. Cellular interferon-gamma based assay for diagnosis of pulmonary tuberculosis. *Egypt J Immunol* 2007; 14: 33-41 [PMID: 18689279]
- 22 Diel R, Lodenkemper R, Meywald-Walter K, Niemann S, Nienhaus A. Predictive value of a whole blood IFN-gamma assay for the development of active tuberculosis disease after recent infection with Mycobacterium tuberculosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2008; 177: 1164-1170 [PMID: 18276940 DOI: 10.1164/rccm.200711-1613OC]
- 23 Chawla H, Lobato MN, Sosa LE, ZuWallack R. Predictors for a positive QuantiFERON-TB-Gold test in BCG-vaccinated adults with a positive tuberculin skin test. *J Infect Public Health* 2012; 5: 369-373 [PMID: 23287606 DOI: 10.1016/j.jiph.2012.06.003]
- 24 Masood Ahmad, Gene R. Pesola. False-positive QuantiFERON gold tests. *Chest* 2010; 138: 84A
- 25 Klein M, Jarosová K, Forejtová S, Bečvář R, Sedová L, Pavelka K, Simková G, Svobodová R, Hviscová K, Mann H, Půtová I, Vencovský J. Quantiferon TB Gold and tuberculin skin tests for the detection of latent tuberculosis infection in patients treated with tumour necrosis factor alpha blocking agents. *Clin Exp Rheumatol* 2013; 31: 111-117 [PMID: 23101473]
- 26 Khalil KF, Ambreen A, Butt T. Comparison of sensitivity of QuantiFERON-TB gold test and tuberculin skin test in active pulmonary tuberculosis. *J Coll Physicians Surg Pak* 2013; 23: 633-636 [PMID: 24034187 DOI: 09.2013/JCPSP.633636]
- 27 Fan L, Chen Z, Hao XH, Hu ZY, Xiao HP. Interferon-gamma release assays for the diagnosis of extrapulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2012; 65: 456-466 [PMID: 22487051 DOI: 10.1111/j.1574-695X.2012.00972.x]
- 28 Kim YS, Kim YH, Kim WH, Kim JS, Park YS, Yang SK, Ye BD, Jang BI, Jung SA, Jeon YT, Cheon JH, Choi YS, Choi JH, Kim BJ, Choi CH, Han DS. Diagnostic utility of anti-Saccharomyces cerevisiae antibody (ASCA) and Interferon-γ assay in the differential diagnosis of Crohn's disease and intestinal tuberculosis. *Clin Chim Acta* 2011; 412: 1527-1532 [PMID: 21575618 DOI: 10.1016/j.cca.2011.04.029]
- 29 Kim BJ, Choi YS, Jang BI, Park YS, Kim WH, Kim YS, Jung SA, Han DS, Kim JS, Choi JH, Choi CH, Jeon YT, Cheon JH, Ye BD, Yang SK, Kim YH. Prospective evaluation of the clinical utility of interferon-γ assay in the differential diagnosis of intestinal tuberculosis and Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 1308-1313 [PMID: 21053248 DOI: 10.1002/ibd.21490]
- 30 Lalvani A, Pathan AA, McShane H, Wilkinson RJ, Latif M, Conlon CP, Pasvol G, Hill AV. Rapid detection of Mycobacterium tuberculosis infection by enumeration of antigen-specific T cells. *Am J Respir Crit Care Med* 2001; 163: 824-828 [PMID: 11282752]
- 31 Ozekinci T, Ozbek E, Celik Y. Comparison of tuberculin skin test and a specific T-cell-based test, T-Spot.TB, for the diagnosis of latent tuberculosis infection. *J Int Med Res* 2007; 35: 696-703 [PMID: 17944056]
- 32 Lalvani A. Diagnosing tuberculosis infection in the 21st century: new tools to tackle an old enemy. *Chest* 2007; 131: 1898-1906 [PMID: 17565023]
- 33 Feng Y, Diao N, Shao L, Wu J, Zhang S, Jin J, Wang F, Weng X, Zhang Y, Zhang W. Interferon-gamma release assay performance in pulmonary and extrapulmonary tuberculosis. *PLoS One* 2012; 7: e32652 [PMID: 22427859 DOI: 10.1371/journal.pone.0032652]
- 34 Meier T, Eulenbruch HP, Wrighton-Smith P, Enders G, Regnath T. Sensitivity of a new commercial enzyme-linked immunospot assay (T SPOT-TB) for diagnosis of tuberculosis in clinical practice. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2005; 24: 529-536 [PMID: 16133410]
- 35 Liao CH, Chou CH, Lai CC, Huang YT, Tan CK, Hsu HL, Hsueh PR. Diagnostic performance of an enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma in extrapulmonary tuberculosis varies between different sites of disease. *J Infect* 2009; 59: 402-408 [PMID: 19819258 DOI: 10.1016/j.jinf.2009.10.001]
- 36 Baek DH, Song GA, Ryu DY, Kim DU. The usefulness of in vitro interferon-γ assay for differential diagnosis between intestinal tuberculosis and Crohn's disease. *J Crohn's Colitis* 2013; 7: S63
- 37 Li Y, Zhang LF, Liu XQ, Wang L, Wang X, Wang J, Qian JM. The role of in vitro interferon-γ-release assay in differentiating intestinal tuberculosis from Crohn's disease in China. *J Crohns Colitis* 2012; 6: 317-323 [PMID: 22405168 DOI: 10.1016/j.crohns.2011.09.002]
- 38 Lee JN, Ryu DY, Park SH, You HS, Lee BE, Kim DU,

## 同行评价

本文就IGRA与TB-PCR在鉴别ITB和CD中的价值进行综述, 思路清楚, 资料较完整, 对临床有一定参考价值。



- Kim TO, Heo J, Kim GH, Song GA, Kim S, Park do Y. [The usefulness of in vitro interferon-gamma assay for differential diagnosis between intestinal tuberculosis and Crohn's disease]. *Korean J Gastroenterol* 2010; 55: 376-383 [PMID: 20571305 DOI: 201006255]
- 39 Lei Y, Yi FM, Zhao J, Luckheeram RV, Huang S, Chen M, Huang MF, Li J, Zhou R, Yang GF, Xia B. Utility of in vitro interferon- $\gamma$  release assay in differential diagnosis between intestinal tuberculosis and Crohn's disease. *J Dig Dis* 2013; 14: 68-75 [PMID: 23176201 DOI: 10.1111/1751-2980.12017]
- 40 雷少妮, 刘家云, 梁洁. 结核杆菌T细胞斑点试验在克罗恩病与肠结核鉴别诊断中的应用价值. *中华消化杂志* 2011; 31: 677-680
- 41 Eisenach KD, Cave MD, Bates JH, Crawford JT. Polymerase chain reaction amplification of a repetitive DNA sequence specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *J Infect Dis* 1990; 161: 977-981 [PMID: 2109022]
- 42 Ramadass B, Chittaranjan S, Subramanian V, Ramakrishna BS. Fecal polymerase chain reaction for *Mycobacterium tuberculosis* IS6110 to distinguish Crohn's disease from intestinal tuberculosis. *Indian J Gastroenterol* 2010; 29: 152-156 [PMID: 20577845 DOI: 10.1007/s12664-010-0022-3]
- 43 Balamurugan R, Subramanian V, Ramakrishna B S. Fecal polymerase chain reaction in diagnosis of intestinal tuberculosis. *Gut* 2005; 54: A18
- 44 Sucharita P, Chittaranjan, Ramadass Balamurugan, Balakrishnan S, Ramakrishna. Role of fecal polymerase chain reaction in the differentiation of intestinal tuberculosis from Crohn's disease. *Gastroenterology* 2008; 134: A-644
- 45 Balamurugan R, Venkataraman S, John KR, Ramakrishna BS. PCR amplification of the IS6110 insertion element of *Mycobacterium tuberculosis* in fecal samples from patients with intestinal tuberculosis. *J Clin Microbiol* 2006; 44: 1884-1886 [PMID: 16672431]
- 46 Anand BS, Schneider FE, El-Zaatari FA, Shawar RM, Clarridge JE, Graham DY. Diagnosis of intestinal tuberculosis by polymerase chain reaction on endoscopic biopsy specimens. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 2248-2249 [PMID: 7977255]
- 47 甘华田, 欧阳钦, 步宏, 陈德珍, 李甘地, 李蜀华, 杨秀英. 聚合酶链反应对肠结核和克隆病的诊断价值. *中华内科杂志* 1995; 34: 30-33
- 48 Jin XJ, Kim JM, Kim HK, Kim L, Choi SJ, Park IS, Han JY, Chu YC, Song JY, Kwon KS, Kim EJ. Histopathology and TB-PCR kit analysis in differentiating the diagnosis of intestinal tuberculosis and Crohn's disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2496-2503 [PMID: 20503449]
- 49 Amarapurkar DN, Patel ND, Rane PS. Diagnosis of Crohn's disease in India where tuberculosis is widely prevalent. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 741-746 [PMID: 18205265]
- 50 陈瑜君, 何瑶, 陈白莉, 毛仁, 晁康, 徐萍萍, 曾志荣, 陈旻湖, 胡品津. PCR法检测结核分枝杆菌DNA在鉴别克罗恩病与肠结核中的价值. *中国病理生理杂志* 2013; 29: 188-192
- 51 甘华田, 欧阳钦, 步宏, 杨秀英. 结核杆菌DNA检测在肠结核与克罗恩病鉴别诊断中的价值. *中华消化杂志* 2001; 4: 215-218
- 52 Amarapurkar DN, Patel ND, Amarapurkar AD, Agal S, Baigal R, Gupte P. Tissue polymerase chain reaction in diagnosis of intestinal tuberculosis and Crohn's disease. *J Assoc Physicians India* 2004; 52: 863-867 [PMID: 15906835]

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 潜在可切除结直肠癌肝转移转化治疗的研究进展

吴斌, 杨金坤, 朱莹杰

吴斌, 杨金坤, 朱莹杰, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤一科 上海市 200032

吴斌, 在读硕士, 主要从事中西医结合治疗消化系统恶性肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文综述由吴斌完成; 朱莹杰与杨金坤审核。

通讯作者: 杨金坤, 主任医师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院肿瘤一科。

jinkunyang@126.com

电话: 021-64385700

收稿日期: 2013-11-07 修回日期: 2013-12-01

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-02-08

## Conversion therapy for colorectal cancer patients with potentially resectable liver metastases

Bin Wu, Jin-Kun Yang, Ying-Jie Zhu

Bin Wu, Jin-Kun Yang, Ying-Jie Zhu, Department of Oncology (Division I), the Affiliated Longhua Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Correspondence to: Jin-Kun Yang, Chief Physician, Department of Oncology (Division I), the Affiliated Longhua Hospital of Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. jinkunyang@126.com

Received: 2013-11-07 Revised: 2013-12-01

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-02-08

## Abstract

Conversion therapy brings hope of a cure for colorectal cancer patients with potentially resectable liver metastases. Recent studies demonstrated that conversion therapy could achieve shrinkage of liver metastases and thus render some for resection and offer the chance of long-term survival. Besides preoperative systemic chemotherapy, oncosurgical modalities are also available, primarily including liver resection following portal vein ligation/embolization and two-stage liver resection. In this article, we will review recent advances in conversion therapy for these patients.

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

Key Words: Conversion therapy; Colorectal liver metastases; Potentially resectable

Wu B, Yang JK, Zhu YJ. Conversion therapy for colorectal cancer patients with potentially resectable liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 533-540 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/533.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.533>

## 摘要

转化治疗给潜在可切除的结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)患者带来了治愈的希望。近年,一些研究表明转化治疗可以使肝转移灶出现缩小,使部分初始不可切除的CRLM患者的转化为可切除,从而使这部分患者获得长期生存。在治疗的选择上,除了全身化疗外,门静脉栓塞/结扎、分期肝叶切除等一些外科手段也运用其中这使得更多初始不可切除的CRLM患者获得手术切除的机会。本文将对转化治疗近期的发展近况作一介绍,以供临床在诊治时可以作为参考。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 转化治疗; 结直肠癌肝转移; 潜在可切除

**核心提示:** 潜在可切除的结直肠癌肝转移患者是介于初始可切除与不可切除之间的患者,以全身化疗及肝脏为导向的局部治疗是这部分患者获得手术切除及长期生存的关键。

吴斌, 杨金坤, 朱莹杰. 潜在可切除结直肠癌肝转移转化治疗的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 533-540 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/533.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.533>

## 0 引言

肝脏是结直肠癌血行转移最主要的靶器官<sup>[1]</sup>. 肝转移灶无法切除患者的中位生存期仅6.9 mo, 5年生存率接近0%<sup>[2]</sup>; 而肝转移灶能根治性切除患者的中位生存期为35 mo, 5年生存率可达30%-50%<sup>[3]</sup>. 然而首次确诊时已经约有15%-25%的结直肠癌患者伴有肝转移, 其中只有10%-15%的患者适合手术切除, 绝大部分患者因肝外转移病变累及多支大血管和预留肝功能不足等因素而不能手术切除. 2012年《ESMO

## ■背景资料

大肠癌的发病率呈逐年上升的趋势, 而肝脏又是结直肠癌血行转移的主要靶器官. 手术切除肝转移灶是这部分患者获得长期生存的关键所在. 而转化治疗是初始不可切除的结直肠癌肝转移患者获得长期生存的希望。

## ■同行评议者

朴龙镇, 副教授, 延边大学附属医院肿瘤科

## ■研发前沿

新型分子标志物的发现带动了新型靶向药物的问世,使得对肿瘤的治疗更有针对性,朝着以个体为导向的方向发展.

结直肠癌诊疗共识指南》围绕转移灶是否能够切除和通过转化治疗进行转化把直肠癌肝(肺)转移患者分成了4组,其中第1组是指肝和(或)肺转移灶初始难以达到R0切除,但经过化疗或联合靶向等治疗可能R0切除,即潜在可切除或初始不可切除的患者.据报道,潜在可切除的结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)患者降期后的可切除率为13%-54%<sup>[4,5]</sup>.转化治疗如何提高这组患者的手术切除率成为了一个热门话题.

转化治疗是指潜在可切除的CRLM患者,通过某些治疗措施能使初始不可切除的病灶转化为可切除的方式. Bismuth等于1996年首次报道了对330例初始不可切除的CRLM患者进行术前化疗,患者接受FOLFOX方案的术前化疗后53例(16%)患者转化为可切除,5年生存率达到了40%,这项研究成为了当代转化治疗的基石.通常所说的转化治疗是以转化化疗为代表,以缩小转移灶并将其转化为可切除的病灶的治疗方式;对CRLM患者而言广义上的转化治疗实际上是多学科参与的以缩小肿瘤病灶和增加残肝体积为目的的一系列治疗,包括化疗(联合靶向药物)、肝动脉灌注化疗(hepatic arterial infusion, HAI)、门静脉栓塞/结扎(porta vein embolization/ligation, PVE/L)、分期肝叶切除(two-stage hepatectomy, TSH).通过上述方式的治疗可以使部分初始不可切除的CRLM患者出现肿瘤的退缩、残肝容积的增加从而使这部分患者获得手术切除的机会.

## 1 缩小(毁损)肿瘤的治疗

1.1 转化化疗 潜在可切除的CRLM患者推荐术前可采用短期多药联合、足量密集型的化疗方案,也可联合分子靶向药物.关于化疗时间,推荐手术前至少进行2-3周期.高强度的化疗能够提高初始不可切除的肝转移瘤转化的R0切除率,为患者创造了手术机会.强烈的化疗方案表现在药物种类的叠加上及药物剂量的增加.

1.1.1 两药方案: 5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)/亚叶酸钙(leucovorin calcium, LV)联合奥沙利铂(oxaliplatin, OXA)的化疗方案可使不可切除的CRLM患者获得7%-51%左右的肝切除率;而联合伊立替康(irinotecan, CPT-11)的化疗方案可获得9%-35%左右的肝切除率<sup>[6]</sup>. Alberts等<sup>[7]</sup>对44例仅有肝转移CRLM患者给予FOLFOX4方案(5-FU、LV、O)的转化治疗,反

应率(response rate, RR)为60%, R0切除为40%. Pozzo等<sup>[8]</sup>使用FOLFIRI方案[5-FU(F)、亚叶酸钙(LV)、伊立替康(I)]对40例不可切除的患进行转化化疗,客观反应率(objective response rate, ORR)为47.5%,最终30%的患者转化为可切除.这项研究2007年的随访结果显示<sup>[9]</sup>,两组患者的中位肿瘤进展时间分别为(14.3 mo vs 5.2 mo),手术组的中位术后无病生存期为52.5 mo.近年有关于增加伊立替康剂量以提高CRLM患者R0切除率的报道,尿苷二磷酸葡萄糖醛酸转移酶1A1(uridine diphosphate glucuronosyl transferase 1A1, UGT1A1)基因状态被认为是指导伊立替康使用的分子标志物.西班牙<sup>[10]</sup>的爬坡实验证明UGT1A1野生型的患者适合高剂量或标准剂量的伊立替康(450 mg/m<sup>2</sup>),杂合型患者适合的剂量为390 mg/m<sup>2</sup>,纯合子型的患者则推荐低剂量的伊立替康(150 mg/m<sup>2</sup>).卡培他滨、S-1作为5-FU类口服药物,也已被多项研究证明可以安全替代5-FU/LV静滴与奥沙利铂、伊立替康联用,不缩短PFS和OS<sup>[11-13]</sup>.

1.1.2 三药方案: 两药联合方案取得显著疗效的同时使得研究者们开始关注三种细胞毒药物联合方案在CRLM患者中的使用. Falcone等<sup>[14]</sup>分析了既往7个随机三期临床研究结果,发现那些在整个治疗过程中接受3种高效药物治疗的患者获得了更大的生存获益.受此启发纳入了244例初始不可切除的CRLM患者,随机分为FOLF- OXIRI组[5-氟尿嘧啶(F)、亚叶酸钙(LV)、伊立替康(I)、奥沙利铂(O)]与FOLFIRI组,结果显示三药联合方案可显著地提高仅肝转移患者的手术R0切除率(36% vs 12%),无病生存率(9.8 mo vs 5.9 mo),总生存率(22.6 mo vs 16.7 mo).该研究随访结果显示R0切除的患者中29%的患者5年内未出现复发,5年及8年的生存率分别达到了42%及33%<sup>[15]</sup>.另一项随机对照的METHEP研究<sup>[16]</sup>比较了标准的二药化疗方案(FOLFIRI, high dose-FOLFIRI, FOLFOX-4, FOLFOX-7)和三药化疗方案(FOLFIRINOX)对不可切除CRLM患者的影响,初步分析显示FOLFIRINOX方案和high dose-FOLFIRI方案组分别获得了52%和50%的客观缓解率,而R0切除率分别达到了36%和37%,同时两个高效化疗方案的安全性也是被肯定的.

1.2 化疗联合靶向的治疗 靶向药物(targeted medicine)通过与癌症发生、肿瘤生长所必需的特定分子靶点的作用来阻止癌细胞的生长.



近年分子靶向药物人血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor, VEGF)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)联合奥沙利铂/依立替康为主的化疗方案被运用于CRLM患者的术前治疗中被证明可以进一步提高转化率,使得更多初始不可切除的CRLM患者行手术切除的机会。

(1)VEGF单抗: 贝伐珠单抗(bevacizumab)是针对VEGF的人源化单克隆抗体。2003年美国Duke大学Herbert Hurwitz等报告了贝伐珠单抗治疗晚期大肠癌疗效显著,引起高度关注。关于贝伐单抗在治疗mCRC中的价值时各项研究有不同的意见。在与铂类药物联合运用方面, In NO16966<sup>[17]</sup>研究结果显示, 贝伐珠单抗与CapeOX[卡培他滨、OXA]/FOLFOX方案的联合一线治疗显著提高了患者的PFS(9.4 mo vs 8.0 mo,  $P = 0.0023$ ), 但是在OS和RR上贝伐珠单抗与CapeOX/FOLFOX组与安慰剂组相比并无获益。在与伊立替康联合方面AVF2107g<sup>[18]</sup>和ARTIST研究<sup>[19]</sup>(静脉注射氟尿嘧啶联合伊立替康的IFL/mIFL方案)均证明了化疗联合贝伐单抗可使ORR提高10%并显著延长了患者的PFS与OS。BICC研究<sup>[20]</sup>是在优化伊立替康用法的同时, 比较FOLFIRI/BVZ方案与mIFL/BVZ方案用于一线治疗晚期肠癌患者, 结果示在中位OS上FOLFIRI/BVZ方案(28 mo vs 19.2 mo,  $P = 0.037$ )有获益, 而PFS、ORR上两组无显著差别。贝伐珠单抗与FOLFOXIRI方案联合, 入组患者的疾病控制率达到了100%及76%的客观缓解率, 并使17%的患者获得了二次手术的机会, 并且不良反应是可控制的。

(2)EGFR单抗: 西妥昔单抗(cetuximab)是一种重组的人鼠嵌合性EGFR的单克隆抗体而大肠癌以及许多实体瘤中EGFR过度表达, 近年多篇报告显示其疗效与KRAS基因状态密切相关。西妥昔单抗与伊立替康的联合的方案主要有CRYSTAL(一线联合FOLFIRI), 与奥沙利铂的联合的方案主要有OPUS研究。CRYSTAL<sup>[21]</sup>III期随机对照临床研究显示, 西妥昔单抗联合FOLFIRI组及FOLFIRI组的无进展生存期的危险比为0.85( $P = 0.048$ ), ORR之比为1.4( $P = 0.004$ )。对肿瘤组织标本KRAS突变状态与临床疗效的相关性显示, 野生型患者接受西妥昔单抗联合FOLFIRI治疗疗效明显优于单独FOLFIRI组。OPUS研究<sup>[22]</sup>是在FOLFOX4化疗的基础上联合西妥昔单抗一线治疗CRLM患者的与单

纯FOLFOX4化疗组相比较, 结果显示对KRAS野生型mCRC患者, 与单独FOLFOX4化疗方案相比, 西妥昔单抗联合FOLFOX4化疗显著提高总缓解率(57.3% vs 34%,  $P = 0.0027$ ), 肿瘤最佳缩小比例平均高11.6%, 显著延长PFS(8.3 mo vs 7.2 mo,  $P = 0.0064$ )。CELIM研究<sup>[23]</sup>报道了FOLF-FOX6联合西妥昔单抗与FOLFIRI联合西妥昔单抗一线治疗转移性CRLM患者, FOLFOX6联合西妥昔单抗组的RR为68%, R0切除率为20%; FOLFIRI联合西妥昔单抗组的RR为57%, R0切除率为30%, 在所有入组的患者中70%的KRAS基因野生型患者肿瘤出现了退缩, 34%的KRAS基因野生型患者获得了R0切除。然而, 在西妥昔单抗联合伊立替康或奥沙利铂为基础的传统两药化疗方案带来可喜结果的同时, 近期两项III期随机对照研究质疑了西妥昔单抗联合奥沙利铂为基础方案的有效性。COIN研究<sup>[24,25]</sup>比较了奥沙利铂为基础的化疗(CapeOX/FOLFOX)联合或不联合西妥昔单抗治疗, 结果显示在KRAS基因野生型患者中(CapeOX/FOLFOX)联合西妥昔单抗与单纯化疗组OS、PFS上均无获益, KRAS基因野生型患者仅在RR上略有获益(59% vs 50%,  $P = 0.02$ )。2010年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)会议上对COIN研究的重新分组显示FOLFOX联合西妥昔单抗组在PFS上有获益( $P = 0.07$ ), 而CapeOX联合西妥昔单抗组无获益。而NORDIC VII研究<sup>[26]</sup>将FLOX方案[5-FU(F)静脉推注, 亚叶酸钙(LV), 奥沙利铂(O)]作为化疗骨架。患者随机分为3组: A组为FLOX治疗至进展, B组为FLOX+西妥昔单抗治疗至进展, C组为间断性FLOX(16 wk停药、疾病进展后恢复)+持续性西妥昔单抗治疗至进展。主要终点指标是PFS。结果示3组在PFS、RR、OS上均无显著差异。303例KRAS野生型患者中, B组在PFS、OS、RR上与A组亦无显著差异。

KRAS基因状态被证明与西妥昔单抗疗效相关的同时, 对于西妥昔单抗联合奥沙利铂为基础的方案(OPUS、COIN、NORDIC VII)的研究进一步提示在与传统化疗联合的基础上如何合理有效地使用靶向药物给出一些证据。故西妥昔单抗应该避免在奥沙利铂+卡培他滨或推注5-FU的基础上联合西妥昔单抗, 建议与FOLFIRI或FOLFOX方案联合使用美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南不推荐西妥昔单抗与FOLFOX方案

**■相关报道**  
尽管多药联合、足量密集型的化疗方案, 或与靶向药物联合的治疗模式已被指南所推荐, 但其不良反应是制约其运用的主要因素。

## ■创新盘点

结直肠癌肝转移治疗手段多样化,概念及指南更新频繁。在已发表的文献中存在选题范围过大导致对问题的阐述不充分。本文选题范围小,将这部分的科研成果逐一进行阐述,相对而言对临床的指导价值更高。

联合使用。另外**BRAF**基因状态被证实只是一个预后不良的标志而不是西妥昔单抗疗效的基因标志物<sup>[27]</sup>。

(3)帕尼单抗(panitumumab):帕尼单抗是一种完全人源化的单克隆抗体,与EGFR具有高度亲和性,可以同时阻断EGF和TGF-2 $\alpha$ 与EGFR结合,且半衰期更长。PRIME研究<sup>[28]</sup>结果显示在**KRAS**基因野生型患者中(93%),帕尼单抗-FOLFOX4组较FOLFOX4组在PFS(9.6 mo vs 8.0 mo,  $P = 0.02$ )有优势,而OS并无获益;**KRAS**基因野生型组较**KRAS**基因突变组PFS明显获益,在RR上两组分别为55%、48%。另一项随机III期临床研究<sup>[29]</sup>比较了帕尼单抗联合FOLFIRI组与FOLFIRI组二线治疗mCRC患者,联合帕尼单抗后RR具有明显优势(35% vs 10%)。GONO<sup>[30]</sup>报道了FOLFOXIRI方案联合帕尼单抗一线治疗(**KRAS**、**NRAS**、**HRAS**、**BRAF**)均野生型的mCRC患者的II期临床研究。研究入组了37例mCRC患者,33例(89%)达到了客观缓解,16例行二期手术的患者中有13例(35%)获得了R0切除。在随后的17.7 mo的随访中,mPFS为11.3 mo。

(4)靶向药物的联合应用:靶向药物联合应用在转移性大肠癌治疗中的作用已有文献报道,但结果令人失望。CAIRO2研究<sup>[31]</sup>对CapeOX联合贝伐单抗基础上能否进一步联合C225进行了探讨,PACCE研究<sup>[32]</sup>对L-OHP/CPT-11一线化疗联合贝伐单抗基础上能否进一步联合帕尼单抗进行了探讨,发现靶向药物两两联合未能对疗效和远期生存产生影响,甚至反而增加毒性。

1.3 肝动脉灌注化疗 由于肝转移癌血供90%-100%来自肝动脉,经肝动脉灌注化疗肝动脉灌注化疗(hepatic arterial infusion, HAI)药物,由于药物首先经过肝脏,可以在病灶局部形成较高的药物浓度,有利于提高化疗效果这成为HAI的理论基础。去氧氟尿苷(doxifluridine, FUDR)在肝脏的首过提取率可达94%,是较好的局部化疗药物。对于初始不可切除的CRLM患者,运用HAI可获得较高的客观反应率(55%-70%)和R0切除率(16%-18%)<sup>[33,34]</sup>。一项Meta研究<sup>[35]</sup>分析了近期10项随机对照研究,比较以氟尿嘧啶为基础的HAI组与全身化疗组对初始不可切除的CRLM患者的影响,结果HAI组较化疗组在肿瘤客观反映率上有明显优势(42.9% vs 18.4%,  $P < 0.0001$ ),但在OS上并无获益。提示HAI对肿瘤的退缩或许是一种较佳的治疗方式。目前并无高级别的研究表明HAI可以代替全身化疗

作为一种主要的转化治疗方式,虽然HAI被证明有效,但是HAI并不比全身化疗具有显著优势,只是建议与全身化疗联合使用可能有助于延长患者的OS。

1.4 转化化疗的问题 术前短期多药联合、足量密集型的强烈的化疗方案虽然带来了R0切除率的提高,明显增加了CRLM患者的生存获益,但随之而来的肝损伤也开始被高度关注。奥沙利铂为主的化疗可导致肝窦间隙扩张;伊立替康为主的化疗可导致脂肪性肝炎。这些肝损害这种损伤可能导致手术风险增加,甚至导致转移灶无法切除增加术后并发症的发生率<sup>[36,37]</sup>。贝伐珠单抗可增加器官穿孔、出血的风险,并且抑制伤口愈合;同时由于血管内皮生长因子在肝脏再生中发挥重要作用,因此术前接受血管内皮生长因子拮抗剂可能致术后肝脏再生能力下降,增加术后肝衰竭的风险<sup>[38,39]</sup>,因此建议停用贝伐珠单抗后6 wk(2个贝伐单抗半衰期)进行手术治疗。为减轻化疗性肝损伤的发生术前化疗时间不宜超过3-4 mo。对经过转化治疗有望达到R0切除的患者,由于放射学方法证实的化疗后完全缓解(complete clinical response, CCR)约有83%的灶经病理学检查或随访发现仍有活的癌细胞,建议在影像学病灶消失前进行切除,避免CCR的发生<sup>[40]</sup>。

## 2 增大正常肝体积的治疗

增大肝脏体积的治疗主要是为了解决因手术切除肝脏转移灶后面临的残肝体积不足而无法手术的难点。这部分患者需要或并不需要术前化疗使转移灶出现退缩,重要的是手术后要有足够肝脏组织能满足基本生理功能的需求。肝脏细胞属于暂不增值细胞当遭遇手术等打击后可再次进入细胞周期这为增大残肝体积的方法提供了一定的理论基础,增大肝脏体积的治疗主要包括以下两种方法。

2.1 PVE/L 当进行右半肝三区肝切除或右半肝切除术后左半肝体积过小,此时虽然两个相邻的肝段存在充分的血液循环和胆汁引流,但剩余的肝实质不能代偿而发生肝衰竭。为了避免手术后因残肝体积过小需要一种方法使得肝脏体积增大而适合手术的切除。Kinoshita等<sup>[41]</sup>与Makuuchi等<sup>[42]</sup>发现肝癌或胆管癌的患者肿瘤侵犯门静脉右支后受阻塞部分的肝叶发生了萎缩而对侧肝脏即出现代偿性肥大。受此启发门静脉栓塞术被用于切除肝脏的体积过大或者预计

保留的正常肝脏体积不足总体积的30%的病例<sup>[43,44]</sup>。PVE/L后, 通过3-9 wk的肝脏再生, 对侧肝脏增加的体积可以达到肝脏总体积的15%<sup>[45]</sup>。PVE/PVL术后可切除率约在60%-88%, 导致无法手术主要原因是行PVE/PVL术后肿瘤的进展<sup>[46]</sup>。术后患者的5年生存率达到了38%左右。一项Meta分析<sup>[47]</sup>显示PVE主要并发症是肝血肿、肝脓肿、左门静脉血栓形成、门脉高压、胆管炎, 发生率为2.2%, 死亡率为0。

**2.2 TSH** 当肝脏的左右两个肝叶都存在转移病灶时, PVE/PVL术在此时也是不适用的, 这类患者即使经手术切除肝转移病灶后也会因残肝体积不足而发生肝衰竭。因此有学者引入了分期肝叶切除这个概念<sup>[48]</sup>, 这个方法主要用于需要行右半肝或右肝三区切除, 同时左半肝或左肝外叶有转移灶的病例。TSH是一种整体的治疗方式, 这个治疗被分为两部分实施。第1步, 先行原发肿瘤的根治性切除和残肝转移灶的局部切除, 一般位于左半肝或者左外叶, 并可同时行病侧PVE/L; 第2步, 行残留转移灶所分布的右半肝或右三肝切除。二次肝切除前残肝体积的大小是决定是否可行二次肝切除的关键如果残肝体积过小, 此时PVE/L可以使残肝体积代偿的增大使得手术顺利进行。另外为了避免肿瘤在两步之间的间隙发生进展, 有必要运用全身性的化疗或以肝脏局部化的治疗减小肝脏转移灶的体积。同时为了避免化疗药物可能对再生肝组织的再生所产生的影响, 化疗应该在第一次肝切除后的3 wk开始以保证肝组织的再生的安全<sup>[49]</sup>。TSH分流了同时切除肿瘤组织和正常肝组织后的风险; 也评估了肿瘤对化疗的敏感性指导辅助化疗用药<sup>[50]</sup>。近期一项回顾性研究<sup>[51]</sup>分析了459例接受TSH治疗的CRLM患者, 其总88%的患者首次肝脏手术前接受了转化化疗, 第一阶段肝切除后17%的患者接受了辅助化疗, 76%的患者也进行了PVE术。最后有75%的患者获得了R0切除, 中位OS达到了37 mo。所以针对其中的肝脏左右两个肝叶都存在转移病灶的患者而言分期肝叶切除是一种安全有效的转化治疗方式。

### 3 结论

转化治疗的发展无疑给潜在可切除的CRLM患者带来了巨大的生存获益。虽然手术是CRLM患者最为理想的治疗方式但初始可获得手术治疗的患者的比例低, 这成为了影响CRLM患者整体生存率的主要因素。而转化治疗的发展, 从联合

化疗到化疗联合靶向进一步提高了手术的R0切除率; 以增大残肝体积的治疗方式解决了因肝容量不足而导致的手术禁忌, 以上两方面又相互影响着治疗的整个过程, 使得临床工作中可以根据具体患者的情况制定出最佳的治疗决策争取获得手术切除的可能性。同时转化治疗所带来的负面影响以及术后复发的也是不容忽视的。转化治疗如何更好地运用于潜在可切除的CRLM患者这需要更多循证医学的证据的支持。

### 4 参考文献

- 1 Fong Y, Cohen AM, Fortner JG, Enker WE, Turnbull AD, Coit DG, Marrero AM, Prasad M, Blumgart LH, Brennan MF. Liver resection for colorectal metastases. *J Clin Oncol* 1997; 15: 938-946 [PMID: 9060531]
- 2 Sharma S, Camci C, Jabbour N. Management of hepatic metastasis from colorectal cancers: an update. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2008; 15: 570-580 [PMID: 18987925 DOI: 10.1007/s00534-008-1350-x]
- 3 Yang AD, Brouquet A, Vauthey JN. Extending limits of resection for metastatic colorectal cancer: risk benefit ratio. *J Surg Oncol* 2010; 102: 996-1001 [PMID: 21166004]
- 4 Askaroglu B, Akboru MH, Dincer ST, Hancilar T, Yoney A, Isikli L and Unsal M. Analysis of patients diagnosed as rectal carcinoma treated with neoadjuvant chemoradiotherapy and radiotherapy alone. *J Clin Oncol* 2007; 25: a14582
- 5 Köhne CH, van Cutsem E, Wils J, Bokemeyer C, El-Serafi M, Lutz MP, Lorenz M, Reichardt P, Rüdke-Lanz H, Frickhofen N, Fuchs R, Mergenthaler HG, Langenbuch T, Vanhoefer U, Rougier P, Voigtman R, Müller L, Genicot B, Anak O, Nordlinger B. Phase III study of weekly high-dose infusional fluorouracil plus folinic acid with or without irinotecan in patients with metastatic colorectal cancer: European Organisation for Research and Treatment of Cancer Gastrointestinal Group Study 40986. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4856-4865 [PMID: 15939923 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.546]
- 6 Hind D, Tappenden P, Tumur I, Eggington S, Sutcliffe P, Ryan A. The use of irinotecan, oxaliplatin and raltitrexed for the treatment of advanced colorectal cancer: systematic review and economic evaluation. *Health Technol Assess* 2008; 12: iii-ix, xi-162 [PMID: 18462574]
- 7 Alberts SR, Horvath WL, Sternfeld WC, Goldberg RM, Mahoney MR, Dakhil SR, Levitt R, Rowland K, Nair S, Sargent DJ, Donohue JH. Oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin for patients with unresectable liver-only metastases from colorectal cancer: a North Central Cancer Treatment Group phase II study. *J Clin Oncol* 2005; 23: 9243-9249 [PMID: 16230673 DOI: 10.1200/JCO.2005.07.740]
- 8 Pozzo C, Basso M, Cassano A, Quirino M, Schinzari G, Trigila N, Vellone M, Giuliani F, Nuzzo G, Barone C. Neoadjuvant treatment of unresectable liver disease with irinotecan and 5-fluorouracil plus folinic acid in colorectal cancer patients. *Ann Oncol* 2004; 15: 933-939 [PMID: 15151951 DOI: 10.1093/annonc/mdh217]

### ■应用要点

化疗联合靶向药物的治疗已被证实较联合化疗带来更高的R0切除率; 而对KRAS基因野生型的患者而言西妥昔单抗为主的方案较贝伐单抗为主的方案有更高的转化切除率。



## ■名词解释

2009年结肠癌和直肠癌美国国立综合癌症网络指南(中国版)中规定:初次诊断转移灶可手术切除的患者实行的术前化疗称新辅助化疗;而以缩小转移灶并将其转化为可切除的病灶称转化治疗。

- 9 Barone C, Nuzzo G, Cassano A, Basso M, Schinzari G, Giuliani F, D'Argento E, Trigila N, Astone A, Pozzo C. Final analysis of colorectal cancer patients treated with irinotecan and 5-fluorouracil plus folinic acid neoadjuvant chemotherapy for unresectable liver metastases. *Br J Cancer* 2007; 97: 1035-1039 [PMID: 17895897 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603988]
- 10 Marcuello E, Pérez D, Paré L, Salazar J, Sebio A, del Rio E, Baiget M. A genotype-directed phase I-IV dose-finding study of irinotecan in combination with fluorouracil/leucovorin as first-line treatment in advanced colorectal cancer. *Br J Cancer* 2011; 105: 53-57 [PMID: 21654688 DOI: 10.1038/bjc.2011.206]
- 11 Arkenau HT, Arnold D, Cassidy J, Diaz-Rubio E, Douillard JY, Hochster H, Martoni A, Grothey A, Hinke A, Schmiegler W, Schmoll HJ, Porschen R. Efficacy of oxaliplatin plus capecitabine or infusional fluorouracil/leucovorin in patients with metastatic colorectal cancer: a pooled analysis of randomized trials. *J Clin Oncol* 2008; 26: 5910-5917 [PMID: 19018087 DOI: 10.1200/JCO.2008.16.7759]
- 12 Muro K, Boku N, Shimada Y, Tsuji A, Sameshima S, Baba H, Satoh T, Denda T, Ina K, Nishina T, Yamaguchi K, Takiuchi H, Esaki T, Tokunaga S, Kuwano H, Komatsu Y, Watanabe M, Hyodo I, Morita S, Sugihara K. Irinotecan plus S-1 (IRIS) versus fluorouracil and folinic acid plus irinotecan (FOLFIRI) as second-line chemotherapy for metastatic colorectal cancer: a randomised phase 2/3 non-inferiority study (FIRIS study). *Lancet Oncol* 2010; 11: 853-860 [PMID: 20708966 DOI: 10.1016/S1470-2045(10)70181-9]
- 13 Kim SY, S Hong Y, K Shim E, Kong SY, Shin A, Baek JY, Jung KH. S-1 plus irinotecan and oxaliplatin for the first-line treatment of patients with metastatic colorectal cancer: a prospective phase II study and pharmacogenetic analysis. *Br J Cancer* 2013; 109: 1420-1427 [PMID: 23963147 DOI: 10.1038/bjc.2013.479]
- 14 Falcone A, Ricci S, Brunetti I, Pfanner E, Allegrini G, Barbara C, Crinò L, Benedetti G, Evangelista W, Fanchini L, Cortesi E, Picone V, Vitello S, Chiara S, Granetto C, Porcile G, Fioretto L, Orlandini C, Andreuccetti M, Masi G. Phase III trial of infusional fluorouracil, leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) compared with infusional fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer: the Gruppo Oncologico Nord Ovest. *J Clin Oncol* 2007; 25: 1670-1676 [PMID: 17470860 DOI: 10.1200/JCO.2006.09.0928]
- 15 Masi G, Loupakis F, Pollina L, Vasile E, Cupini S, Ricci S, Brunetti IM, Ferraldeschi R, Naso G, Filipponi F, Pietrabissa A, Goletti O, Baldi G, Fornaro L, Andreuccetti M, Falcone A. Long-term outcome of initially unresectable metastatic colorectal cancer patients treated with 5-fluorouracil/leucovorin, oxaliplatin, and irinotecan (FOLFOXIRI) followed by radical surgery of metastases. *Ann Surg* 2009; 249: 420-425 [PMID: 19247029]
- 16 Rivoire M, Thezenas S, Rebischung C, Viret F, Guimbaud R, Francois E, Ducreux M, Quenet F, Desseigne F, Ychou M. Preliminary results of a randomized phase II trial comparing standard bi-therapy versus three intensified chemotherapy regimens as treatment for patients with unresectable liver metastases from colorectal cancer (METHEP). *J Clin Oncol* 2008; 26: a4075
- 17 Saltz LB, Clarke S, Díaz-Rubio E, Scheithauer W, Figer A, Wong R, Koski S, Lichinitser M, Yang TS, Rivera F, Couture F, Sirén F, Cassidy J. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2013-2019 [PMID: 18421054 DOI: 10.1200/JCO.2007.14.9930]
- 18 Hurwitz HI, Fehrenbacher L, Hainsworth JD, Heim W, Berlin J, Holmgren E, Hambleton J, Novotny WF, Kabbavar F. Bevacizumab in combination with fluorouracil and leucovorin: an active regimen for first-line metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 3502-3508 [PMID: 15908660 DOI: 10.1200/JCO.2005.10.017]
- 19 Guan ZZ, Xu JM, Luo RC, Feng FY, Wang LW, Shen L, Yu SY, Ba Y, Liang J, Wang D, Qin SK, Wang JJ, He J, Qi C, Xu RH. Efficacy and safety of bevacizumab plus chemotherapy in Chinese patients with metastatic colorectal cancer: a randomized phase III ARTIST trial. *Chin J Cancer* 2011; 30: 682-689 [PMID: 21959045 DOI: 10.5732/cjc.011.10188]
- 20 Fuchs CS, Marshall J, Mitchell E, Wierzbicki R, Ganju V, Jeffery M, Schulz J, Richards D, Soufi-Mahjoubi R, Wang B, Barrueco J. Randomized, controlled trial of irinotecan plus infusional, bolus, or oral fluoropyrimidines in first-line treatment of metastatic colorectal cancer: results from the BICC-C Study. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4779-4786 [PMID: 17947725 DOI: 10.1200/JCO.2007.11.3357]
- 21 Van Cutsem E, Köhne CH, Hitre E, Zaluski J, Chang Chien CR, Makhson A, D'Haens G, Pintér T, Lim R, Bodoky G, Roh JK, Folprecht G, Ruff P, Stroh C, Tejpar S, Schlichting M, Nippgen J, Rougier P. Cetuximab and chemotherapy as initial treatment for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 1408-1417 [PMID: 19339720 DOI: 10.1056/NEJMoa0805019]
- 22 Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A, Hartmann JT, Aparicio J, Zampino M, Donea S, Ludwig H, Zube A, Koralewski P. Cetuximab plus 5-FU/FA/oxaliplatin (FOLFOX-4) versus FOLFOX-4 in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer (mCRC): OPUS, a randomized phase II study. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4035
- 23 Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO, Raab HR, Lordick F, Hartmann JT, Lang H, Frilling A, Stoecklmaier J, Weitz J, Konopke R, Stroszczyński C, Liersch T, Ockert D, Herrmann T, Goekkurt E, Parisi F, Köhne CH. Tumour response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab: the CELIM randomised phase 2 trial. *Lancet Oncol* 2010; 11: 38-47 [PMID: 19942479 DOI: 10.1016/S1470-2045(09)70330-4]
- 24 Maughan TS, Adams RA, Smith CG, Meade AM, Seymour MT, Wilson RH, Idziaszczyk S, Harris R, Fisher D, Kenny SL, Kay E, Mitchell JK, Madi A, Jasani B, James MD, Bridgewater J, Kennedy MJ, Claes B, Lambrechts D, Kaplan R, Cheadle JP. Addition of cetuximab to oxaliplatin-based first-line combination chemotherapy for treatment of advanced colorectal cancer: results of the randomised phase 3 MRC COIN trial. *Lancet* 2011; 377: 2103-2114 [PMID: 21641636]
- 25 Maughan T, Adams RA, Smith CG, Seymour MT,

- Wilson RH, Meade AM, Fisher D, Madi A, Cheadle J, Kaplan RS. Identification of potentially responsive subsets when cetuximab is added to oxaliplatin-fluoropyrimidine chemotherapy (CT) in first-line advanced colorectal cancer (aCRC): Mature results of the MRC COIN trial. *J Clin Oncol* 2010; 28: a3502
- 26 Okines A, Puerto OD, Cunningham D, Chau I, Van Cutsem E, Saltz L, Cassidy J. Surgery with curative-intent in patients treated with first-line chemotherapy plus bevacizumab for metastatic colorectal cancer First BEAT and the randomised phase-III NO16966 trial. *Br J Cancer* 2009; 101: 1033-1038 [PMID: 19789532]
- 27 Bokemeyer C, Kohne C, Rougier P, Stroh C, Schlichting M, Van Cutsem E. Cetuximab with chemotherapy (CT) as first-line treatment for metastatic colorectal cancer (mCRC): Analysis of the CRYSTAL and OPUS studies according to KRAS and BRAF mutation status. *J Clin Oncol* 2010; 28: a3506
- 28 Douillard JY, Siena S, Cassidy J, Tabernero J, Burkes R, Barugel M, Humblet Y, Bodoky G, Cunningham D, Jassem J, Rivera F, Kocáková I, Ruff P, Blasińska-Morawiec M, Šmakal M, Canon JL, Rother M, Oliner KS, Wolf M, Gansert J. Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer: the PRIME study. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4697-4705 [PMID: 20921465 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.4860]
- 29 Peeters M, Price TJ, Cervantes A, Sobrero AF, Ducreux M, Hotko Y, André T, Chan E, Lordick F, Punt CJ, Strickland AH, Wilson G, Ciuleanu TE, Roman L, Van Cutsem E, Tzekova V, Collins S, Oliner KS, Rong A, Gansert J. Randomized phase III study of panitumumab with fluorouracil, leucovorin, and irinotecan (FOLFIRI) compared with FOLFIRI alone as second-line treatment in patients with metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 4706-4713 [PMID: 20921462 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.6055]
- 30 Fornaro L, Lonardi S, Masi G, Loupakis F, Bergamo F, Salvatore L, Cremolini C, Schirripa M, Vivaldi C, Aprile G, Zaniboni A, Bracarda S, Fontanini G, Sensi E, Lupi C, Morvillo M, Zagonel V, Falcone A. FOLFOXIRI in combination with panitumumab as first-line treatment in quadruple wild-type (KRAS, NRAS, HRAS, BRAF) metastatic colorectal cancer patients: a phase II trial by the Gruppo Oncologico Nord Ovest (GONO). *Ann Oncol* 2013; 24: 2062-2067 [PMID: 23666916 DOI: 10.1093/annonc/mdt165]
- 31 Tol J, Koopman M, Cats A, Rodenburg CJ, Creemers GJ, Schrama JG, Erdkamp FL, Vos AH, van Groenigen CJ, Sinnige HA, Richel DJ, Voest EE, Dijkstra JR, Vink-Börger ME, Antonini NF, Mol L, van Krieken JH, Dalesio O, Punt CJ. Chemotherapy, bevacizumab, and cetuximab in metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 360: 563-572 [PMID: 19196673 DOI: 10.1056/NEJMoa0808268]
- 32 Hecht JR, Mitchell E, Chidiac T, Scroggin C, Hagenstad C, Spigel D, Marshall J, Cohn A, McCollum D, Stella P, Deeter R, Shahin S, Amado RG. A randomized phase IIIB trial of chemotherapy, bevacizumab, and panitumumab compared with chemotherapy and bevacizumab alone for metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 2009; 27: 672-680 [PMID: 19114685 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.8135]
- 33 Ducreux M, Ychou M, Laplanche A, Gamelin E, Lasser P, Hussein F, Quenet F, Viret F, Jacob JH, Boige V, Elias D, Delperro JR, Lubinski M. Hepatic arterial oxaliplatin infusion plus intravenous chemotherapy in colorectal cancer with inoperable hepatic metastases: a trial of the gastrointestinal group of the Federation Nationale des Centres de Lutte Contre le Cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4881-4887 [PMID: 16009952 DOI: 10.1200/JCO.2005.05.120]
- 34 Boige V, Malka D, Elias D, Castaing M, De Baere T, Goere D, Dromain C, Pocard M, Ducreux M. Hepatic arterial infusion of oxaliplatin and intravenous LV5FU2 in unresectable liver metastases from colorectal cancer after systemic chemotherapy failure. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 219-226 [PMID: 17896145 DOI: 10.1245/s10434-007-9581-7]
- 35 Mocellin S, Pasquali S, Nitti D. Fluoropyrimidine-HAI (hepatic arterial infusion) versus systemic chemotherapy (SCT) for unresectable liver metastases from colorectal cancer. *Cochrane Database Syst Rev* 2009; (3): CD007823 [PMID: 19588444]
- 36 Aloia T, Sebah M, Plasse M, Karam V, Lévi F, Giacchetti S, Azoulay D, Bismuth H, Castaing D, Adam R. Liver histology and surgical outcomes after preoperative chemotherapy with fluorouracil plus oxaliplatin in colorectal cancer liver metastases. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4983-4990 [PMID: 17075116 DOI: 10.1200/JCO.2006.05.8156]
- 37 Pawlik TM, Olin K, Gleisner AL, Torbenson M, Schulick R, Choti MA. Preoperative chemotherapy for colorectal liver metastases: impact on hepatic histology and postoperative outcome. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 860-868 [PMID: 17492335 DOI: 10.1007/s11605-007-0149-4]
- 38 Ellis LM, Curley SA, Grothey A. Surgical resection after downsizing of colorectal liver metastasis in the era of bevacizumab. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4853-4855 [PMID: 16051943 DOI: 10.1200/JCO.2005.23.754]
- 39 Drixler TA, Vogten MJ, Ritchie ED, van Vroonhoven TJ, Gebbink MF, Voest EE, Borel Rinkes IH. Liver regeneration is an angiogenesis-associated phenomenon. *Ann Surg* 2002; 236: 703-711; discussion 711-712 [PMID: 12454508 DOI: 10.1097/00000658-200212000-00002]
- 40 Benoist S, Brouquet A, Penna C, Julié C, El Hajjam M, Chagnon S, Mitry E, Rougier P, Nordlinger B. Complete response of colorectal liver metastases after chemotherapy: does it mean cure? *J Clin Oncol* 2006; 24: 3939-3945 [PMID: 16921046 DOI: 10.1200/JCO.2006.05.8727]
- 41 Kinoshita H, Sakai K, Hirohashi K, Igawa S, Yamasaki O, Kubo S. Preoperative portal vein embolization for hepatocellular carcinoma. *World J Surg* 1986; 10: 803-808 [PMID: 3022488 DOI: 10.1007/BF01655244]
- 42 Makuuchi M, Thai BL, Takayasu K, Takayama T, Kosuge T, Gunvén P, Yamazaki S, Hasegawa H, Ozaki H. Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: a preliminary report. *Surgery* 1990; 107: 521-527 [PMID: 2333592]
- 43 Elias D, Ouellet JF, De Baère T, Lasser P, Roche A. Preoperative selective portal vein embolization before hepatectomy for liver metastases: long-term results and impact on survival. *Surgery* 2002; 131: 294-299 [PMID: 11894034 DOI: 10.1067/msy.2002.120234]

## 同行评价

本文通过阐述转化治疗给潜在可切除的结直肠癌肝转移应用, 把近几年的研究成果逐一阐述。内容客观、新颖, 对临床工作有一定的参考价值。

- 44 Jaeck D, Bachellier P, Nakano H, Oussoultzoglou E, Weber JC, Wolf P, Greget M. One or two-stage hepatectomy combined with portal vein embolization for initially nonresectable colorectal liver metastases. *Am J Surg* 2003; 185: 221-229 [PMID: 12620560 DOI: 10.1016/S0002-9610(02)01373-9]
- 45 Kokudo N, Tada K, Seki M, Ohta H, Azekura K, Ueno M, Ohta K, Yamaguchi T, Matsubara T, Takahashi T, Nakajima T, Muto T, Ikari T, Yanagisawa A, Kato Y. Proliferative activity of intrahepatic colorectal metastases after preoperative hemihepatic portal vein embolization. *Hepatology* 2001; 34: 267-272 [PMID: 11481611 DOI: 10.1053/jhep.2001.26513]
- 46 Popescu I, Alexandrescu S, Croitoru A, Boros M. Strategies to convert to resectability the initially unresectable colorectal liver metastases. *Hepatogastroenterology* 2009; 56: 739-744 [PMID: 19621694]
- 47 Abulkhir A, Limongelli P, Healey AJ, Damrah O, Tait P, Jackson J, Habib N, Jiao LR. Preoperative portal vein embolization for major liver resection: a meta-analysis. *Ann Surg* 2008; 247: 49-57 [PMID: 18156923 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31815f6e5b]
- 48 Lygidakis NJ, Vlachos L, Raptis S, Rassidakis G, Balaskas C, Sgourakis G, Mourikis D, Kehagias D, Kittas C. New frontiers in liver surgery. Two-stage liver surgery for the management of advanced metastatic liver disease. *Hepatogastroenterology* 2013; 46: 2216-2228 [PMID: 10521971]
- 49 Adam R, Laurent A, Azoulay D, Castaing D, Bismuth H. Two-stage hepatectomy: A planned strategy to treat irresectable liver tumors. *Ann Surg* 2000; 232: 777-785 [PMID: 11088072 DOI: 10.1097/0000658-200012000-00006]
- 50 Lygidakis NJ, Bhagat AD, Vrachnos P, Grigorakis L. Challenges in everyday surgical practice: synchronous bilobar hepatic colorectal metastases--newer multimodality approach. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1020-1024 [PMID: 17629030]
- 51 Lam VW, Laurence JM, Johnston E, Hollands MJ, Pleass HC, Richardson AJ. A systematic review of two-stage hepatectomy in patients with initially unresectable colorectal liver metastases. *HPB (Oxford)* 2013; 15: 483-491 [PMID: 23750490 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2012.00607.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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



# 肝内型门脉高压大鼠门静脉超微结构及生物力学特性的改变

文彬, 邓鑫, 陈然, 彭佩纯

文彬, 邓鑫, 陈然, 彭佩纯, 广西中医药大学附属瑞康医院 广西  
广西壮族自治区南宁市 530000

文彬, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81160433

广西科技厅重点课题基金资助项目, No.

2011GXNSFD018035

广西卫生厅重点课题基金资助项目, No. 广重20122031

中南大学博士后科学基金资助项目, No. 2013M531816

作者贡献分布: 文彬与邓鑫对此文所作贡献均等; 此课题由邓鑫  
设计; 过程由文彬、陈然及彭佩纯操作完成; 研究所用新试剂及  
分析工具由邓鑫提供; 数据分析由文彬完成; 本论文写作由文彬  
与邓鑫完成.

通讯作者: 邓鑫, 主任医师, 530000, 广西壮族自治区南宁市华东  
路10号, 广西中医药大学附属瑞康医院消化科. dx8848@126.com  
电话: 0771-2238026

收稿日期: 2013-11-10 修回日期: 2013-12-05

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-02-08

## Changes in ultrastructure and biomechanical properties of the portal vein in rats with intrahepatic portal hypertension

Bin Wen, Xin Deng, Ran Chen, Pei-Chun Peng

Bin Wen, Xin Deng, Ran Chen, Pei-Chun Peng, Ruikang  
Hospital Affiliated to Guangxi Chinese Medicine University,  
Nanning 530000, Guangxi Zhuang Autonomous Region,  
China

Supported by: the National Natural Science Foundation of  
China, No. 81160433; the Guangxi Natural Science Founda-  
tion, No. 2011GXNSFD018035; the Guangxi Health Depart-  
ment Key Project, No. 20122031; and the China Postdoctoral  
Science Foundation Funded Project, No. 2013M531816

Correspondence to: Xin Deng, Chief Physician, Depart-  
ment of Gastroenterology, Ruikang Hospital, Guangxi  
Traditional Chinese Medical University, 10 Huadong Road,  
Nanning 530011, Guangxi Zhuang Autonomous Region,  
China. dx8848@126.com

Received: 2013-11-10 Revised: 2013-12-05

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To observe the ultrastructure and biomechanical properties of the portal vein in rats with intrahepatic portal hypertension to provide an experimental basis for further exploring the pathogenesis of portal hypertension.

**METHODS:** Subcutaneous injection of carbon

tetrachloride was performed to induce intrahepatic portal hypertension in rats. Biomechanical methods were used to determine portal vein diameter, longitudinal tensile stress-strain curve and the size of the residual stress during portal hypertension formation. Portal vein ultrastructure was observed by electron microscopy.

**RESULTS:** Compared with normal rats, the portal vein diameter was significantly greater in rats with portal hypertension ( $1.53 \pm 0.28$  mm *vs*  $1.14 \pm 0.17$  mm,  $P < 0.01$ ); portal vein ultrastructure changed significantly; longitudinal tensile stress - strain curve was steeper; the time consumed for the whole process of tensile strain was shorter; the stress at 50% strain was significantly larger ( $1.04 \pm 0.13$  N *vs*  $0.51 \pm 0.08$  N,  $P < 0.01$ ); the opening angle of the portal vein and arc fluctuations increased significantly ( $110.34^\circ \pm 8.09^\circ$  *vs*  $79.93^\circ \pm 2.44^\circ$ ,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Rats with intrahepatic portal hypertension have abnormal portal vein wall remodeling, decreased portal vein compliance, and changes in circumferential and axial biomechanical characteristics.

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

**Key Words:** Portal hypertension; Ultrastructure; Stress-strain; Residual stress; Compliance

Wen B, Deng X, Chen R, Peng PC. Changes in ultrastructure and biomechanical properties of the portal vein in rats with intrahepatic portal hypertension. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 541-545 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/541.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.541>

## 摘要

**目的:** 观察肝内型门脉高压大鼠门静脉超微结构及生物力学特性, 为进一步探索门脉高压病理机制提供实验依据.

**方法:** 四氯化碳皮下注射诱导肝内型门静脉

## ■背景资料

门脉高压时门脉系统生物力学发生了显著改变, 据应力-生长法则, 应力环境的改变将导致应力-生长失衡, 门静脉管壁形态结构也随之发生改变, 因此研究门静脉管壁超微结构、力学特性与门脉高压症的相关性至关重要.

## ■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

## ■ 研发前沿

生物力学是国内研究新热点,目前门脉系统的力学研究多集中于“血流动力学”研究,对门静脉管壁超微结构、力学分布与门脉高压相关性研究尚未深入。

## ■ 相关报道

张宗荣, 汤松伟等在门脉高压兔的模型中, 认为门脉系统的低剪切应力与高周向应力状态参与了门脉高压症并发症发生的力学基础(肝前型门静脉高压兔门脉系统血管壁的研究)。贺细菊, 张兴华等对门静脉高压症猪离体状态的生物力学特性改变和几何性状的进行研究, 发现门脉高压时门静脉弹性模量随压力变大而增大, 顺应性随压力增大而下降(门静脉高压症猪门静脉的生物力学特性及其临床意义), 为临床血管移植提供了一定力学数据。施斌, 朱樑等观察了大鼠肝内型门脉高压症形成中门静脉零应力状态及轴向拉伸时应力-伸长比的动态变化, 认为门脉高压时高压、高流量的特殊血液动力学状态可引起门静脉力学特性(轴向和周向)的力学改变, 这些变化又可进一步加重门脉高压血液动力学异常及病理生理改变, 造成恶性循环。

高压大鼠模型, 生物力学技术测定门脉高压形成中门静脉在体直径、纵向拉伸应力-应变曲线及残余应力大小, 透射电镜下观察门静脉超微结构。

**结果:** 与正常组大鼠相比, 门脉高压组大鼠门静脉体外直径显著增粗( $1.53\text{ mm} \pm 0.28\text{ mm}$  vs  $1.14\text{ mm} \pm 0.17\text{ mm}$ ,  $P < 0.01$ ); 门静脉超微结构发生显著改变; 纵向拉伸应力-应变曲线较陡峭, 整个拉伸应变过程耗时短, 50%应变时应力是 $1.04\text{ N} \pm 0.13\text{ N}$ , 显著大于正常组( $0.51\text{ N} \pm 0.08\text{ N}$ ,  $P < 0.01$ ); 门静脉张开角的弧度及组内波动幅度较正常组显著增大( $110.34^\circ \pm 8.09^\circ$  vs  $79.93^\circ \pm 2.44^\circ$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** 肝内型门脉高压大鼠门静脉管壁存在异常重构, 其顺应性下降, 门静脉呈周向和轴向高应力的生物力学特性改变。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 门脉高压; 超微结构; 应力-应变; 残余应力; 顺应性

**核心提示:** 肝内型门脉高压时, 门静脉超微结构存在异常重构, 如门静脉管壁内皮细胞基底膜不完整, 细胞间隙连接疏松; 平滑肌细胞减少, 周围胶原纤维增多, 胞质肌丝少而紊乱, 部分线粒体嵴断裂、空泡化; 外膜可见大量胶原纤维及疏松结缔组织增生, 管壁顺应性下降, 门静脉轴向及周向处于高应力状态。

文彬, 邓鑫, 陈然, 彭佩纯. 肝内型门脉高压大鼠门静脉超微结构及生物力学特性的改变. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 541-545 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/541>. asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.541>

## 0 引言

目前, 国内外对门脉系统的血流动力学已作了广泛研究<sup>[1,2]</sup>, 发现门脉高压时最突出的病理生理特征为门脉系统的高阻力、高压、高流量及低外周阻力的全身高动力循环状态。由于原有力学平衡遭打破, 门脉系统的生物力学发生了结构和功能改变已得到初步证实<sup>[3,4]</sup>。但门静脉管壁重构、生物力学特性的改变与门脉高压相关性的研究尚未深入, 本实验拟对大鼠门静脉超微结构、纵向拉伸应力-应变及无载荷状态下残余应力的探讨, 对门静脉超微结构和顺应性进行测试评估, 旨在进一步从生物力学角度阐述门脉高压的病理机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料**  $\delta$  SD大鼠, SPF级, 6-7周龄, 体质量 $160\text{ g} \pm 20\text{ g}$ , 购自广西医科大学动物实验中心, 动物合格证: scxk桂2009-0002。四氯化碳( $\text{CCl}_4$ ), 购自天津富宇精细化工试剂厂产品。TY8000系列(50-5000 N)伺服控制拉力试验机。Image-Pro Plus6.0图像分析软件(Media Cybernetics公司)。纯丙酮(EPON812), H-7650型透射电子显微镜(日本日立公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组和模型制备:** 大鼠在适应性饲养1 wk后, 随机分为对照组(30只)和模型组(40只), 采用复合因素法造模<sup>[5]</sup>, 造模组大鼠首次按 $0.5\text{ mL}/100\text{ g}$ 腹部皮下注射(贝蒂斯橄榄油60%+40% $\text{CCl}_4$ )混合液, 以后每隔3日按 $0.3\text{ mL}/100\text{ g}$ 体质量皮下注射, 每周2次, 150 mL/L乙醇为唯一饮料, 同时辅以20%猪油、0.5%胆固醇、79.5%玉米面混合饲料, 共计12 wk; 正常组则以普通饲料和纯净水喂养。

**1.2.2 大鼠门静脉在体直径的测量:** 造模成功后(正常组 $n = 30$ , 模型组 $n = 35$ ), 水合氯醛以 $0.3\text{ mL}/100\text{ g}$ 腹腔注射麻醉, 剖开腹腔, 逐层分离出门静脉, 将分离出的门静脉以记号笔标记两端, 平行置上刻度尺, 数码相机拍照, 所得数值输入计算机, Image-Pro Plus6.0图像分析软件测量门静脉段(胃冠状静脉分支点下游2 cm)在体的直径。门静脉纵向拉伸试验、残余应力、超微结构的测定均在测量门静脉体外直径后随机抽取进行实验。

**1.2.3 大鼠门静脉纵向拉伸试验:** 逐层剥离出门静脉(正常组 $n = 12$ , 模型组 $n = 12$ ), 沿其轴向主干两端剪下长度25 mm, 将门静脉两端夹在伺服控制拉力试验机的夹具上, 夹具间距为20 mm, 以5%/min应变率增加(5 mm/min)进行拉伸测试, 记录应变为50%及试样断裂时的应力, UTM107 WIN-XP测试软件描绘出应力-应变曲线。实验前需要对每个试样反复加载卸载进行预调处理。

**1.2.4 大鼠门静脉残余应力的测定:** 所有操作均在 $25^\circ\text{C}$ 下进行, 取新鲜门静脉主干(正常组 $n = 12$ , 模型组 $n = 12$ ), 移入剩有生理盐水的培养皿中, 沿其长轴连续横切, 得到厚度约为1 mm的血管环, 沿门静脉血管环径向剪开, 静置20 min左右, 数码相机拍照零应力状态血管环横切面图像(以门静脉环内壁中点为顶点, 沿两个断端的内壁作一连线, 所形成的夹角即为张开角), 计算机图文系统测量门静脉张开角, 以此代表门静

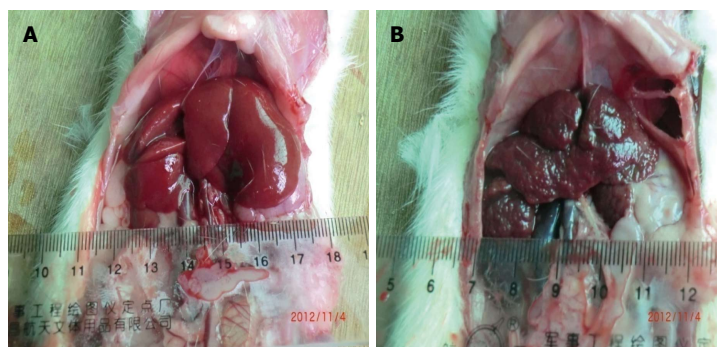


图1 大鼠门静脉体外直径(mm). A: 正常组; B: 门脉高压组.

#### ■创新盘点

本文从门静脉微观结构及力学异常分布等方面探讨门脉高压病理机制, 与传统侧重研究门脉系统“血流动力学”相比具有一定创新性.

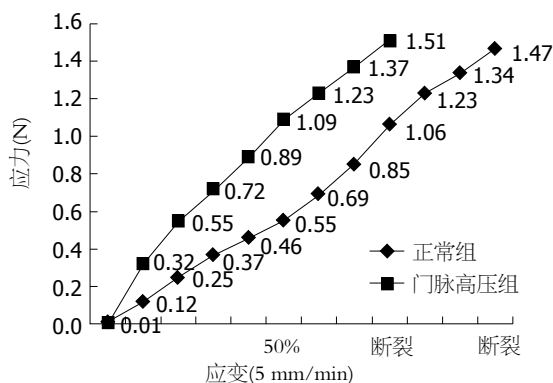


图2 门静脉应力-应变曲线.

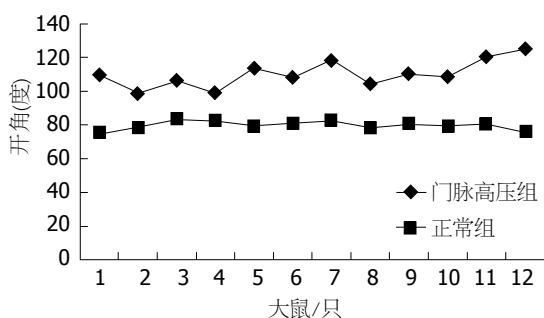


图3 门静脉残余应力曲线.

脉零应力状态的变化.

1.2.5 大鼠门静脉超微结构测定: 取相同部位新鲜门静脉主干(正常组 $n=6$ , 模型组 $n=11$ ), 切成大小约 $1\text{ mm} \times 1\text{ mm} \times 1\text{ mm}$ , 投入 $4^\circ\text{C}$ 预冷的4%戊二醛, 固定24 h, 再经1%四氧化锇固定2 h, 常规乙醇和丙酮脱水, 加丙酮-EPON812环氧树脂包埋, 修块及切片, 铀-铅染色, 透射电镜下观察门静脉管壁超微结构.

**统计学处理** 实验数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用SPSS11.5统计软件行 $t$ 检验和方差分析, 比较组间差异有无统计学意义,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

### 2.1 大鼠门静脉体外直径变化 正常组大鼠实验

期间无死亡, 模型组大鼠死亡5只, 模型成功率达87.5%. 与正常组大鼠相比, 门脉高压组大鼠门静脉管腔充盈, 体外直径显著增粗( $1.53\text{ mm} \pm 0.28\text{ mm}$  vs  $1.14\text{ mm} \pm 0.17\text{ mm}$ ,  $P < 0.01$ , 图1).

2.2 大鼠门静脉纵向拉伸试验结果 正常组大鼠门静脉以每分钟5%应变率增加(5 mm/min)进行拉伸过程中, 应变达50%时应力为 $0.51\text{ N} \pm 0.08\text{ N}$ , 此时应力-应变曲线较平坦, 门静脉拉伸应变从50%到试样断裂过程中, 应力-应变曲线较前陡峭, 应力达1.47 N, 应变为96.46%时试样断裂. 门脉高压组大鼠门静脉以同样速率拉伸过程中, 应力-应变曲线始终陡峭, 门静脉拉伸应变达50%时应力为 $1.04\text{ N} \pm 0.13\text{ N}$ , 当应力达到1.51 N、应变为95.67%时门静脉断裂, 试样拉伸应变耗时较正常组短, 在同等应变条件下, 门脉高压组的应力显著高于正常组( $P < 0.01$ )(图2).

2.3 大鼠门静脉张开角的变化 正常大鼠门静脉沿径向剪开后展开角呈小“c”形, 角度约 $75.4^\circ$ 至 $83.2^\circ$ 左右, 组内波动范围小; 门脉高压组试样切开后展开角呈大“C”形, 角度在 $98.7^\circ$ 至 $124.9^\circ$ 之间, 组内波动幅度较大. 对两组门静脉张开角均值行方差分析与 $t$ 检验, 显示两组门静脉张开角大小之间有统计学差异( $P < 0.01$ ); 正常大鼠门静脉组内差异小, 门脉高压组组内差异大( $P < 0.01$ ), 以均值为基数绘制门静脉张开角曲线, 正常组大鼠门静脉张开角图像基本呈一直线, 门脉高压组门静脉张开角图像较正常组大(图3).

2.4 门静脉超微结构改变 正常组大鼠门静脉内膜内皮细胞表面光滑, 基底膜完整, 细胞间隙连接紧密; 中膜层平滑肌细胞呈梭形, 排列成束, 胞质中可见肌丝; 外膜可见弹性纤维、胶原纤维及疏松结缔组织排列规则. 门脉高压组门静脉内皮细胞基底膜不完整, 细胞间隙连接疏松; 中膜层平滑肌细胞减少, 周围胶原纤维增多, 胞质中肌丝少而紊乱, 部分线粒体嵴断裂、空泡



## ■应用要点

探讨门静脉管壁超微结构及力学异常分布, 为从生物力学角度揭示门脉高压病理机制提供新思路; 同时为人工血管移植提供力学参考价值, 提高血管移植远期不良并发症。

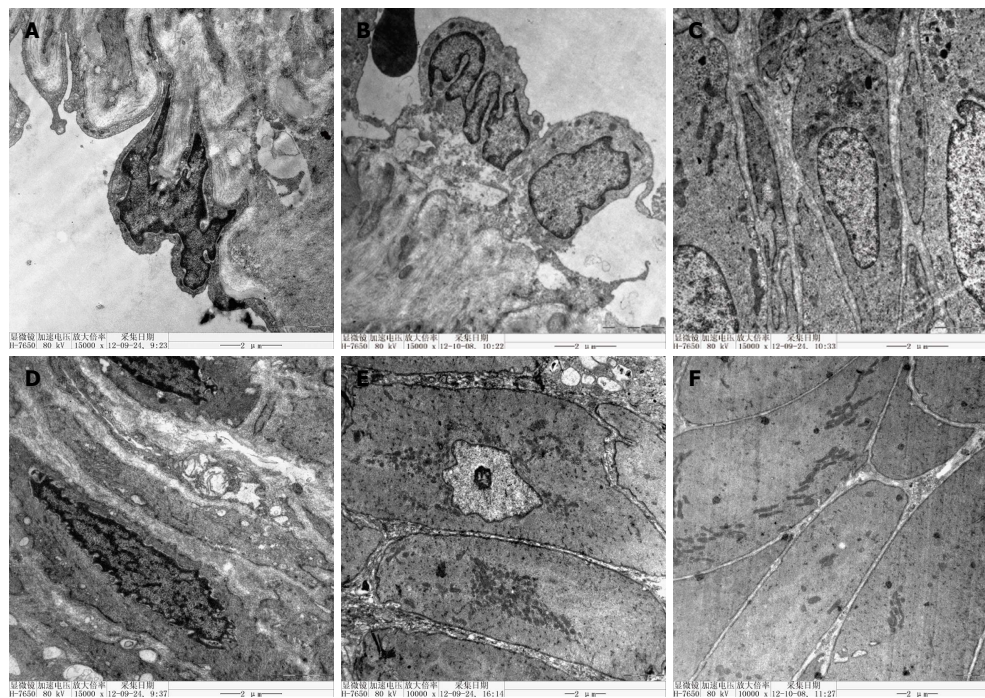


图4 门静脉超微结构(TEM). A: 正常组门静脉内膜层; B: 门脉高压组门静脉内膜层; C: 正常组门静脉中膜层; D: 门脉高压组门静脉中膜层; E: 正常组门静脉外膜层; F: 门脉高压组门静脉外膜层。

化; 外膜未见平滑肌细胞、弹性纤维, 可见大量胶原纤维及疏松结缔组织增生(图4)。

### 3 讨论

肝硬化门脉高压症病理机制复杂, 其中一个显著特点就是全身高动力循环状态。这种特殊的血流动力学改变势必影响门静脉的应力状态<sup>[6]</sup>。顺应性是反应血管应力状态的重要指标之一, 血管管壁超微结构与之密切相关, 目前与管壁顺应性密切相关的组织学成分主要包含内皮细胞、平滑肌细胞、弹性纤维及胶原纤维。研究发现血管在低应力时, 主要由管壁内皮细胞及平滑肌细胞承载<sup>[7,8]</sup>, 高应力时则胶原纤维的拉伸起主要作用。平滑肌细胞主要分为收缩和合成型两种, 收缩型平滑肌细胞胞质内肌丝丰富而细胞器较少, 合成型平滑肌细胞则是胞质内肌丝少, 细胞器丰富, 生理条件下两者处于动态平衡, 合成型占绝对优势时会影响血管的收缩功能, 使管壁趋于扩张。但持续的管壁扩张, 血管力学重新分布, 胶原纤维被拉伸, 由于胶原纤维比弹性纤维具备一定的强度和刚度, 因此门静脉管壁相对会变硬, 顺应性下降。目前常用胶原纤维与弹性纤维含量比值来代表血管刚度, 比值越大则刚度越大, 反之血管弹性及顺应性越差<sup>[9]</sup>。实验中通过透射电镜观察门静脉超微结构, 发现门脉高压时门静脉超微结构发生显著

改变, 中膜平滑肌细胞及胞质肌丝减少, 胶原纤维相应增多, 平滑肌细胞处于合成型状态, 有利于门静脉管壁持续扩张; 另一方面门静脉管壁外膜中胶原纤维与弹性纤维比值增大, 无疑促进血管硬度增加、弹性下降。因此我们推测门静脉平滑肌细胞转型及外膜胶原纤维与弹性纤维等微观结构成分失衡是门脉高压时门静脉持续扩张及管壁顺应性下降等生物力学改变的重要原因之一。

血管轴向拉伸是研究生物材料力学特性的重要方法, 可以反映生物材料的轴向力学特性, 与血管的顺应性显著相关。顺应性是单位压力下血管容积改变, 涵盖周向应力和轴向应力, 是检测血管弹性功能重要指标<sup>[10]</sup>。本研究显示正常组大鼠门静脉纵向拉伸应变达到50%时只需很小的力, 试样应力-应变曲线平坦, 试样拉伸应变可塑性强, 说明门静脉组织具有极好的弹性拉伸性能, 顺应性好; 门脉高压组门静脉拉伸应变为50%时应力较正常组大( $P<0.01$ ), 整个拉伸应变耗时较短, 血管组织容易达到自身弹性极限(断裂), 在相同应变下, 门脉高压组门静脉拉伸应力显著高于正常组。结合门静脉超微结构改变, 我们认为门静脉异常重构及高轴向应力共同作用下, 门静脉管壁相对固有成分被破坏, 硬度增加, 顺应性下降。Cahill等<sup>[11]</sup>与Menon等<sup>[12]</sup>进一步研究发现应力在门静脉顺应性下降、硬度

增加时对管壁的直接破坏力增强.这与本实验结果中门静脉超微结构异常重构相符合,血管壁的破坏则有助于门静脉血栓形成,进一步加重肝脏的损害及门脉高压的维持.

血管的零应力状态并不是无载荷状态下的血管,而是指血管环被径向切开,将残余应力释放后的状态,此时血管环会自动张开呈一定弧度,我们称之为张开角<sup>[13]</sup>.门静脉张开角代表门静脉的残余应力大小,其意义在于可从力学角度反映血管组织重建程度、应力分布情况及周向力学特性<sup>[14]</sup>.本实验基于此原理,通过测量两组大鼠门静脉张开角来量化残余应力大小.实验中正常组门静脉零应力状态下张开角较小,组内波动幅度不大;而门脉高压组门静脉张开角大,组内波动范围差异大,表明门脉高压组大鼠门静脉处于高周向应力状态下.也有研究发现门脉高压时,门脉高应力状态使门静脉内外壁应力分布不一致,导致内外壁生长不均匀,内壁细胞的生长速度大于外壁细胞的生长速度,造成内壁周向应变大于外壁,内壁的残余应力增大,张开角相应增大<sup>[15]</sup>.由此可知血管内部微观结构重排可引起残余应力的改变,残余应力一旦改变势必影响承载对象-管壁组织细胞学的活性,引起管壁结构成分和功能发生变化,最终导致周向应力在血管壁的分布异常.这种正反馈调节可能是门脉高压症并发恶性循环的原因之一.

总之,本实验通过对门静脉超微结构及生物力学特性的研究,结果表明肝内型门脉高压时,门静脉超微结构存在异常重构、管壁顺应性下降,门静脉轴向及周向处于高应力状态.门静脉管壁这种重构及力学异常分布,为我们从生物力学角度揭示门脉高压病理机制提供新思路;同时对门静脉微观成分及顺应性的研究可以为人工血管移植提供力学依据,提高血管移植成功率,减少远期不良并发症.

#### 4 参考文献

- 1 Zekanovic D, Ljubcic N, Boban M, Nikolic M, Delic-Brkljacic D, Gacina P, Klarin I, Turcinov J.

Doppler ultrasound of hepatic and system hemodynamics in patients with alcoholic liver cirrhosis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 458-466 [PMID: 19277866 DOI: 10.1007/s10620-009-0760-1]

- 2 张潭,宇雪豹,秦艳娟,吴小微,范文涛.肝硬化患者门静脉血流动力学彩色多普勒超声检测分析. *中国中西医结合消化杂志* 2013; 23: 257-259
- 3 贺细菊,黄铁柱.门静脉高压症对肝内外相关血管形态结构及生物力学特性的影响. *中国临床解剖学杂志* 2008; 26: 95-98
- 4 邓鑫,吴发胜,梁健.肝宁方对肝硬化门脉高压生物力学的影响. *医学信息* 2011; 24: 928-929
- 5 梁扩寰,李绍白.门静脉高压症.北京:人民军医出版社,1999: 414-416
- 6 张宗荣,汤松伟,朱樑,吴国强,姜宗来,施斌.肝前型门静脉高压兔门脉系统血管应力的研究. *生物医学工程学杂志* 2008; 25: 1322-1326
- 7 Reneman RS, Arts T, Hoeks AP. Wall shear stress--an important determinant of endothelial cell function and structure--in the arterial system in vivo. Discrepancies with theory. *J Vasc Res* 2006; 43: 251-269 [PMID: 16491020 DOI: 10.1159/000091648]
- 8 Cunningham KS, Gotlieb AI. The role of shear stress in the pathogenesis of atherosclerosis. *Lab Invest* 2005; 85: 9-23 [PMID: 15568038 DOI: 10.1038/labinvest.3700215]
- 9 李运辉,褚海波,徐永波,王涛,王国华.曲张大隐静脉管壁病理改变与临床病期的关系. *实用医药杂志* 2009; 26: 6-9
- 10 Kong X, Han B, Wang H, Li H, Xu W, Liu W. Mechanical properties of biodegradable small-diameter chitosan artificial vascular prosthesis. *J Biomed Mater Res A* 2012; 100: 1938-1945 [PMID: 22492590 DOI: 10.1002/jbm.a.34136]
- 11 Cahill PA, Redmond EM, Sitzmann JV. Endothelial dysfunction in cirrhosis and portal hypertension. *Pharmacol Ther* 2001; 89: 273-293 [PMID: 11516480 DOI: 10.1016/S0163-7258(01)00128-0]
- 12 Menon KV, Kamath PS. Regional and systemic hemodynamic disturbances in cirrhosis. *Clin Liver Dis* 2001; 5: 617-627, viii [PMID: 11565133 DOI: 10.1016/S1089-3261]
- 13 Fung YC, Liu SQ. Strain distribution in small blood vessels with zero-stress state taken into consideration. *Am J Physiol* 1992; 262: H544-H552 [PMID: 1539714]
- 14 宋玉祥,陈峰,熊江,郭伟,潘秀颀,贾森皓,刘杰.氢气饱和和生理盐水对腹主动脉瘤大鼠主动脉残余应力的影响. *中国修复重建外科杂志* 2013; 27: 881-884
- 15 Liu SQ. Focal expression of angiotensin II type 1 receptor and smooth muscle cell proliferation in the neointima of experimental vein grafts: relation to eddy blood flow. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999; 19: 2630-2639 [PMID: 10559005 DOI: 10.1161/01.ATV.19.11.2630]

#### ■同行评价

本文进一步探讨了肝内型门脉高压大鼠门静脉生物力学特性及力学特点,为后续治疗及血管移植创造条件,证据充分,引用合理,研究具有一定新颖性.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利





# 葛根芩连汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝炎的影响

续 畅, 王允亮, 张慧芹, 刘泽洲, 郝 钰, 牛建昭, 李军祥

## ■背景资料

非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)是非酒精性单纯性脂肪肝病向肝纤维化、肝硬化转化的关键环节, 是隐源性肝硬化的重要病因之一。

续畅, 张慧芹, 刘泽洲, 郝钰, 牛建昭, 北京中医药大学基础医学院 北京市 100029

王允亮, 李军祥, 北京中医药大学东方医院消化科 北京市 100078

续畅, 在读硕士, 主要从事肝病中药干预的研究。

高等学校学科创新引智计划基金资助项目, No. B07007

作者贡献分布: 课题设计由牛建昭与李军祥完成; 研究过程由续畅、王允亮、张慧芹及刘泽洲完成; 试剂由牛建昭与郝钰提供; 数据分析由续畅与张慧芹; 论文写作由续畅与李军祥完成。

通讯作者: 李军祥, 医学博士, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100078, 北京市丰台区方庄芳星园一区6号, 东方医院消化内科。lijx1226@263.net

电话: 010-64286762

收稿日期: 2013-10-15 修回日期: 2013-11-06

接受日期: 2013-12-13 在线出版日期: 2014-02-08

## Effects of Gegen Qinglian Tang on high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats

Chang Xu, Yun-Liang Wang, Hui-Qin Zhang, Ze-Zhou Liu, Yu Hao, Jian-Zhao Niu, Jun-Xiang Li

Chang Xu, Hui-Qin Zhang, Ze-Zhou Liu, Yu Hao, Jian-Zhao Niu, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100029, China

Yun-Liang Wang, Jun-Xiang Li, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, Beijing 100078, China  
Supported by: the Discipline Innovative Intelligence Program Funded Project (project 111), No. B07007

Correspondence to: Jun-Xiang Li, Chief Physician, Professor, Dongfang Hospital, Beijing University of Chinese Medicine, 6 District 1, Fangxingyuan, Fangzhuang, Fengtai District, Beijing 100078, China. lijx1226@263.net

Received: 2013-10-15 Revised: 2013-11-06

Accepted: 2013-12-13 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To explore the effects of Gegen Qinglian Tang on high-fat diet-induced nonalcoholic steatohepatitis(NASH) in rats.

**METHODS:** SD rats were fed a high-fat diet to induce nonalcoholic steatohepatitis. Different doses of Gegen Qinglian Tang were administered intragastrically when the rats were fed the high-fat diet. Blood samples were harvested after 8 wk to detect aspartate aminotransferase (AST), alanine transaminase (ALT), cholesterol

total (CHO), low density lipoprotein (LDL), high density lipoprotein (HDL), fasting plasma glucose (FPG), and fasting insulin (FINS). Liver tissue samples were taken for hematoxylin-eosin (HE) staining and oil-red O staining. In addition, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) activity score (NAS) and homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) were assessed.

**RESULTS:** Compared with the model group, the levels of serum AST, ALT, CHO, LDL and HOMA-IR were significantly decreased and the levels of serum HDL significantly increased in the high dose Gegen Qinglian group. The results of HE staining, oil-red O staining and NAS assessment showed that Gegen Qinglian Tang could significantly inhibit the development of NASH.

**CONCLUSION:** Gegen Qinglian Tang has therapeutic effects against NASH in SD rats, and it can improve insulin resistance.

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

**Key Words:** Gegen Qinglian Tang; Nonalcoholic steatohepatitis; SD rats; High-fat diet; Insulin resistance

Xu C, Wang YL, Zhang HQ, Liu ZZ, Hao Y, Niu JZ, Li JX. Effects of Gegen Qinglian Tang on high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 546-552 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/546.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.546>

## 摘要

**目的:** 探讨葛根芩连汤对非酒精性脂肪性肝炎的干预作用。

**方法:** 高脂饲料喂养SD大鼠以制备非酒精性脂肪性肝炎模型, 各给药组在造模的同时进行灌胃给药, 持续8 wk后取材, 血清用比色法对谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、总胆固醇(cholesterol total, CHO)、低密度脂蛋

## ■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科



白(low density lipoprotein, LDL)、高密度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)的含量进行检测, 用放免法对空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)的含量进行检测, 并进行胰岛素抵抗指数(homeostatic model assessment of insulin resistance, HOMA-IR)计算; 肝组织制成石蜡切片及冰冻切片进行HE及油红O染色, 并根据“非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)活动度积分”对各组肝组织进行NASH评估。

**结果:** 与空白组比较, NASH大鼠血清中AST、ALT、CHO、LDL的含量显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), HDL的含量显著降低( $P<0.01$ ), HOMA-IR指数显著升高( $P<0.05$ ), 葛根芩连汤可显著抑制高脂饲料喂养SD大鼠过程中血清AST、ALT、CHO、LDL含量( $P<0.01$ )及HOMA-IR指数的升高( $P<0.05$ )以及HDL含量的降低( $P<0.01$ ); HE染色、油红O染色及NAFLD活动度积分结果显示, 葛根芩连汤可显著抑制NASH及相关病理变化的发生发展。

**结论:** 葛根芩连汤对非酒精性脂肪性肝炎有一定的干预作用, 并可改善胰岛素抵抗。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 葛根芩连汤; 非酒精性脂肪性肝炎; 大鼠; 高脂饮食; 胰岛素抵抗

**核心提示:** 在“异病同治”中医理论指导下, 现代中医应用该方治疗湿热内蕴证2型糖尿病疗效明确, 具有明显降糖、降血脂、改善胰岛素抵抗及抗氧化等作用。本课题组应用临床流行病学调查及因子分析等方法研究了NASH的病机、证型及证候要素, 认为NASH的核心病机、主要证型及证候要素与2型糖尿病类似, 符合“异病-同证-同治”的原则。

续畅, 王允亮, 张慧芹, 刘泽洲, 郝钰, 牛建昭, 李军祥. 葛根芩连汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝病的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 546-552 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/546.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.546>

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)是一种无过量饮酒, 以肝实质细胞脂肪变和脂肪贮积为特征, 伴随弥散性肝小叶轻度炎症和/或肝中央静脉、肝窦周围胶原沉积的

临床病理综合征<sup>[1]</sup>。研究表明, NASH是非酒精性单纯性脂肪肝向肝纤维化、肝硬化转化的关键环节, 是隐匿性肝硬化的重要病因之一<sup>[2]</sup>。NASH的发病机制至今尚不清楚, “二次打击”学说目前被广泛认可<sup>[3]</sup>。其中, 第一次打击源于肝细胞的脂肪变性, 其核心病理机制是胰岛素抵抗<sup>[4]</sup>。进而, 肝组织出现脂质过氧化、氧自由基损伤、线粒体功能障碍以及炎性细胞因子增多等病理过程, 形成“二次打击”<sup>[5]</sup>。另有学者认为, NASH属代谢综合征表现之一, 与肥胖、高脂血症、2型糖尿病等常常并发或相互转化<sup>[6]</sup>。因此, 理想的NASH防治药物应具有多靶点、能干预多个病理环节。

目前, 西医临床尚无治疗NASH疗效确切的药物。现有的治疗方案主要用于: (1)改善糖、脂肪代谢(吡格列酮、罗格列酮、二甲双胍等); (2)抗氧化、抗炎(N-乙酰半胱氨酸、维生素E、熊去氧胆酸等); (3)降脂(他汀、贝特类药物等)。上述药物虽然有各自的理论依据, 但缺少明确的临床疗效和大规模RCT试验数据支持<sup>[7]</sup>。因此, 开发疗效肯定的NASH防治药物仍然是研究者关注的热点。

葛根芩连汤源自《伤寒论》, 由4味中药组成(葛根、黄芩、黄连、甘草), 用于治疗湿热所致腹泻和痢疾, 是治疗急性腹泻的经典方剂<sup>[8]</sup>。在“异病同治”中医理论指导下, 现代中医应用该方治疗湿热内蕴证2型糖尿病疗效明确, 具有明显降糖、降血脂、改善胰岛素抵抗及抗氧化等作用<sup>[9,10]</sup>。本课题组应用临床流行病学调查及因子分析等方法研究了NASH的病机、证型及证候要素, 认为NASH的核心病机、主要证型及证候要素与2型糖尿病类似, 符合“异病-同证-同治”的原则<sup>[11]</sup>。为此, 本实验采用高脂饲料诱导NASH大鼠模型, 系统观察了葛根芩连汤对NASH大鼠胰岛素抵抗、脂肪代谢、肝细胞脂肪沉积的影响, 期望为开发防治NASH及其并发症有效的中药制剂提供新思路 and 实验数据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SD大鼠购自北京维通利华实验动物有限公司[SCXK(京)2012-0001]。被试药(葛根芩连汤颗粒剂)由北京中医药大学东方医院制剂室提供。谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、总胆固醇(cholesterol total, CHO)、低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)、高密

**■研发前沿**  
NASH的发病机制至今尚不清楚, “二次打击”学说目前被广泛认可。

## ■相关报道

葛根素(葛根的主要成分)可显著改善高脂饲料诱导大鼠肝脏脂肪变性,抑制炎症因子表达。小檗碱(黄连的主要成分)可改善db/db小鼠脂代谢、增强外周组织AMP活化激酶(AMPK)活性及脂肪酸氧化能力;黄芩苷(黄芩的主要成分)可降低脂肪肝模型大鼠血清中TC、FFA及胰岛素的浓度,并增强AMPK和乙酰辅酶A羧化酶磷酸化的能力。

表 1 NAFLD活动度积分组织学评分判断标准

程度评分	肝脂肪变	小叶内炎症	肝细胞气球样变
0	<5%	无病灶	无
1	5%~33%	<2	少量气球样细胞
2	34%~66%	2~4	较多/显著气球样变
3	>66%	>4	

NAS $\geq$ 5分者可明确NASH的诊断; NAS<3分则可排除NASH; 两者之间者为NASH可能。

度脂蛋白(high density lipoprotein, HDL)、空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)比色法试剂盒, 购自中生北控股份有限公司。空腹胰岛素(fasting insulin, FINS)放免法试剂盒, 购自北京华英生物技术研究所。高脂饲料(88%基础饲料+10%猪油+2%胆固醇), 购自北京华阜康生物科技股份有限公司; 阳性药水飞蓟宾胶囊(水林佳, 批准文号: 国药准字H20040299)为天津天士力制药股份有限公司产品; UCT超薄切片机, 德国莱卡; BS224S电子天平, 德国赛多利斯; 超低温冰箱, 海尔集团; SC3616低速离心机, 安徽中科中佳科学仪器有限公司; BX40光学显微镜, 日本OLYMPUS; CamERC5s照相系统, 德国蔡司ZEISS; MVLTIKAN MK3酶标仪, 美国Thermo公司; 7160全自动生化仪, 日本日立公司; r-911全自动放免计数仪, 中国科技大学实业总公司。

## 1.2 方法

1.2.1 动物分组及处置: ♂ SD大鼠(SPF级)50只(120 g $\pm$ 5 g)随机分为5组: 正常对照组、NASH模型组、水飞蓟宾组(21 mg/kg, 按人临床用量换算)、葛根芩连汤高剂量组(9.6 g/kg, 按生药量换算)和葛根芩连汤低剂量组(4.8 g/kg, 按生药量换算), 每组10只。依照本实验室常规方法<sup>[12]</sup>, 全部大鼠适应性喂养7 d后, 正常对照组饲喂普通饲料, 其余各组均饲喂高脂饲料, 持续8 wk。本实验采用预防给药的方式, 每天上午灌胃给药1次, 正常对照组及模型组灌胃给予同体积蒸馏水。大鼠自由饮水, 每天观察动物进食、二便、活动、毛发等情况。每周计量体质量1次。第8周实验结束时, 全部大鼠禁食24 h, 称质量、麻醉(10%水合氯醛, 0.04 mL/kg体质量)、腹主动脉取血、静置30 min后离心制备血清(3000 r/min)。取相同部位肝组织, 一部分经4%多聚甲醛固定, 用于制备石蜡切片; 另一部分经OCT包埋、制备冰冻切片。

1.2.2 血清AST、ALT、CHO、LDL及HDL含量测定: 采用比色法, 全自动生化分析仪依照常规

方法检测。

1.2.3 胰岛素抵抗水平测定: 比色法检测血清中FPG的含量, 放免法检测血清中FINS的浓度, 根据公式计算HOMA-IR指数, 即HOMA-IR = FPG(mmol/L)×FINS(mIU/L)/22.5。

1.2.4 肝组织病理学检测: 常规石蜡包埋、石蜡切片(4  $\mu$ m)及HE染色、光镜观察并摄片; 冰冻切片(10  $\mu$ m)行常规油红O染色、光镜观察并摄片。NASH病理诊断标准采用“亚太地区非酒精性脂肪性肝病诊断与治疗共识”推荐的美国国立卫生研究院NASH临床研究网络病理委员会2005年制定的NAFLD活动度积分<sup>[13]</sup>(NAFLD activity score, NAS)进行评估。NAS组织学评分系统对14项病理改变, 3项指标进行了半定量评估计分(表1)。

**统计学处理** 定量数据采用SPSS18.0软件对血清生化指标检测结果进行统计学分析。计量资料采用mean $\pm$ SD的形式表示对符合正态分布且方差齐性的计量资料组间比较采用ANOVA单因素方差分析; 对符合正态分布且方差不齐的计量资料组间比较采用Welch检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般情况 各组大鼠实验期间均无死亡。正常对照大鼠毛发柔顺、有光泽, 精神状态良好, 取材时肉眼观察肝脏颜色红润, 与周边脏器边缘清晰。NASH模型大鼠体质量在前4 wk快速增长, 4 wk后增长速度显著下降, 大鼠毛发紊乱、无光泽, 精神萎靡, 取材时肉眼观察肝脏颜色变黄, 肝脏肿大(部分肝表面可见结节及与周边组织粘连)。葛根芩连汤高、低剂量组及阳性对照大鼠肝组织肉眼观察颜色变浅, 肿大不明显, 与周边脏器少有黏连。

2.2 血清生化指标检测 如表2所示, 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清中AST、ALT、CHO、LDL的含量均显著升高( $P<0.05$ 或 $P<0.01$ ), 而

■创新盘点  
在“异病同治”  
中医理论指导下,  
应用葛根芩连汤  
干预NASH的  
发生发展。

表 2 各组大鼠血清中AST、ALT、CHO、LDL、HDL含量( $n=10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	AST(U/L)	ALT(U/L)	CHO(mmol/L)	LDL(mmol/L)	HDL(mmol/L)
正常组	299.88 $\pm$ 3.74	19.49 $\pm$ 4.68	1.68 $\pm$ 0.19	0.16 $\pm$ 0.02	1.41 $\pm$ 0.13
模型组	424.13 $\pm$ 15.69 <sup>a</sup>	38.46 $\pm$ 5.22 <sup>b</sup>	2.81 $\pm$ 0.79 <sup>b</sup>	1.13 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	1.00 $\pm$ 0.06 <sup>b</sup>
阳性药组	230.97 $\pm$ 12.74 <sup>d</sup>	22.40 $\pm$ 7.08 <sup>c</sup>	1.77 $\pm$ 0.13 <sup>d</sup>	0.52 $\pm$ 0.04 <sup>d</sup>	1.11 $\pm$ 0.16
高剂量组	251.31 $\pm$ 33.62 <sup>d</sup>	19.32 $\pm$ 2.37 <sup>d</sup>	1.53 $\pm$ 0.11 <sup>d</sup>	0.10 $\pm$ 0.01 <sup>d</sup>	1.54 $\pm$ 0.18 <sup>d</sup>
低剂量组	256.60 $\pm$ 27.15 <sup>d</sup>	24.76 $\pm$ 6.89 <sup>c</sup>	1.94 $\pm$ 0.39 <sup>c</sup>	0.55 $\pm$ 0.25 <sup>d</sup>	1.09 $\pm$ 0.19

<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 正常组; <sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 模型组. AST: 谷草转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶; CHO: 总胆固醇; LDL: 低密度脂蛋白; HDL: 高密度脂蛋白。

表 3 各组大鼠血清中FPG、INS含量及HOMA-IR指数( $n=10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	FPG(mmol/L)	FINS(mIU/L)	HOMA-IR
正常组	3.51 $\pm$ 0.67	16.67 $\pm$ 4.00	2.56 $\pm$ 0.50
模型组	4.74 $\pm$ 2.20 <sup>a</sup>	17.09 $\pm$ 2.40	3.72 $\pm$ 2.18 <sup>a</sup>
阳性药组	2.24 $\pm$ 1.17	12.74 $\pm$ 2.49 <sup>b</sup>	1.20 $\pm$ 0.53 <sup>c</sup>
高剂量组	1.90 $\pm$ 0.87 <sup>c</sup>	15.79 $\pm$ 2.41	1.31 $\pm$ 0.60 <sup>c</sup>
低剂量组	2.96 $\pm$ 2.52	17.48 $\pm$ 1.67	2.40 $\pm$ 2.18

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 正常组; <sup>b</sup> $P<0.01$ , <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 模型组. FPG: 空腹血糖; FINS: 空腹胰岛素; HOMA-IR: 胰岛素抵抗指数。

HDL的含量则显著降低( $P<0.01$ ); 与模型组比较, 阳性药组、葛根芩连汤高剂量组及低剂量组大鼠血清中AST、ALT、CHO、LDL的含量均显著降低( $P<0.01$ ), 除高剂量组外, 阳性药及低剂量组大鼠血清中HDL的含量无明显改变。

2.3 胰岛素抵抗检测 如表3所示, 与正常对照组比较, 模型组大鼠血清中FPG与FINS的含量均呈升高的趋势, 经计算HOMA-IR值显著升高( $P<0.05$ ); 与模型组比较, 除低剂量外, 阳性药组、葛根芩连汤高剂量组大鼠HOMA-IR值均显著降低( $P<0.05$ )。

2.4 肝组织病理学检测 正常对照大鼠肝组织石蜡切片、光镜下可见: 肝组织着色均匀, 肝细胞索排列规则, 肝细胞结构清晰(图1A); 模型组大鼠肝组织呈大面积脂肪样变, 中央静脉周围肝细胞呈严重空泡化, 部分可见炎性细胞浸润(图1B); 阳性药、葛根芩连汤高低剂量干预组大鼠肝组织脂肪变程度明显减弱, 炎性细胞浸润减少(图1C-E)。为显示肝细胞内脂滴的多少、分布, 我们对肝组织冰冻切片行油红O染色(红色示脂滴), 染色结果显示, 正常对照组大鼠肝组织不着色(图2A); 模型组大鼠肝组织可见大量脂滴(图2B); 阳性药、葛根芩连汤高低剂量干预组大鼠肝组织中脂滴明显减少、呈不均匀分

布(图1C-E)。NAS组织学病理评分结果显示: 模型组NAS为 $8 \pm 0.00(>5)$ , 表明NASH模型复制成功; 阳性药组、葛根芩连汤高剂量组NAS评分分别为 $2.8 \pm 1.94$ 及 $2.8 \pm 2.55(<3)$ , 提示药物的干预作用有效; 而葛根芩连汤低剂量组NAS评分为 $4.4 \pm 1.99(>3-<5)$ , 提示药物干预作用不明显(表4)。

### 3 讨论

NASH是以肝小叶为病变主体的, 以弥散性肝细胞大泡性脂肪变性及弥散性肝小叶轻度炎症为病理特征的临床病理综合征<sup>[12]</sup>。现代中医根据其肝郁脾虚、痰湿阻滞、湿热内蕴、痰瘀互结、肝肾不足等主要临床特征, 将NASH归属于“肝癖”、“肝胀”、“痞满”、“胁痛”、“积聚”、“肥气”、“痰浊”、“肝痞”、“瘀证”等病证范畴。李军祥教授根据本病的病位、病因、病机特点认为: 脾虚肝郁、痰瘀互结、湿热等是NASH临床主要证候要素, 对应的治法当以疏肝健脾、祛痰化瘀、清热化湿<sup>[13]</sup>。

葛根芩连汤通常用于治疗太阳表邪内陷所致热下利证。现代中医在大量临床实践中发现, 该方对改善2型糖尿病脾胃湿热、脾失健运等临床证候疗效显著, 并通过动物实验及多中心



## ■应用要点

葛根芩连汤干预NASH发生、发展的物质基础明确、可靠,为进一步探讨该复方中药的分子药理机制提供很好的背景资料。

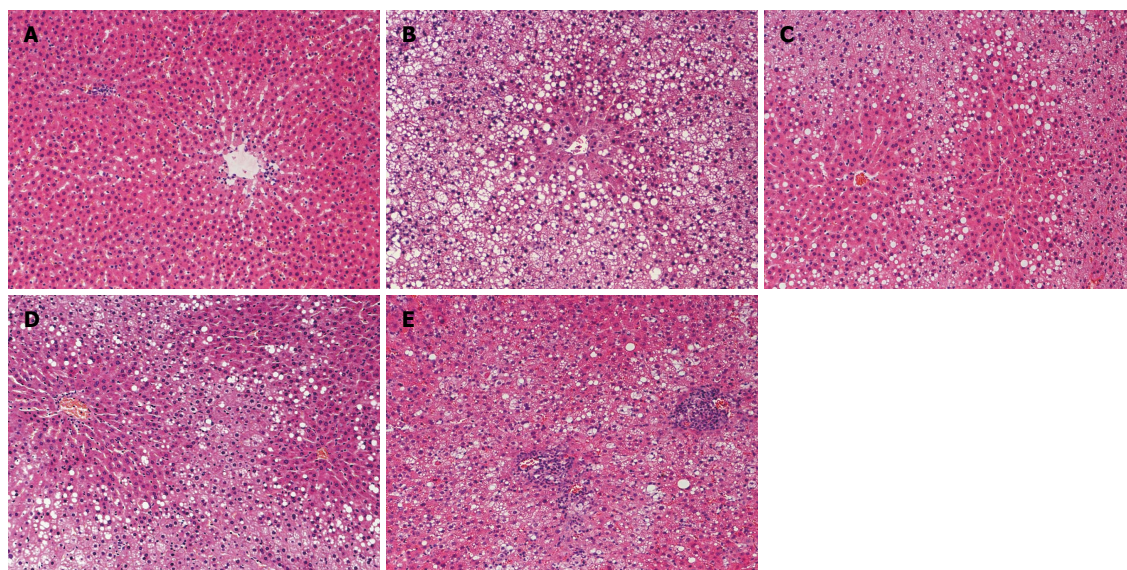


图1 大鼠肝组织石蜡切片HE染色光镜观察结果( $\times 100$ )。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 阳性干预对照组; D: 葛根芩连汤高剂量干预组; E: 葛根芩连汤低剂量干预组。

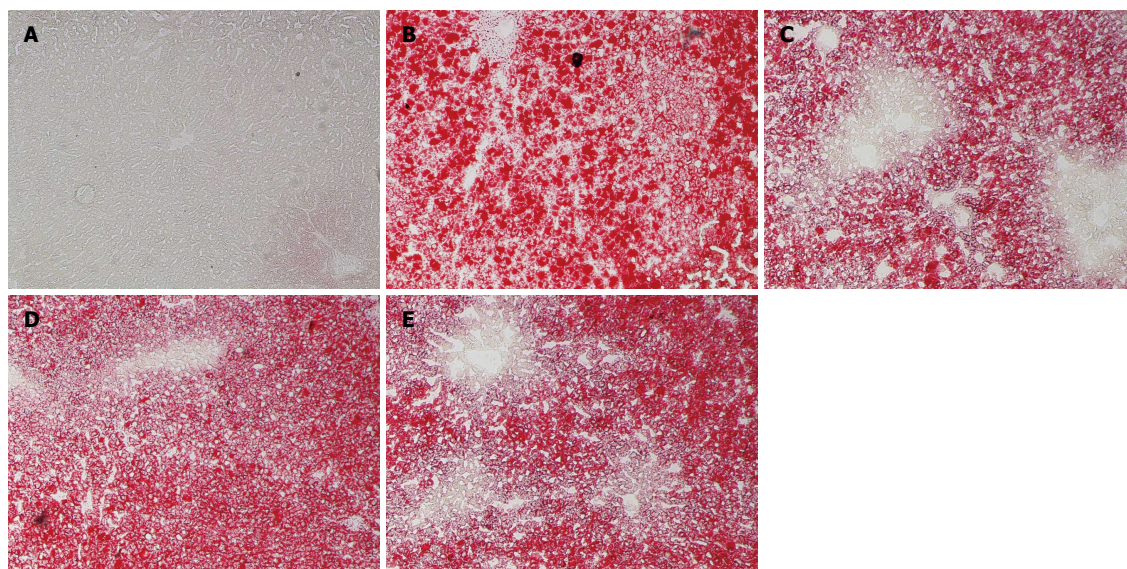


图2 大鼠肝组织冰冻切片油红O染色光镜观察结果( $\times 100$ )。A: 正常对照组; B: 模型组; C: 阳性干预对照组; D: 葛根芩连汤高剂量干预组; E: 葛根芩连汤低剂量干预组。

临床试验证明了葛根芩连汤防治2型糖尿病的药效作用<sup>[10]</sup>。2型糖尿病、高脂血症、非酒精性脂肪性肝病同属代谢综合征,他们之间具有共同的病理特征(如胰岛素抵抗、肝脏脂肪代谢紊乱、氧化应激等),并在一定条件下可相互诱发或转化。根据中医“异病-同证-同治”原则,本课题组提出葛根芩连汤可通过调节胰岛素抵抗、改善脂代谢等影响NASH形成的假说。为验证该假说是否成立,本实验制备了高脂饲料诱导大鼠NASH模型,选取水飞蓟宾胶囊(水林佳)为阳性对照药,观察了葛根芩连汤对NASH形成过程中胰岛素抵抗、脂代谢、肝脂肪变等病理

环节的干预作用。水飞蓟宾胶囊主要成分为水飞蓟宾,是从水飞蓟的种皮中提取的一种黄酮化合物,用于治疗高血脂和非酒精性脂肪肝,临床应用广泛、药理机制较明确。

本实验的结果表明:水飞蓟宾胶囊和葛根芩连汤预防性给药均能显著改善高脂饲料诱导的脂肪性肝病的发生、发展,可显著降低大鼠血清中AST、ALT、CHO及LDL含量,促进血清中HDL水平的增多。血清中FPG、FINS及HOMA-IR指数检测结果提示,葛根芩连汤对高脂饲料引发的NAFID大鼠胰岛素抵抗具有显著改善作用。而肝组织病理学检测结果提示,葛根



表 4 各组肝组织NAFLD活动度积分(NAS)组织学评分( $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

分组	肝脂肪变	小叶内炎症	肝细胞气球样变	NAS总分
正常对照组	0.0 $\pm$ 0.00	0.0 $\pm$ 0.00	0.0 $\pm$ 0.00	0.0 $\pm$ 0.00
NASH模型组	3.0 $\pm$ 0.00	3.0 $\pm$ 0.00	2.0 $\pm$ 0.00	8.0 $\pm$ 0.00
阳性对照组	1.4 $\pm$ 0.55	0.6 $\pm$ 0.55	0.8 $\pm$ 0.84	2.8 $\pm$ 1.94
葛根芩连汤高剂量组	1.0 $\pm$ 0.71	0.8 $\pm$ 0.84	1.0 $\pm$ 1.00	2.8 $\pm$ 2.55
葛根芩连汤低剂量组	1.6 $\pm$ 0.55	1.4 $\pm$ 0.89	1.4 $\pm$ 0.55	4.4 $\pm$ 1.99

NAS  $\geq 5$ 分者可明确NASH的诊断; NAS  $< 3$ 分则可排除NASH; 两者之间者为NASH可能。

芩连汤对肝细胞脂肪变及炎性细胞浸润有明显保护作用。高脂饮食诱发的大鼠NASH模型是经典的代谢综合征模型之一, 其在形态学、病理生理学方面与人的NASH病理特点相似, 广泛用于研究NASH发生机制及抗NASH药物的评价上<sup>[14]</sup>。该造模方法的主要原理: 通过增加饮食中脂质的摄入量, 显著提高血液中游离脂肪酸(free fatty acid, FFA)含量。过剩的FFA一方面引起机体脂肪酸代谢紊乱, 导致肝细胞内甘油三酯(triglyceride, TG)蓄积; 另一方面诱发胰岛素抵抗, 对肝脏形成“第一次打击”。脂肪酸代谢紊乱及胰岛素抵抗又增加肝细胞对各种损伤因素及炎症的敏感性, 易产生大量活性氧自由基(reactive oxygen species, ROS), 进而启动氧化应激, 形成对肝脏的“第二次打击”, 最终导致NASH的发生。本实验结果表明: 葛根芩连汤对大鼠NASH的发生、发展具有明显的抑制作用, 提示其药理机制可能是: 通过调节脂代谢和改善胰岛素抵抗, 干预了NASH发生的早期环节(一次打击)。

葛根芩连汤中主要组分(葛根、黄连、黄芩)的生物活性已有报道, 如葛根素(葛根的主要成分)可显著改善高脂饲料诱导大鼠肝脏脂肪变性, 抑制炎症因子表达<sup>[15]</sup>。小檗碱(黄连的主要成分)可改善db/db小鼠脂代谢、增强外周组织AMP活化激酶(AMP activated kinase, AMPK)活性及脂肪酸氧化能力<sup>[16]</sup>; 黄芩苷(黄芩的主要成分)可降低脂肪肝模型大鼠血清中TC、FFA及胰岛素的浓度, 并增强AMPK和乙酰辅酶A羧化酶磷酸化的能力<sup>[17]</sup>。上述文献资料提示, 葛根芩连汤干预NASH发生、发展的物质基础明确、可靠, 为进一步探讨该复方中药的分子药理机制提供很好的背景资料。

总之, 本文仅对葛根芩连汤防治NASH的药效学做了初步观察, 其深入的药理机制探讨正在进行中, 尤其对该药在改善胰岛素抵抗及脂

代谢调节的分子机制上开展了大量的实验研究, 相关研究成果将陆续报道。

#### 4 参考文献

- Hübscher SG. Histological assessment of non-alcoholic fatty liver disease. *Histopathology* 2006; 49: 450-465 [PMID: 17064291 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02416.x]
- Kashi MR, Torres DM, Harrison SA. Current and emerging therapies in nonalcoholic fatty liver disease. *Semin Liver Dis* 2008; 28: 396-406 [PMID: 18956296 DOI: 10.1055/s-0028-1091984]
- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70599-2]
- Chitturi S, Abeygunasekera S, Farrell GC, Holmes-Walker J, Hui JM, Fung C, Karim R, Lin R, Samarasinghe D, Liddle C, Weltman M, George J. NASH and insulin resistance: Insulin hypersecretion and specific association with the insulin resistance syndrome. *Hepatology* 2002; 35: 373-379 [PMID: 11826411 DOI: 10.1053/jhep.2002.30692]
- Reid AE. Nonalcoholic steatohepatitis. *Gastroenterology* 2001; 121: 710-723 [PMID: 11522755 DOI: 10.1053/gast.2001.27126]
- Smith BW, Adams LA. Nonalcoholic fatty liver disease and diabetes mellitus: pathogenesis and treatment. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 456-465 [PMID: 21556019 DOI: 10.1038/nrendo.2011.72]
- 周琦, 范建高. 非酒精性脂肪性肝病的药物治疗. *胃肠病学和肝病杂志* 2009; 18: 189-192
- 张明俊. 葛根芩连汤临床应用. *河南中医* 2011; 31: 457-461
- Tong XL, Zhao LH, Lian FM, Zhou Q, Xia L, Zhang JC, Chen XY, Ji HY. Clinical observations on the dose-effect relationship of gegen qin lian decoction on 54 out-patients with type 2 diabetes. *J Tradit Chin Med* 2011; 31: 56-59 [PMID: 21563509 DOI: 10.1016/S0254-6272(11)60013-7]
- 赵林华, 姬航宇, 冀博文, 宋军, 仝小林. 葛根芩连汤治疗糖尿病理论探讨. *中华中医药杂志* 2012; 27: 280-284
- 李军祥, 陈润花, 苏冬梅, 李立. 中医药治疗非酒精性脂肪性肝病研究述评. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1443-1451
- 李军祥, 陈润花. 非酒精性脂肪性肝病的中医药研究进展. *现代消化及介入诊疗* 2009; 14: 180-185
- 陈润花, 张海鹏, 李军祥. 非酒精性脂肪性肝病的中医证候研究进展. *中西医结合肝病杂志* 2008; 18: 63-65
- 曹玉珍, 张秀英, 王鑫, 王媛媛. 非酒精性脂肪性肝炎动物模型的研究进展. *黑龙江畜牧兽医(科技版)* 2011; 1: 17-20

#### ■名词解释

胰岛素抵抗指数: 用于评价机体的胰岛素抵抗水平的指标。HOMA-IR = FPG, (mmol/L)  $\times$  FINS, (mIU/L)/22.5。该值随着胰岛素抵抗水平的升高而升高。

## ■同行评价

《葛根芩连汤对高脂饮食诱导大鼠非酒精性脂肪性肝病的影响》一文是一篇好文章和好研究。该研究提出了葛根芩连汤治疗非酒精性脂肪性肝病的学术观点依据,用合理的设计进行了动物实验,试验结果可信,别人可以重复。该文具科学性、创新性和可读性,在一定程度上反映了我国胃肠病学基础研究的先进水平。

- 15 郑培永, 马赞颂, 柳涛, 邢练军, 季光. 葛根素对非酒精性脂肪肝大鼠肝脏脂质的影响. 上海中医药杂志 2008; 42: 61-63
- 16 Kim WS, Lee YS, Cha SH, Jeong HW, Choe SS, Lee MR, Oh GT, Park HS, Lee KU, Lane MD, Kim JB. Berberine improves lipid dysregulation in obesity by controlling central and peripheral AMPK activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 296:

E812-E819 [PMID: 19176354 DOI: 10.1152/ajpendo.90710.2008]

- 17 Guo HX, Liu DH, Ma Y, Liu JF, Wang Y, Du ZY, Wang X, Shen JK, Peng HL. Long-term baicalin administration ameliorates metabolic disorders and hepatic steatosis in rats given a high-fat diet. *Acta Pharmacol Sin* 2009; 30: 1505-1512 [PMID: 19890358 DOI: 10.1038/aps.2009.150]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

## 1 修回稿信件

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

## 2 稿件修改

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

## 3 版权

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



# RNA干扰技术沉默MCM7基因对人肝癌SMMC-7721细胞生物学行为的影响

孙雯, 曹骥, 卢晓旭, 朱伶群, 杨春, 欧超, 骆成飘, 李瑗, 苏建家

孙雯, 曹骥, 卢晓旭, 朱伶群, 杨春, 欧超, 骆成飘, 李瑗, 苏建家, 广西壮族自治区肿瘤防治研究所实验研究部 广西壮族自治区南宁市 530021

孙雯, 卢晓旭, 朱伶群, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021

孙雯, 在读硕士, 主要从事肝病病因学、发病机制方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30960428

广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研基金资助项目, No. Z2012352

作者贡献分布: 此课题由曹骥设计; 研究过程由孙雯、卢晓旭、朱伶群、杨春、欧超、骆成飘、李瑗及苏建家操作完成; 数据分析和论文写作由孙雯与曹骥完成。

通讯作者: 曹骥, 副研究员, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西壮族自治区肿瘤防治研究所实验研究部。

caojicn@163.com

电话: 0771-5310593

收稿日期: 2013-11-14 修回日期: 2013-12-04

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-02-08

## Effects of RNA interference-mediated MCM7 knockdown on biological behavior of human liver cancer SMMC-7721 cells

Wen Sun, Ji Cao, Xiao-Xu Lu, Ling-Qun Zhu, Chun Yang, Chao Ou, Cheng-Piao Luo, Yuan Li, Jian-Jia Su

Wen Sun, Ji Cao, Xiao-Xu Lu, Ling-Qun Zhu, Chun Yang, Chao Ou, Cheng-Piao Luo, Yuan Li, Jian-Jia Su, Research Department of Guangxi Cancer Institute, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Wen Sun, Xiao-Xu Lu, Ling-Qun Zhu, Graduate School of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 30960428; and the Guangxi Zhuang Autonomous Region Health Department Self-financing Scientific Research Project, No. Z2012352

Correspondence to: Ji Cao, Associate Researcher, Research Department of Guangxi Cancer Institute, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. caojicn@163.com

Received: 2013-11-14 Revised: 2013-12-04

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of mini-chromosome maintenance protein7 (MCM7) gene silencing on the proliferation and apoptosis of human liver cancer SMMC-7721 cells and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** Four vectors carrying shRNAs targeting the MCM7 gene (MCM7-shRNA expression vector) were constructed and were selected for effective targets. SMMC-7721 cells were divided into three groups: an experimental group, a normal control group and a negative control group. The experimental group was transfected with the recombinant lentiviral vector (LV-shRNA-MCM7), the negative control was transfected with an control lentiviral vector (LV-shRNA-NC), and the normal control received no treatment. The mRNA and protein levels of MCM7 were analyzed by RT-PCR, quantitative real-time PCR (qPCR), and Western blot. Cell proliferation was detected by MTT assay, and cell colony formation was detected by Giemsa staining. Cell cycle progression and apoptosis were observed by flow cytometry (FCM).

**RESULTS:** MCM7-shRNA expression vectors were successfully constructed and verified by DNA sequencing. After transfecting SMMC-7721 cells with various vectors, cell fluorescence was observed in > 90% of cells. MCM7 mRNA and protein expression in the four MCM7-shRNA groups was down-regulated by > 50% compared with the negative control group and normal control group. The LV-shRNA-MCM7 vector had the highest efficiency and was used in subsequent experiments. MTT results showed that cell proliferation in the experimental group at 24, 48, 72 and 96 h after transfection was significantly lower than that in the negative control group and normal control group ( $P < 0.05$  for all). Giemsa staining results showed that the colony formation rate was significantly lower in the experimental group than in the two control groups ( $6.00\% \pm 0.50\%$  vs  $14.10\% \pm 0.36\%$ ,  $13.73\% \pm 0.17\%$ ,  $P < 0.05$  for both). FCM analysis showed that the percentage of cells in G<sub>1</sub> phase increased in cells transfected with the MCM7-shRNA ( $P < 0.05$  for both). The apoptosis rate was significantly higher in the experimental group than in the negative control group and blank control group ( $22.27\% \pm 1.22\%$  vs  $0.05\% \pm 0.07\%$ ,  $0.03\% \pm 0.06\%$ ,  $P < 0.05$  for both).

## ■背景资料

肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 是世界三大癌症之一, 大多数患者就诊时已属晚期, 具有发病率高、致死率高、预后较差、目前尚无有效治疗手段等特点。及早对其进行有效干预是改善其疗效的关键。研究发现, 细胞周期调控机制紊乱导致的细胞增殖失控是肿瘤发生的重要机制之一。

## ■同行评议者

单云峰, 副主任医师, 温州医学院第一附属医院肝胆外科

## ■ 研发前沿

微小染色体维持蛋白7(minichromosome maintenance protein 7, MCM7)作为DNA复制的准许因子,可启动和参与DNA复制,参与调节细胞增殖。近年来,越来越多的研究发现MCM7与肿瘤的发生发展、恶性转化密切相关。

**CONCLUSION:** RNAi-induced MCM7 down-regulation could inhibit cell growth, suppress cell colony formation, block the cell cycle at G<sub>1</sub> phase, and induce cell apoptosis in SMMC-7721 cells.

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

**Key Words:** Liver cancer; MCM7; RNA interference; Gene therapy

Sun W, Cao J, Lu XX, Zhu LQ, Yang C, Ou C, Luo CP, Li Y, Su JJ. Effects of RNA interference-mediated MCM7 knockdown on biological behavior of human liver cancer SMMC-7721 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 553-562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/553.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.553>

## 摘要

**目的:** 探讨微小染色体维持蛋白7(mini-chromosome maintenance protein 7, MCM7)基因沉默后对人肝癌细胞系SMMC-7721增殖和凋亡的影响及可能作用机制。

**方法:** 利用RNA干扰技术,构建4个靶向MCM7基因shRNA载体(MCM7-shRNA表达载体),并对不同靶点进行有效筛选。将人肝癌细胞系SMMC-7721接种于六孔板,分为3组:以MCM7基因沉默重组慢病毒颗粒(LV-shRNA-MCM7)感染SMMC-7721,作为实验组;以对照慢病毒颗粒(LV-shRNA-NC)感染SMMC-7721,作为阴性对照组;空白对照组常规培养,不做任何处理。应用RT-PCR、实时荧光定量PCR和Western blot技术检测MCM7基因mRNA和蛋白的表达,评价干扰效果并筛选有效靶点;MTT法检测细胞体外增生能力,Giemsa染色法检测各组细胞的克隆形成;流式细胞技术(flow cytometry, FCM)分别检测各组细胞增殖和凋亡的变化情况。

**结果:** 成功构建MCM7-shRNA表达载体,经测序验证无误,感染SMMC-7721细胞后,细胞荧光显示感染率>90%,内源性靶点得到确认。Western blot及Real-time PCR结果显示:实验组的四种靶点MCM7-shRNA干扰序列中,与阴性对照组和空白对照组比较,MCM7 mRNA和MCM7蛋白的表达水平下调均达50%以上,其中以LV-shRNA-MCM7(4)靶点敲减效率最高,分别达88.95%、87.89%和82.25%、81.63%,差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),以此作为实验组。MTT法结果显示:实验组细胞490 nm处的吸光度(A)值在转染后24、48、

72和96 h时均低于阴性对照组、空白对照组,差别显著( $P<0.05$ )。同时Giemsa染色法结果显示:LV-shRNA-MCM7组的克隆形成率( $6.00\% \pm 0.50\%$ )明显低于空白对照组( $14.10\% \pm 0.36\%$ )、阴性对照组( $13.73\% \pm 0.17\%$ ),实验组细胞生长明显受到抑制( $P<0.05$ )。流式细胞技术显示:实验组较阴性对照组、空白对照组G<sub>1</sub>期延长,S期缩短,差别显著( $P<0.05$ )。实验组细胞凋亡率为( $22.27\% \pm 1.22\%$ ),明显高于阴性对照组( $0.05\% \pm 0.07\%$ )和空白对照组( $0.03\% \pm 0.06\%$ ),实验组较阴性对照组、空白对照组出现了明显的细胞凋亡( $P<0.05$ )。

**结论:** MCM7基因的RNAi重组体可以有效地抑制MCM7基因的表达, RNA干扰技术沉默MCM7基因能够抑制肝癌细胞的生长,阻滞细胞期于G<sub>1</sub>期,促进其凋亡。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝癌; MCM7; RNA干扰; 基因治疗

**核心提示:** 本实验利用慢病毒为载体,采用慢病毒转染法将MCM7-shRNA质粒转入人肝癌SMMC-7721细胞后,肝癌细胞周期进程得到有效阻滞,凋亡大幅增加,可明显抑制肝癌生长增殖功能。

孙雯, 曹骥, 卢晓旭, 朱伶群, 杨春, 欧超, 骆成飘, 李媛, 苏建家. RNA干扰技术沉默MCM7基因对肝癌SMMC-7721细胞生物学行为的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 553-562 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/553.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.553>

## 0 引言

众所周知,恶性肿瘤的发生发展是一个多因素、多阶段、多基因共同参与的过程。其中一个显著特征是细胞具有自主生长特性,即持续地分裂与繁殖。细胞周期是一个有多种控制因子共同参与的精细平衡的过程,这一过程的任何缺陷都可能导致遗传信息的改变,从而导致肿瘤等各种疾病的发生。研究发现,细胞周期调控机制紊乱导致的细胞增殖失控是包括肝癌在内多种肿瘤发生的重要机制之一<sup>[1]</sup>。微小染色体维持蛋白7(mini-chromosome maintenance protein 7, MCM7)作为DNA复制的准许因子,可启动和参与DNA复制,确保DNA的复制在每个细胞周期仅发生一次,参与调节细胞增殖<sup>[2]</sup>。

本课题组前期研究表明,MCM7蛋白在肝癌组织中呈高表达,且发现MCM7蛋白表达与患者

肝癌分期、转移及复发相关,提示MCM7基因与肝癌的发生有关<sup>[3]</sup>。为了进一步探讨MCM7基因在肝癌发展中的作用,本研究应用RNA干扰技术,构建靶向MCM7基因的shRNA载体,转染人肝癌SMMC-7721细胞,观察沉默MCM7基因表达后对细胞增殖和凋亡的影响,为肝癌的分子靶向治疗研究打下基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人肝癌SMMC-7721细胞株购自中科院上海细胞研究所, shRNA靶点设计、4种同时带有绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)和嘌呤霉素抗性筛选标记的MCM7基因沉默重组慢病毒颗粒LV-shRNA-MCM7(1、2、3、4)及对照慢病毒颗粒(LV-shRNA-NC)由上海吉凯基因技术有限公司包装; DMEM、胎牛血清和PBS购自Hyclone公司、TRIzol购自Invitrogen公司、逆转录试剂盒购自美国Fermentas公司, 荧光定量PCR试剂盒购自TaKaRa宝生物工程(大连)有限公司、DNA Marker购自广州东盛生物科技有限公司。Western blot及IP细胞裂解液、苯甲基磺酰氟(phenylmethanesulfonyl fluoride, PMSF)、SDS-PAGE蛋白上样缓冲液(5×)、BCA蛋白浓度测试试剂盒(增强型)、20×TBS缓冲液等均购自江苏碧云天生物技术研究所; 蛋白质预染Marker购自美国Fermentas(MBI)公司。PVDF膜购自美国Millipore公司。细胞周期检测试剂盒购自南京凯基生物技术有限公司。细胞凋亡试剂盒AnnexinV-PE/7-AAD购自美国Beckman Coulter公司(No. 735618)。噻唑蓝(MTT)、二甲基亚砜(DMSO)均购自北京Solarbio科技有限公司。Giemsa染液(ECM550)购自美国Chemicon公司。MCM7和GAPDH引物由上海生工生物工程公司合成。兔抗人MCM7单克隆抗体购自美国Abcam公司, 鼠抗人GAPDH单克隆抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司; 近红外染料标记的二抗与Odyssey红外荧光成像仪购自美国LI-COR公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 人肝癌细胞株SMMC-7721在37℃、5%CO<sub>2</sub>条件下, 置于含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素的DMEM培养基中培养。细胞随机分3组: 实验组(LV-shRNA-MCM7慢病毒转染组, 有4个靶点)、阴性对照组(LV-shRNA-NC空载质粒组)和空白对照组(未转染组)。实验用细胞均处于对数生长期。

**1.2.2 细胞转染:** 转染过程按照吉凯公司转染说明书进行, 转染前12 h将对数生长期的人肝癌细胞系SMMC-7721接种于6孔板, 每孔种细胞数为 $6 \times 10^5$ 个/孔; 12 h后, 细胞融合率达到30%即进行转染; 转染的感染复数(multiplicity of infection, MOI)为30, 4个实验组中分别加入LV-shRNA-MCM7(1、2、3、4), 阴性对照组加入LV-shRNA-NC, 每组均设3个重复孔, 每孔均加入polybrene及感染增强液, 每孔液体总体积为1 mL, 继续在37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 并在荧光倒置显微镜下观察荧光表达阳性率。转染12 h后换含10%新生胎牛血清的高糖DMEM培养。转染84 h后荧光最强, 转染后4-5 d收获细胞。空白对照组细胞不做任何处理, 常规培养。

**1.2.3 嘌呤霉素(puromycin)筛选稳定转染细胞株:** 预实验确定嘌呤霉素抗性细胞的筛选浓度, 即药物处理48 h后SMMC-7721细胞全部死亡的最低药物浓度。转染48 h后每孔加入1 μg/mL的嘌呤霉素作用于细胞, 筛选稳定转染的细胞(实验过程中必须设置空细胞的加药组, 以确保药物的有效性), 转染96 h后换液弃掉未转染进的无嘌呤霉素抗性的细胞, 之后继续使用含0.1 μg/mL嘌呤霉素的培养基培养细胞, 维持病毒整合后的稳定性。

**1.2.4 RT-PCR、实时荧光定量PCR检测MCM7基因的mRNA表达及筛选有效靶点序列:** 应用Primer 5.0软件设计引物, MCM7上游引物: 5'-GTGGAGATGGCGAGAG-3', 下游引物: 5'-ATGGCTTCATTACATCTTC-3', 扩增片段146 bp; 内参GAPDH上游引物: 5'-AAGAAGGTGGTGAAGCAGGC-3', 下游引物: 5'-AC-CACCTGTTGCTGTAGCC-3', 扩增片段200 bp。引物由上海捷瑞生物工程有限公司合成。TRIzol法分别提取6组细胞总RNA, 并逆转录为cDNA。设置反应条件为: 95℃预变性30 s; 95℃变性5 s, 60℃退火30 s, 共40个循环。同时扩增各个样本的目的基因和内参基因。每组细胞设计3个重复孔。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 分析法, 通过GAPDH基因水平校正。Ct值为每个反应管内的荧光信号到达设定的域值时所经历的循环按公式“ $\Delta CT = CT_{\text{平均值}}(\text{目的基因}) - CT_{\text{平均值}}(\text{内参基因})$ ”分别计算实验组、阴性对照组及空白对照组的 $\Delta CT$ , 以阴性对照组RNA的 $\Delta CT$ 作为参照, 再按公式“ $\Delta\Delta CT = \Delta CT_{\text{实验组}} - \Delta CT_{\text{阴性对照组}}$ ”, 计算 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ ,  $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 即为MCM7 mRNA相对表达量。根据结果确定有效靶点序列并进行后续试验。

## ■ 相关报道

本课题组前期实验结果表明, MCM7不仅在人肝癌组织中高表达, 在大鼠和树鼩肝癌模型中亦呈高表达, 且发现MCM7蛋白表达与患者肝癌分期、转移及复发相关, 提示MCM7基因与肝癌的发生有关, MCM7极可能是肝癌发生发展中的关键作用分子。



## ■创新盘点

目前尚无MCM7基因沉默对肝癌细胞生长和增殖的影响的报道,本实验利用慢病毒为载体,采用慢病毒转染法将MCM7-shRNA转入人肝癌SMMC-7721细胞中,探讨沉默MCM7表达对SMMC-7721细胞增殖和凋亡的影响。

**1.2.5 Western blot检测MCM7蛋白表达:** 提取各组细胞总蛋白,BCA法测定蛋白浓度,-80℃保存备用。蛋白变性后每孔上样50 μg,经10%SDS-PAGE胶上电泳,100 mA电流条件下90 min转至PVDF膜,用TBST配制5%脱脂牛奶封闭1 h,用MCM7、GAPDH两张膜一抗4℃下孵育过夜(MCM7一抗稀释度为1:2000),次日用TBST洗膜,常温下孵育相应二抗(二抗稀释度均为1:10000)1 h, TBST洗膜5 min/次×3次。采用Odyssey红外荧光成像仪对PVDF膜进行扫描,获取图像,并进行条带灰度值分析;目的蛋白相对表达量 = 目的蛋白条带灰度值/内参蛋白条带灰度值。

**1.2.6 MTT法分析细胞增殖:** 将对数生长期的各组细胞接种于96孔板,2×10<sup>3</sup>/孔,每组细胞均做5个复孔;分别于种板后24、48、72、96 h加入新鲜配制的MTT溶液(5 mg/mL)20 μL;4 h后,吸弃上清,每孔加入150 μL DMSO,振荡器震荡10 min,充分溶解紫色结晶。酶标仪测定各孔490 nm波长处吸光度(A)值,取5个复孔的平均数,绘制生长曲线。

**1.2.7 Giemsa染色检测各组细胞的克隆形成:** 取对数生长期细胞重悬,将3组细胞以1000个/孔接种于6孔板,每组设3个复孔,置37℃、5%CO<sub>2</sub>及饱和湿度的细胞培养箱中培养2 wk,当6孔板中出现肉眼可见克隆时即终止培养,弃培养液,PBS浸洗细胞2次,甲醇固定15 min,去固定液,Giemsa染色30 min,冲去染色液,室温下空气干燥,在显微镜下计数含50个细胞以上的细胞克隆数。克隆形成率 = (每孔克隆数/每孔接种细胞数)×100%。

**1.2.8 细胞周期检测:** 取各组对数生长期细胞,分别按10<sup>5</sup>个/孔接种于6孔板中,设置1个调机孔。各组细胞经胰酶消化后,计数板计数细胞,每管取1×10<sup>6</sup>个细胞;预冷的PBS洗细胞3次,最后一次1000 r/min,离心1 min,去上清;每管加入100 μL RNase,37℃水浴30 min;每管再加入500 μL PI染液,室温避光孵育30 min;流式细胞仪上机检测,实验重复3次。

**1.2.9 细胞凋亡检测:** 各组细胞经胰酶消化后,每管取1×10<sup>6</sup>个细胞,预冷的PBS洗2次,将细胞重悬于200 μL Binding Buffer中,加2 μL Annexin V-PE,小心混匀,冰上避光孵育15 min。后加入100 μL Binding Buffer和1 μL 7-放线菌素D(7-aminoactinomycin D, 7-AAD),2 h内上机检测细胞凋亡率。实验重复3次。

**统计学处理** 应用SPSS16.0统计软件进行分析,计量资料采用mean±SD表示,计量资料多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA),*P*<0.05为差异有统计学意义。

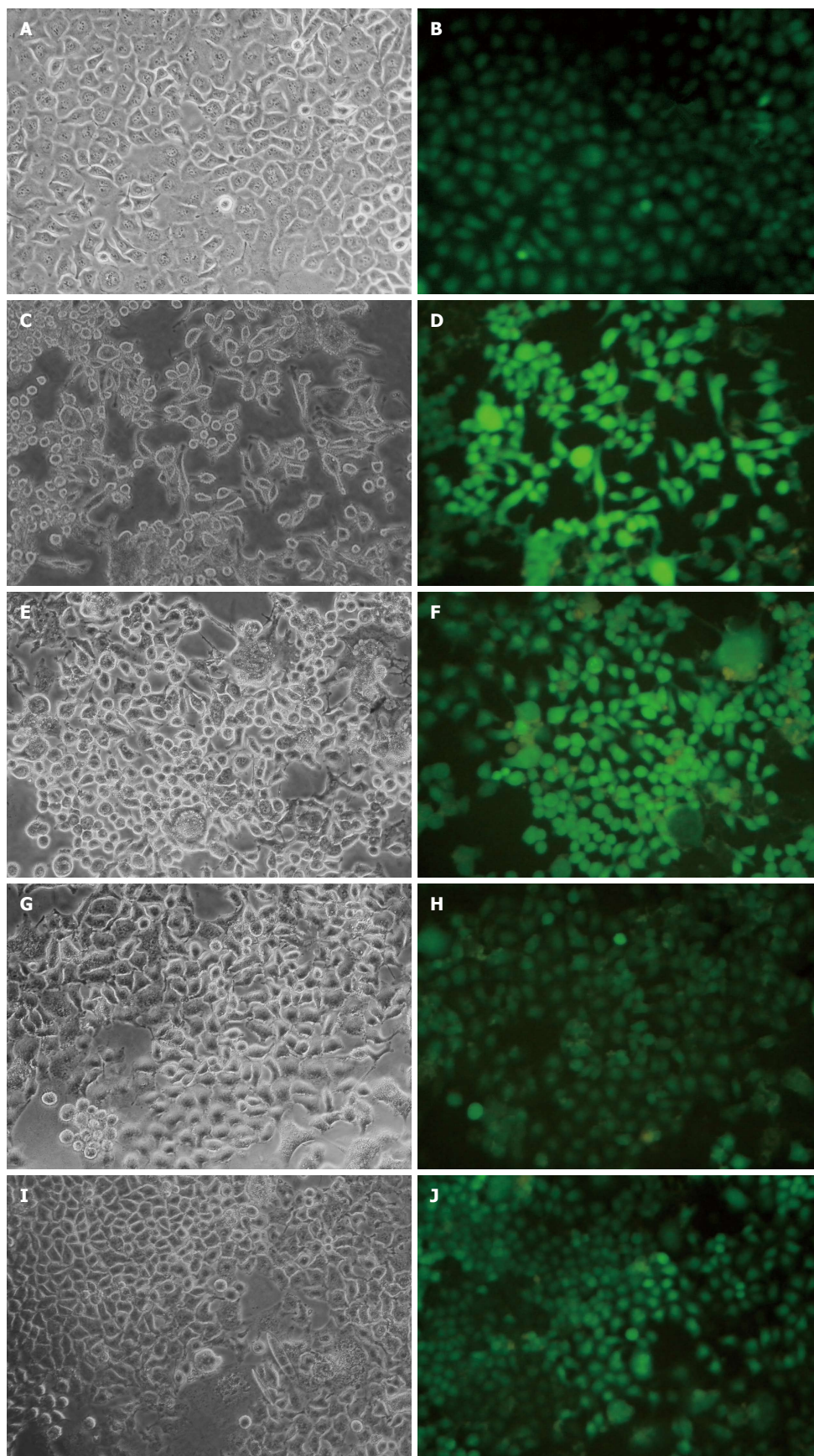
## 2 结果

**2.1 荧光显微镜判断慢病毒感染SMMC-7721细胞效率** 在MOI = 30的条件下,4种慢病毒LV-shRNA-MCM7和阴性对照病毒LV-shRNA-NC感染SMMC-7721细胞,48 h后加1 μg/mL的嘌呤霉素处理,84 h后GFP(绿色荧光蛋白)表达率稳定增强,荧光镜观察绿色荧光,慢病毒感染效率>95%,说明转染率>50%,内源性靶点得到验证,可进行实时定量PCR检测。如图1所示,在含有不同干扰序列的慢病毒转染后,各组SMMC-7721细胞GFP荧光显色均匀一致,GFP荧光蛋白表达强度无明显差别,提示各组细胞的慢病毒感染效率一致。

**2.2 MCM7 mRNA表达和有效靶点的筛选结果** 采用RT-PCR、实时荧光定量PCR的方法检测目的基因MCM7 mRNA的表达情况,进而判断不同靶点的干扰效果。4个靶点中,相对NC组和空白对照组,目的基因的表达水平下调均达50%以上,其中以4号靶点敲减效率达88.95%和87.89%,差异均有统计学意义(*P*<0.05),所以LV-shRNA-MCM7(4)靶点是RNAi的最佳靶点。阴性对照组和空白对照组相比较差异无统计学意义(*P*>0.05)(表1,2,图2)。

**2.3 MCM7蛋白表达水平测定结果** 以GAPDH为内参照,4组LV-shRNA-MCM7组蛋白相对表达量相比阴性对照组相对表达量分别减少了63.54%±0.84%、57.72%±1.07%、66.98%±0.57%、82.25%±0.16%,且差异均有统计学意义(*P*<0.05),均>50%,并且通过数据可知LV-shRNA-MCM7(4)靶点是RNAi的最有效靶点,MCM7蛋白表达抑制率达82.25%。相对空白对照组,MCM7蛋白表达抑制率达81.63%(*P*<0.05)。阴性对照组和空白对照组相比较差异无统计学意义(*P*>0.05)(表3,4,图3,4)。

**2.4 细胞增殖活性判定** 与空白对照组和阴性对照组相比,实验组细胞490 nm处的A值在转染后24、48、72和96 h时均较低,且差异均有统计学意义(0.49±0.07 vs 0.60±0.03, 0.57±0.03, *F* = 8.97; 0.80±0.12 vs 1.03±0.05, 1.02±0.09, *F* = 10.55; 1.05±0.06 vs 1.37±0.05, 1.34±0.03, *F* = 33.49; 1.19±0.07 vs 1.94±0.03, 1.87±0.08, *F* =



#### ■应用要点

本研究结果表明, MCM7 RNA干扰后肝癌细胞周期进程得到有效阻滞, 凋亡大幅增加, 可明显抑制肝癌生长增殖功能. MCM7基因有可能成为肝癌基因治疗的一个有效靶点.

图 1 shRNA慢病毒感染SMMC-7721细胞(84 h,  $\times 200$ ). A, B: LV-shRNA-MCM7(1)病毒载体感染的SMMC-7721细胞; C, D: LV-shRNA-MCM7(2)病毒载体感染的SMMC-7721细胞; E, F: LV-shRNA-MCM7(3)病毒载体感染的SMMC-7721细胞; G, H: LV-shRNA-MCM7(4)病毒载体感染的SMMC-7721; I, J: LV-shRNA-NC病毒载体感染的SMMC-7721细胞.



## ■名词解释

MCM7: 微小染色体维持蛋白家族是一类在真核生物广泛存在的高度保守的蛋白质, 在真核细胞的复制起始和延伸中发挥着重要的作用。MCM7作为MCM复合体的组成成分之一, 与其他MCM蛋白形成多聚体, 保证了DNA在一个细胞周期只复制一次。RNA干扰(RNA interference, RNAi): 在进化过程中高度保守的、由双链RNA(double-stranded RNA, dsRNA)诱发的、同源mRNA高效特异性降解的现象。由于使用RNAi技术可以特异性剔除或关闭特定基因的表达, 所以该技术已被广泛用于探索基因功能和传染性疾病及恶性肿瘤的基因治疗领域。

表 1 各靶点序列

各靶点序号	靶点序列
LV-shRNA-MCM7(1)	5'-GGAGAAAGAAGATGTGAAT-3'
LV-shRNA-MCM7(2)	5'-TAGTAAGGATGCCACCTAT-3'
LV-shRNA-MCM7(3)	5'-GGCATGAAGATGTGAAGAA-3'
LV-shRNA-MCM7(4)	5'-GGACTCAATTTGTGAGAAT-3'
NC(Negative Control)	5'-TTCTCCGAACGTGTCACGT-3'

MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

表 2 各组细胞MCM7 mRNA相对表达量

分组	MCM7 mRNA相对表达量( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ )
Control	0.989 ± 0.380
LV-shRNA-NC	1.005 ± 0.126
LV-shRNA-MCM7(1)	0.500 ± 0.180
LV-shRNA-MCM7(2)	0.485 ± 0.130
LV-shRNA-MCM7(3)	0.460 ± 0.263
LV-shRNA-MCM7(4)	0.110 ± 0.022

MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

表 3 各组MCM7蛋白相对表达量(MCM7/GAPDH条带灰度值)

分组	MCM7蛋白相对表达量
Control	1.29 ± 0.02
LV-shRNA-NC	1.33 ± 0.01
LV-shRNA-MCM7(1)	0.49 ± 0.01
LV-shRNA-MCM7(2)	0.56 ± 0.01
LV-shRNA-MCM7(3)	0.44 ± 0.00
LV-shRNA-MCM7(4)	0.24 ± 0.00

MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

216.24, 均 $P<0.05$ ). 由此可见, 实验组细胞生长明显受到抑制(表5, 图5)。

2.5 各组细胞克隆的影响比较 Giemsa染色法检测结果表明, 各组细胞克隆形成数不相等, 但LV-shRNA-MCM7组较空白对照组、阴性对照组均有所减少。LV-shRNA-MCM7组的克隆形成率( $6.00\% \pm 0.50\%$ )与空白对照组( $14.10\% \pm 0.36\%$ )、阴性对照组( $13.73\% \pm 0.17\%$ )比较, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 空白对照组与阴性对照组比较( $P>0.05$ ), 差异无统计学意义(图6, 7)。

2.6 流式细胞术检测细胞周期 与阴性对照组和空白对照组相比, LV-shRNA-MCM7组SMMC-7721细胞G<sub>1</sub>期比例明显增多( $71.13\% \pm 0.31\%$  vs  $49.9\% \pm 0.64\%$ ,  $50.97\% \pm 1.16\%$ ,  $F =$

表 4 各组相对LV-shRNA-NC组蛋白表达抑制率(% , mean ± SD)

分组	相对LV-shRNA-NC组蛋白表达抑制率
Control	3.38 ± 1.72
LV-shRNA-NC	0.00 ± 1.01
LV-shRNA-MCM7(1)	63.54 ± 0.84
LV-shRNA-MCM7(2)	57.72 ± 1.07
LV-shRNA-MCM7(3)	66.98 ± 0.57
LV-shRNA-MCM7(4)	82.25 ± 0.16

MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

697.87,  $P<0.05$ ). 相比阴性对照组和空白对照组, 实验组G<sub>2</sub>期细胞比例明显减少( $26.6\% \pm 0.30\%$  vs  $37.7\% \pm 1.98\%$ ,  $38.53\% \pm 2.69\%$ ,  $F = 14.152$ , 均 $P<0.05$ ), 同时实验组S期细胞比例也较阴性对照组和空白对照组明显减少( $2.28\% \pm 0.06\%$  vs  $12.5\% \pm 2.72\%$ ,  $10.51\% \pm 3.16\%$ ,  $F = 46.164$ ,  $P<0.05$ ). LV-shRNA-MCM7组SMMC-7721细胞G<sub>1</sub>期比例增高, S期比例降低( $P<0.05$ ). 阴性对照组和空白对照组比较差异无统计学意义(表6, 图8, 9)。

2.7 流式细胞术检测细胞凋亡 检测结果表明, LV-shRNA-MCM7组SMMC-7721细胞凋亡率为 $22.27\% \pm 1.22\%$ , 明显高于阴性对照组( $0.05\% \pm 0.07\%$ )和空白对照组( $0.03\% \pm 0.06\%$ ), 差异均有统计学意义( $P<0.05$ ). 阴性对照组和空白对照组上述指标比较差异无统计学意义( $P>0.05$ )(图10)。

## 3 讨论

MCM家族是一类在真核生物广泛存在的高度保守的蛋白质, 被认为是复制准许因子(replication licensing factor, RLF)中的一个重要成员, 在真核细胞的复制起始和延伸中发挥着重要的作用。MCM7作为MCM复合体的成分之一, 与其他MCM蛋白形成多聚体, 保证了DNA在一个细胞



表 5 3组细胞不同时点细胞活力的比较(mean  $\pm$  SD)

分组	24 h	48 h	72 h	96 h
实验组	0.49 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>	0.80 $\pm$ 0.12 <sup>a</sup>	1.05 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	1.19 $\pm$ 0.07 <sup>a</sup>
空白对照组	0.60 $\pm$ 0.03	1.03 $\pm$ 0.05	1.37 $\pm$ 0.05	1.94 $\pm$ 0.03
阴性对照组	0.57 $\pm$ 0.03	1.02 $\pm$ 0.09	1.34 $\pm$ 0.03	1.87 $\pm$ 0.08

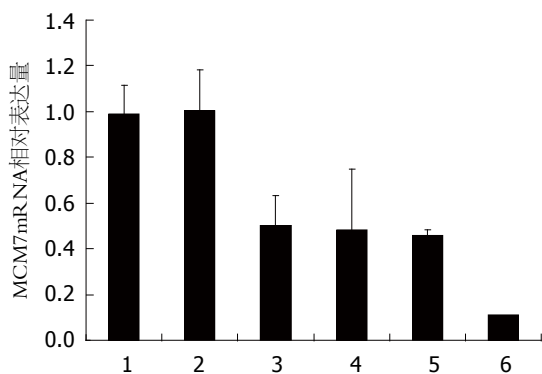
<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 空白对照组。

图 2 各组细胞MCM7mRNA相对表达量。1: Control; 2: LV-shRNA-NC; 3: LV-shRNA-MCM7-1; 4: LV-shRNA-MCM7-2; 5: LV-shRNA-MCM7-3; 6: LV-shRNA-MCM7-4。MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

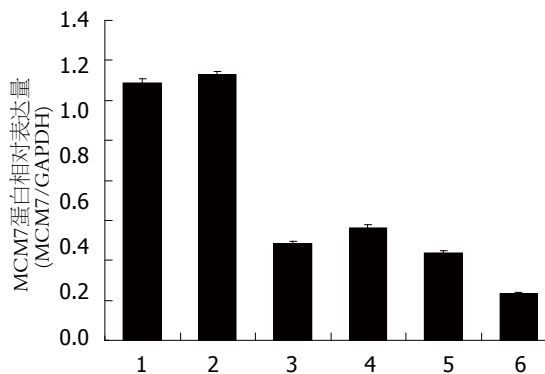


图 4 各组MCM7蛋白相对表达量(MCM7/GAPDH条带灰度值)。1: Control; 2: LV-shRNA-NC; 3: LV-shRNA-MCM7-1; 4: LV-shRNA-MCM7-2; 5: LV-shRNA-MCM7-3; 6: LV-shRNA-MCM7-4。MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

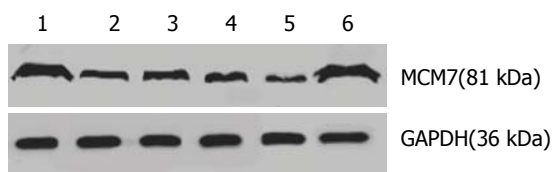


图 3 Western blot检测各组细胞中MCM7蛋白的表达。1: 空白对照组; 2: LV-shRNA-MCM7(1)组; 3: LV-shRNA-MCM7(2)组; 4: LV-shRNA-MCM7(3)组; 5: LV-shRNA-MCM7(4)组; 6: LV-shRNA-NC组。MCM7: 微小染色体维持蛋白7。

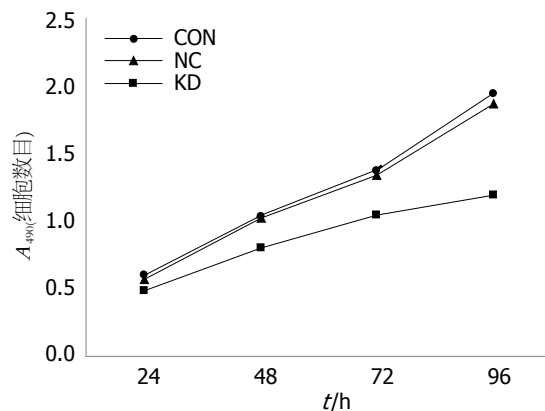


图 5 各组细胞生长曲线。KD: 实验组; CON: 空白对照组; NC: 阴性对照组。

周期只复制一次, 是细胞周期调控、转录和细胞增殖重要的调节因子<sup>[4]</sup>, 其在DNA复制调控中的重要作用也越来越引起人们的关注。MCM7基因组序列中的微小RNA簇(microRNAs)可下调多个抑癌因子及凋亡因子的表达<sup>[5]</sup>。有研究发现, MCM7和MCM复合体上有多个潜在的磷酸化位点, 其自身或者靶蛋白磷酸化在DNA复制过程中起重要作用<sup>[6,7]</sup>, RACK1参与并促进MCM7蛋白的磷酸化, 并使进入S期的细胞增多, 促进细胞增殖和克隆形成<sup>[8]</sup>。此外还有研究报道, MCM7蛋白在TGF- $\beta$ 1抑癌通路中起关键作用, Rb与MCM7相互结合可抑制DNA的复制, 而肿瘤的抑制因子TGF- $\beta$ 1可在细胞周期G<sub>1</sub>晚期到S期, 通过阻止Rb与MCM7分离而阻滞细胞周期从而发挥抑制肿瘤的作用, 若Rb丢失或MCM7过表

达均可取消TGF- $\beta$ 1的作用, 从而失去其抑癌功能, 导致细胞进入异常的增殖周期, 进而促进肿瘤的进展<sup>[9]</sup>。

目前研究发现, MCM7在众多肿瘤中异常表达, 如在乳腺癌、肺癌、霍奇金淋巴瘤和结肠癌中高表达<sup>[10-13]</sup>, 与肿瘤发生发展密切相关。有研究报道, MCM7蛋白在人肝癌组织中呈高表达, 对术后预测等有重要的意义<sup>[14,15]</sup>。本课题组前期实验结果表明, MCM7蛋白不仅在人肝癌组织中高表达, 在大鼠和树鼯肝癌模型中亦呈高

#### 同行评价

本文选题新颖, 方法科学, 通过RNA干扰抑制肝癌细胞系中MCM7的表达, 同时检测对细胞增殖、细胞克隆形成及细胞周期的影响, 结果能客观的支持研究的结论。对MCM7在肝癌细胞生长中的作用研究有非常重要的理论价值。

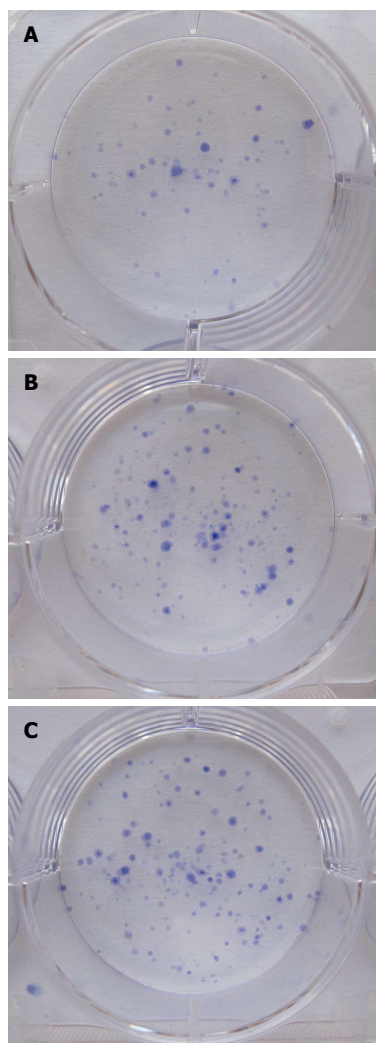


图 6 各组细胞克隆形成的比较. A: 实验组; B: 阴性对照组; C: 空白对照组.

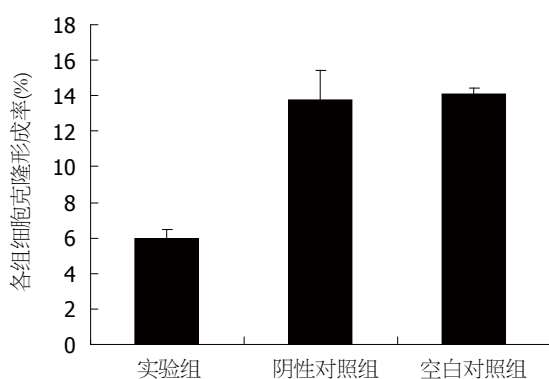


图 7 各组细胞克隆形成的比较.

表达, MCM7极可能是肝癌发生发展中的关键作用分子.

已有研究表明, 在非小细胞肺癌中, MCM7可作为一个潜在的肿瘤治疗靶点<sup>[16]</sup>, 通过特异性的小干扰RNA(siRNAs)抑制溴尿嘧啶的整合从而抑制MCM7的表达, 可明显抑制肺癌细胞的

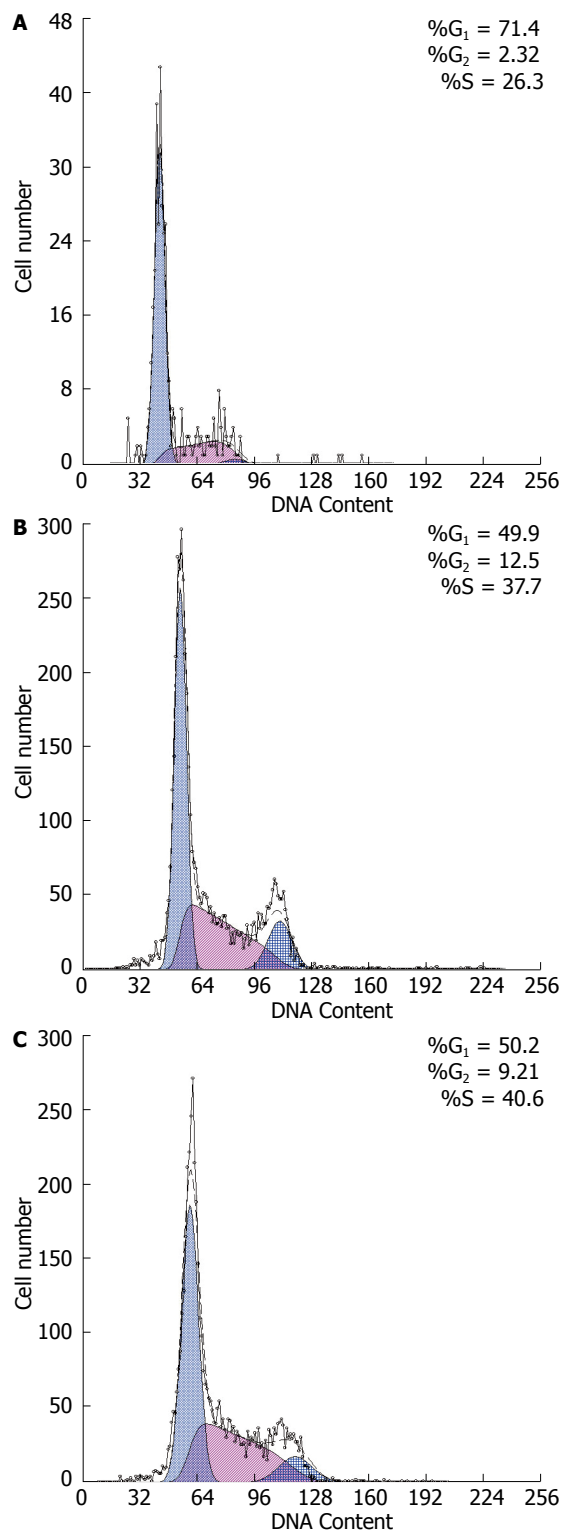


图 8 流式细胞术检测各组细胞的周期. A: 实验组; B: 阴性对照组; C: 空白对照组.

生长. 目前尚无MCM7基因沉默对肝癌细胞生长和增殖的影响的报道, 本实验利用慢病毒为载体, 采用慢病毒转染法将MCM7-shRNA质粒转入人肝癌SMMC-7721细胞中, 探讨沉默MCM7表达对SMMC-7721细胞增殖和凋亡的影响.

本实验中我们设计和合成了MCM7小分子

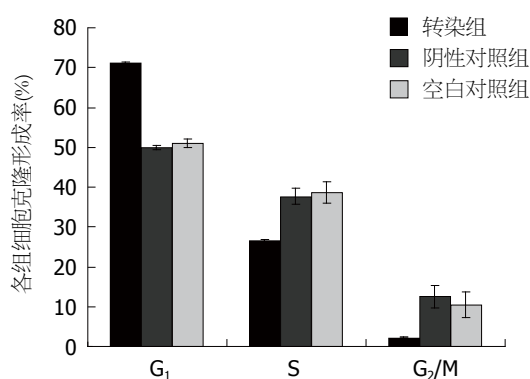


图9 各组细胞周期比例。

表6 各组细胞周期比较(% , mean ± SD)

分组	G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> 期	S期
实验组	71.13 ± 0.31	26.60 ± 0.30	2.28 ± 0.06
阴性对照组	49.90 ± 0.64	37.70 ± 1.98	12.50 ± 2.72
空白对照组	50.97 ± 1.16	38.53 ± 2.69	10.51 ± 3.16

干扰RNA, 将其转染进入人肝癌SMMC-7721细胞中后, 通过Western blot和RT-PCR结果显示, 实验组的四种靶点MCM7-shRNA干扰序列中, 和阴性对照组和空白对照组比较, *MCM7* mRNA和MCM7蛋白的表达水平下调均达50%以上, 其中以4号靶点敲减效率最高, 分别达88.95%、87.89%和82.25%、81.63%。所以LV-shRNA-MCM7(4)靶点是RNAi的最佳靶点。说明慢病毒转染成功, 并且MCM7-shRNA慢病毒载体能有效的下调SMMC-7721细胞MCM7的表达。

流式细胞术检测发现, 与阴性对照组和空白对照组比较, 实验组细胞主要处于G<sub>1</sub>期, 处于S期的细胞所占比例明显减少, 且实验组凋亡率明显增加。MTT法检测结果显示实验组细胞增殖活力明显弱于空白对照组和阴性对照组。同时Giemsa染色法试验结果显示实验组细胞克隆形成率明显低于空白对照组和阴性对照组, 与流式细胞术和MTT法检测结果相符。提示可能是MCM7直接或间接的参与到肝癌细胞周期的调控, 使细胞分裂停滞在G<sub>1</sub>期附近, 进而抑制肝癌细胞的增殖。

因此, 本研究结果表明, MCM7 RNA干扰后肝癌细胞周期进程得到有效阻滞, 凋亡大幅增加, 可明显抑制肝癌生长增殖功能。MCM7基因有可能成为肝癌基因治疗的一个有效靶点。

#### 4 参考文献

1 Williams GH, Stoeber K. The cell cycle and cancer.

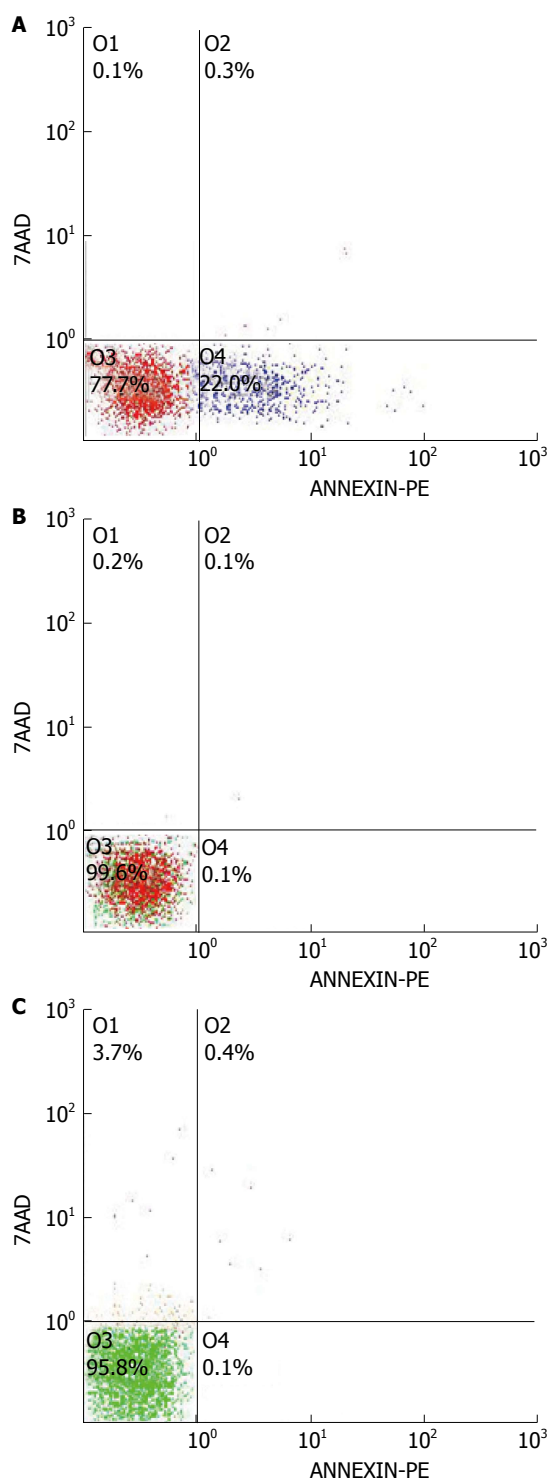


图10 流式细胞术检测各组细胞的凋亡率。A: 实验组; B: 阴性对照组; C: 空白对照组。

*J Pathol* 2012; 226: 352-364 [PMID: 21990031 DOI: 10.1002/path.3022]

2 Walters AD, Chong JP. Methanococcus maripaludis: an archaeon with multiple functional MCM proteins? *Biochem Soc Trans* 2009; 37: 1-6 [PMID: 19143592 DOI: 10.1042/BST0370001]

3 朱伶群, 杨春, 秦虹, 卢晓旭, 李瑗, 欧超, 苏建家, 曹骥. MCM7蛋白在人大鼠树鼩肝癌组织中的表达和意义. *中国肿瘤临床* 2013; 40: 951-955

4 Nowińska K, Dzięgiel P. [The role of MCM proteins



- in cell proliferation and tumorigenesis]. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2010; 64: 627-635 [PMID: 21160097]
- 5 Luo JH. Oncogenic activity of MCM7 transforming cluster. *World J Clin Oncol* 2011; 2: 120-124 [PMID: 21603321 DOI: 10.5306/wjco.v2.i2.120]
- 6 Lei M, Tye BK. Initiating DNA synthesis: from recruiting to activating the MCM complex. *J Cell Sci* 2001; 114: 1447-1454 [PMID: 11282021]
- 7 Kudoh A, Daikoku T, Ishimi Y, Kawaguchi Y, Shirata N, Iwahori S, Isomura H, Tsurumi T. Phosphorylation of MCM4 at sites inactivating DNA helicase activity of the MCM4-MCM6-MCM7 complex during Epstein-Barr virus productive replication. *J Virol* 2006; 80: 10064-10072 [PMID: 17005684 DOI: 10.1128/JVI.00678-06]
- 8 李墨, 吴非, 张恒, 韩艳玲, 刘俊, 陈小龙, 韩昱晨. RACK1通过影响MCM7磷酸化促进肺癌细胞的增殖. *肿瘤* 2012; 3: 149-158
- 9 Petrocca F, Visone R, Onelli MR, Shah MH, Nicoloso MS, de Martino I, Iliopoulos D, Pilozzi E, Liu CG, Negrini M, Cavazzini L, Volinia S, Alder H, Ruco LP, Baldassarre G, Croce CM, Vecchione A. E2F1-regulated microRNAs impair TGFbeta-dependent cell-cycle arrest and apoptosis in gastric cancer. *Cancer Cell* 2008; 13: 272-286 [PMID: 18328430 DOI: 10.1016/j.ccr.2008.02.013]
- 10 任占平, 石喆, 杜娟, 陈蔚麟, 唐德艳, 戴文斌. 乳腺癌组织中HPV16 18E6及p53 MCM7蛋白的表达及意义. *中国肿瘤临床* 2008; 35: 327-331
- 11 Fujioka S, Shomori K, Nishihara K, Yamaga K, Nosaka K, Araki K, Haruki T, Taniguchi Y, Nakamura H, Ito H. Expression of minichromosome maintenance 7 (MCM7) in small lung adenocarcinomas (pT1): Prognostic implication. *Lung Cancer* 2009; 65: 223-229 [PMID: 19144445 DOI: 10.1016/j.lungcan.2008.11.007]
- 12 Marnerides A, Vassilakopoulos TP, Boltetsou E, Levidou G, Angelopoulou MK, Thymara I, Kyrtsonis MC, Pappi V, Tsopra O, Panayiotidis P, Pangalis GA, Beris P, Patsouris E, Korkolopoulou P. Immunohistochemical expression and prognostic significance of CCND3, MCM2 and MCM7 in Hodgkin lymphoma. *Anticancer Res* 2011; 31: 3585-3594 [PMID: 21965782]
- 13 Nishihara K, Shomori K, Fujioka S, Tokuyasu N, Inaba A, Osaki M, Ogawa T, Ito H. Minichromosome maintenance protein 7 in colorectal cancer: implication of prognostic significance. *Int J Oncol* 2008; 33: 245-251 [PMID: 18636144]
- 14 刘娟, 殷飞, 姚树坤. 细胞周期素D1, 视网膜母细胞瘤样蛋白2及微小染色体维持蛋白7在肝细胞癌中的表达及对预后的意义. *中国病理生理杂志* 2011; 27: 304-309
- 15 Zhou YM, Zhang XF, Cao L, Li B, Sui CJ, Li YM, Yin ZF. MCM7 expression predicts post-operative prognosis for hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2012; 32: 1505-1509 [PMID: 22784096 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2012.02846.x]
- 16 Toyokawa G, Masuda K, Daigo Y, Cho HS, Yoshimatsu M, Takawa M, Hayami S, Maejima K, Chino M, Field HI, Neal DE, Tsuchiya E, Ponder BA, Maehara Y, Nakamura Y, Hamamoto R. Minichromosome Maintenance Protein 7 is a potential therapeutic target in human cancer and a novel prognostic marker of non-small cell lung cancer. *Mol Cancer* 2011; 10: 65 [PMID: 21619671 DOI: 10.1186/1476-4598-10-65]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对体外肠癌细胞HCT116生长和增殖周期的影响

蔡朋朋, 冯越, 王东红, 周艳, 孙丽慧, 李晶

蔡朋朋, 王东红, 周艳, 齐齐哈尔医学院附属三院消化科 黑龙江省齐齐哈尔市 161000

冯越, 齐齐哈尔医学院 黑龙江省齐齐哈尔市 161000

孙丽慧, 齐齐哈尔医学院组胚教研室 黑龙江省齐齐哈尔市 161000

李晶, 齐齐哈尔医学院附属三院药剂科 黑龙江省齐齐哈尔市 161000

蔡朋朋, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤化疗的研究.

黑龙江省教育厅基金资助项目, No. 12521634

黑龙江省大学生创新创业训练基金资助项目, No.

201311230020

作者贡献分布: 蔡朋朋与王东红进行细胞培养、论文的撰写, 以及统筹管理; 冯越进行数据分析处理; 周艳负责MTT测定细胞生长; 孙丽慧与李晶进行流式细胞术和技术咨询.

通讯作者: 蔡朋朋, 主治医师, 161000, 黑龙江省齐齐哈尔市铁锋区太顺街, 齐齐哈尔医学院附属三院消化科.

villain789@sohu.com

收稿日期: 2013-06-27 修回日期: 2013-12-15

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-08

## Effect of arsenic trioxide on growth and cell cycle progression in colon cancer cell line HCT116

Peng-Peng Cai, Yue Feng, Dong-Hong Wang, Yan Zhou, Li-Hui Sun, Jing Li

Peng-Peng Cai, Dong-Hong Wang, Yan Zhou, Department of Digestive Medicine, the third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China

Yue Feng, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China

Li-Hui Sun, Department of Histology, Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China

Jing Li, Department of Pharmacy, the third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Heilongjiang Provincial Education Office Project, No. 12521634; the Heilongjiang Provincial College Student Innovation Training Project, No. 201311230020

Correspondence to: Peng-Peng Cai, Attending Physician, Department of Digestive Medicine, the third Affiliated Hospital of Qiqihar Medical College, Taishun Street, Tiefeng District, Qiqihar 161000, Heilongjiang Province, China. villain789@sohu.com

Received: 2013-06-27 Revised: 2013-12-15

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To study the effect of arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) on cell growth and cell cycle progression in human colon carcinoma cell line HCT116.

**METHODS:** HCT116 cells cultured *in vitro* were divided into a control group, a 0.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group, a 1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group, and a 2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group. After treatment with As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> for different durations, the effect of different concentrations of arsenic trioxide on the growth of colon cancer cells was detected by MTT assay. Cell growth curve was plotted to observe the change in cell proliferation. Flow cytometry (FCM) was used to determine cell cycle progression.

**RESULTS:** Low dose of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (0.5 μmol/L) had no significant inhibitory effect on HCT116 cells compared with the control group ( $P > 0.05$ ), but 1.5 and 2.5 μmol/L of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> showed a significant inhibitory effect on cell growth in a time-dependent manner ( $38.64\% \pm 0.16\%$ ,  $51.42\% \pm 0.53\%$  vs  $8.35\% \pm 0.76\%$ ,  $P < 0.05$  for both). In the 1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group, the inhibitory effect was most obvious on day 3, then gradually declined; however, such a downward trend was not observed in the 2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> group ( $52.93\% \pm 1.53\%$ ). FCM analysis showed that As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> at a concentration of 0.5 μmol/L had no significant effect on the percentages of cells in S phase and G<sub>2</sub>/M phase ( $35.58\% \pm 0.63\%$  vs  $25.69\% \pm 1.46\%$ ;  $33.41\% \pm 0.73\%$  vs  $30.44\% \pm 1.51\%$ ,  $P > 0.05$  for both). However, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> at concentrations of 1.5 μmol/L and 2.5 μmol/L significantly increased the percentages of cells in S phase but decreased the percentages of cells in G<sub>2</sub>/M phase (1.5 μmol/L:  $42.69\% \pm 2.64\%$  and  $22.46\% \pm 0.59\%$ ; 2.5 μmol/L:  $45.71\% \pm 1.53\%$  and  $14.66\% \pm 0.92\%$ ;  $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Arsenic trioxide has an obvious inhibitory effect on the proliferation of HCT116 cells, mainly by inhibiting the synthesis of DNA in the proliferation stage. The effective dose and treatment time are important in clinical application of As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> for cancer chemotherapy in order to improve the effect of chemotherapy, reduce toxicity reactions and delay the occurrence of drug resistance.

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

## ■背景资料

三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)是中药砒霜石的主要成分, 他能够通过多种调节因子抑制细胞DNA和RNA合成、干扰细胞代谢、使细胞染色体畸变, 可引起多种肿瘤细胞多种基因的表达改变, 其抗肿瘤作用得到广泛关注, 同时其不良反应是临床必须注意的事情, 其不良反应产生的重要原因之一是剂量过大和化疗时间窗未控制好, 目前As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌细胞的化疗效果和和不良反应, 尚缺乏足够的实验资料, 本研究应用MTT法观察As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人低分化结肠腺癌细胞株HCT-116的抑制情况, 以及流式细胞仪观察细胞周期变化, 探讨As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌细胞化疗的适宜剂量和化疗时间窗, 以便临床更合理应用减轻其不良反应.

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普外科

## ■ 研究前沿

1971年哈尔滨医科大学第一临床医学院率先用三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病取得成功以后,砷剂成为国际血液、肿瘤界研究的新热点。近年来的研究证实,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抗肿瘤机制是多途径、多靶点的,其应用于肿瘤的治疗从体外观察、建立动物模型在体实验到最后临床试验均取得了一定疗效,研究各种细胞通路和信号传导机制,探索其治疗作用及抗肿瘤机制,为开辟三氧化二砷新的治疗作用提供参考,但其具体抗肿瘤机制,尤其是其不良反应是临床应该考虑的问题,有待进一步研究。

**Key Words:** Arsenic trioxide; HCT116 cells; Inhibition rate; Cell cycle

Cai PP, Feng Y, Wang DH, Zhou Y, Sun LH, Li J. Effect of arsenic trioxide on growth and cell cycle progression in colon cancer cell line HCT116. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 563-567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.563>

## 摘要

**目的:** 研究三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)对人体外肠癌细胞HCT116的生长抑制作用和增殖周期的影响。

**方法:** 肠癌细胞HCT116进行体外培养后,分成对照组、0.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组、1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组、2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组,在不同时间段内,MTT法观察不同浓度As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌细胞的生长抑制情况,绘制细胞生长曲线;流式细胞术分析细胞增殖的周期变化。

**结果:** MTT结果显示0.5 μmol/L的低剂量As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制率与对照组无明显差别( $P>0.05$ ),1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率和2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率与对照组相比较,组间均有差异( $P<0.05$ ),且As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肿瘤细胞的抑制作用均随时间延长而增强,并在第3天时抑制作用最明显(1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率为38.64%±0.16%,2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率为51.42%±0.53%,对照组是8.35%±0.76%),然后第4天有下降的趋势,但2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>的抑制作用第4天未见明显下降趋势(抑制率为52.93%±1.53%);流式细胞术分析表明,As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>为0.5 μmol/L时,S期细胞分布35.58%±0.63%(对照组25.69%±1.46%),G<sub>2</sub>/M期细胞分布33.41%±0.73%(对照组30.44%±1.51%)两者比较没有统计学差异( $P>0.05$ ),当As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度为1.5 μmol/L时,S期细胞占42.69%±2.64%,G<sub>2</sub>/M期细胞占22.46%±0.59%,与对照组比较,差异有统计学意义( $P<0.05$ );药物提高到2.5 μmol/L时,S期细胞占45.71%±1.53%,G<sub>2</sub>/M期细胞占14.66%±0.92%,与对照组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人体外肠癌细胞HCT116具有明显的抑制作用,主要抑制肿瘤细胞DNA合成的增殖期,且至少1.5 μmol/L以上的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度才能达到抑制肿瘤增长繁殖的效果,所以临床应用As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>进行肠癌化疗时应掌握好有效的剂量浓度和化疗时间窗,从而提高化疗效果的同时最大减轻不良反应,延缓耐药性的发生。

**关键词:** 三氧化二砷; 肠癌细胞HCT116; 抑制率; 细胞周期

**核心提示:** 本文研究了As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对人肠癌细胞HCT116的生长抑制作用和增殖周期的影响。发现As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌细胞HCT116具有明显的抑制作用,主要抑制在DNA合成的增殖期,且至少1.5 μmol/L以上的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>才有效,故As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>进行肠癌化疗时应掌握好剂量浓度和化疗时间窗。

蔡朋朋, 冯越, 王东红, 周艳, 孙丽慧, 李晶. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对体外肠癌细胞HCT116生长和增殖周期的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(4): 563-567 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/563.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.563>

## 0 引言

大肠癌为我国常见的消化系统恶性肿瘤之一,而且发病率近年有逐年上升的趋势,流行病学表明,全球大肠癌每年新发病例数达94万例,每年近50万例死于大肠癌,大肠癌死亡居癌症死因第3位,在我国大肠癌也是最常见的恶性肿瘤之一,目前居恶性肿瘤发病率第4位,5年生存率为60%左右<sup>[1,2]</sup>。大肠癌的发病与生活方式改变及膳食结构不合理密切相关,患者就诊时往往已到了晚期并发生转移,失去了手术的机会,化疗成为重要的治疗手段,但一定要密切注意化疗药物的不良反应,祖国传统医学治疗肿瘤有着悠久的历史,三氧化二砷(As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>)是中药砒霜石的主要成分,他能够通过多种调节因子抑制细胞DNA和RNA合成、干扰细胞代谢、可引起肿瘤细胞多种基因的表达改变<sup>[3-5]</sup>,其抗肿瘤作用得到广泛关注,但其应用于临床最大担心就是其不良反应,而不良反应产生的重要原因之一是剂量过大和化疗时间窗没控制好,目前As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌细胞的化疗效果和不良反应,尚缺乏足够的实验资料,本研究应用MTT比色法和流式细胞术观察As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠腺癌细胞株HCT116的生长和增殖的影响,探讨As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌细胞化疗的适宜剂量和化疗时间窗,以便临床更合理应用减轻其不良反应。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>注射液购自哈尔滨伊达药业有限公司, RPMI 1640和胎牛血清由Gibco/BRL美国公司提供, MTT由上海华舜生物有限公司生产, 肠癌细胞HCT-116由哈尔滨医科大学附属第一医院提供, 超纯水仪Purelabplus公司生产, 恒温

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。



培养箱, 由苏州安泰技术有限公司生产, CO<sub>2</sub>培养箱购自日本SANYO公司, OLYMPUS(IX50-S8F2)倒置显微镜和酶标仪(SAFIRE2)由奥地利生产, PI试剂盒购北京宝赛公司, 流式细胞仪(FACS Calibur)美国BD公司生产.

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养: 复苏后的HCT116细胞接种于50 mL培养瓶中, 加入RPMI 1640培养液(含热灭活胎牛血清, 2 g/L NaHCO<sub>3</sub>, 青霉素和链霉素各100 mg/L)中, 置于37 °C、5%CO<sub>2</sub>浓度及饱和湿度的恒温细胞培养箱中培养, 细胞为贴壁上皮样生长, 用0.15%胰蛋白酶消化传代, 以培养液吹打制成单细胞悬液, 取对数生长期细胞用于实验.

1.2.2 分组及药物处理: 将 $5 \times 10^4$ 个/mL单细胞悬液接种于96孔培养板中, 分组为: 阴性对照组加入10%的完全培养液, 实验低剂量组加入0.5 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 中剂量组加1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 高剂量组加2.5 μmol/L的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>培养液, 每隔3 d更换一次培养液, 在不同时间取出培养细胞用于实验.

1.2.3 MTT比色法测定细胞生长抑制率: 96孔培养板内加入 $5 \times 10^4$ 个/mL单细胞悬液, 3 °C, 5%CO<sub>2</sub>孵箱中培养24 h, 24 h后弃去培养液, 分别加入不同浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(浓度同前)培养液200 μL/孔, 同一浓度设3复孔, 同时设3孔阴性对照, 加入等体积的PBS, 放入37 °C、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 分别培养1、2、3和4 d后, 各取出一个培养板, 吸去上清液, 每孔加入无血清的培养液180 μL及20 μL MTT液(用PBS配成50 mg/mL), 37 °C孵育4 h, 弃去上清液, 每孔加入150 μL DMSO, 在微量振荡器上低速振荡10 min, 酶标仪测量各孔的吸光度(A)值, 按公式抑制率 =  $(1 - A_{\text{用药组}} / A_{\text{细胞对照组}}) \times 100\%$ 计算, 以横轴为时间, 纵轴为抑制率绘制细胞生长曲线.

1.2.4 流式细胞仪检测细胞周期: 收集分别经不同浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>(浓度同前)混合培养液处理的细胞, 培养72 h(上述MTT研究显示, 药物第3天作用最强)后取出, 0.15%胰酶消化, 空白对照管加等量培养液, 1000 r/min离心10 min, 弃上清液, 冷PBS漂洗后震荡, 使细胞悬浮以去除细胞碎片, 调整细胞数为 $5 \times 10^5$ – $10 \times 10^5$ 个/mL, 4 °C离心10 min, 弃上清液, 加入预冷的700 mL/L乙醇固定, 碘化丙啶(propidium iodide, PI)单染, 上机检测细胞周期, 软件分析细胞周期分布.

**统计学处理** 使用SPSS12.0进行软件分析, 数据以mean ± SD表示, 组间比较用*t*检验,

$P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 MTT 所设3个浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>, 其中0.5 μmol/L的低剂量As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制率与对照组无明显差别( $P > 0.05$ ); 1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率和2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率与对照组相比较, 组间均有差异( $P < 0.05$ ), 且As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肿瘤细胞的抑制作用均随时间延长而增强, 并在第3天时抑制作用最明显(1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率为 $38.64\% \pm 0.16\%$ , 2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组抑制率为 $51.42\% \pm 0.53\%$ , 对照组是 $8.35\% \pm 0.76\%$ ), 然后第4天有下降的趋势, 但2.5 mol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>的抑制作用未见明显下降趋势(抑制率为 $52.93\% \pm 1.53\%$ )(图1).

2.2 流式细胞仪分析细胞周期 肠癌HCT116经过不同浓度的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用后细胞周期出现变化, 与对照组相比, As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>为0.5 μmol/L时, S期细胞分布 $35.58\% \pm 0.63\%$ (对照组 $25.69\% \pm 1.46\%$ ), G<sub>2</sub>/M期细胞分布 $33.41\% \pm 0.73\%$ (对照组 $30.44\% \pm 1.51\%$ )两者比较没有统计学差异( $P > 0.05$ ), 说明药物浓度较低时, 对肿瘤细胞抑制反应较弱, 当As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度为1.5 μmol/L时, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞分布 $34.85\% \pm 1.53\%$ , S期细胞分布 $42.69\% \pm 2.64\%$ , G<sub>2</sub>/M期细胞分布 $22.46\% \pm 0.59\%$ , 与对照组比较有差异( $P < 0.05$ ), 药物提高到2.5 μmol/L时, G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期细胞分布 $39.63\% \pm 0.74\%$ , S期细胞分布 $45.71\% \pm 1.53\%$ , G<sub>2</sub>/M期细胞分布 $14.66\% \pm 0.92\%$ , 与对照组比较有差异( $P < 0.05$ ), 以上说明至少1.5 μmol/L以上的药物浓度才能达到抑制肿瘤增长繁殖的效果, 随As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度的升高G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期和G<sub>2</sub>/M期的肿瘤细胞数下降, S期细胞数上升, 表明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>是把肿瘤细胞阻滞在S期, 来抑制细胞有丝分裂的(表1).

## 3 讨论

大肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤, 由于生活节奏的加快、高脂饮食以及体育锻炼减少等, 导致肠癌发病率越来越多, 对于晚期患者化疗成为重要的治疗手段. 但目前化疗药疗效差且对机体有严重的不良反应, 如肝肾损伤、免疫下降、骨髓抑制、消化系反应等, 许多患者或因化疗药物的昂贵放弃治疗, 或直接死于化疗药物的不良反应引起的并发症等, 而产生不良反应的重要原因之一是剂量过大或最佳化疗的时间窗没控制好, 自我国学者首先发现As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>具有良好的抗急性早幼粒白血病的作用以来, 目

### ■创新盘点

本文通过MTT对肿瘤细胞抑制情况和流式细胞术分析了细胞周期变化, 阐述了减轻不良反应的机制, 为临床更科学的应用提供了可能.

## ■应用要点

本研究着重就As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>不良反应的预防及机制进行探讨,本文通过MTT对肿瘤细胞抑制情况和流式细胞术分析了细胞周期变化,阐述了抑制肠癌细胞的变化规律及细胞周期改变,临床上As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>应该掌握适当的剂量和在合适的时间窗内应用,可以有效减少不良反应的发生,在达到化疗目的的同时,为患者减轻不良反应,提高患者的生存质量,为患者带来福音。

表 1 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌HCT116细胞周期变化(mean ± SD, %)

分组	G <sub>0</sub> /G <sub>1</sub>	S	G <sub>2</sub> /M
对照组	43.87 ± 1.51	25.69 ± 1.46	30.44 ± 1.51
0.5 μmol/L As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 组	31.01 ± 0.69	35.58 ± 0.63	33.41 ± 0.73
1.5 μmol/L As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 组	34.85 ± 1.53 <sup>ac</sup>	42.69 ± 2.64 <sup>ac</sup>	22.46 ± 0.59 <sup>ac</sup>
2.5 μmol/L As <sub>2</sub> O <sub>3</sub> 组	39.63 ± 0.74 <sup>c</sup>	45.71 ± 1.53 <sup>c</sup>	14.66 ± 0.92 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>P<0.05 vs 2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>组; <sup>c</sup>P<0.01 vs 对照组。

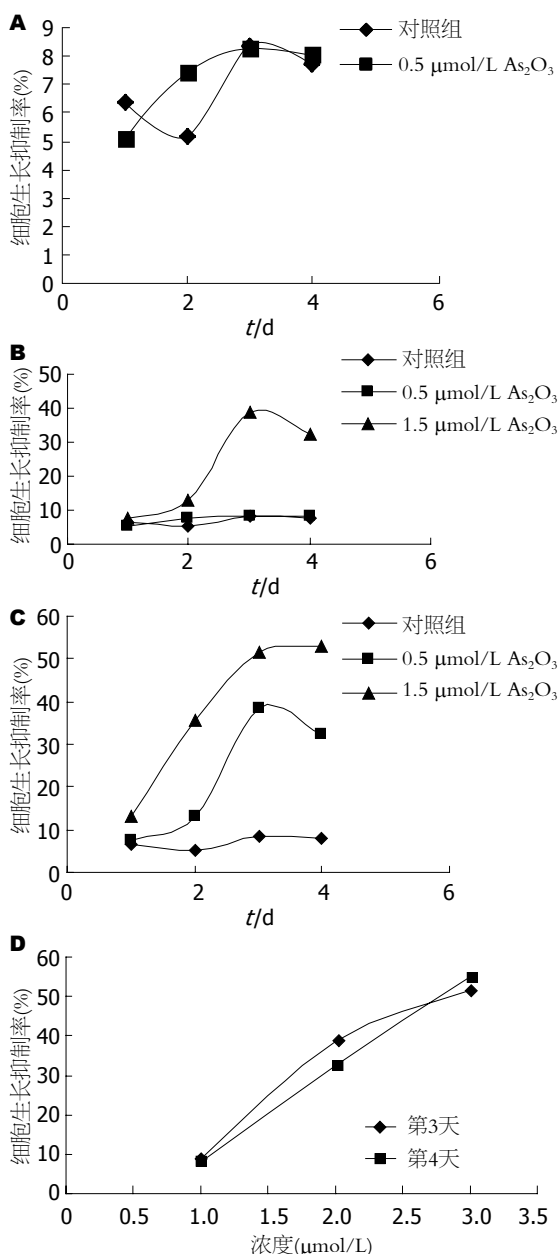


图 1 As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肠癌HCT-116细胞的影响。A: 低剂量; B: 低、中剂量; C: 中、高剂量; D: 第3、4天。

前国内外学者不仅对其抗白血病的机制进行了深入的探讨<sup>[6-12]</sup>,而且对其抗实体瘤的作用也进行了广泛的研究,砷剂是否对正常细胞有不良

反应取决于其剂量及作用的时间,国内刘建伟等<sup>[13]</sup>体外研究已证明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对肝癌细胞有明显的抑制增殖及诱导凋亡的作用。本研究应用As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>作用于人体外肠癌HCT116细胞后,MTT显示0.5 μmol/L的低剂量As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制率与对照组无明显差别,1.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制率和2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>抑制率与对照组相比较,组间均有差异(P<0.05),且浓度愈大抑制作用愈强,出现剂量依赖性,但第1天抑制作用不明显,可能是作用时间短,处于药物敏感基因表达的时间窗内,致使细胞对化疗药不敏感,从第3天起抑制明显增强,第4天又有所下降,这与徐丹等<sup>[14]</sup>的研究的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>肠癌细胞CCL-187的抑制结果类似,但不同的是本研究中2.5 μmol/L As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对细胞的抑制率在第4天未见明显下降,分析可能原因和肠癌细胞种系的不同或培养基不同有关,有待于进一步分析研究,以上研究表明至少1.5 μmol/L以上的As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度才能达到抑制肿瘤增长繁殖的效果,且随着As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度的增大,抑制作用明显越来越强,不容易出现耐药性,提示我们临床应用As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>进行肠癌化疗时,应掌握好有效的剂量和适宜疗程,不能只追求高剂量来增强化疗效果,以控制毒性反应的发生;流式细胞仪检测细胞周期,发现随着As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>浓度的提高,G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期的转变逐渐减少,说明原始肿瘤细胞G<sub>0</sub>期在减少,该期细胞是肿瘤复发和增值的源头和阵地,G<sub>0</sub>期的减少这在一定程度降低了肿瘤复发的机会,同时处于S期细胞逐渐增多,G<sub>2</sub>/M期细胞数的减少,提示As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>主要是使肿瘤细胞阻滞在DNA合成期,从而阻滞有丝分裂的继续,而达到抗肿瘤的目的,G<sub>2</sub>/M期值的减少,可能主要原因是阻止了相关转录因子如E2F等<sup>[15]</sup>的释放,从而抑制细胞的转录和蛋白表达,这提示我们As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>在临床上使用的化疗时间应该在肿瘤细胞处于DNA合成的增殖期时间窗内,完全可以达到事半功倍的效果,而对于处于静止状态的肿瘤细胞作用不

大, 高浓度长时间的持续化疗反而会引起严重的不良反应, 即“过度治疗”是有害无益的。

综合以上的研究结果表明As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>对体外人肠癌HCT116细胞有较强的抑制杀伤作用, 虽然肿瘤细胞表现出具有浓度依赖性, 但一定要掌握好适当的有效剂量浓度和最佳化疗时机, 这样可以杀死肿瘤细胞的同时, 最大地减轻不良反应和延缓耐药性的发生, 增强肠癌的化疗效果, 提高患者的生存质量。

#### 4 参考文献

- 1 Yang L, Parkin DM, Ferlay J, Li L, Chen Y. Estimates of cancer incidence in China for 2000 and projections for 2005. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2005; 14: 243-250 [PMID: 15668501]
- 2 邓小英, 惠二京, 李招发. 大肠癌疗效及预后预测生物标志物的研究进展. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 5: 393-395
- 3 姜华. 三氧化二砷抗肿瘤作用的机制研究. *中国现代药物应用* 2012; 20: 74-75
- 4 邢茂, 张恩娟, 叶鑫. 三氧化二砷诱导肿瘤细胞凋亡途径的研究. *中国药理学通报* 2002; 18: 87-90
- 5 李海燕, 曹励民, 王娟. 三氧化二砷对人肝癌SMMC-7721细胞增殖、迁移及侵袭能力的影响. *中国老年学杂志* 2013; 6: 2572-2574
- 6 燕玮, 胡文旭, 杨威. 砷剂联合全反式维甲酸诱导治疗急性早幼粒细胞白血病疗效的影响因素分析. *现代肿瘤医学* 2012; 11: 2374-2376
- 7 Lin-Cereghino GP, Godfrey L, de la Cruz BJ, Johnson S, Khuongsathiene S, Tolstorukov I, Yan M, Lin-Cereghino J, Veenhuis M, Subramani S, Cregg JM. Mxr1p, a key regulator of the methanol utilization pathway and peroxisomal genes in *Pichia pastoris*. *Mol Cell Biol* 2006; 26: 883-897 [PMID: 16428444]
- 8 Geisler JP, Tammela JE, Manahan KJ, Geisler HE, Miller GA, Zhou Z, Wiemann MC. HSP27 in patients with ovarian carcinoma: still an independent prognostic indicator at 60 months follow-up. *Eur J Gynaecol Oncol* 2004; 25: 165-168 [PMID: 15032273]
- 9 Pei R, Cao J, Ma J, Zhang P, Liu X, Du X, Chen D, Sha K, Chen L, Li S, Wu J, Fan Z, Lin L, Ye P, Tang S, Zhang B. Long term curative effects of sequential therapy with all-trans retinoic acid, arsenious oxide and chemotherapy on patients with acute promyelocytic leukemia. *Hematology* 2012; 17: 311-316 [PMID: 23168069]
- 10 Tomita A, Kiyoi H, Naoe T. Mechanisms of action and resistance to all-trans retinoic acid (ATRA) and arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in acute promyelocytic leukemia. *Int J Hematol* 2013; 97: 717-725 [PMID: 23670176]
- 11 朱喜丹, 陈梅, 冯林, 田刚. 全反式维甲酸联合三氧化二砷治疗急性早幼粒细胞白血病的疗效观察. *国际检验医学杂志* 2013; 3: 309-310
- 12 张鹏, 王树叶, 胡龙虎, 施福东, 邱凤琴, 洪洛珈, 韩雪英, 杨惠芬, 宋颖昭, 刘艳平, 周晋, 金镇敬. 三氧化二砷注射治疗72例急性早幼粒细胞白血病. *中华血液学杂志* 1996; 8: 58-60
- 13 刘建伟, 唐毅, 沈雁, 钟雪云. 三氧化二砷和细胞分化剂诱导肝癌细胞凋亡的阈值. *中华实验外科杂志* 2003; 2: 116-118
- 14 徐丹, 杨幼林, 徐洪雨. 三氧化二砷对人大肠癌细胞生长的抑制作用. *广东医学* 2008; 6: 908-910
- 15 冯春琼, 马文丽, 郑文岭. 三氧化二砷作用机制研究进展. *癌症* 2002; 21: 1386-1389

#### ■同行评价

本文研究方法客观, 结果可靠, 具有重要的临床意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利





# $\alpha$ 体甘草酸制剂对早期自身免疫性肝炎炎症活动的控制作用

司常云, 徐芸, 保洁

## ■背景资料

自身免疫性肝炎是一种病因不明的肝脏慢性炎症, 临床特征为不同程度的血清转氨酶升高、高免疫球蛋白血症、血清抗体阳性, 组织学特征为界面性肝炎及汇管区浆细胞浸润。多发于女性, 一般起病缓慢, 也可快速发展为肝硬化和肝衰竭。免疫抑制治疗有效, 目前标准治疗方案为糖皮质激素联合硫唑嘌呤。

司常云, 徐芸, 保洁, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450001

司常云, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 主要数据分析及文章起草由司常云完成; 课题设计、文章修改及审阅由徐芸完成; 数据提供由保洁完成。

通讯作者: 徐芸, 主任医师, 教授, 450001, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

xuyun@medmail.com.cn

电话: 0371-66862052

收稿日期: 2013-10-25 修回日期: 2014-01-06

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-08

## Efficacy of $\alpha$ -glycyrrhizic acid in management of early autoimmune hepatitis

Chang-Yun Si, Yun Xu, Jie Bao

Chang-Yun Si, Yun Xu, Jie Bao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, Henan Province, China

Correspondence to: Yun Xu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe Road, Zhengzhou 450001, Henan Province, China. xuyun@medmail.com.cn

Received: 2013-10-25 Revised: 2014-01-06

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the efficacy of  $\alpha$ -glycyrrhizic acid ( $\alpha$ -GL) in the management of early autoimmune hepatitis (AIH).

**METHODS:** Seventy-six patients with AIH treated at our hospital between February 2009 and October 2012 were enrolled into the study. The patients were divided randomly into two groups: a treatment group and a control group, with 38 patients in each group. Patients in the treatment group received magnesium isoglycyrrhizinate injection for 3 wk and diammonium glycyrrhizinate enteric-coated capsules for 1 year. Patients in the control group received compound glycyrrhizin injection for 3 wk and compound glycyrrhizin tablets for 1 year.

**RESULTS:** The liver function of patients in both groups improved significantly after treatment (ALT:  $31.00 \text{ U/L} \pm 4.27 \text{ U/L}$  vs  $76.42 \text{ U/L} \pm 9.34 \text{ U/L}$ , AST:  $29.26 \text{ U/L} \pm 3.57 \text{ U/L}$  vs  $73.21 \text{ U/L} \pm$

$10.69 \text{ U/L}$ , GLOB:  $32.27 \pm 4.84 \text{ g/L}$  vs  $36.10 \text{ g/L} \pm 3.83 \text{ g/L}$ ; ALT:  $49.26 \text{ U/L} \pm 6.05 \text{ U/L}$  vs  $77.79 \text{ U/L} \pm 6.45 \text{ U/L}$ , AST:  $42.05 \text{ U/L} \pm 5.87 \text{ U/L}$  vs  $74.53 \text{ U/L} \pm 5.91 \text{ U/L}$ , GLOB:  $35.56 \text{ g/L} \pm 1.05 \text{ g/L}$  vs  $36.71 \text{ g/L} \pm 2.29 \text{ g/L}$ ; all  $P < 0.05$ ), and the improvement was more significant in the treatment group than in the control group (all  $P < 0.05$ ). The levels of IgG and gamma globulin declined significantly after treatment in both groups (IgG:  $13.47 \text{ g/L} \pm 0.57 \text{ g/L}$  vs  $16.87 \text{ g/L} \pm 1.29 \text{ g/L}$ , gamma globulin:  $13.45 \text{ g/L} \pm 1.67 \text{ g/L}$  vs  $17.07 \text{ g/L} \pm 3.29 \text{ g/L}$ ; IgG:  $15.39 \text{ g/L} \pm 1.28 \text{ g/L}$  vs  $17.14 \text{ g/L} \pm 1.36 \text{ g/L}$ , gamma globulin:  $15.07 \text{ g/L} \pm 2.08 \text{ g/L}$  vs  $17.47 \text{ g/L} \pm 2.29 \text{ g/L}$ ; all  $P < 0.05$ ), and the decline was more significant in the treatment group (all  $P < 0.05$ ). The C3 level increased significantly after treatment in both groups ( $1.048 \text{ g/L} \pm 0.103 \text{ g/L}$  vs  $0.597 \text{ g/L} \pm 0.074 \text{ g/L}$ ;  $0.840 \text{ g/L} \pm 0.121 \text{ g/L}$  vs  $0.611 \text{ g/L} \pm 0.053 \text{ g/L}$ ; both  $P < 0.05$ ), and the increase was more significant in the treatment group ( $P < 0.05$ ). The effective rate was significantly higher in the treatment group than in the control group (86.8% vs 73.7%,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:**  $\alpha$ -GL has a more significant effect than  $\beta$ -GL in controlling inflammatory activity in early AIH.

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

**Key Words:**  $\alpha$ -glycyrrhizic acid; Early AIH; Inflammatory activity

Si CY, Xu Y, Bao J. Efficacy of  $\alpha$ -glycyrrhizic acid in management of early autoimmune hepatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 568-572 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.568>

## 摘要

**目的:** 观察 $\alpha$ 体甘草酸制剂对于早期自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)炎症活动的控制作用。

**方法:** 选择2009-2/2012-10我院收治的早期

## ■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

AIH患者76例, 随机分为试验组和对照组, 每组各38例, 试验组应用异甘草酸镁及甘草酸二铵肠溶胶囊( $\alpha$ 体甘草酸)治疗, 对照组应用复方甘草酸苷( $\beta$ 体甘草酸)治疗; 观察两组患者治疗前后的肝功能、免疫学指标、肝组织学变化。

**结果:** (1)两组治疗后谷丙转氨酶、谷草转氨酶、球蛋白较治疗前降低( $31.00 \text{ U/L} \pm 4.27 \text{ U/L}$  vs  $76.42 \text{ U/L} \pm 9.34 \text{ U/L}$ ,  $29.26 \text{ U/L} \pm 3.57 \text{ U/L}$  vs  $73.21 \text{ U/L} \pm 10.69 \text{ U/L}$ ,  $32.27 \pm 4.84 \text{ g/L}$  vs  $36.10 \text{ g/L} \pm 3.83 \text{ g/L}$ ;  $49.26 \text{ U/L} \pm 6.05 \text{ U/L}$  vs  $77.79 \text{ U/L} \pm 6.45 \text{ U/L}$ ,  $42.05 \text{ U/L} \pm 5.87 \text{ U/L}$  vs  $74.53 \text{ U/L} \pm 5.91 \text{ U/L}$ ,  $35.56 \text{ g/L} \pm 1.05 \text{ g/L}$  vs  $36.71 \text{ g/L} \pm 2.29 \text{ g/L}$ ; 均 $P < 0.05$ ), 试验组较对照组降低更明显( $31.00 \text{ U/L} \pm 4.27 \text{ U/L}$  vs  $49.26 \text{ U/L} \pm 6.05 \text{ U/L}$ ,  $29.26 \text{ U/L} \pm 3.57 \text{ U/L}$  vs  $42.05 \text{ U/L} \pm 5.87 \text{ U/L}$ ,  $32.27 \text{ g/L} \pm 4.84 \text{ g/L}$  vs  $35.56 \text{ g/L} \pm 1.05 \text{ g/L}$ , 均 $P < 0.05$ ); (2)两组治疗后IgG、 $\gamma$ -球蛋白均较治疗前降低( $13.47 \text{ g/L} \pm 0.57 \text{ g/L}$  vs  $16.87 \text{ g/L} \pm 1.29 \text{ g/L}$ ,  $13.45 \text{ g/L} \pm 1.67 \text{ g/L}$  vs  $17.07 \text{ g/L} \pm 3.29 \text{ g/L}$ ;  $15.39 \text{ g/L} \pm 1.28 \text{ g/L}$  vs  $17.14 \text{ g/L} \pm 1.36 \text{ g/L}$ ,  $15.07 \text{ g/L} \pm 2.08 \text{ g/L}$  vs  $17.47 \text{ g/L} \pm 2.29 \text{ g/L}$ , 均 $P < 0.05$ ), 试验组较对照组降低更明显( $13.47 \text{ g/L} \pm 0.57 \text{ g/L}$  vs  $15.39 \text{ g/L} \pm 1.28 \text{ g/L}$ ,  $13.45 \text{ g/L} \pm 1.67 \text{ g/L}$  vs  $15.07 \text{ g/L} \pm 2.08 \text{ g/L}$ ; 均 $P < 0.05$ ); 治疗后C3较治疗前增高( $1.048 \text{ g/L} \pm 0.103 \text{ g/L}$  vs  $0.597 \text{ g/L} \pm 0.074 \text{ g/L}$ ;  $0.840 \text{ g/L} \pm 0.121 \text{ g/L}$  vs  $0.611 \text{ g/L} \pm 0.053 \text{ g/L}$ ; 均 $P < 0.05$ ), 试验组较对照组升高明显( $1.048 \text{ g/L} \pm 0.103 \text{ g/L}$  vs  $0.840 \text{ g/L} \pm 0.121 \text{ g/L}$ ,  $P < 0.05$ ); (3)试验组有效率高于对照组( $86.8\%$  vs  $73.7\%$ ,  $P < 0.05$ ), 试验组不良反应发生率低于对照组( $5.26\%$  vs  $15.79\%$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:**  $\alpha$ 体甘草酸制剂对于控制早期AIH的炎症活动有显著作用, 且优于 $\beta$ 体甘草酸制剂。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**  $\alpha$ 体甘草酸; 早期自身免疫性肝炎; 炎症活动

**核心提示:** 长期应用 $\alpha$ 体甘草酸可有效控制早期自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis)的炎症活动, 延缓疾病进展, 且不良反应小, 值得临床推广。

司常云, 徐芸, 保洁.  $\alpha$ 体甘草酸制剂对早期自身免疫性肝炎炎症活动的控制作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 568–572  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/568.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.568>

## 0 引言

自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)是由异常自身免疫反应介导的肝实质炎症性病变, 以血清转氨酶升高、高免疫球蛋白血症、循环自身抗体和组织学上有界面性肝炎及汇管区浆细胞浸润为特点<sup>[1]</sup>. 主要治疗方法为免疫抑制治疗, 大部分患者应答良好, 但由于不良反应较多, 临床应用有严格的指征, 需考虑患者的血清转氨酶水平、 $\gamma$ 球蛋白或IgG水平及肝组织学表现<sup>[2-4]</sup>. 在临床上, 有部分早期AIH患者尚未达到免疫抑制治疗指征, 但组织学存在轻度炎症活动, 对于这部分患者, 寻找能有效控制炎症活动、减缓疾病进展的非激素类药物具有重大意义. 甘草酸类药物是临床上常用的抗炎保肝药物, 除具有一般保肝药的作用外, 更重要的是具有肾上腺皮质激素样作用及免疫调节作用<sup>[5]</sup>, 这在AIH的治疗中极其可贵, 不失为早期AIH治疗的合适选择. 甘草酸制剂又有 $\alpha$ 体甘草酸( $\alpha$ -glycyrrhizic acid,  $\alpha$ -GL)制剂和 $\beta$ 体甘草酸制剂两种, 研究发现 $\alpha$ -GL比 $\beta$ -GL抗炎活性强、肝脏靶向性高、不良反应小<sup>[6]</sup>, 本试验正是通过比较长期应用 $\alpha$ -GL制剂及 $\beta$ -GL制剂对于早期AIH的疗效, 为此部分患者的临床用药选择提供参考。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 选择我院2009-2/2012-10收治的早期AIH患者76例, 诊断标准依据2010年美国肝病学会(American Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)制定的AIH诊断和治疗指南, 均为确诊为AIH、有轻度炎症活动但未达免疫抑制治疗指征的患者, 已排除合并药物性、病毒性、遗传代谢性等肝损害的病例. 男8例, 女68例, 平均年龄 $47.8 \pm 15.3$ 岁. 按照随机数字表法分为试验组和对照组, 每组各38例, 两组患者年龄、性别、病程等一般资料差异无统计学意义. 异甘草酸镁注射液(天晴甘美, 江苏正大天晴股份有限公司, 10 mL: 50 mg/支, 国药准字H20051942); 甘草酸二铵肠溶胶囊(天晴甘平, 江苏正大天晴股份有限公司, 50 mg/粒, 国药准字H20040628); 复方甘草酸苷注射液(美能, 日本米诺发源制药株式会社, 20 mL: 40 mg/支, 国药准字J20080080); 复方甘草酸苷片(美能, 日本米诺发源制药株式会社, 25 mg/片, 国药准字J20080079)。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 试验组先应用异甘草酸镁注射液

## ■研发前沿

$\alpha$ 体甘草酸短期应用可改善自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)的肝功、免疫学指标, 关于其具体适应证、治疗时间、远期疗效及对肝组织学的作用有待进一步研究。

## ■相关报道

目前已有报道表明甘草酸治疗AIH的短期疗效确定, 不良反应小, 亦有关于 $\alpha$ 体甘草酸治疗不能应用激素的AIH后肝硬化失代偿期患者疗效显著的报道。

## ■创新盘点

本文的研究对象有针对性,为早期AIH患者,不同于其他同类研究中研究对象范围太大;研究中观察随访时间较长,且有肝组织学的比较。

表 1 两组治疗前后肝功能变化

项目	试验组		对照组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
ALT(U/L)	76.42 ± 9.34	31.00 ± 4.27 <sup>ac</sup>	77.79 ± 6.45	49.26 ± 6.05 <sup>a</sup>
AST(U/L)	73.21 ± 10.69	29.26 ± 3.57 <sup>ac</sup>	74.53 ± 5.91	42.05 ± 5.87 <sup>a</sup>
GLOB(g/L)	36.10 ± 3.83	32.27 ± 4.84 <sup>ac</sup>	36.71 ± 2.29	35.56 ± 1.05 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 同组治疗前; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 对照组治疗后. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GLOB: 球蛋白。

表 2 两组治疗前后免疫学指标变化(g/L)

项目	试验组		对照组	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
IgG	16.87 ± 1.29	13.47 ± 0.57 <sup>ac</sup>	17.14 ± 1.36	15.39 ± 1.28 <sup>a</sup>
C3	0.597 ± 0.074	1.048 ± 0.103 <sup>ac</sup>	0.611 ± 0.053	0.840 ± 0.121 <sup>a</sup>
γ-球蛋白	17.07 ± 3.29	13.45 ± 1.67 <sup>ac</sup>	17.47 ± 2.29	15.07 ± 2.08 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 同组治疗前; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 对照组治疗后。

200 mg加入5%葡萄糖注射液250 mL中静脉滴注, 1次/d, 连用3 wk, 后改为口服甘草酸二铵肠溶胶囊1次150 mg, 3次/d; 对照组先应用复方甘草酸苷注射液120 mg加入5%葡萄糖注射液250 mL中静脉滴注, 1次/d, 连用3 wk, 后改为口服复方甘草酸苷片1次75 mg, 3次/d. 两组疗程均为1年, 治疗期间每3月复查1次肝功、免疫学指标, 1年后复查肝穿。

1.2.2 观察项目: (1)肝功能: 谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶(aspartic transaminase, AST)、球蛋白(globulin, GLOB); (2)免疫学指标: IgG、C3、γ球蛋白; (3)肝组织学: 治疗前后行超声引导下肝穿刺活检术, 标本放置40 g/L中性甲醛溶液中固定, 石蜡包埋、切片后行HE染色、网染、MASSON染色及免疫组织化学(CK7、CD38、CD138); 参考2001年版《病毒性肝炎防治方案》中慢性肝炎病理分级分期, 将肝脏炎症活动分为G0-G4级, 纤维化程度分为S0-S4期<sup>[7]</sup>; (4)症状: 治疗后纳差、乏力、恶心、腹胀等较治疗前是否有变化(消失、减轻、不变、加重); (5)不良反应: 浮肿、低钾血症、血压升高、皮疹、恶心呕吐等。

1.2.3 疗效评定标准: (1)显效: ALT、AST、IgG、γ球蛋白恢复正常, 症状明显改善或消失; (2)有效: ALT、AST、IgG、γ球蛋白较治疗前下降50%, 症状有改善; (3)无效: ALT、AST、IgG、γ球蛋白下降不明显或升高, 症状改善不明显或无改善。

**统计学处理** 应用SPSS15.0统计软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 计量资料采用*t*检验, 计数资料采用χ<sup>2</sup>检验. *P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 治疗前后肝功能的变化 两组治疗前ALT、AST、GLOB比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); 治疗后ALT、AST、GLOB较治疗前降低, 差异有统计学意义(*P*<0.05), 试验组较对照组上述指标降低更明显(*P*<0.05)(表1)。

2.2 治疗前后免疫学指标的变化 两组治疗前IgG、γ球蛋白、C3比较, 差异无统计学意义(*P*>0.05); 治疗后IgG、γ球蛋白均较治疗前降低(*P*<0.05)、C3较治疗前升高(*P*<0.05), 试验组较对照组上述指标降低更明显(*P*<0.05)(表2)。

2.3 肝组织学变化 试验组与对照组均在治疗前行肝穿刺活检术, 大部分患者病理特点为肝小叶结构基本存在, 肝细胞轻度水变性伴点灶状坏死, 汇管区有少量淋巴细胞、浆细胞浸润, 轻度界面炎, 病理分级分期为G1-2S0-2; 治疗1年后, 试验组有8例患者复查肝穿, 3例组织学无明显变化, 2例由G1S1转为G2S2, 3例由G2S1转为G1S1, 对照组有5例复查肝穿, 3例由G1S1转为G2S2, 2例无明显变化。

2.4 疗效比较 试验组有效率高于对照组, 差异有统计学意义(*P*<0.05)(表3)。

2.5 不良反应 试验组有1例患者出现浮肿, 1例出

## ■应用要点

通过全面观察对比α体甘草酸、β体甘草酸对早期AIH肝功、免疫学指标、肝组织学的作用, 证实α体甘草酸疗效确定, 为早期AIH患者提供了有效、不良反应小的治疗方案。



表 3 两组治疗效果比较( $n = 38$ )

分组	显效	有效	无效	总有效率(%)
试验组	18	15	5	86.8 <sup>a</sup>
对照组	10	18	10	73.7

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组.

现血压升高, 不良反应发生率5.26%; 对照组有6例出现浮肿, 不良反应发生率为15.79%; 试验组不良反应发生率低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

AASLD对于AIH的诊断及治疗进行了详细的描述, 治疗上首选药物为糖皮质激素及硫唑嘌呤, 有严格的指征, 对于无症状或症状轻微、实验室和组织学轻度异常达不到免疫抑制治疗指征的AIH患者, 没有统一的治疗方案<sup>[2]</sup>. 对于这部分患者的治疗, 有些报道倾向于免疫抑制治疗<sup>[8,9]</sup>, 但考虑到免疫抑制治疗风险较大、疗程较长、患者难以接受, 有必要寻找能有效控制肝脏炎症活动、不良反应小的非激素类药物, 甘草酸类药物可作为选择之一.

甘草酸制剂中的主要有效成分为甘草酸, 是从中药甘草中提取的活性成分, 具有抗炎、免疫调节、保护肝细胞膜、改善肝功能、抗纤维化、抗细胞凋亡等多种作用<sup>[10]</sup>, 是临床上常用的抗炎保肝药物. 不同于其他保肝药物的是甘草酸具有糖皮质激素的结构特征从而能够发挥类固醇样作用, 这在AIH的治疗中有重要作用, 已有多项报道表明甘草酸对于AIH的短期疗效确定, 于短时间内改善肝脏生化学指标, 可作为AIH的辅助治疗<sup>[11-13]</sup>. 甘草酸存在一对差向异构体, 即18 $\alpha$ -GL和18 $\beta$ -GL, 与 $\beta$ -GL相比,  $\alpha$ -GL具有(1)亲脂性好、在体内易于与受体蛋白结合;(2)易于与类固醇激素的靶细胞受体结合, 抗炎活性强;(3)肝脏靶向性高、不良反应少等优点<sup>[6]</sup>. 目前临床上常见的异甘草酸镁与甘草酸二铵脂质复合物均为新一代 $\alpha$ -GL制剂, 复方甘草酸苷则为二代 $\beta$ -GL制剂<sup>[14]</sup>, 已有多项研究报道前者对于病毒性肝炎、药物性肝损伤等疗效明显优于后者<sup>[15]</sup>, 对于AIH报道较少.

本研究中我们应用 $\alpha$ -GL制剂、 $\beta$ -GL制剂治疗具有轻度炎症活动的早期AIH, 结果表明 $\alpha$ -GL制剂、 $\beta$ -GL制剂均可通过抗炎、免疫调

节等类激素作用有效改善早期AIH的肝功能、免疫学指标, 有效控制其肝脏炎症活动, 延缓病情进展. 同时通过治疗前后两组各个指标的对比可知,  $\alpha$ -GL制剂在改善早期AIH的肝功、免疫学指标方面优于 $\beta$ -GL制剂, 总体疗效及安全性均高于 $\beta$ -GL制剂, 更能有效控制早期AIH肝脏炎症活动, 且无激素的多种不良反应, 在临床上对于这部分患者可推广应用, 但一定要掌握好适应证并密切随访肝功、免疫学指标及肝穿(尤其对于生化免疫学指标正常的患者), 一旦炎症活动加重达到免疫抑制治疗指征, 应及时更改治疗方案, 以免延误病情.

由于肝穿刺的有创性, 大部分患者短期内难以接受二次肝穿, 试验组复查肝穿的少数患者中, 肝组织学炎症较前减轻、不变、加重的比例分别为37.5%、37.5%、25%,  $\alpha$ -GL制剂对于早期AIH更为远期的疗效、肝组织学的作用有待我们继续长期的随访观察.

### 4 参考文献

- 1 姚光弼. 临床肝脏病学. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 103-106
- 2 Manns MP, Czaja AJ, Gorham JD, Krawitt EL, Mieli-Vergani G, Vergani D, Vierling JM. Diagnosis and management of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2010; 51: 2193-2213 [PMID: 20513004 DOI: 10.1002/hep.23584]
- 3 Heneghan MA, Yeoman AD, Verma S, Smith AD, Longhi MS. Autoimmune hepatitis. *Lancet* 2013; 382: 1433-1444 [PMID: 23768844 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)62163-1]
- 4 肖潇, 邱德凯, 马雄. 自身免疫性肝炎. *中华消化杂志* 2013; 33: 63-66
- 5 张明发, 沈雅琴. 甘草酸及其苷元甘草次酸的糖皮质激素样作用. *现代药物与临床* 2011; 26: 33-34
- 6 颜苗, 李兰芳, 李焕德. 甘草酸、甘草次酸18位差向异构体比较研究的进展. *中药新药与临床药理* 2010; 21: 562-566
- 7 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂志* 2001; 19: 56-62
- 8 Zachou K, Muratori P, Koukoulis GK, Granito A, Gatselis N, Fabbri A, Dalekos GN, Muratori L. Review article: autoimmune hepatitis -- current management and challenges. *Aliment Pharmacol Ther* 2013; 38: 887-913 [PMID: 24010812 DOI: 10.1111/apt.12470]
- 9 Czaja AJ. Difficult treatment decisions in autoimmune hepatitis. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 934-947 [PMID: 20180231]
- 10 韩瑶璐, 王彬, 王政雨, 张亚弢, 杨凌云, 周金培, 张惠斌. 甘草酸药理作用的研究进展. *中国新药杂志* 2012; 21: 2499-2504
- 11 Yasui S, Fujiwara K, Tawada A, Fukuda Y, Nakano M, Yokosuka O. Efficacy of intravenous glycyrrhizin in the early stage of acute onset autoimmune hepatitis. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 3638-3647 [PMID: 21681505 DOI: 10.1007/s10620-011-1789-5]
- 12 李蕴钊, 王文冰, 张黎颖, 欧蔚妮, 谢雯, 魏来. 甘草酸

### ■名词解释

早期自身免疫性肝炎: 根据2010年AASLD制定的AIH诊疗指南, 诊断为AIH, 无症状或症状轻微、实验室和组织学轻度异常达不到免疫抑制治疗指征, 但组织学提示轻度炎症活动.

## ■同行评价

本研究内容有一定的重要性, 研究结果对临床有一定的指导作用, 值得进一步深入研究。

- 13 马红, 段维佳. 辅助用药在自身免疫性肝病中的应用. 中华肝脏病杂志 2011; 19: 234-235
- 14 颜苗, 张金娇, 李焕德, 朱荣华, 李兰芳. RP-HPLC法同时测定甘草酸制剂中18 $\alpha$ -、18 $\beta$ -甘草酸的含量. 药物分析杂志 2012; 32: 301-304
- 15 Manns MP, Wedemeyer H, Singer A, Khomutjanskaja N, Dienes HP, Roskams T, Goldin R, Hehnke U, Inoue H. Glycyrrhizin in patients who failed previous interferon alpha-based therapies: biochemical and histological effects after 52 weeks. *J Viral Hepat* 2012; 19: 537-546 [PMID: 22762137 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2011.01579.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

# IL-18与肝癌家族聚集性的相关性

莫金英, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦

莫金英, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021

莫金英, 硕士, 主要从事肝脏疾病的发病机制及诊疗方面的研究。国家自然科学基金资助项目, No. 30960170

广西卫生厅重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重200924

作者贡献分布: 此课题由吴继周与莫金英共同设计; 研究过程和数据分由莫金英、吴健林、韦颖华及张鹭操作完成; 研究标本由宁秋悦、胡蝶飞及万裴琦协助提供; 论文写作由莫金英与吴继周共同完成; 吴继周审核。

通讯作者: 吴继周, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。wjz925@163.com

收稿日期: 2013-09-26 修回日期: 2013-11-05

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## Correlation between IL-18 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma

Jin-Ying Mo, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Ying-Hua Wei, Lu Zhang, Qiu-Yue Ning, Die-Fei Hu, Pei-Qi Wan

Jin-Ying Mo, Ji-Zhou Wu, Jian-Lin Wu, Ying-Hua Wei, Lu Zhang, Qiu-Yue Ning, Die-Fei Hu, Pei-Qi Wan, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30960170; and the Science Foundation of Health Bureau of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200924

Correspondence to: Ji-Zhou Wu, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. wjz925@163.com

Received: 2013-09-26 Revised: 2013-11-05

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the correlation between serum level of cytokine interleukin (IL)-18 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect serum levels of IL-18 in 108 pairs of carcinoma-free members from HCC high-incidence families and those from carcinoma-free families.

**RESULTS:** Serum levels of cytokine IL-18 were

significantly lower in carcinoma-free members from HCC high-incidence families than in those from carcinoma-free families ( $P < 0.05$ ), regardless of sex, HBsAg infection and age. In carcinoma-free members from HCC high-incidence families, the levels of IL-18 were significantly different between first-degree relatives and the second-degree relatives ( $t = -2.713$ ,  $P = 0.032$ ). The level of IL-18 declined with the increase in the number of HCC patients in HCC high-incidence families ( $Z = -2.09$ ,  $P = 0.037$ ).

**CONCLUSION:** IL-18 might have a close relationship to the familial aggregation of HCC, and IL-18 may be a protective factor against HCC.

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

**Key Words:** Cytokines; Interleukin-18; Familial aggregation; Hepatocellular carcinoma

Mo JY, Wu JZ, Wu JL, Wei YH, Zhang L, Ning QY, Hu DF, Wan PQ. Correlation between IL-18 and familial aggregation of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 573-577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/573.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.573>

## 摘要

**目的:** 探讨细胞因子白介素(interleukin, IL)-18的表达水平与肝癌家族聚集性的相关性。

**方法:** 在广西肝癌高发区利用酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测108对经配对设计的肝癌高发家族和无癌家族成员外周血清IL-18的水平。

**结果:** 肝癌高发家族组中不论从总体上比较还是从性别、HBsAg感染情况、年龄上分层比较, 细胞因子IL-18的表达水平均显著低于无癌家族成员组( $P < 0.05$ ); 在肝癌高发家族组中, 一级亲属与二级亲属成员之间血清IL-18的表达水平有显著性差异( $t = -2.713$ ,  $P = 0.032$ ); 肝癌高发家族组中随着家族中肝癌患病人数的增加, IL-18的表达水平下降( $Z =$

## ■背景资料

广西为肝癌高发地区, 并呈现出肝癌发病家族聚集现象。目前国内外对于肝癌家族聚集现象的研究较少, 对于肝癌家族成员发生肝癌前机体是否已存在免疫调节紊乱还不清楚。

## ■同行评议者

肖文华, 主任医师, 中国人民解放军总医院第一附属医院肿瘤科



## ■研究前沿

肝癌高发家族成员的免疫状态、细胞因子的表达情况以及遗传基因与肝癌之间的关系是目前关于研究肝癌发病机制的热点之一。

-2.09,  $P = 0.037$ ).

**结论:** 细胞因子IL-18与肝癌家族聚集性密切相关, IL-18可能是降低肝癌发生风险的一个保护性因子。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 细胞因子; 白介素-18; 家族聚集性; 肝细胞肝癌

**核心提示:** 肝癌高发家族成员的白介素(interleukin, IL)-18表达水平不论从性别上比较还是从HBsAg感染情况、年龄上比较, 均显著低于无癌家族成员; 肝癌高发家族组IL-18表达水平的变化显示出与先证者血缘关系、家族中先证者的人数密切相关。

莫金英, 吴继周, 吴健林, 韦颖华, 张鹭, 宁秋悦, 胡蝶飞, 万裴琦. IL-18与肝癌家族聚集性的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 573-577 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/573.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.573>

## 0 引言

肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)还在继续肆虐全球, 目前全世界每年新发60万例不同肤色、不同国度的肝癌患者, 沉重的医疗负担及高死亡率使世界各国人民深受其害. 目前肝癌发病率排名前四位国家依次是: 中国、中非国家、日本、东非国家. 中国是世界上排名第一的肝癌大国, 每年每10万人中有将近30人罹患肝癌, 经流行病学调查研究发现在中国东南沿海一带如江苏、福建、广西等为肝癌的高发区<sup>[1]</sup>. 然而在广西部分地区的某些村落里一个家族中竟有数人患有肝癌, 呈现出肝癌发病家族聚集现象<sup>[2,3]</sup>. 目前, 国内外对于肝癌家族聚集性的研究较少, 对于肝癌家族聚集发病的机制还不十分明确. 许多研究表明, 机体的免疫状态失衡是导致肿瘤发生的重要因素, 因此本研究主要通过检测肝癌高发家族与无癌家族成员中细胞因子白介素(interleukin, IL)-18的水平, 探讨IL-18与肝癌家族聚集性之间的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 所有研究对象均来自广西肝癌高发地区, 肝癌高发家族是指同一家族成员中有2个或2个以上成员有肝癌病史, 家族中确诊为肝癌的患者为先证者; 无癌家族是指与肝癌高发家族

在同一个地区有相同的生活环境, 但家族成员中无任何癌症病史. 研究对象以年龄 $\pm 5$ 岁、相同的性别、民族、相同的HBV携带状况进行配对, 以尽量减少组间误差, 所有研究对象中无肝癌患者, 抗HCV抗体阴性. 肝癌高发家族中, 个体与先证者的遗传物质之间只经历了一次减数分裂定义为一级亲属, 如父母、子女等; 个体与先证者之间的遗传物质只经历了二次减数分裂定义为二级亲属, 如伯、叔、舅、姨等; 以此类推确定三级及以上亲属<sup>[3]</sup>.

### 1.2 方法

**1.2.1 血清标本采集与处理:** 所有研究对象清晨空腹采外周静脉血5 mL室温静置后离心分离血清, 置于-80 °C低温冰箱冻存集中进行检测。

**1.2.2 IL-18的检测:** 使用ELISA法检测血清中IL-18的水平, 采用ELISA试剂盒(武汉华美生物技术有限公司, Cusabio Biotech, human IL-18)检测血清中IL-18的水平, 严格按照说明书要求操作, 使用美国的BIO-RAD的iMark全自动酶标仪进行检测。

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件进行数据分析, 各组的IL-18表达水平如果服从正态分布以mean $\pm$ SD表示, 配对资料呈正态分布用配对 $t$ 检验, 非配对资料服从正态分布用两独立样本的 $t$ 检验, 偏态资料用M(P25, P75)表示, 偏态分布用秩和检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肝癌高发家族组与无癌家族组IL-18表达情况比较** 肝癌高发家族成员中IL-18的表达水平明显低于无癌家族成员组, 差别有统计学意义( $t = 5.367$ ,  $P = 0.000$ )(表1); 从性别、HBsAg感染情况、年龄上分层对比肝癌高发家族与无癌家族成员的IL-18浓度水平发现, 肝癌高发家族成员的IL-18表达水平均显著低于无癌家族成员( $P < 0.05$ )(表1)。

**2.2 肝癌高发家族组中先证者的性别比较** 本研究中肝癌高发家族组108例成员共来自15个肝癌高发家族, 在这15个肝癌高发家族中先证者共有49例, 其中男42例, 女7例, 男性肝癌发病率明显高于女性。

**2.3 肝癌高发家族组各级亲属之间的IL-18表达水平比较** 高发家族成员组一级亲属的IL-18表达水平明显低于二级亲属( $P < 0.05$ ); 一级亲属与三级及以上亲属的IL-18表达水平无差异( $P > 0.05$ ); 二级亲属与三级亲属之间的IL-18表达

## ■相关报道

IL-18在调节Th1/Th2细胞平衡, 增强NK细胞、CTL细胞等的抗肿瘤活性方面起重要作用。

表 1 肝癌高发家族与无癌家族白介素-18表达水平分析(mean ± SD, pg/mL)

	<i>n</i>	无癌家族	肝癌高发家族	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
总检验		52.527 ± 24.88	35.56 ± 23.21	5.367	0.000
性别					
男	70	52.33 ± 24.94	33.14 ± 21.70	4.636	0.000
女	38	52.75 ± 24.63	40.89 ± 26.83	2.428	0.020
HBsAg					
阳性	24	61.46 ± 25.73	40.37 ± 20.17	2.889	0.000
阴性	84	49.91 ± 23.96	34.58 ± 24.70	4.286	0.000
年龄(岁)					
>25	53	50.70 ± 22.58	31.62 ± 21.97	4.290	0.000
≤25	55	54.17 ± 26.74	39.96 ± 24.95	2.873	0.006

## ■创新盘点

既往的研究通常将肝癌患者作为研究对象进行病例对照研究,而本文将肝癌高发家族中未发生肝癌的成员作为研究对象,以了解肝癌发生前肝癌高发家族成员体内的免疫变化。

表 2 肝癌高发家族中各级亲属血清IL-18含量的比较(mean ± SD, pg/mL)

分组	<i>n</i>	IL-18	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
一级亲属	58	31.06 ± 20.21	-2.713	0.032 <sup>a</sup>
二级亲属	37	41.10 ± 24.51	-0.151	0.881
三级及以上亲属	13	42.41 ± 32.65	-1.203	0.249

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 二级亲属. IL: 白介素.

表 3 肝癌高发家族组中患肝癌例数与IL-18的关系(pg/mL)

分组	<i>n</i>	IL-18 M (P25, P75)
2-3例	43	38.79(21.55, 60.62)
4例及以上	65	30.46(14.21, 42.87)
Z值	-	-2.09
P值	-	0.037

IL: 白介素.

水平无差异(*P* > 0.05)(表2).

2.4 肝癌高发家族中患肝癌的先证者例数与IL-18表达水平的关系分析 研究结果显示,随着家族中肝癌患病人数的增加,高发家族中IL-18的表达水平下降(*P* = 0.037)(表3).

### 3 讨论

IL-18最初被认为是促进INF-γ生成的一个重要因子,主要由激活的巨噬细胞、枯否细胞、B细胞等产生,具有诱导Th1型细胞分化、增强NK细胞活性、通过Fas和Fas配体相互作用诱导细胞凋亡、抑制血管生成等多种生物功能<sup>[4,5]</sup>.近年来国内外对于研究IL-18与肝癌之间的关系已取得较多的成果.王平等<sup>[6]</sup>在利用IL-18的复制缺陷型腺病毒治疗肝癌大鼠时发现,IL-18能有

效地抑制肝癌细胞系CBRH3的生长,充分显示了IL-18的抗肿瘤效应.叶文峰等<sup>[7]</sup>以HepG2细胞在裸鼠皮下接种形成人肝癌皮下移植瘤,之后向其腹腔内注射IL-18进行治疗,发现IL-18通过抑制血管生成及Caspase3参与的细胞凋亡信号转导从而有效地抑制肝癌的生长.然而,Teixeira等<sup>[8]</sup>通过对巴西肝癌患者的研究发现IL-18-607\*A等位基因可能是巴西原发性肝癌的易感基因,IL-18-607\*C和-137\*C等位基因可能分别与结节型肝癌、弥漫型肝癌相关.此外,Teixeira等<sup>[9]</sup>发现在HCV感染相关性HCC患者血清中IL-18的表达水平明显高于HCV相关性慢性肝炎患者及健康者,提示IL-18的表达水平有望成为诊断HCV相关性HCC的另一个敏感指标.上述文献均说明IL-18与肝癌的发生、发展密切相关,但其与肝癌家庭聚集性的关系如何,在国内外尚未有研究报道.

在本研究中,我们发现肝癌高发家族成员组血清的IL-18表达水平显著低于无癌家族成员组(*P* < 0.05);之后我们进一步分层比较肝癌高发家族组成员与无癌家族成员的IL-18表达水平发现,肝癌高发家族组IL-18表达水平不论从性别上比较还是从HBV感染情况、年龄上比较,均显著低于无癌家族成员(*P* < 0.05),提示IL-18水平的降低与肝癌的家族聚集性密切相关,但是

### ■应用要点

本文通过ELISA检测肝癌高发家族中无癌成员IL-18的水平,进一步探讨细胞因子与肝癌家族聚集现象的相关性。

其中的机制还尚未清楚。有研究表明Th1介导的细胞免疫在机体内发挥主要的抗肿瘤作用, Th1/Th2的失衡是导致肿瘤细胞发生免疫逃逸, 促进肿瘤发生的关键环节<sup>[10]</sup>。IL-18通过刺激NK细胞、CTL细胞来增强Th1型细胞免疫反应, 同时可以诱导Th1细胞产生IFN- $\gamma$ 调节Th1/Th2之间的平衡, 并使Th1型细胞处于优势状态<sup>[10,11]</sup>, 当机体内IL-18水平低下时, Th1/Th2之间的平衡被打破, 并向Th2方向漂移, 此时机体发生肿瘤的风险也随着增大。本研究中肝癌高发家族组成员中IL-18表达水平较无癌家族成员组明显降低, 差异有统计学意义, 由此推测肝癌高发家族成员的Th1反应模式处于弱势状态, 此时机体的细胞免疫功能下降, 不能有效地清除肿瘤细胞, 使肿瘤得以生存、发展。还有学者提出IL-18主要是通过增强T细胞、NK细胞、CTL细胞的活性而发挥抗肿瘤作用, 能有效抑制黑色素瘤、肝癌等肿瘤细胞的生长<sup>[12-16]</sup>。在肝癌高发家族成员体内IL-18表达水平低下, 机体内T细胞、NK细胞、CTL细胞不能有效被激活发挥抗肿瘤作用, 使得高发家族成员患肝癌的风险增大, 由此推测, IL-18可能是降低肝癌发生风险的保护性因子, 但不排除由于某些未知基因的显性作用导致肝癌高发家族组IL-18的表达低下。

有研究报道HBsAg感染是导致HCC发生的重要因素<sup>[2,17]</sup>, 因此我们分别对比肝癌高发家族成员组中HBsAg阳性与HBsAg阴性成员的IL-18表达水平及无癌家族成员组中HBsAg阳性与HBsAg阴性成员的IL-18表达水平, 结果均无统计学差异( $P>0.05$ ), 提示HBsAg感染状况对IL-18表达水平无明显影响, IL-18与肝癌家族聚集性之间的密切关系与HBV感染状况无直接关系。但因本研究的样本量偏小, 需进一步研究证实。众所周知, 男性肝癌的发病率明显高于女性<sup>[1]</sup>。本研究中, 在15个肝癌高发家系的49例先证者中, 男性比率明显高于女性, 这与既往的流行病学调查结果相一致。虽然在肝癌高发家族中男性与女性成员的IL-18表达水平未提示有明显统计学差异, 但男性成员的IL-18表达水平低于女性成员, 而在无癌家族成员中却无此表现, 我们推测也许在发生肝癌之前肝癌高发家族男性成员体内已经存在Th1/Th2平衡失调, 并表现出部分细胞因子表达水平低下。

此外, 我们还发现在肝癌高发家族成员组中一级亲属血清中的IL-18水平较二级亲属低, 差异有统计学意义( $t = -2.713$ ,  $P = 0.032$ ), 即与先

证者血缘关系越亲近, IL-18的表达水平越低。但在三级亲属中因样本例数较少, 与一级、二级亲属比较时未提示明显差异。同时, 随着家族中先证者人数的增加, IL-18的表达水平也相应下降。因此, 我们推测IL-18的表达水平与肝癌家族聚集性之间的密切关系可能与遗传因素有一定关系。有研究发现IL-18基因中的三个等位基因-148C、+8925G、+13925C的表达与肝癌的发生密切相关<sup>[18]</sup>。还有研究提示HLA-DRB1\*04等位基因可能是导致广西肝癌高发区原发性肝癌家族聚集性的危险基因<sup>[19]</sup>。在本组研究中, 肝癌高发家族组IL-18表达水平的变化显示出与先证者血缘关系、家族中先证者的人数密切相关, 也许在肝癌高发家族成员组体内存在某些等位基因的表达或缺失而导致肝癌高发家族成员血清中IL-18的表达水平发生上述变化, 但究竟与哪个等位基因相关, 还有待深入研究。

### 4 参考文献

- 1 叶家才, 崔书中, 巴明臣. 原发性肝癌的流行病学特征及其危险因素. 实用医学杂志 2008; 24: 1839-1841
- 2 吴继周, 李国坚, 陈务卿, 臧宁, 吴健林, 玉艳红, 陈茂伟, 韦颖华, 万裴琦, 胡蝶飞, 宁秋悦, 贺荣. 广西新发现肝癌高发点的初步流行病学研究. 内科 2009; 4: 678-680
- 3 庞裕, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈务卿, 宁秋悦, 韦颖华, 胡蝶飞, 覃玲. P53抗体与广西肝癌家族聚集性的相关性研究. 中华医学遗传学杂志 2012; 29: 206-209
- 4 Swain SL. Interleukin 18: tipping the balance towards a T helper cell 1 response. *J Exp Med* 2001; 194: F11-F14 [PMID: 11489958]
- 5 Tangkijvanich P, Thong-ngam D, Mahachai V, Theamboonlers A, Poovorawan Y. Role of serum interleukin-18 as a prognostic factor in patients with hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4345-4349 [PMID: 17708609]
- 6 王平, 张柏和, 杨家和, 李楠, 吴孟超. 白细胞介素18对肝细胞肝癌治疗的实验研究. 中华普通外科杂志 2003; 18: 480-482
- 7 叶文峰. IL-18抗裸鼠移植性肝细胞癌机制的研究. 苏州大学, 2009
- 8 Teixeira AC, Mendes CT, Marano LA, Deghaide NH, Secaf M, Elias J, Muglia V, Donadi EA, Martinelli AL. Alleles and genotypes of polymorphisms of IL-18, TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$  are associated with a higher risk and severity of hepatocellular carcinoma (HCC) in Brazil. *Hum Immunol* 2013; 74: 1024-1029 [PMID: 23632060 DOI: 10.1016/j.humimm.2013.04.029]
- 9 Mohran ZY, Ali-Eldin FA, Abdel Aal HA. Serum interleukin-18: does it have a role in the diagnosis of hepatitis C virus related hepatocellular carcinoma? *Arab J Gastroenterol* 2011; 12: 29-33 [PMID: 21429452 DOI: 10.1016/j.ajg.2010.11.002]
- 10 张鹭, 李国坚, 吴继周, 吴健林, 陈茂伟, 陈务卿, 韦颖华, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕. Th1/Th2细胞相关因子对肝癌家族聚集性的影响研究. 中华微生物学和免疫学杂志 2012; 32: 1000-1004
- 11 Palma G, Barbieri A, Bimonte S, Palla M, Zappav-



- gna S, Caraglia M, Ascierto PA, Ciliberto G, Arra C. Interleukin 18: Friend or foe in cancer. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1836: 296-303 [PMID: 24120852 DOI: 10.1016/j.bbcan.2013.09.001]
- 12 Wang Q, Yu H, Ju DW, He L, Pan JP, Xia DJ, Zhang LH, Cao X. Intratumoral IL-18 gene transfer improves therapeutic efficacy of antibody-targeted superantigen in established murine melanoma. *Gene Ther* 2001; 8: 542-550 [PMID: 11319621]
- 13 Ju DW, Yang Y, Tao Q, Song WG, He L, Chen G, Gu S, Ting CC, Cao X. Interleukin-18 gene transfer increases antitumor effects of suicide gene therapy through efficient induction of antitumor immunity. *Gene Ther* 2000; 7: 1672-1679 [PMID: 11083476]
- 14 杨静悦, 曹大勇, 刘文超, 斯小明. IL-18基因增强肿瘤抗原致敏DC诱导的CTL特异性杀伤肝癌细胞. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2009; 16: 55-58
- 15 Wigginton JM, Lee JK, Wilttrout TA, Alvord WG, Hixon JA, Subleski J, Back TC, Wilttrout RH. Synergistic engagement of an ineffective endogenous anti-tumor immune response and induction of IFN-gamma and Fas-ligand-dependent tumor eradication by combined administration of IL-18 and IL-2. *J Immunol* 2002; 169: 4467-4474 [PMID: 12370382]
- 16 Osaki T, Péron JM, Cai Q, Okamura H, Robbins PD, Kurimoto M, Lotze MT, Tahara H. IFN-gamma-inducing factor/IL-18 administration mediates IFN-gamma- and IL-12-independent antitumor effects. *J Immunol* 1998; 160: 1742-1749 [PMID: 9469432]
- 17 Mailian ES, Chabdarova RN, Korzun EI. [Energy reactions in the skeletal muscles of rats after short-term space flight on Kosmos-1514]. *Kosm Biol Aviakosm Med* 1988; 22: 55-58 [PMID: 3047495 DOI: 10.1002/hep.22962]
- 18 Kim YS, Cheong JY, Cho SW, Lee KM, Hwang JC, Oh B, Kimm K, Lee JA, Park BL, Cheong HS, Shin HD, Kim JH. A functional SNP of the Interleukin-18 gene is associated with the presence of hepatocellular carcinoma in hepatitis B virus-infected patients. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2722-2728 [PMID: 19757044 DOI: 10.1007/s10620-009-0970-6]
- 19 马莎莎, 吴继周, 吴健林, 刘芳, 胡蝶飞, 宁秋悦, 庞裕. HLA-DRB1 20/04等位基因与广西原发性肝癌家族聚集性的相关性. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 346-351

## ■同行评价

本文首次探讨IL-18与广西肝癌家族聚集性发病的相关性, 对了解肝癌高发家族成员癌前机体的免疫学变化具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# ENBD与ERBD治疗急性梗阻性胆管炎56例

谢宏民, 杨新魁, 李佳璇

## ■背景资料

化脓性胆管炎内镜下胆汁引流通常有鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)和内镜置入塑料胆管支架引流术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)两种方法, 临床上常用的是鼻胆管引流术, 但临床工作中发现该方法存在患者不适反应较大, 患者依从性较差, 国内外研究ERBD代替ENBD进行内引流是否可行。

谢宏民, 杨新魁, 李佳璇, 广东医学院附属陈星海医院消化内科 广东省中山市 528415

谢宏民, 主治医师, 主要从事ERCP、胰腺癌的诊治及消化内镜的研究。

作者贡献分布: 课题设计由谢宏民完成; 试剂、病历提供由杨新魁完成; 数据分析由李佳璇完成。

通讯作者: 杨新魁, 主任医师, 528415, 广东省中山市小榄下基路133号, 广东医学院附属陈星海医院消化内科。1183181@qq.com 电话: 0760-22287202

收稿日期: 2013-11-04 修回日期: 2013-12-01

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-02-08

## Treatment of acute obstructive cholangitis by ENBD and ERBD: Analysis of 56 cases

Hong-Min Xie, Xin-Kui Yang, Jia-Xuan Li

Hong-Min Xie, Xin-Kui Yang, Jia-Xuan Li, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China

Correspondence to: Xin-Kui Yang, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Guangdong Medical College, 133 Xiaolanxiaji Road, Zhongshan 528415, Guangdong Province, China. 1183181@qq.com

Received: 2013-11-04 Revised: 2013-12-01

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To compare the safety and effectiveness of endoscopic nasobiliary drainage (ENBD) versus endoscopic retrograde biliary drainage (ERBD) in patients with acute obstructive cholangitis.

**METHODS:** Fifty-six selected patients with acute obstructive cholangitis were randomized to undergo emergency endoscopic biliary drainage by ENBD ( $n = 28$ ) or ERBD ( $n = 28$ ). Clinical outcomes and adverse events were compared between the two groups.

**RESULTS:** Baseline patient data were similar between the two groups. Endoscopic biliary drainage was successful in all patients. Complication rates were similar between the ENBD and ERBD groups. There was no significant difference in the incidence of abdominal pain, fever, or jaundice at 12, 24 h, 3 d, and 7 d postoperatively. However, the incidence rate of blockage

was statistically higher in the ERBD group than in the ENBD group ( $P = 0.015$ ).

**CONCLUSION:** Endoscopic biliary decompression is an effective treatment for patients with acute obstructive cholangitis. In contrast to other studies, we found an increased rate of blockage in patients undergoing ERBD. If the patient has more purulent bile or poor liver function, ENBD should be used.

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

**Key Words:** Endoscopic retrograde biliary drainage; Endoscopic nasobiliary drainage; Acute obstructive cholangitis

Xie HM, Yang XK, Li JX. Treatment of acute obstructive cholangitis by ENBD and ERBD: Analysis of 56 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 578-582 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/578.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.578>

## 摘要

**目的:** 内镜下胆汁引流通常有鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)和内镜置入塑料胆管支架引流术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)两种方法。我们比较了ENBD和ERBD治疗本院56例急性梗阻性胆管炎的治疗效果。

**方法:** 共筛选出56例急性梗阻性胆管炎患者随机接受急诊ENBD( $n = 28$ )或ERBD组( $n = 28$ )。分别比较临床结果和并发症。

**结果:** ENBD组与ERBD相比较, 所有患者成功手术。两组患者临床表现是相似的( $P > 0.1$ ), 腹痛、发热、黄疸症状发生率术后12、24 h、3、7 d对比无明显差异( $P > 0.1$ ), 并发症发生率两组相似( $P > 0.1$ )。然而, ERBD堵塞的发病率显著高于鼻胆管引流( $P = 0.015$ )。

**结论:** 两种胆管引流(ERBD和ENBD)是急性梗阻性胆管炎患者有效的治疗方法, 但ERBD阻塞率更高, 如果患者脓性胆汁较多, 而且肝功能较差的情况下, 则应该选择ENBD行外引流。

## ■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 内镜置入塑料胆管支架引流术; 鼻胆管引流; 急性梗阻性胆管炎

**核心提示:** 内镜鼻胆管引流术, 鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)或内镜置入塑料胆管支架引流术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)都是有效的, 现有的研究证明了ERBD更舒适, 采用ERBD可以保持水电解质平衡, 这些都是ERBD优点, 但ERBD更容易发生阻塞, 从而导致转氨酶下降缓慢. 在两种方法的选取上, 如果患者鼻咽敏感性高、脓性胆汁较少、肝功能较好的情况, 可以选择ERBD法行内引流, 但如果患者脓性胆汁较多, 而且肝功能较差的情况下, 则应该选择ENBD行外引流.

谢宏民, 杨新魁, 李佳璇. ENBD与ERBD治疗急性梗阻性胆管炎56例. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 578-582 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/578.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.578>

## 0 引言

急性梗阻性胆管炎, 特别是化脓性胆管炎, 多由于胆管结石或胆管狭窄引起, 紧急情况下, 可引起感染性休克, 如果没有及时和适当的治疗, 病情危重, 甚至死亡. 胆道引流是治疗急性化脓性胆管炎的有效手段, 传统上多数患者接受紧急胆道接受紧急手术引流<sup>[1]</sup>, 但由于手术患者多数有休克, 急诊手术创伤较大, 发病率和死亡率非常高. 内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)的开展是微创治疗急性梗阻性胆管炎的一项重要手段, 使介入治疗的方式成为可能<sup>[2]</sup>. 内镜下胆管减压术治疗阻塞性引起的化脓性胆管炎创伤小、效果好, 较手术引流更具优势<sup>[3-6]</sup>, 这些患者在引流后有必要行二次ERCP检查或手术切除胆管结石. 内镜胆管引流的方法包括内镜鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)和内镜下塑料支架胆管引流(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD), 可以合并行括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)<sup>[7]</sup>. ENBD可以在外部放置引流瓶直接观察引流物, 引流胆汁可做胆汁培养和冲洗导管. 然而, 鼻胆管引流治疗的患者会觉得咽部不鼻部不适, 严重患者无法忍受甚至自行拉出. ERBD是一个内部的引流过程无不适. 相对来说, 因导管移位和无法冲洗有闭塞的风险. Lee等<sup>[8-10]</sup>的研究发现, ENBD与

ERBD在急性梗阻性研究胆管炎中无任何不同, 而Cotton等<sup>[11]</sup>则发现, ENBD虽与ERBD在治疗效果上相近, 但ERBD更容易发生支架堵塞. 本研究通过对比两种内镜下引流术, 分析两种引流方法的优缺点.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本研究将2007-01/2013-06广东医学院附属陈星海医院共有56例急性梗阻性胆管炎患者, 随机分为两组, 分组后分别接受ENBD及ERBD术. 被诊断为急性胆管炎的患者多数临床表现为: 腹痛、黄疸和发热, 肝功能检查提示胆道梗阻. B超或CT成像提示: 胆管梗阻. 并用抗生素治疗无明显缓解. 这些患者常有进行性黄疸, 右上腹疼痛, 持续发热, 甚至出现精神障碍和休克. 继发胆总管结石或胆管良性狭窄, 需要急诊内镜胆道引流. 将患者随机分为ENBD( $n = 28$ )和ERBD组( $n = 28$ ). 十二指肠镜(TJF-260V, 奥林巴斯, 日本), 塑料支架(直胆道支架, 8.5 F, 奥林巴斯公司), 常规鼻胆管(波科公司).

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:** 在发病后所有梗阻性胆管炎患者24 h内由经验丰富的内镜医师进行ERCP, 患者接受地西洋和度冷丁清醒镇静, 使用十二指肠镜通过十二指肠乳头进行胆总管插管后, 注入造影剂明确胆管炎病因、胆管梗阻的位置、胆管直径. 两组患者分别接受放置塑料支架, 或常规鼻胆管. 手术后, 所有患者接受内科抗感染治疗, 使用促生长素抑制素降低ERCP术后胰腺炎<sup>[10-14]</sup>. 如果鼻胆导管或支架闭塞不足或不引流, 则用甲硝唑冲洗, 或者重新置管.

**1.2.2 数据收集:** 手术后, 所有患者均严格观察7 d. 主要转归指标为临床表现为腹痛、发热、黄疸等, ERCP的相关并发症, 包括ERCP术后胰腺炎[表现为典型的疼痛较前加重, 血清淀粉酶(脂肪酶)持续升高]、术后消化系出血、阻塞、支架移位等. 在症状缓解后, 所有患者进行了第二次ERCP取石或手术切除胆囊.

**统计学处理** 所有数据采用SPSS11.0统计软件进行统计分析, 计量数据采用mean±SD的形式表示, 两样本采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 56例急性梗阻性胆管炎患者的临床特征**

### ■ 研究前沿

化脓性胆管炎为内科常见急重症, 是ERCP治疗中的重点项目, 但临床研究面临的问题是ERCP为创性介入治疗, 手术要求较高, 临床病例相对较少.

### ■ 相关报道

Zhang等研究表明导管阻塞后造成的明显后果是转氨酶下降变慢, 对肝功能较差的患者有加重肝损伤的危险, 但在术后出血及胰腺炎等常见并发症上并无重要影响. 本研究就本院进行的ERCP就导管阻塞问题进行进一步验证, 从而指导临床工作.



## ■创新盘点

本研究的创新之处在于将ERBD作为一种内引流应用在临床工作,既往已有相关文献研究了ERBD较ENBD较为舒适,本研究系统化总结了临床上的表现,就内引流的一些需要考虑的并发症如导管阻塞进行了研究。

表 1 两组内镜下引流临床特征比较( $n = 28$ )

临床特点	ENBD组	ERBD组
性别(男/女)	12/16	16/12
年龄(岁)	54.8 ± 18.2	55.5 ± 19.1
上腹疼痛	26	25
发热	20	21
黄疸	13	10
精神障碍	3	4
休克	6	7
症状持续时间(d)	1.3 ± 0.8	1.5 ± 0.6

ENBD: 内镜下鼻胆管引流; ERBD: 内镜下塑料支架引流。

表 2 两组患者ERCP后并发症( $n = 28, n(\%)$ )

分组	ENBD组	ERBD组	P值
总发生率	6/28(21.4)	9/28(32.1)	0.237
术中出血	1(3.57)	1(3.57)	1.0
术后出血	1(3.57)	0(0)	0.495
胰腺炎	2(7.1)	2(7.1)	1.0
引流管阻塞	1(3.57)	5(17.8)	0.015
移位	1(3.57)	1(3.57)	1.0

ENBD: 内镜下鼻胆管引流; ERBD: 内镜下塑料支架引流; ERCP: 十二指肠镜下逆行胰胆管造影。

表1中两组临床特征上无显著差异, ENBD、ERBD组年龄构成分别为54.8岁±19.2岁、55.3岁±19.1岁, 临床表现上, 具有右上腹疼痛患者, ENBD和ERBD组分别为92.8%、89.2%, 发热患者为71.4%、75%, 黄疸患者为46.4%、35.7%。精神障碍的患者为10%, 低血压的患者为15%。症状持续时间ENBD组为1.3 d±0.8 d, ERBD组为1.5 d±0.6 d。两组间无统计学差异。在所有56例患者中, 使用ENBD或ERBD手术全部成功(100%)。花费的时间ENBD为22.5 min±7.4 min和ERBD为19.5 min±8.1 min。所有患者中, 最常见的引起急性梗阻性胆管炎的原因为胆管结石, ENBD组为66.0%, ERBD组为61.7%, 胆总管单发结石ENBD组和ERBD组分别为19.1%、14.9%。在ERCP后, 引流出脓性胆汁, ENBD组和ERBD组分别34%及29.8%(表1)。

2.2 ERCP术后的临床表现 腹痛、发热、黄疸和实验室检查两组ERCP治疗后7 d之内得到改善组。引流后所有患者精神错乱和低血压完全纠正, 临床表现相似(图1)。

2.3 术后并发症比较 ENBD组与ERBD组相比较, 分别有1例和5例患者引流管阻塞, 其堵塞率

## ■应用要点

本文总结的实际特点与临床工作是相符合的, 对于指导ERCP的实际操作有应用价值, 针对不同类型的患者选择不同的手术方式, 对于改善患者ERCP术后的安全性、舒适性有积极意义。

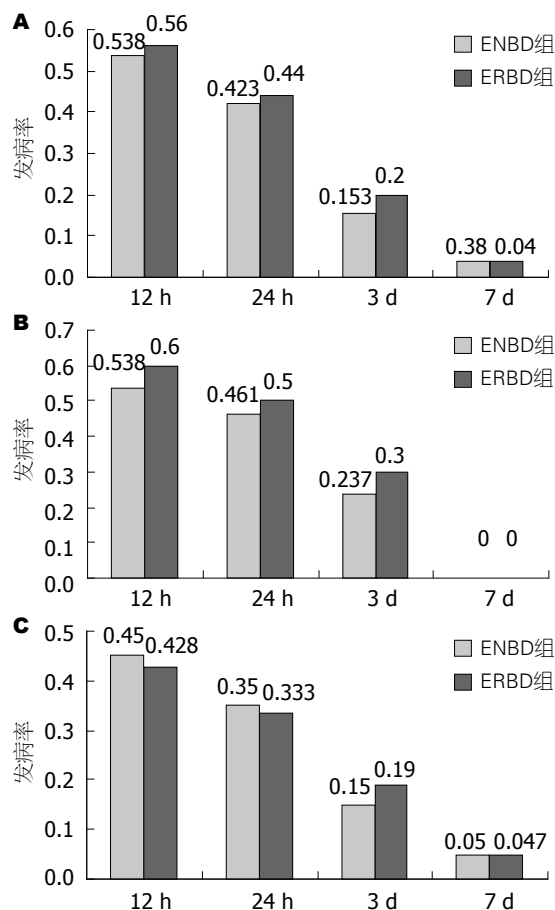


图 1 ENBD组与ERBD组术后临床表现。A: 腹痛治疗前后对比; B: 发热治疗前后对比; C: 黄疸治疗前后对比。ENBD: 内镜下鼻胆管引流; ERBD: 内镜下塑料支架引流。

ERBD组明显高于ENBD组(17.8% vs 3.5%,  $P = 0.015$ )。两组都有1例患者有消化系出血, 通过局部注射肾上腺素, 并通过热凝并且自发地停止。7 d之内, 1例患者鼻胆管引流组发生迟发性出血, 两组患者都有2例患者出现术后胰腺炎, 经内科保守治疗后治愈。56例患者无穿孔并发症及无在评估期间死亡(表2)。

## 3 讨论

由于胆管结石的急性胆管炎多数病情严重, 伴有低血压和精神障碍。紧急引流非常重要, 在中度和轻度疾病的患者, 如果按内科抗感染病情没有好转, 也要求行ENBD或ERBD引流<sup>[15]</sup>, 因为充分引流后可降低并发症发生率和缩短住院时间。ENBD与ERBD研究比较没有表现出明显的手术成功率及临床表现的不同<sup>[16]</sup>。然而, 已经有研究表明, 留置支架可避免由于鼻胆管导致的不适<sup>[7]</sup>。该研究证实相对留置支架而言, 留置鼻胆管的患者更容易无法耐受鼻胆管的鼻咽部的刺激而自行拔管。我们比较的ERBD与ENBD

治疗急性梗阻性胆管炎. 发现ENBD或ERBD两种治疗都是有效的. 临床症状和体征在两种内镜下引流治疗后7 d内都得到改善. 然而, 在术后并发症的比较中发现, 术后常见的并发症如出血及术后胰腺炎发生率并无明显差异, 证明ERBD与ENBD在预防术后并发症上效果相似, 但ERBD更易堵塞, 可能与发生导管移位有关, Zhang等<sup>[7]</sup>的研究表明导管阻塞后造成的明显后果是转氨酶下降变慢, 对肝功能较差的患者有加重肝损伤的危险, 但在术后出血及胰腺炎等常见并发症上并无重要影响. 理论上, 一个10 F大支架应该引流更充分. 然而, 缺乏实验相关依据. 有研究表明, 支架堵塞率较高为10 F支架及6-7 F支架的<sup>[8-10]</sup>. 所以我们选择8.5 F支架, 原因如下: 直径接近鼻胆导管, 操作方便, 创伤小, 由于ERBD堵塞的发病率明显高于ENBD. 因此, 如果有大量的化脓性胆汁, ENBD较ERBD更适宜, 因为鼻胆导管可以容易引流及冲洗, 以防止堵塞, 也可用于重复胆管造影.

总之, 本研究表明内镜鼻胆管引流术, ENBD或ERBD都是有效的, 相对而言, 现有的研究证明了ERBD更舒适, 并且内引流物中的水电解质在小肠内易吸收, 相对外引流直接排出体外, 采用ERBD可以保持水电解质平衡<sup>[8]</sup>, 这些都是ERBD优点, 但ERBD更容易发生阻塞, 从而导致转氨酶下降缓慢. 在两种方法的选取上, 如果患者鼻咽敏感性高、脓性胆汁较少、肝功能较好的情况, 可以选择ERBD法行内引流, 但如果患者脓性胆汁较多, 而且肝功能较差的情况下, 则应该选择ENBD行外引流.

#### 4 参考文献

- Boey JH, Way LW. Acute cholangitis. *Ann Surg* 1980; 191: 264-270 [PMID: 7362292 DOI: 10.1097/0000658-198003000-00002]
- Lai EC, Mok FP, Tan ES, Lo CM, Fan ST, You KT, Wong J. Endoscopic biliary drainage for severe acute cholangitis. *N Engl J Med* 1992; 326: 1582-1586 [PMID: 1584258 DOI: 10.1056/NEJM199206113262401]
- Christoforidis E, Mantzoros I, Goulimaris I, Kanellos I, Tsorlini H, Vakalis I, Betsis D. Endoscopic management strategies in relation to the severity of acute cholangitis. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2006; 16: 325-329 [PMID: 17057573 DOI: 10.1097/01.sle.0000213744.15773.88]
- Leung JW, Chung SC, Sung JJ, Banez VP, Li AK. Urgent endoscopic drainage for acute suppurative cholangitis. *Lancet* 1989; 1: 1307-1309 [PMID: 2566834 DOI: 10.1016/S0140-6736(89)92696-2]
- Tsuyuguchi T, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Wada K, Nagino M, Mayumi T, Yoshida M, Miura F, Tanaka A, Yamashita Y, Hirota M, Hirata K, Yasuda H, Kimura Y, Strasberg S, Pitt H, Büchler MW, Neuhaus H, Belghiti J, de Santibanes E, Fan ST, Liau KH, Sachakul V. Techniques of biliary drainage for acute cholangitis: Tokyo Guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 35-45 [PMID: 17252295 DOI: 10.1007/s00534-006-1154-9]
- Nagino M, Takada T, Kawarada Y, Nimura Y, Yamashita Y, Tsuyuguchi T, Wada K, Mayumi T, Yoshida M, Miura F, Strasberg SM, Pitt HA, Belghiti J, Fan ST, Liau KH, Belli G, Chen XP, Lai EC, Philippi BP, Singh H, Supe A. Methods and timing of biliary drainage for acute cholangitis: Tokyo Guidelines. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 68-77 [PMID: 17252299 DOI: 10.1007/s00534-006-1158-5]
- Zhang RL, Cheng L, Cai XB, Zhao H, Zhu F, Wan XJ. Comparison of the safety and effectiveness of endoscopic biliary decompression by nasobiliary catheter and plastic stent placement in acute obstructive cholangitis. *Swiss Med Wkly* 2013; 143: w13823 [PMID: 23832310]
- Lee DW, Chan AC, Lam YH, Ng EK, Lau JY, Law BK, Lai CW, Sung JJ, Chung SC. Biliary decompression by nasobiliary catheter or biliary stent in acute suppurative cholangitis: a prospective randomized trial. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 361-365 [PMID: 12196773 DOI: 10.1016/S0016-5107(02)70039-4]
- Park SY, Park CH, Cho SB, Yoon KW, Lee WS, Kim HS, Choi SK, Rew JS. The safety and effectiveness of endoscopic biliary decompression by plastic stent placement in acute suppurative cholangitis compared with nasobiliary drainage. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1076-1080 [PMID: 18635173 DOI: 10.1016/j]
- Sharma BC, Kumar R, Agarwal N, Sarin SK. Endoscopic biliary drainage by nasobiliary drain or by stent placement in patients with acute cholangitis. *Endoscopy* 2005; 37: 439-443 [PMID: 15844022 DOI: 10.1055/s-2005-861054]
- Cotton PB, Garrow DA, Gallagher J, Romagnuolo J. Risk factors for complications after ERCP: a multivariate analysis of 11,497 procedures over 12 years. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 80-88 [PMID: 19286178 DOI: 10.1016/j.gie.2008.10.039]
- Rudin D, Kiss A, Wetz RV, Sottile VM. Somatostatin and gabexate for post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis prevention: meta-analysis of randomized placebo-controlled trials. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 977-983 [PMID: 17559376 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04928.x]
- Lee KT, Lee DH, Yoo BM. The prophylactic effect of somatostatin on post-therapeutic endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis: a randomized, multicenter controlled trial. *Pancreas* 2008; 37: 445-448 [PMID: 18953260 DOI: 10.1097/MPA]
- Omata F, Deshpande G, Tokuda Y, Takahashi O, Ohde S, Carr-Locke DL, Jacobs JL, Mine T, Fukui T. Meta-analysis: somatostatin or its long-acting analogue, octreotide, for prophylaxis against post-ERCP pancreatitis. *J Gastroenterol* 2010; 45: 885-895 [PMID: 20373114 DOI: 10.1007/s00535-010-0234-4]
- Agarwal N, Sharma BC, Sarin SK. Endoscopic management of acute cholangitis in elderly patients. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6551-6555

#### ■名词解释

内窥镜鼻胆管引流术: ERCP术后常见的外引流术, 内镜下塑料支架胆管引流(ERBD)主要应用于胆道梗阻的术后内引流, 近年来有学者应用于常规ERCP术后引流.

## ■同行评价

急性梗阻性胆管炎以通畅引流为主,更适合应用ENBD,优势是不言而喻的,从导管阻塞上看,一些患者如果鼻咽敏感性高、脓性胆汁较少、肝功能较好的情况,可以选择ERBD法行内引流,有一定的临床实用价值。

[PMID: 17072990]

- 16 Kumar R, Sharma BC, Singh J, Sarin SK. Endoscopic biliary drainage for severe acute cholangitis in biliary

obstruction as a result of malignant and benign diseases. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 994-997 [PMID: 15304115 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03415.x]

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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



## 两种亚型FD患者的口盲传递时间

付遥焱, 刘诗

付遥焱, 刘诗, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科 湖北省武汉市 430022

付遥焱, 主要从事功能性消化不良的发病机制的研究。

“十一五”国家科技支撑计划课题基金资助项目, No.

2007BAI04B01

作者贡献分布: 付遥焱与刘诗对此文所作贡献均等; 此课题由付遥焱与刘诗共同设计及操作完成; 数据分析由付遥焱完成; 本文写作由付遥焱与刘诗完成。

通讯作者: 刘诗, 教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院消化内科。

shiliugao@yahoo.com

收稿日期: 2013-05-11 修回日期: 2013-07-03

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

### Assessment of orocecal transit time by breath hydrogen test in two subtypes of functional dyspepsia

Yao-Yao Fu, Shi Liu

Yao-Yao Fu, Shi Liu, Department of Gastroenterology, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: the Supporting Program of the “Eleventh Five-year Plan” for Sci & Tech Research of China, No. 2007BAI04B01

Correspondence to: Shi Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Union Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1277 Jiefang Avenue, Wuhan 430022, Hubei Province, China. shiliugao@yahoo.com

Received: 2013-05-11 Revised: 2013-07-03

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

### Abstract

**AIM:** To explore the orocecal transit time (OCTT) in two subtypes of functional dyspepsia, and to study the effects of gender, age and body mass index (BMI) on OCTT.

**METHODS:** Twenty-five postprandial distress syndrome (PDS) patients, twenty-two epigastric pain syndrome (EPS) patients and twenty healthy volunteers were used. All of them received the breath hydrogen test, and the OCTT was recorded.

**RESULTS:** A significant difference in OCTT was detected between PDS patients and healthy volunteers, but not between EPS patients and

healthy volunteers. Gender appeared not to influence OCTT in all three groups. There was a positive correlation between age and OCTT in healthy volunteers, but not in PDS patients or EPS patients. BMI-related differences in OCTT were noted in healthy volunteers, but not in PDS patients or EPS patients.

**CONCLUSION:** In PDS patients, intestinal transit function is impaired. Age and BMI appear to influence OCTT in healthy volunteers, but not in PDS patients or EPS patients.

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

**Key Words:** Functional dyspepsia; Hydrogen breath test; Orocecal transit time; Intestinal transit function

Fu YY, Liu S. Assessment of orocecal transit time by breath hydrogen test in two subtypes of functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 583-587 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/583.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.583>

### 摘要

**目的:** 研究两种亚型功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)患者的口盲传递时间, 探讨性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)对口盲传递时间的影响。

**方法:** 对25例餐后不适综合征(postprandial distress syndrome, PDS)患者、22例上腹痛综合征(epigastric pain syndrome, EPS)患者及20例健康对照者进行氢呼吸实验, 记录口盲传递时间(orocecal transit time, OCTT)。

**结果:** (1)PDS组的OCTT较健康组明显延长, 而EPS组与健康组无显著差异; (2)三个实验组中, 不同性别之间的OCTT均无显著差异; (3)健康组中, 年龄与OCTT呈正相关, PDS组及EPS组中无该相关性; (4)健康组中, BMI与OCTT呈正相关; PDS组及EPS组中无该相关性。

**结论:** PDS患者的小肠传输功能明显下降; 年龄及BMI对健康人的OCTT有一定影响, 而对

### ■背景资料

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)按照罗马Ⅲ标准分为餐后不适综合征(postprandial distress syndrome, PDS)和上腹痛综合征(epigastric pain syndrome, EPS)。FD发病机制复杂, 主要包括胃肠动力障碍, 内脏高敏感, HP感染, 胃肠激素的变化及社会心理因素等方面。其中, 部分FD患者的小肠动力存在障碍, 小肠传输功能亦属于小肠动力的一种, 该项功能与FD之间的研究甚少, 且存在争议。

### ■同行评议者

卜平, 教授, 扬州大学医学院

## ■研发前沿

口盲肠传递时间(oro-caecal transit time, OCTT)也称小肠传递时间,主要反映小肠传输功能。氢呼吸实验没有创伤性,且操作简单,费用低,易为受试者接受。近年来,氢呼吸实验应用广泛,但将该实验应用于FD患者小肠传输功能的测定国外报道甚少,且两种亚型FD患者小肠传输功能的比较国内尚无报道。本文旨在应用氢呼吸实验对两种亚型FD患者的小肠传输功能进行研究,并了解性别、年龄、BMI对小肠传输功能有无影响。

## ■相关报道

有关小肠传输功能与FD之间关系的研究甚少,且国外研究结果存在争议。Waldron采用葡萄糖氢呼吸实验对50例FD患者及30名健康志愿者行OCTT检测,结果提示FD患者的OCTT明显延长( $P < 0.01$ )。Lorena在2002年行乳果糖氢呼吸实验,发现FD患者的OCTT与健康人并无差异( $P = 1.00$ ),说明FD患者的小肠传输功能尚可,这与Wegener的报道一致。上述研究者虽均采用氢呼吸实验的方法测定OCTT,但所用底物是不同的,Waldron所用的固体餐含葡萄糖,而Lorena选取的固体餐含乳果糖,且糖类剂量亦不相同,以上两种不同的实验方法可能是导致研究结果不一致的原因之一。

PDS患者及EPS患者无显著影响。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 功能性消化不良; 氢呼吸实验; 口盲传递时间; 小肠传输功能

**核心提示:** 本研究发现餐后不适综合征(postprandial distress syndrome, PDS)组的口盲肠传递时间(oro-caecal transit time, OCTT)较健康组明显延长,但上腹疼痛综合征(epigastric pain syndrome)组与健康组之间无明显差异,说明PDS患者的小肠传输功能较正常人下降,而EPS组患者该功能尚可;另外,本研究还发现OCTT存在部分可能的影响因素。在健康组中,年龄、体质量指数(body mass index)与OCTT呈正相关,但男女之间无明显差异。

付遥焱, 刘诗. 两种亚型FD患者的口盲传递时间. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 583-587 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/583.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.583>

## 0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是一种常见的临床症候群,按照罗马III标准分为餐后不适综合征(postprandial distress syndrome, PDS)和上腹疼痛综合征(epigastric pain syndrome, EPS)<sup>[1]</sup>。FD发病机制复杂,有关胃肠动力障碍的研究较多,如胃排空延缓及胃容纳舒张功能障碍可以引起FD患者的症状<sup>[2,3]</sup>,但小肠传输功能与FD的关系研究较少。

口盲肠传递时间(oro-caecal transit time, OCTT)也称小肠传递时间,主要反映小肠传输功能。其原理为:乳果糖是人工合成的双糖,因小肠缺乏水解该糖的酶而不能被小肠吸收,因此口服后,乳果糖进入结肠,被细菌发酵产氢,故口服乳果糖后呼气中氢气排出所需时间即为OCTT<sup>[4]</sup>。小肠传递时间的标准测定方法是核素标记试餐体外扫描法,但该方法研究费用昂贵<sup>[5]</sup>,而氢呼吸实验没有创伤性,且操作简单,费用低,易为受试者接受<sup>[6]</sup>。近年来,氢呼吸实验应用广泛,但将该实验应用于FD患者小肠传输功能的测定国外报道甚少,且两种亚型FD患者小肠传输功能的比较国内尚无报道。

本文旨在应用氢呼吸实验对两种亚型FD患者的小肠传输功能进行研究,并了解性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)对小肠传输功能有无影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** (1)PDS患者组:符合罗马III标准的PDS患者25例<sup>[1]</sup>,男10例,女15例。年龄为18-55岁,平均39.4岁±10.0岁;(2)EPS组:符合罗马III标准的EPS患者22例<sup>[1]</sup>,男10例,女12例。年龄为19-56岁,平均39.0岁±11.0岁。受试患者均接受上消化道胃镜、肝胆胰B超、血尿常规,肝肾功能、血糖检查以排除消化系统器质性病变;(3)健康对照组:选取健康成年人20例,男10例,女10例。年龄为23-55岁,平均38.6岁±11.7岁。健康对照组要求无腹部手术史,近半年无消化系统症状,无严重全身器质性疾病,近2 wk没有服用可能影响胃肠道运动或分泌的药物,近1 wk未服用抗生素。以上3组受试者的年龄、性别差异无统计学意义。该实验经过华中科技大学同济医学院附属协和医院伦理委员会批准,所有健康志愿者均在《知情同意书》上签名。

**1.2 方法** 受试者禁食12 h后于次日晨行基础呼吸氢浓度测试后,予200 mL温水送服乳果糖10 g。每隔10 min测一次呼吸氢浓度,若呼气数值高于基础呼吸氢浓度5 ppm以上,且连续3次,以时间为横坐标,呼吸氢浓度为纵坐标作图,则第1次出现H<sub>2</sub>持续升高的时间即为OCTT。出现双峰的受试者,以第二峰出现的时间为准。试验过程全程禁食、禁饮、禁烟,避免剧烈运动及打瞌睡。试验所用仪器为深圳市海得威生物科技有限公司生产,灵敏度为1 ppm;试验药品为乳果糖口服溶液,由丹东康复制药有限公司生产(规格为10 mL: 5 g)。

**统计学处理** 结果以mean±SD表示,以F检验比较各组数据的方差齐性。方差齐时,用t检验,方差不齐时用t'检验;统计分析采用SPSS17.0统计软件包来完成。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两种亚型FD患者与健康组OCTT的比较** 健康组、PDS组、EPS组OCTT的均值分别为:82.5 min±11.6 min、109.6 min±16.7 min、89.1 min±15.1 min。其中,健康组与PDS组间有显著差异( $P < 0.0001$ ),健康组与EPS组之间无明显差异( $P = 0.1228$ )(图1)。

**2.2 性别对OCTT的影响** 健康组、PDS组及EPS组中,男女之间OCTT值均无显著差异。具体数值如下:健康组中,男性均值为84.0 min±9.7 min,女性均值为81.0 min±13.7 min,  $P = 0.5789$ ;PDS组中,男性均值为113.0 min±18.3 min,女性

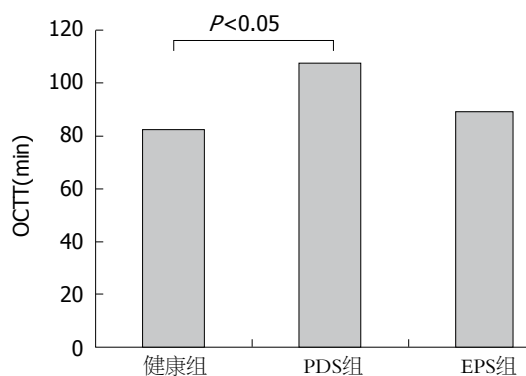


图1 两种亚型FD患者与健康组之间OCTT的比较. OCTT: 口盲肠传递时间; PDS: 餐后不适综合征; EPS: 上腹痛综合征.

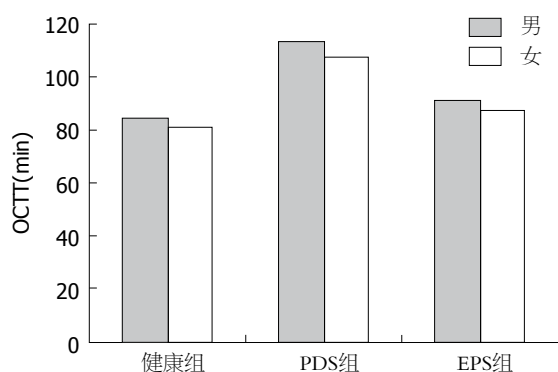


图2 不同性别之间OCTT的比较. OCTT: 口盲肠传递时间; PDS: 餐后不适综合征; EPS: 上腹痛综合征.

均值为107.3 min ± 15.8 min,  $P = 0.4151$ ; EPS组中, 男性均值为91.0 min ± 14.4 min, 女性均值为87.5 min ± 16.0 min,  $P = 0.6003$ (图2).

**2.3 年龄对OCTT的影响** 健康组中, 年龄与OCTT呈正相关:  $r = 0.7092$ ,  $P = 0.0005$ ; PDS组中, 年龄与OCTT无显著相关性:  $r = 0.2338$ ,  $P = 0.2607$ ; EPS组中, 年龄与OCTT亦无显著相关性:  $r = 0.3991$ ,  $P = 0.0657$ (图3).

**2.4 BMI与OCTT的关系** 健康组中, BMI与OCTT呈正相关:  $r = 0.4570$ ,  $P = 0.0428$ ; PDS组中, BMI与OCTT无显著相关性:  $r = 0.0061$ ,  $P = 0.9768$ ; EPS组中, BMI与OCTT亦无显著相关性:  $r = -0.0470$ ,  $P = 0.8356$ (图4).

### 3 讨论

FD发病机制尚未完全明确, 部分研究表明胃肠动力紊乱与之相关<sup>[7]</sup>. 有关胃排空及胃容纳舒张功能的研究较多<sup>[8,9]</sup>, 但小肠动力方面研究较少. Jebbink等<sup>[10]</sup>和Bassotti等<sup>[11]</sup>发现部分FD患者存在小肠动力障碍. 小肠传输功能亦属于小肠动力的一种, 目前检测小肠传输功能的方法主要有放射性核素标记法、不透X线标志物法、测

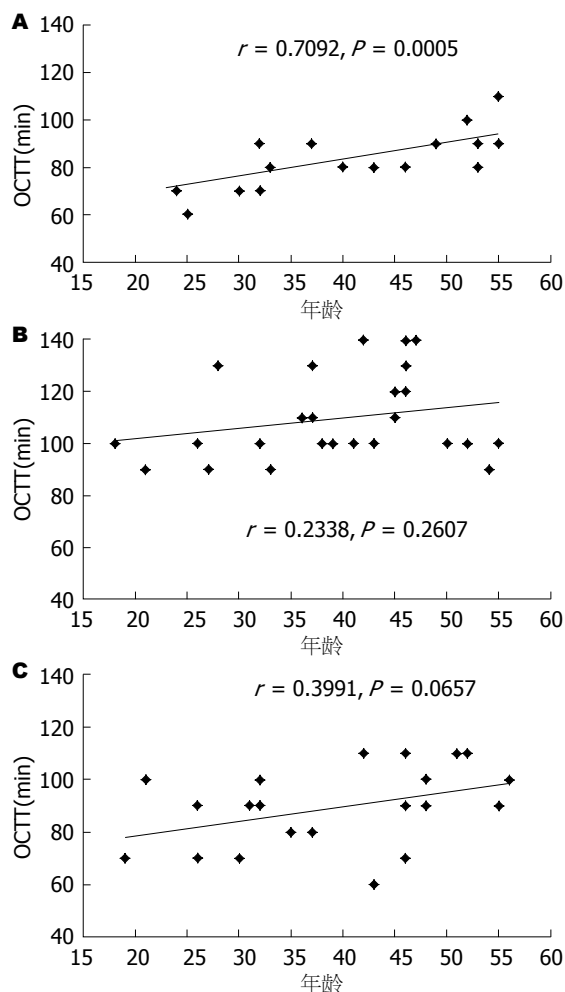


图3 年龄与OCTT的关系. A: 健康组; B: PDS组; C: EPS组. OCTT: 口盲肠传递时间; PDS: 餐后不适综合征; EPS: 上腹痛综合征.

压法等, 但上述方法有的为侵入性检测, 有的费用昂贵且对实验设备有较高要求<sup>[12-14]</sup>. 氢呼吸实验因其操作简单、无创伤性、费用低的优点被众多研究者采用<sup>[6]</sup>.

有关小肠传输功能与FD之间关系的研究甚少, 且国外研究结果存在争议. Waldron等<sup>[15]</sup>采用葡萄糖氢呼吸实验对50例FD患者及30名健康志愿者行OCTT检测, 结果提示FD患者的OCTT明显延长( $P < 0.01$ ). Lorena等<sup>[16]</sup>在2002年行乳果糖氢呼吸实验, 发现FD患者的OCTT与健康人并无差异( $P = 1.00$ ), 说明FD患者的小肠传输功能尚可, 这与Wegener等<sup>[17]</sup>的报道一致. 上述研究者虽均采用氢呼吸实验的方法测定OCTT, 但所用底物是不同的, Waldron等<sup>[15]</sup>所用的固体餐含葡萄糖, 而Lorena等<sup>[16]</sup>选取的固体餐含乳果糖, 且糖类剂量亦不相同, 以上两种不同的实验方法可能是导致研究结果不一致的原因之一.

本研究发现PDS组的OCTT较健康组明显

#### ■创新盘点

氢呼吸实验原理为: 乳果糖是人工合成的双糖, 因小肠缺乏水解该糖的酶而不能被小肠吸收, 因此口服后, 乳果糖进入结肠, 被细菌发酵产氢, 故口服乳果糖后呼气中氢气排出所需时间即为OCTT. 小肠传递时间的标准测定方法是核素标记试餐体外扫描法, 但该方法研究费用昂贵, 而氢呼吸实验无创性, 且操作简单, 近年来, 将该实验应用于FD患者小肠传输功能的测定国外报道甚少, 且两种亚型FD患者小肠传输功能的比较国内尚无报道.

#### ■应用要点

FD中的PDS亚型是进食相关性消化不良, 指进食平常餐量后的上腹胀饱不适, 或是不能完成平常餐量就过早的出现早饱, 以上症状1周至少发作数次. 本研究采用乳果糖氢呼吸实验表明PDS患者存在小肠传输功能延缓, 而EPS患者无该特点, 这可能与两种亚型FD患者不同的发病机制有关, 这对临床上FD患者的分型及指导用药具有重要的意义.



# ■名词解释

口盲肠传递时间 (oro-caecal transit time, OCTT) 也称小肠传递时间, 主要反映小肠传输功能。其原理为: 乳果糖是人工合成的双糖, 因小肠缺乏水解该糖的酶而不能被小肠吸收, 因此口服后, 乳果糖进入结肠, 被细菌发酵产氢, 故口服乳果糖后呼气中氢气排出所需时间即为 OCTT。

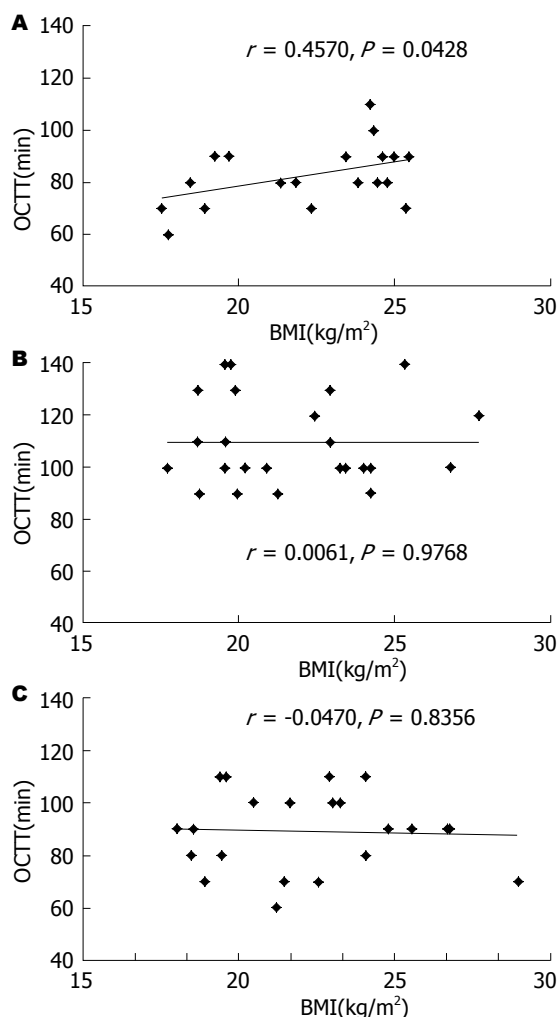


图4 BMI与OCTT的关系。A: 健康组; B: PDS组; C: EPS组。OCTT: 口盲肠传递时间; PDS: 餐后不适综合征; EPS: 上腹痛疼痛综合征; BMI: 体质质量指数。

延长, 但EPS组与健康组之间无明显差异, 说明PDS患者的小肠传输功能较正常人下降, 而EPS组患者该功能尚可。这与国外的研究结果<sup>[16]</sup>略有不同。可能原因如下: (1)样本量不同; (2)研究对象的差异: Lorena等<sup>[16]</sup>选取的FD患者是罗马II标准中的动力障碍样消化不良患者, 而本研究按照罗马III标准进行分类, 分别对PDS及EPS两种亚型患者进行研究; (3)实验方法不同: Lorena等<sup>[16]</sup>采用的是20 g乳果糖, 我们采用的是10 g, 乳果糖的克数不同对试验结果亦有影响。La Brooy等<sup>[18]</sup>分别采用不同克数乳果糖(10、15、20 g)进行氢呼吸试验, 发现随着乳果糖剂量增加, OCTT值是缩短的。且Wilberg等<sup>[19]</sup>对12例健康志愿者进行研究, 发现选择10 g这种剂量更接近于正常值。相对于Lorena等<sup>[16]</sup>而言, 本实验在实验方法及对象上的选取更具说服力。

另外, 本研究还发现OCTT存在部分可能的影响因素。在健康组中, 年龄、BMI与OCTT呈

正相关, 但男女之间无明显差异。Pilotto等<sup>[20]</sup>对10例健康青年人及22例健康老年人分别进行氢呼吸实验, 发现老年组的OCTT明显长于青年组, 说明年龄可能是健康人胃肠传输功能的影响因素之一, 这与本实验得到的结论一致。而对于两种亚型FD患者, 性别、年龄及BMI对其并无显著影响, 我们推测FD患者在病理状态下, 小肠传输功能并不像健康人那样具有一定规律性, 可以随年龄及BMI而变化, 其中机制有待今后进一步研究。

FD中的PDS亚型是进食相关性消化不良, 指进食平常餐量后的上腹饱胀不适, 或是不能完成平常餐量就过早的出现早饱, 以上症状1 wk至少发作数次<sup>[21]</sup>。本研究采用乳果糖氢呼吸实验表明PDS患者存在小肠传输功能延缓, 而EPS患者无该特点, 这可能与两种亚型FD患者不同的发病机制有关, 这对临床上FD患者的分型及指导用药具有重要的意义。

## 4 参考文献

- 1 Tack J, Talley NJ, Camilleri M, Holtmann G, Hu P, Malagelada JR, Stanghellini V. Functional gastroduodenal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1466-1479 [PMID: 16678560 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.059]
- 2 Tack J, Bisschops R, Sarnelli G. Pathophysiology and treatment of functional dyspepsia. *Gastroenterology* 2004; 127: 1239-1255 [PMID: 15481001 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.05.030]
- 3 Tack J, Piessevaux H, Coulie B, Caenepeel P, Janssens J. Role of impaired gastric accommodation to a meal in functional dyspepsia. *Gastroenterology* 1998; 115: 1346-1352 [PMID: 9834261]
- 4 郑家驹. 呼气氢试验临床应用与研究进展. *中华消化杂志* 1999; 19: 51-52
- 5 Maurer AH, Krevsky B. Whole-gut transit scintigraphy in the evaluation of small-bowel and colon transit disorders. *Semin Nucl Med* 1995; 25: 326-338 [PMID: 8545637]
- 6 Jorge JM, Wexner SD, Ehrenpreis ED. The lactulose hydrogen breath test as a measure of oro-caecal transit time. *Eur J Surg* 1994; 160: 409-416 [PMID: 7811826]
- 7 Stanghellini V, Corinaldesi R, Tosetti C. Relevance of gastrointestinal motor disturbances in functional dyspepsia. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1998; 12: 533-544 [PMID: 9890086]
- 8 Tack J. Gastric motor and sensory function. *Curr Opin Gastroenterol* 2009; 25: 557-565 [PMID: 19726981 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328331b5ad]
- 9 Kindt S, Tack J. Impaired gastric accommodation and its role in dyspepsia. *Gut* 2006; 55: 1685-1691 [PMID: 16854999 DOI: 10.1136/gut.2005.085365]
- 10 Jebbink HJ, vanBerge-Henegouwen GP, Akkermans LM, Smout AJ. Small intestinal motor abnormalities in patients with functional dyspepsia demonstrated by ambulatory manometry. *Gut* 1996; 38: 694-700 [PMID: 8707114]

- 11 Bassotti G, Pelli MA, Morelli A. Duodenojejunal motor activity in patients with chronic dyspeptic symptoms. *J Clin Gastroenterol* 1990; 12: 17-21 [PMID: 2303682]
- 12 Grybäck P, Blomquist L, Schnell PO, Jacobsson H, Hellström PM. [Scintigraphic assessment of the small intestine transit. Diagnostic investigation of dysmotility with 99mTc-HIDA]. *Lakartidningen* 2002; 99: 1556-1558, 1561-1562 [PMID: 12025209]
- 13 Turberg Y, Dederding JP. [Evaluation of small intestinal motility]. *Schweiz Med Wochenschr Suppl* 1993; 54: 26-31 [PMID: 8211047]
- 14 周丽雅, 李炳庆, 林三仁, 王爱英, 董秀云, 李兆申, 袁耀宗, 于中麟, 刘新光, 王惠吉, 郑意端. 盐酸伊托必利治疗功能性消化不良的多中心临床研究. *中国临床药理学杂志* 2000; 16: 403-407
- 15 Waldron B, Cullen PT, Kumar R, Smith D, Jankowski J, Hopwood D, Sutton D, Kennedy N, Campbell FC. Evidence for hypomotility in non-ulcer dyspepsia: a prospective multifactorial study. *Gut* 1991; 32: 246-251 [PMID: 2013418]
- 16 Lorena SL, de Souza Almeida JR, Mesquita MA. Orocecal transit time in patients with functional dyspepsia. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 21-24 [PMID: 12080221]
- 17 Wegener M, Börsch G, Schaffstein J, Reuter C, Leverkus F. Frequency of idiopathic gastric stasis and intestinal transit disorders in essential dyspepsia. *J Clin Gastroenterol* 1989; 11: 163-168 [PMID: 2738359]
- 18 La Brooy SJ, Male PJ, Beavis AK, Misiewicz JJ. Assessment of the reproducibility of the lactulose H2 breath test as a measure of mouth to caecum transit time. *Gut* 1983; 24: 893-896 [PMID: 6618268]
- 19 Wilberg S, Pieramico O, Malfertheiner P. [The H2-lactulose breath test in the diagnosis of intestinal transit time]. *Leber Magen Darm* 1990; 20: 129-137 [PMID: 2377020]
- 20 Pilotto A, Franceschi M, Del Favero G, Fabrello R, Di Mario F, Valerio G. The effect of aging on oro-cecal transit time in normal subjects and patients with gallstone disease. *Aging (Milano)* 1995; 7: 234-237 [PMID: 8541377]
- 21 Geeraerts B, Tack J. Functional dyspepsia: past, present, and future. *J Gastroenterol* 2008; 43: 251-255 [PMID: 18458839 DOI: 10.1007/s00535-008-2167-8]

#### ■同行评价

氢呼吸实验对两种亚型FD患者口盲传递时间的研究有一定临床价值, 方法可靠。

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 普芦卡必利治疗慢性便秘的系统评价

侯毅, 谷云飞, 朱秉宜

## ■背景资料

便秘是一种常见的慢性功能性疾病, 主要表现为排便次数减少、便坚硬干结、排便费力、腹胀、排便不尽感明显等等, 对患者的生活质量造成不良影响。其中女性的患病率约为男性的2倍, 并与年龄呈正相关, 65岁以后尤为明显。治疗慢性便秘的药物众多, 但大多不能有效缓解症状, 不良反应明显, 如西沙比利、替加色罗等, 在治疗剂量产生心脏不良反应。

侯毅, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

谷云飞, 朱秉宜, 南京中医药大学附属医院 江苏省南京市 210029

侯毅, 博士生, 主要从事中医外科学和肛肠病学研究。

作者贡献分布: 本文由谷云飞与朱秉宜设计; 文献搜集、论文写作由侯毅完成; 谷云飞审核。

通讯作者: 谷云飞, 教授, 主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中 路155号, 南京中医药大学附属医院。guyunfei127@126.com

电话: 0258-6617141

收稿日期: 2013-11-13 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## Prucalopride for treatment of chronic constipation: A systematic review

Yi Hou, Yun-Fei Gu, Bing-Yi Zhu

Yi Hou, the First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Yun-Fei Gu, Bing-Yi Zhu, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yun-Fei Gu, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. guyunfei127@126.com

Received: 2013-11-13 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of prucalopride in the treatment of chronic constipation.

**METHODS:** A systematic review of randomized controlled trials (RCTs) of prucalopride for chronic constipation was performed.

**RESULTS:** A total of five RCTs with 2587 patients were included. The proportions of patients with  $\geq 3$  SCBMs (spontaneous complete bowel movement)/week, or improvement of overall PAC-SYM symptom score and PAC-QOL satisfaction score  $\geq 1$  relative to baseline values were significantly higher in the prucalopride groups (2 and 4 mg/d) compared with the placebo group. The incidences of nausea, diarrhea and headache

were significantly higher in the prucalopride groups compared with the placebo group. Both of the treatments groups had no significant variations of electrocardiogram (ECG). One patient with arrhythmia and myocardial infarction was reported in the placebo group, and eventually died. Three patients with supraventricular tachycardia were reported in the prucalopride 2 mg/d group, and one of them with mitral valve prolapse and supraventricular tachycardia had disease progression. The proportion of patients dropping out of the study was significantly lower in the prucalopride 2 mg/d group compared with the prucalopride 4 mg/d group.

**CONCLUSION:** According to the meta-analysis of these 5 trails, prucalopride 2 mg/d was safe and effective in the treatment of chronic constipation.

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

**Key Words:** Prucalopride; Chronic constipation; Drug evaluation; Meta analysis

Hou Y, Gu YF, Zhu BY. Prucalopride for treatment of chronic constipation: A systematic review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(4): 588-595 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/588.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.588>

## 摘要

**目的:** 评价普芦卡必利治疗慢性便秘的有效性和安全性。

**方法:** 对普芦卡必利治疗慢性便秘的随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)进行系统评价。

**结果:** 共纳入5项RCTs, 2587例患者。普芦卡必利2和4 mg/d组每周 $\geq 3$ 次自发完全排便(spontaneous complete bowel movement, SCBM)的患者比例、PAC-SYM症状总评分及PAC-QOL满意度较基线 $\geq 1$ 分的患者比例高于安慰剂组。普芦卡必利2和4 mg/d组恶心、腹泻、头痛的发生率均高于安慰剂组, 对心电

## ■同行评议者

邵华, 副主任药师, 东南大学附属中大医院药剂科



图无明显影响(包括QT间期)。安慰剂组报道1例出现心律不齐、心肌梗死, 最终死亡, 2 mg/d组报道3例出现室上性心动过速, 其中1名患者原有二尖瓣脱垂室上性心动过速病史, 服用药物后病情进展。2 mg/d因不良事件(adverse events, AEs)退出研究的患者比例明显低于4 mg/d, 其余各项比较2组无统计学差异。

**结论:** 普芦卡必利2 mg/d治疗慢性便秘更安全有效, 但由于缺乏高质量研究, 纳入文献数量较少, 应谨慎对待上述结论。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 普芦卡必利; 慢性便秘; 药物评价; Meta分析

**核心提示:** Meta分析作为循证医学工具发展至今已较为成熟, 其通过增大样本含量来增加结论的可信度, 解决单个小样本临床试验结果的不一致性, 结论相对更为可靠。本文正是通过这一科学手段, 对普芦卡必利治疗慢性便秘的有效性和安全性进行评估, 给广大临床工作者提供参考。

侯毅, 谷云飞, 朱秉宜. 普芦卡必利治疗慢性便秘的系统评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 588-595 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/588.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i4.588>

## 0 引言

便秘是一种常见的慢性功能性疾病, 主要表现为排便次数减少、粪便坚硬干结、排便费力、腹胀、排便不尽感明显等等, 对患者的生活质量造成不良影响<sup>[1,2]</sup>。北美流行病学调查显示, 普通人群中慢性便秘患者约占15%, 但有些学者估计高达27%。其中女性的患病率约为男性的2倍, 并与年龄呈正相关, 特别是在65岁以后尤为明显<sup>[3,4]</sup>。目前治疗慢性便秘的药物众多, 包括氯离子通道激活剂, 神经营养因子和五羟色胺(5-hydroxytyptamine, 5-HT)类制剂等<sup>[5-8]</sup>, 但大多不能有效缓解症状, 且不良反应明显<sup>[9]</sup>, 如西沙比利、替加色罗等, 这些药物缺乏对5-HT<sub>4</sub>受体的高度选择性, 会同其他受体如5-HT<sub>1B/D</sub>和心脏的hERG钾通道相互作用, 在治疗剂量产生心脏不良反应<sup>[10-13]</sup>。

普芦卡必利是新型二氢苯并呋喃甲酰胺衍生物的代表药物, 是首个选择性、高亲和性5-HT<sub>4</sub>受体激动剂。实验证明其能促进胃、小肠和结肠平滑肌运动, 可增加动物模型结肠的蠕动反射和集团运动, 与非靶器官的相互作用极

小<sup>[14,15]</sup>。目前国内外关于普芦卡必利治疗慢性便秘的临床研究已有较多报道, 我们运用系统评价的方法, 收集全世界已发表的普芦卡必利治疗慢性便秘的随机对照试验(randomized controlled trials, RCTs)进行Meta分析, 以期对其疗效和安全性进行评价, 为慢性便秘的临床治疗提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 研究类型: 普芦卡必利治疗慢性便秘的RCTs。纳入文献为发表的全文和摘要, 限中、英文语种。研究对象: 年龄≥18岁, 诊断为慢性便秘的患者。慢性便秘的诊断标准为罗马标准、每周不超过2次自发排便, 或者25%以上的排便时间中排便费力<sup>[16]</sup>(自发排便是指最后一次摄入泻剂超过24 h后发生的排便)。不包含内分泌、新陈代谢、药物引起的便秘。排除普芦卡必利治疗脊髓损伤引起的便秘的文献。干预措施: 试验组口服任何剂量的普芦卡必利治疗, 对照组口服安慰剂或任何阳性对照药物。结局指标: 主要指标: 每周≥3次自发完全排便(spontaneous complete bowel movement, SCBM)的患者比例(只有患者认为有完全排空的感觉的自主排便才称为自发完全排便)。次要指标: 便秘症状问卷(PAC-SYM)总评分的变化情况。便秘患者生活质量自评量表(PAC-QOL)满意度较基线≥1分的患者比例。AEs发生情况包括: 总的AEs发生率、严重不良事件(serious adverse events, SAEs)的发生率, 因AEs退出研究的患者比例, 与普芦卡必利相关的AEs患者比例(例如QT间期延长、心动过速、死亡等)。

### 1.2 方法

**1.2.1 排除标准:** 纳入研究的终点观察指标无以上任一结局指标的RCTs; 报道普芦卡必利治疗慢性便秘的体外实验; 无法获得全文且摘要无详细数据的文献; 相同资料重复发表的文献。

**1.2.2 检索策略:** 计算机检索PubMed、EMbase、OVID、中国生物医学文献服务系统、维普中文科技期刊全文数据库、万方数据资源、中国知网全文数据库, 检索时间从建库到2013-10。英文检索词包括constipation、prucalopride、5-HT<sub>4</sub>、R09388、R108512、resolor、unii-0A09iuw5tp、4-Amino-5-chloro-2,3-dihydro-N-[1-(3-methoxypropyl)-4-piperidyl]-7-benzofurancarboxamide; 中文检索词包括便秘、普芦卡必利。若某研究在不同出版物重复报道, 采

## ■研究前沿

普芦卡必利是新型二氢苯并呋喃甲酰胺衍生物的代表药物, 是首个选择性、高亲和性五羟色胺(5-hydroxytyptamine, 5-HT)<sub>4</sub>受体激动剂。实验证明其能促进胃、小肠和结肠平滑肌运动, 可增加动物模型结肠的蠕动反射和集团运动, 与非靶器官的相互作用极小。

## ■相关报道

Busti、Potet等报道西沙比利、替加色罗等药物治疗慢性便秘,由于缺乏对5-HT<sub>4</sub>受体的高度选择性,会同其他受体如5-HT<sub>1B/D</sub>和心脏的hERG钾通道相互作用,在治疗剂量产生心脏不良反应。

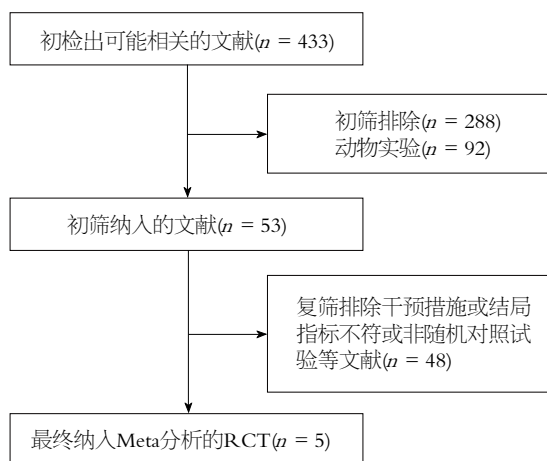


图1 文献检索流程图及结果。

用最新发表结果。

**1.2.3 文献质量评价和资料提取:** 由2位研究者独立进行文献质量评价,存在分歧时由第3名研究者参与决定纳入与否,并按设计表格提取资料。所有纳入文献方法学质量评价采用Cochrane协作网推荐的方法进行,质量评价包括: (1)随机分配方法; (2)分配方案隐藏; (3)盲法; (4)是否描述失访、退出发生情况; (5)是否进行意向性分析(intention to treat, ITT)。

**统计学处理** 采用Stata12.0软件进行分析。对试验结果进行异质性分析,如异质性检验结果显示各研究间存在异质性( $I^2 > 50\%$ ,  $P < 0.10$ ),选用随机效应模型计算,反之选用固定效应模型计算。结果用比数比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(95%CI)表示。若各临床试验提供的数据不能进行Meta分析,则只对其进行描述性的定性分析。采用SPSS16.0进行 $\chi^2$ 检验分析亚组间差异。绘制漏斗图,用Begg秩相关法分析是否存在发表偏倚。

## 2 结果

**2.1 纳入试验的特点及方法学质量** 初检到相关文献433篇,阅读文题及摘要后,排除综述类文章、信件及动物实验,筛选得到53篇文献(英文52篇,中文1篇),其中48篇干预措施或结局指标不符被排除,最终纳入5个RCTs<sup>[17-21]</sup>,包括2587例患者。除1篇为国内研究<sup>[21]</sup>,其余试验均为国外研究(图1)。

所有RCTs均有明确的纳入及排除标准,入选患者均为成年人,1篇<sup>[20]</sup>研究对象为老年患者,年龄范围为64-95岁,平均年龄76.4岁 $\pm$ 0.88岁。3篇描述随机方法<sup>[18-20]</sup>,5篇均采用双盲法,3篇采

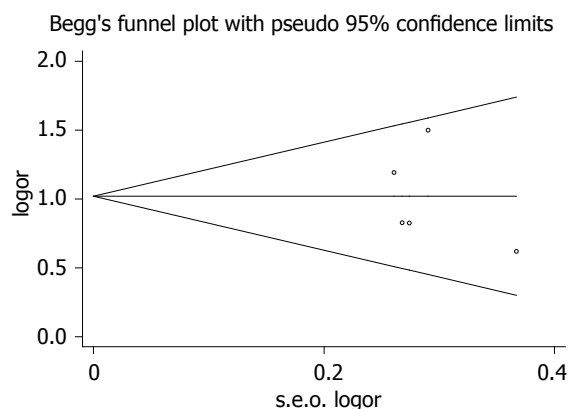


图2 发表性偏倚的漏斗图。

用ITT<sup>[17,20,21]</sup>。1篇治疗组采用2 mg/d<sup>[21]</sup>,3篇为2 mg/d和4 mg/d<sup>[17-19]</sup>,1篇为1、2、4 mg/d<sup>[20]</sup>,5项研究均以安慰剂为对照组。所有RCTs均明确指出治疗组和对照组基线情况具有可比性,均报告了退出和失访情况(表1, 2)。利用2 mg/d每周 $\geq 3$ 次SCBM患者比例OR值的对数及其对数的标准误绘制漏斗图,图形显示左右对称,用Begg秩相关法分析,  $Pr>|z| = 0.81 > 0.05$ ,提示不存在发表偏倚(图2)。

**2.2 每周 $\geq 3$ 次SCBM的患者比例** 5项RCTs均报道了每周 $\geq 3$ 次SCBM的患者比例。2与4 mg/d研究间均不存在异质性(2 mg/d:  $I^2 = 25.5\%$ ,  $P = 0.252$ ; 4 mg/d:  $I^2 = 14.3\%$ ,  $P = 0.321$ ),故采用固定效应模型计算,2治疗组均优于安慰剂(2 mg/d: OR = 2.79, 95%CI: 2.17-3.58,  $P < 0.001$ ; 4 mg/d: OR = 2.43, 95%CI: 1.84-3.21,  $P < 0.001$ )(图3)。2和4 mg/d经 $\chi^2$ 检验比较,两者无统计学差异( $\chi^2 = 1.3$ ,  $P = 0.254 > 0.05$ )。有1项RCT<sup>[20]</sup>报道了1 mg/d $\geq 3$ 次SCBM的比率为43.7%(33/76),与安慰剂(24.6%, 17/70)相比无统计学差异( $P > 0.05$ )。

**2.3 PAC-SYM总评分** 有3项RCTs<sup>[17-19]</sup>报道了PAC-SYM总评分,但均只报道了患者总例数及分数的均值,未提供分数的标准差,无法进行Meta分析。3篇文献报道各剂量普芦卡必利均优于安慰剂( $P < 0.05$ ),各治疗组之间无统计学差异。

**2.4 PAC-QOL满意度较基线 $\geq 1$ 分的患者比例** 有3项RCTs报道了PAC-QOL满意度较基线 $\geq 1$ 分的患者比例<sup>[17-19]</sup>,2与4 mg/d研究间均不存在异质性(2 mg/d:  $I^2 = 0$ ,  $P = 0.848$ ; 4 mg/d:  $I^2 = 0$ ,  $P = 0.536$ ),故采用固定效应模型计算,2治疗组均优于安慰剂(2 mg/d: OR = 2.43, 95%CI: 1.88-3.14,  $P < 0.001$ ; 4 mg/d: OR = 2.47, 95%CI: 1.90-3.20,  $P < 0.001$ )(图4)。2和4 mg/d经 $\chi^2$ 检验比较,两者无

表 1 纳入研究的基本特征

研究(年份)	n	年龄范围(岁, 均值)	女性(%)	干预措施治疗组对照组	结局指标
Tack等 <sup>[17]</sup> 2008	713	17–89 43.9 ± 0.57	90.8	2 mg/d(n = 236) for 12 wk 安慰剂(n = 240) for 12 wk	①+②+③+④
Camilleri等 <sup>[18]</sup> 2008	620	18–85 48.3 ± 0.60	87.9	4 mg/d(n = 237) for 12wk 2 mg/d(n = 207) for 12 wk 安慰剂(n = 209) for 12 wk	①+②+③+④
Quigley等 <sup>[19]</sup> 2008	641	18–95 47.9 ± 0.54	86.6	4 mg/d(n = 204) for 12wk 2 mg/d(n = 214) for 12wk 安慰剂(n = 212) for 12 wk	①+②+③+④
Müller-Lissner等 <sup>[20]</sup> 2010	300	64–95 76.4 ± 0.88	70.0	1 mg/d(n = 76) for 4wk 2 mg/d(n = 75) for 4wk 安慰剂(n = 70) for 4 wk	①+②+③+④
邹多武等 <sup>[21]</sup> 2012	313	18–65 41.2 ± 13.60	88.5	4 mg/d(n = 79) for 4 wk 2 mg/d(n = 155) for 12 wk 安慰剂(n = 158) for 12 wk	①+④

①: 每周≥3次SCBM的患者比例; ②: PAC-SYM总评分; ③: PAC-QOL满意度较基线≥1分的患者比例; ④: AEs.

表 2 纳入研究的方法学质量评价

研究	随机	分配隐藏	盲法	失访/退出研究	意向性分析	质量等级
Tack等 <sup>[17]</sup>	是, 未描述具体方法	不详	双盲	有	是	B
Camilleri等 <sup>[18]</sup>	随机数字表	充分	双盲	有	否	B
Quigley等 <sup>[19]</sup>	随机数字表	充分	双盲	有	否	B
Müller-Lissner等 <sup>[20]</sup>	随机数字表	不详	双盲	有	是	B
邹多武等 <sup>[21]</sup>	是, 未描述具体方法	不详	双盲	有	是	B

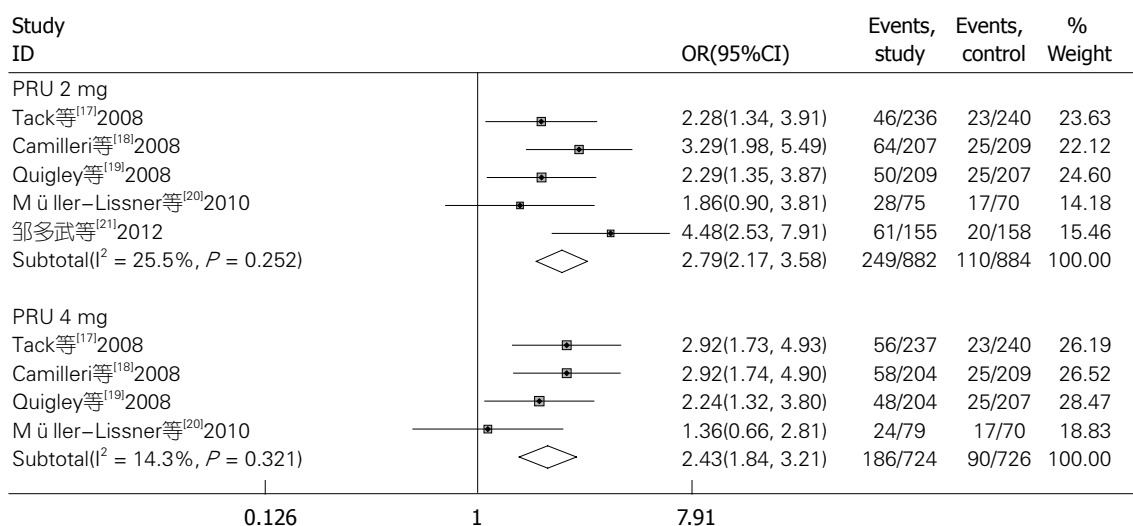


图 3 每周≥3次SCBM的患者比例的Meta分析.

统计学差异( $\chi^2 = 0.031, P = 0.86 > 0.05$ ).

2.5 不良事件 5项RCTs均报道了AEs, 4项RCTs<sup>[17,18,20,21]</sup>作了详细描述, 5项RCTs均可提取总的AEs发生率的数据作Meta分析, 2与4 mg/d

均高于安慰剂组, 2治疗组相比无统计学差异(图5), 1项RCT报道了1 mg/d总的AEs发生率为48.7%(37/76), 与安慰剂(45.7%, 32/70)相比无统计学差异( $P > 0.05$ ). 2和4 mg/d因不良反应退出研

## ■创新盘点

本研究运用Stata12.0软件统计分析, 对普芦卡必利治疗慢性便秘的有效性安全性进行评价, 并行亚组分析, 提示普芦卡必利2 mg/d治疗慢性便秘更安全有效.



## ■应用要点

本文检索到的文献纳入的研究对象主要为成年女性,对男性及儿童的治疗情况不明,故而可能影响结论的真实性和可靠性。如能在以后的研究中扩大受试范围,将可提供证实普芦卡必利治疗慢性便秘安全有效的更具说服力的、可靠的证据。

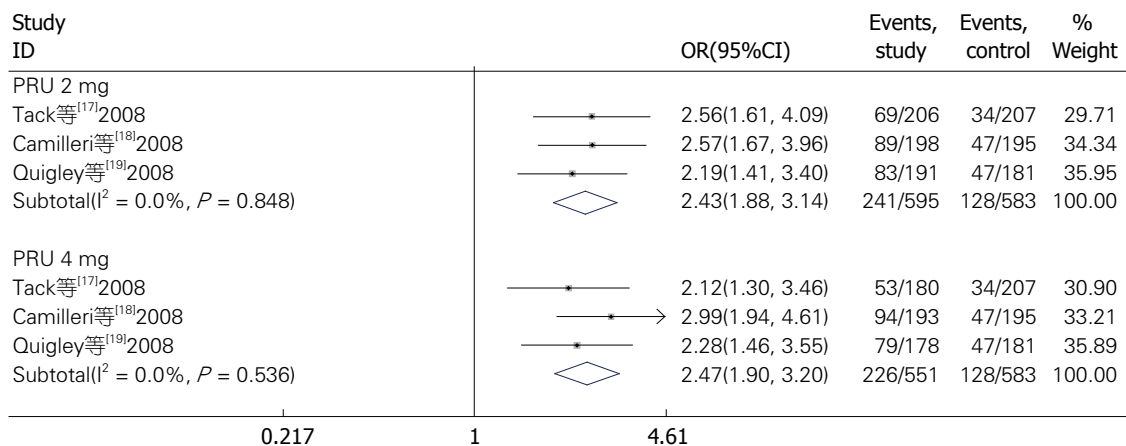
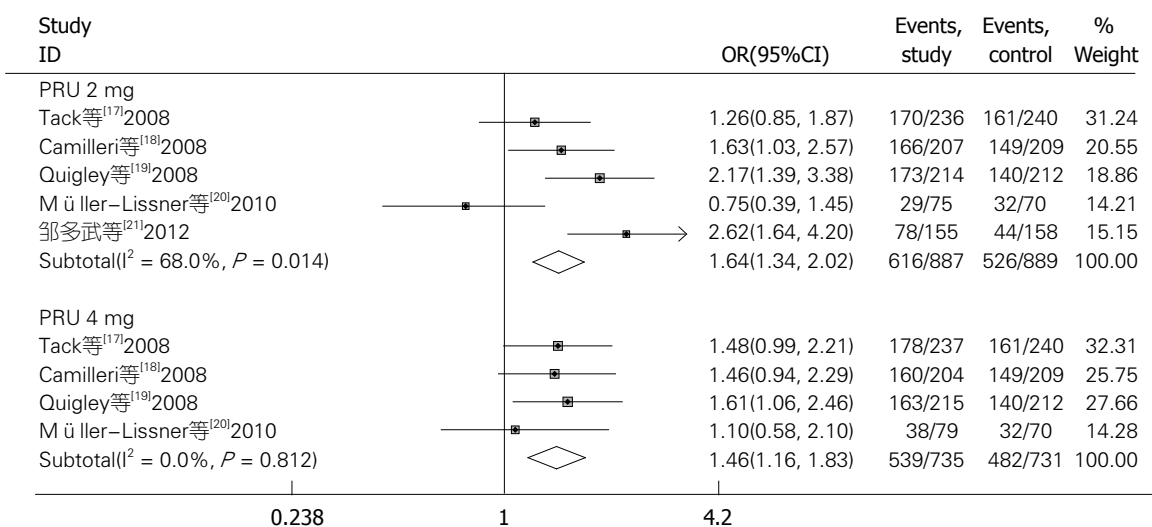
图 4 PAC-QOL满意度较基线 $\geq 1$ 分的患者比例的Meta分析。

图 5 经历不良反应的患者比例的Meta分析。

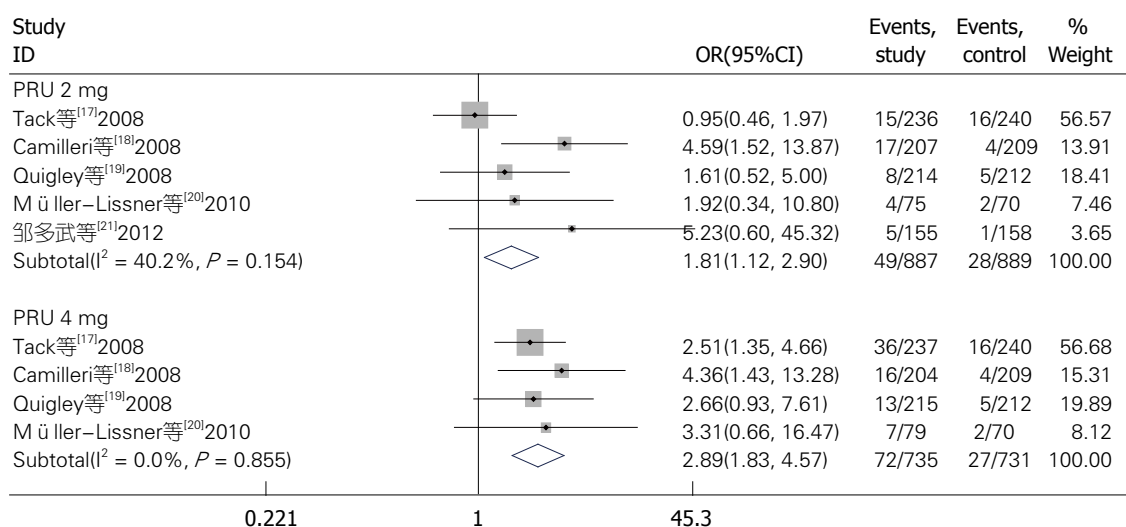


图 6 因AEs退出研究的患者比例的Meta分析。

究的患者比率均高于安慰剂(2 mg/d: OR = 1.81, 95%CI: 1.83-4.57,  $P < 0.001$ ), 结果不存在异质性 95%CI: 1.12-2.90,  $P = 0.015$ ; 4 mg/d: OR = 2.89, (2 mg/d:  $I^2 = 40.2\%$ ,  $P = 0.154$ ; 4 mg/d:  $I^2 = 0$ ,  $P =$

表 3 不良事件(普芦卡必利 vs 安慰剂)

不良事件	异质性检验	OR(95%CI)	研究数	n(实验组)	n(对照组)	P值
恶心	0.176	2 mg/d: 2.27(1.59–3.26)	4[18,19,21]	104/518	53/519	0
	0.415	4 mg/d: 2.27(1.58–3.25)	3[18,19,21]	104/520	53/519	0
腹泻	0.992	2 mg/d: 2.72(1.67–4.44)	3[18,19,21]	60/518	24/519	0
	0.453	4 mg/d: 3.40(2.11–5.48)	3[18,19,21]	73/520	24/519	0
腹痛	0.412	2 mg/d: 1.21(0.87–1.67)	3[18,19,21]	98/518	85/519	0.252
	0.622	4 mg/d: 1.22(0.88–1.68)	3[18,19,21]	99/520	85/519	0.227
头痛	0.418	2 mg/d: 2.07(1.49–2.88)	3[18,19,21]	121/518	68/519	0
	0.570	4 mg/d: 2.48(1.79–3.42)	3[18,19,21]	138/520	68/519	0
QT间期延长	0.790	2 mg/d: 1.20(0.32–4.54)	3[18,20,21]	5/450	4/450	0.788
	0.367	4 mg/d: 0.47(0.10–2.07)	3[18,20,21]	1/421	4/450	0.316

## ■同行评价

本文系统评价普芦卡必利治疗慢性便秘的有效性和安全性, 分析细致方法全面, 对存在的问题也进行了探讨, 文章的科学性、创新性和可读性较好, 对指导临床及科研有一定参考价值。

0.855)(图6), 2 mg/d明显少于4 mg/d( $\chi^2 = 10.66$ ,  $P = 0.001 < 0.01$ )。5项RCTs均对SAEs作了描述。具体AEs分析结果: 2项RCTs<sup>[17,18]</sup>报道了呕吐、腹胀的发生率, 2、4 mg/d与安慰剂相比无统计学差异(呕吐:  $\chi^2 = 4.09$ ,  $P = 0.129 > 0.0167$ ; 腹胀:  $\chi^2 = 1.060$ ,  $P = 0.303 > 0.0167$ )。另2项RCTs报道了头晕的发生率<sup>[17,20]</sup>, 2 mg/d、4 mg/d与安慰剂相比无统计学差异( $\chi^2 = 0.3$ ,  $P = 0.584 > 0.0167$ )。其余主要AEs的Meta分析结果如表3。

## 3 讨论

共纳入5项已发表的普芦卡必利治疗慢性便秘的RCTs, 1篇为中文文献, 4篇为英文文献, 所有研究均采用罗马II诊断标准, 以安慰剂为对照。5项研究入选患者均为成年人, 其中1项为老年患者。

每周SCBM $\geq 3$ 次可视为正常排便习惯。5项RCTs的Meta分析显示普芦卡必利2和4 mg/d均能提高每周SCBM $\geq 3$ 次的患者比率, 结果显示不存在异质性。2与4 mg/d相比无统计学差异。

有3项RCTs报道了PAC-SYM总评分及PAC-QOL满意度较基线 $\geq 1$ 分的患者比例, 研究结果均提示2与4 mg/d优于安慰剂, 两个治疗组间疗效无明显差别。

普芦卡必利2及4 mg/d总的AEs发生率均高于安慰剂(2 mg/d: OR = 1.64, 95%CI: 1.34–2.02,  $P = 0$ ; 4 mg/d: OR = 1.458, 95%CI: 1.162–1.831,  $P = 0.001$ ), 2 mg/d研究间存在异质性( $I^2 = 68.0\%$ ,  $P = 0.014$ ), 故采用随机效应模型计算, 敏感性分析去除两个样本量较小的RCTs后<sup>[20,21]</sup>, 合并效应差异仍具有统计学意义, 森林图结果方向也未发生改变(OR = 1.612, 95%CI: 1.261–2.061,  $P < 0.001$ ), 且异质性消失( $I^2 = 37.7\%$ ,  $P = 0.201$ ), 表明此分析结果的稳定性较好。4 mg/d研究间

不存在异质性( $I^2 = 0$ ,  $P = 0.812$ ); 2与4 mg/d相比无统计学差异( $\chi^2 = 2.890$ ,  $P = 0.089 > 0.05$ )。2和4 mg/d因不良反应退出研究的患者比率均高于安慰剂, 结果不存在异质性, 2 mg/d明显少于4 mg/d( $\chi^2 = 10.657$ ,  $P = 0.001 < 0.01$ )。

纳入的各文献报道消化系及头部不适症状是普芦卡必利的主要不良反应, 多发生在治疗的第1周, 程度为轻到中度, 持续时间短暂。对恶心、腹泻等不良反应, Meta分析提示2及4 mg/d的发生率均高于安慰剂, 而呕吐、腹痛、腹胀、头晕则无明显差别, 2与4 mg/d之间无统计学差异( $P$ 值分别为0.129、0.975、0.303、0.584均 $P > 0.05$ )。对3项RCTs的Meta分析显示2与4 mg/d头痛发生率高于安慰剂, 治疗组之间无统计学差异( $\chi^2 = 1.399$ ,  $P = 0.237 > 0.05$ )。系统评价未发现普芦卡必利对心电图有明显影响(包括QT间期)。SAEs的发生率低, 血常规、肝肾功能等实验室检查结果与安慰剂相比无显著差异。安慰剂组1例出现心律不齐、心肌梗死, 最终死亡, 作者认为与研究不相关<sup>[20]</sup>, 2 mg/d组3例出现室上性心动过速, 退出研究, 其中1例患者原有二尖瓣脱垂室上性心动过速病史, 服用药物后病情进展<sup>[18]</sup>。该不良反应发生率低, 且因心血管事件死亡的病例出现在安慰剂组, 故提示普芦卡必利无明显心脏毒性。

有1项RCT<sup>[20]</sup>报道了普芦卡必利1 mg/d组的治疗情况, 结果提示1 mg/d不能提高每周SCBM $\geq 3$ 次的患者比例, 但PAC-SYM总评分较安慰剂组高, 排便相关症状改善( $P < 0.05$ )。其AEs发生情况与安慰剂相比无明显差别。结果提示1 mg/d治疗慢性功能便秘疗效不理想, 但由于研究样本量较小, 无足够证据支持, 还待进一步研究。

根据森林图显示, Müller-Lissner<sup>[20]</sup>的研究结

果与其他文献相比异质性较大, 阅读文献后考虑原因可能为研究对象均为老年人(年龄: 64-95岁,  $76.4 \pm 0.88$ 岁), 基础疾病较多, 其中包括帕金森病及抑郁症的患者, 研究期间受试者允许服用抗胆碱能类及三环抗抑郁药物, 基础疾病及药物作用等均有可能影响试验结果. 敏感性分析去除Müller-Lissner等的研究后, 合并效应差异无异质性(每周 $\geq 3$ 次SCBM的患者比例: 2 mg/d:  $I^2 = 25.2\%$ ,  $P = 0.260$ ; 4 mg/d:  $I^2 = 0$ ,  $P = 0.721$ . 4 mg/d经历不良反应的患者比例:  $I^2 = 0$ ,  $P = 0.943$ . 因AEs退出研究的患者比例: 2 mg/d:  $I^2 = 45\%$ ,  $P = 0.183$ ; 4 mg/d:  $I^2 = 0$ ,  $P = 0.690$ ), 仍具有统计学意义, 森林图结果方向也未发生改变(每周 $\geq 3$ 次SCBM的患者比例: 2 mg/d: OR = 2.941, 95%CI: 2.254-3.838,  $P < 0.001$ ; 4 mg/d: OR = 2.682, 95%CI: 1.984-3.627,  $P < 0.001$ . 4 mg/d经历不良反应的患者比例: OR = 1.518, 95%CI: 1.190-1.937,  $P = 0.001$ . 因AEs退出研究的患者比例: 2 mg/d: OR = 1.796, 95%CI: 1.096-2.945,  $P = 0.02$ ; 4 mg/d: OR = 2.850, 95%CI: 1.766-4.600,  $P < 0.001$ ), 表明此分析结果的稳定性较好.

总之, 普芦卡必利2及4 mg/d均对慢性便秘有治疗作用, 且2者无统计学差异. 2组的不良反应主要为轻到中度的恶心、腹泻等消化系统症状及头痛等, 心脏毒性亦不明显, 但2 mg/d因不良反应退出研究的患者比率 $< 4$  mg/d. 系统评价结果提示普芦卡必利2 mg/d治疗慢性便秘更安全有效, 但纳入试验也存在一定问题, 纳入的5个RCTs的方法学质量评价结果显示均存在很多缺陷, 主要归纳为以下几个方面的问题: (1)未报告随机方法及分配方案的隐藏; (2)未进行意向性分析; (3)无随访, 或有随访, 但未讲明随访时间; (4)纳入研究对象主要为成年女性, 对男性及儿童的治疗情况不明, 故而可能影响结论的真实性和可靠性. 漏斗图分析提示无发表偏倚, 但纳入研究较少, 仅限于已发表的中、英文全文文献, 不排除存在语言偏倚、地区偏倚等等, 故应谨慎看待以上结论.

#### 4 参考文献

- Irvine EJ, Ferrazzi S, Pare P, Thompson WG, Rance L. Health-related quality of life in functional GI disorders: focus on constipation and resource utilization. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1986-1993 [PMID: 12190165 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05843]
- Johanson JF, Kralstein J. Chronic constipation: a survey of the patient perspective. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 599-608 [PMID: 17305761 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03238]
- Stewart WF, Liberman JN, Sandler RS, Woods MS, Stenhagen A, Chee E, Lipton RB, Farup CE. Epidemiology of constipation (EPOC) study in the United States: relation of clinical subtypes to sociodemographic features. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3530-3540 [PMID: 10606315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01642]
- Higgins PD, Johanson JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 750-759 [PMID: 15089911]
- Briejer MR, Akkermans LM, Schuurkes JA. Gastrointestinal prokinetic benzamides: the pharmacology underlying stimulation of motility. *Pharmacol Rev* 1995; 47: 631-651 [PMID: 8746557]
- Briejer MR, Schuurkes JA. 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptors and cholinergic and tachykininergic neurotransmission in the guinea-pig proximal colon. *Eur J Pharmacol* 1996; 308: 173-180 [PMID: 8840129 DOI: 10.1016/0014-2999(96)00297]
- Tonini M. 5-Hydroxytryptamine effects in the gut: the 3, 4, and 7 receptors. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 637-642 [PMID: 16185301 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00716]
- Tonini M, De Giorgio R, Spelta V, Bassotti G, Di Nucci A, Anselmi L, Balestra B, De Ponti F. 5-HT<sub>4</sub> receptors contribute to the motor stimulating effect of levosulpiride in the guinea-pig gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 244-250 [PMID: 12801035]
- Bassotti G, Villanacci V. Slow transit constipation: a functional disorder becomes an enteric neuropathy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4609-4613 [PMID: 16937428]
- Busti AJ, Murillo JR, Cryer B. Tegaserod-induced myocardial infarction: case report and hypothesis. *Pharmacotherapy* 2004; 24: 526-531 [PMID: 15098809 DOI: 10.1592/phco.24.5.526.33351]
- Potet F, Bouyssou T, Escande D, Baró I. Gastrointestinal prokinetic drugs have different affinity for the human cardiac human ether-à-gogo K(+) channel. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 299: 1007-1012 [PMID: 11714889]
- Tonini M, Pace F. Drugs acting on serotonin receptors for the treatment of functional GI disorders. *Dig Dis* 2006; 24: 59-69 [PMID: 16699264 DOI: 10.1159/000090309]
- De Maeyer JH, Lefebvre RA, Schuurkes JA. 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists: similar but not the same. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 99-112 [PMID: 18199093 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.01059]
- Emmanuel AV, Roy AJ, Nicholls TJ, Kamm MA. Prucalopride, a systemic enterokinetic, for the treatment of constipation. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1347-1356 [PMID: 12144586 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2002.01272]
- Coremans G, Kerstens R, De Pauw M, Stevens M. Prucalopride is effective in patients with severe chronic constipation in whom laxatives fail to provide adequate relief. Results of a double-blind, placebo-controlled clinical trial. *Digestion* 2003; 67: 82-89 [PMID: 12743445 DOI: 10.1159/000070202]
- Drossman DA, Sandler RS, McKee DC, Lovitz AJ. Bowel patterns among subjects not seeking health care. Use of a questionnaire to identify a population with bowel dysfunction. *Gastroenterology* 1982; 83: 529-534 [PMID: 7095360]
- Tack J, van Outryve M, Beyens G, Kerstens R,



- Vandeplasse L. Prucalopride (Resolor) in the treatment of severe chronic constipation in patients dissatisfied with laxatives. *Gut* 2009; 58: 357-365 [PMID: 18987031 DOI: 10.1136/gut.2008.162404]
- 18 Camilleri M, Kerstens R, Rykx A, Vandeplasse L. A placebo-controlled trial of prucalopride for severe chronic constipation. *N Engl J Med* 2008; 358: 2344-2354 [PMID: 18509121 DOI: 10.1056/NEJ-Moa0800670]
- 19 Quigley EM, Vandeplasse L, Kerstens R, Ausma J. Clinical trial: the efficacy, impact on quality of life, and safety and tolerability of prucalopride in severe chronic constipation--a 12-week, randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2009; 29: 315-328 [PMID: 19035970 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03884]
- 20 Müller-Lissner S, Rykx A, Kerstens R, Vandeplasse L. A double-blind, placebo-controlled study of prucalopride in elderly patients with chronic constipation. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 991-998, e255 [PMID: 20529205 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01533]
- 21 邹多武, 柯美云, 袁耀宗, 李延青, 林琳, 郝建宇, 侯晓华, Niwat Montreewasuwat. 普芦卡必利治疗慢性便秘的中国多中心随机、双盲、安慰剂对照临床研究. *中华消化杂志* 2012; 32: 847-851

编辑 田滢 电编 闫晋利



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

## • 消息 •

## WJG 总被引频次排名位于第 174 名

本刊讯 *World Journal of Gastroenterology* (WJG)被Science Citation Index Expanded (SCIE)和MEDLINE等国际重要检索系统收录,在国际上享有较高声誉和影响力。WJG在PubMed Central (PMC)统计,单月独立IP地址访问58 257次,全文网络版(HTML Full Text)下载94 888次,全文PDF下载59 694次。另外根据基本科学指标库(essential science indicators)统计,2000-01-01/2010-12-31, SCIE检索的临床医学(clinical medicine)期刊有1 105种,总被引频次排名, WJG位于第174名。(2011-05-14 马连生 董事长/总编辑)

# RT-PCR技术定量检测新疆溃疡性结肠炎患者肠道菌群的变化

蒋曼, 高鸿亮, 姚萍

## ■背景资料

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC) 在我国的发病率呈逐年增长趋势, 病因和发病机制尚不明确。目前认为, UC的发病涉及遗传、环境、肠道菌群失调和免疫异常等多种因素, 而肠道菌群失调可能是该病发病的触发点, 也是近年来消化领域的研究热点。

蒋曼, 高鸿亮, 姚萍, 新疆医科大学第一附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

蒋曼, 硕士, 主要从事肠道菌群与溃疡性结肠炎相关性的研究。  
作者贡献分布: 方法研究、数据整理、统计分析及文章起草由蒋曼完成; 设计、论文修改及审阅由姚萍与高鸿亮完成。

通讯作者: 姚萍, 教授, 主任医师, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市新市区鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院消化科。pingyaozh@sina.com

收稿日期: 2013-11-27 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## Quantification of intestinal microflora in ulcerative colitis patients using real-time PCR

Man Jiang, Hong-Liang Gao, Ping Yao

Man Jiang, Hong-Liang Gao, Ping Yao, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Ping Yao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Xinshe District, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. pingyaozh@sina.com

Received: 2013-11-27 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

**AIM:** To analyze the variation of intestinal microflora in patients with ulcerative colitis in Xinjiang by real-time fluorescence quantitative PCR to reveal the role and significance of intestinal microflora in the pathogenesis of ulcerative colitis.

**METHODS:** Specific primers for 16s rDNA of *Bacteroides*, *Fusobacterium*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* spp and *Faecalibacterium prausnitzii* were designed. The feces of ulcerative colitis patients and normal controls in Xinjiang were collected. Bacterial genomic DNA was extracted from fecal samples and used to quantify the above five bacteria by real-time fluorescence quantitative PCR.

**RESULTS:** The level of *Bacteroides* in ulcerative colitis patients was significantly higher than that

in healthy controls ( $3.05 \pm 0.22$  vs  $2.81 \pm 0.21$ ,  $P < 0.05$ ), whereas those of *Clostridium* ( $3.14 \pm 0.17$  vs  $3.35 \pm 0.12$ ), *Bifidobacterium* spp ( $2.92 \pm 0.16$  vs  $3.20 \pm 0.13$ ) and *Faecalibacterium prausnitzii* ( $2.77 \pm 0.16$  vs  $2.95 \pm 0.19$ ) were significantly lower in ulcerative colitis patients than in healthy controls ( $P < 0.05$  for all). The level of *Fusobacterium* showed no significant difference ( $3.20 \pm 0.13$  vs  $3.15 \pm 0.17$ ,  $P > 0.05$ ) between the two groups.

**CONCLUSION:** The changes in the levels of *Bacteroides*, *Clostridium*, *Bifidobacterium* spp and *Faecalibacterium prausnitzii* may be associated with the pathogenesis of UC.

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

**Key Words:** Ulcerative colitis; Intestinal microflora; Real-time fluorescence quantitative PCR

Jiang M, Gao HL, Yao P. Quantification of intestinal microflora in ulcerative colitis patients using real-time PCR. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 596-600  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/596.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.596>

## 摘要

**目的:** 应用SYBR Green I 实时荧光定量PCR法分析新疆溃疡性结肠炎患者肠道菌群的变化, 探讨肠道菌群在溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)发病中的作用及意义。

**方法:** 根据细菌的16s DNA基因序列设计拟杆菌属、梭杆菌属、梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属的特异性引物。收集新疆溃疡性结肠炎患者及正常对照者粪便, 提取细菌基因组DNA, 应用SYBR Green I 实时荧光定量PCR反应测定5种细菌的数量。

**结果:** UC患者组拟杆菌属的数量( $3.05 \pm 0.22$ )较正常对照( $2.81 \pm 0.21$ )明显增多; 梭菌属( $3.14 \pm 0.17$ )、双歧杆菌属( $2.92 \pm 0.16$ )、柔嫩梭菌属( $2.77 \pm 0.16$ )的数量较正常对照( $3.35 \pm 0.12$ ,  $3.08 \pm 0.14$ ,  $2.95 \pm 0.19$ )的数量明显减少,

## ■同行评议者

江学良, 教授, 主任医师, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 梭杆菌属在两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ ).

**结论:** 拟杆菌属、梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属数量的改变可能与新疆UC的发病相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 肠道菌群; 实时荧光定量PCR

**核心提示:** 本文研究发现与正常对照相比, 溃疡性结肠炎患者粪便菌群中拟杆菌属的数量明显增多, 而梭菌属、双歧杆菌属、柔嫩梭菌属的数量明显减少, 提示溃疡性结肠炎患者的肠道菌群发生了改变, 可能与其发病相关. 本研究结果为探索溃疡性结肠炎的病因及发病机制提供了一定的线索.

蒋曼, 高鸿亮, 姚萍. RT-PCR技术定量检测新疆溃疡性结肠炎患者肠道菌群的变化. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 596-600 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/596.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.596>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是一种病因不明的直肠和结肠的慢性非特异性炎症性疾病. 病变局限在大肠黏膜及黏膜下层, 以溃疡为主, 多累及直肠和远端结肠. 临床主要表现为腹痛、腹泻、黏液脓血便, 病程迁延, 轻重不等且容易复发. 目前大多研究认为UC的发病涉及遗传、环境、肠道菌群失调和免疫异常等多种因素, 而肠道菌群失调可能是该病发病的触发点<sup>[1-3]</sup>, 因此肠道菌群与UC之间的关系成为近年来消化领域的研究热点, 但肠道菌群失调对于UC的发病机制究竟有何意义尚不完全清楚. 有研究发现不同地区的UC发病率不相同, 可能与患者的居住地理环境、生活水平及饮食习惯相关<sup>[4,5]</sup>, 因此, 本研究尝试通过实时荧光定量PCR技术对新疆地区UC患者及其正常对照者粪便中拟杆菌属、梭杆菌属、梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属进行定量, 探讨肠道菌群与UC的相关性.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 粪便标本取自新疆医科大学第一附属医院消化科及体检中心, 正常对照者30例, 男14例, 女16例, 平均36.67岁±11.64岁, 无消化道慢性病史, 常规体检及粪便常规检查均未见异常. UC患者30例, 男14例, 女16例, 平均38.33岁

表 1 入选溃疡性结肠炎患者及对照组临床特征

临床特征	病例组	对照组
性别(男/女)	14/16	14/16
年龄(mean ± SD, 岁)	38.33 ± 10.04	36.67 ± 11.64
临床分期		
活动期	18	—
缓解期	12	—
病变范围		
全结肠型	3	—
直肠型	8	—
左半结肠型	4	—
广泛结肠型	3	—
直肠乙状结肠型	12	—
用药情况		
水杨酸类药物	6	—
糖皮质激素	0	—
抗生素	0	—
未用任何药物	24	—

±10.04岁, 经结肠镜及病理组织学检查, 均符合2007年《对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见》的诊断标准<sup>[6]</sup>. 所有研究对象均为长期居住在新疆的患者(居住年限>10年). 所有研究对象留取粪便标本前4 wk内均未应用抗生素或微生态制剂. 所选取的两组基线资料比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )(表1). 主要仪器及试剂: QIAamp DNA Stool MinKit试剂盒(德国Qiagen公司)、实时定量PCR试剂盒(德国Qiagen公司)、荧光定量PCR仪(iCycler Iq5)、琼脂糖凝胶DNA回收试剂盒(离心柱型)(北京天根)、-80 °C超低温冰箱、电泳仪及凝胶成像分析系统等, 所用引物均参照GenBank提供的序列, 由上海生物工程公司合成.

### 1.2 方法

**1.2.1 粪便标本采集及DNA提取:** 所用研究标本均于排便后迅速收集于无菌培养皿内, 并迅速置于-80 °C超低温冰箱内保存. 称取0.2 g粪便按照QIAamp DNA Stool MinKit试剂盒操作说明提取粪便细菌基因组DNA, -20 °C保存.

**1.2.2 常规PCR反应:** 反应体系为20 μL: 2×Taq PCR Master Mix 10 μL, 上、下游引物各0.5 μL(表2), ddH<sub>2</sub>O 7 μL, DNA模板2 μL; 反应条件: 95 °C预变性3 min; 95 °C变性30 s; 拟杆菌属62.8 °C、梭杆菌属50.8 °C、梭菌属51.2 °C、双歧杆菌属55 °C、柔嫩梭菌属57 °C退火30 s, 72 °C延伸1 min, 循环35次, 72 °C复性5 min, 4 °C保存. 取PCR反应产物10 μL与2 μL Loading Buf-

### ■ 创新盘点

研究显示新疆地区UC患者与健康对照者粪便菌群存在显著的差异, UC患者拟杆菌属的数量较正常对照明显增多, 梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属较正常对照明显减少, 提示UC患者肠道发生了微生物生态失衡, 肠道菌群与UC的发病密切相关.



■同行评价  
本文具有一定指导意义。

表 2 16s rDNA基因PCR扩增引物序列

PCR模板	扩增片段长度(bp)	引物序列(5'-3')
拟杆菌属	200	F: 5'-CTGAACCAGCCAAGTAGCG-3' R: 5'-CCGCAAACCTTCACAACTGACTTA-3'
梭杆菌属	100	F: 5'-CGCAGAAGGTGAAAGTCCTGTAT-3' R: 5'-TGGTCCTCACTGATTACACAGA-3'
梭菌属	200	F: 5'-TGAAAGATGGCATCATCATTCAAC-3' R: 5'-GGTAACGTCATTATCTTCCCCAAA-3'
双歧杆菌属	243	F: 5'-TCGCGTC(C/T)GGTGTGAAAG-3' R: 5'-CCACATCCAGC(A/G)TCCAC-3'
柔嫩梭菌属	158	F: 5'-CCCTTCAGTGCCGCAGT-3' R: 5'-GTCGCAGGATGTCAAGAC-3'

表 3 粪便的细菌定量结果( $\lg x \pm \lg x$ 拷贝数/克湿便)

分组	拟杆菌属	梭杆菌属	梭菌属	双歧杆菌属	柔嫩梭菌属
UC组	3.05 ± 0.22	3.20 ± 0.13	3.14 ± 0.17	2.92 ± 0.16	2.77 ± 0.16
正常组	2.81 ± 0.21	3.15 ± 0.17	3.35 ± 0.12	3.08 ± 0.14	2.95 ± 0.19
P值	0.001	0.17	0.001	0.001	0.001

UC: 溃疡性结肠炎。

fer混匀上样, 在2.0%琼脂糖凝胶中进行电泳, 电压120 V, 时间30 min, 电泳结束后用凝胶成像仪分析系统摄像。

1.2.3 实时荧光定量RT-PCR检测: (1)标准曲线的建立: 采用实时荧光定量RT-PCR方法, 反应体系20  $\mu$ L: 荧光染料10  $\mu$ L, 模板2  $\mu$ L, 上、下游引物各0.5  $\mu$ L(表2), ddH<sub>2</sub>O 7  $\mu$ L, 以正常组中DNA样本为模板, 常规PCR引物扩增16s rDNA靶片段, 将PCR产物纯化后作为DNA标准品, 进行梯度稀释(浓度为 $10^2$ - $10^7$  copies/ $\mu$ L)作为模板加入反应体系中。按照操作说明在荧光定量PCR仪Bio-rad IQ5 System中进行实时荧光定量RT-PCR反应。反应条件: 95  $^{\circ}$ C预变性3 min 95  $^{\circ}$ C变性10 s, T $^{\circ}$ C(拟杆菌属62.8  $^{\circ}$ C、梭杆菌属50.8  $^{\circ}$ C、梭菌属51.2  $^{\circ}$ C、双歧杆菌属55  $^{\circ}$ C、柔嫩梭菌属57  $^{\circ}$ C)退火30 s, 65  $^{\circ}$ C延伸10 s, 读取定量荧光数据, 共40个循环; 反应进行融解曲线分析, 并读取融解曲线荧光数据。根据读取的荧光数据, 由系统软件自动分析循环阈值(cycle threshold, Ct), 并生成标准曲线; (2)待测粪便样品定量分析: 提取所有研究标本粪便DNA分别进行5种细菌的SRBR Green I 实时荧光定量PCR反应, 反应体系及反应条件与标准品制备时相同。每次实验同时设标准品校正和ddH<sub>2</sub>O为DNA模板的阴性对照, 所有样品均同

时做2个平行复孔。反应完毕后根据融解曲线分析PCR产物的特异性, 并由Ligyt Cyclor PCR仪分析定量结果。

**统计学处理** 应用SPSS17.0统计软件进行数据整理和统计分析, 样品定量数据经对数转换后以 $\lg x \pm \lg x$ 表示, 采用两样本t检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 引物特异性鉴定 用2.0%琼脂糖凝胶电泳分析正常对照粪便标本的16s rDNA常规PCR产物, 以100 bp DNA Ladder为标准。可见PCR产物均显示出特异性条带, 未见明显非特异扩增区带, 提示各细菌的引物特异性较好, 可用于实时荧光定量PCR反应(图1, 2)。

2.2 粪便细菌的定量检测 每份粪便标本所含的5种细菌的拷贝数可通过Ct值与标准曲线比较得到, 实时荧光定量PCR仪通过系统内置的软件iCycler Optical System Interface software处理后直接给出定量结果。溃疡性结肠炎患者粪便中拟杆菌属的数量较正常对照明显增多( $P < 0.05$ ), 而梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属的数量均较正常对照明显减少( $P < 0.05$ ), 梭杆菌属的数量在两组之间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表3)。

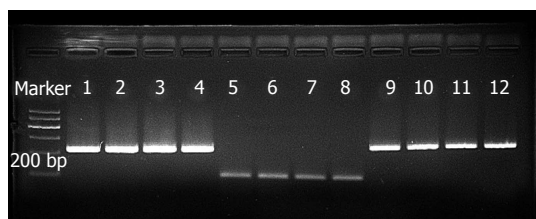


图1 拟杆菌属、梭杆菌属及梭菌属常规PCR反应结果. Marker: 从下到上100、200、300、400、500 bp; 1-4: 拟杆菌属(200 bp); 5-8: 梭杆菌属(100 bp); 9-12: 梭菌属(200 bp).

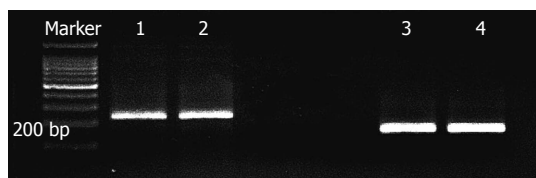


图2 双歧杆菌属及柔嫩梭菌属常规PCR反应结果. Marker: 从下到上100、200、300、400、500 bp; 1, 2: 双歧杆菌属(243 bp); 3, 4: 柔嫩梭菌属(158 bp).

### 3 讨论

近年来, 随着社会的不断发展, 人们生活水平的提高, UC的发病率在国内外都有逐渐增高趋势<sup>[4,7-10]</sup>, UC的病程长短不一, 且易反复发作, 严重影响人们的生活质量. 目前UC的病因和发病机制尚不十分明确, 多数研究认为免疫调节是其关键直接发病机制, 肠道菌群是这种免疫损伤过程的重要激发因素, 因此人们越来越关注肠腔内细菌与UC的关系. 肠道细菌的详细组成到目前为止尚未完全明确, 粪便标本常用于研究结肠菌群, 主要代表远端结肠的腔内环境<sup>[11]</sup>. 对粪便标本进行肠道细菌培养只能对10%-40%的肠道细菌进行鉴别, 仍有部分细菌不能通过培养获得<sup>[12,13]</sup>. 随着现代分子生物学理论和技术的迅速发展, 出现了许多非培养依赖的新方法用以检测肠道细菌, 实时荧光定量PCR技术就是其中的一种, 应用于肠道微生物研究, 具有灵敏度高、特异性强、定量准确等优点<sup>[14]</sup>.

研究发现不同地区UC的发病率不同, Pridemans等<sup>[5]</sup>研究发现UC发病率和患病率在亚洲国家比西方国家低, 但近年来UC在亚洲国家的发病率及患病率迅速增加, 可能与亚洲国家加强与西方国家的联系, 西方化的饮食, 抗生素的滥用, 卫生条件的改善, 预防接种及肠道微生物菌群的改变相关. UC的发病率在西班牙的纳瓦拉较高<sup>[15]</sup>, 但在乌拉圭的一些地区却较低<sup>[16]</sup>, 这可能与患者居住的环境、卫生条件、生活水平、饮食习惯等相关. 新疆拥有独特的地理环境, 在

这里长期居住的居民所处的环境、生活习惯及饮食习惯都与中国其他地区不尽相同, 因此本研究尝试应用SYBR Green I 实时荧光定量PCR法定量检测新疆地区UC患者及正常对照者粪便中拟杆菌属、梭杆菌属、梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属的数量, 结果显示溃疡性结肠炎患者粪便中拟杆菌的数量较正常对照明显增多, 而梭菌属、双歧杆菌属、柔嫩梭菌属的数量较正常对照明显减少, 梭杆菌的数量在两组之间的差异没有统计学意义, 提示肠道菌群数量的改变可能与UC的发病有关. Machiels等<sup>[17]</sup>研究也发现UC患者肠道菌群的组成与健康对照者存在明显的差异, 同属于厚壁菌门的能够产生丁酸盐的罗氏菌属及柔嫩梭菌属在UC患者中均减少. Rajilić-Stojanović等<sup>[18]</sup>应用基因芯片技术分析溃疡性结肠炎患者与健康对照者粪便菌群发现UC患者粪便菌群中梭菌群IV及参与丁酸盐及丙酸盐代谢菌群数量减少, 而艰难梭状芽孢杆菌、弯曲杆菌、幽门螺杆菌、消化链球菌等机会致病菌增加, 提示UC患者肠道菌群生态失衡, 可能与其发病相关. 我国白鹏等<sup>[19]</sup>研究发现UC活动期患者粪便双歧杆菌、乳酸杆菌数量较正常对照明显减少, 而UC缓解期患者粪便菌群与正常对照无明显差异. 提示肠道菌群失调可能是具有UC遗传易感性个体发病的触发因素. 但我国张静等<sup>[20]</sup>应用ETIC-PCR技术研究UC和其他肠道疾病的肠道菌群发现UC可能存在较单一的肠道优势菌群, 推测其发病机制可能与特定的优势细菌感染有关. 但是目前并没有发现UC的特异性致病菌, 大多研究都支持生态失衡假说<sup>[21,22]</sup>, 即UC的发病可能是由肠道微生态发生紊乱引起的, 而不是由某一特定细菌引起的. 但是肠道微生态系统是一个庞大而复杂的系统, 其与UC发病的具体机制还有待进一步更明确的研究.

总之, 我们的研究显示新疆地区UC患者与健康对照者粪便菌群存在显著的差异, UC患者拟杆菌属的数量较正常对照明显增多, 梭菌属、双歧杆菌属及柔嫩梭菌属较正常对照明显减少, 提示UC患者肠道发生了微生态失衡, 肠道菌群与UC的发病密切相关. 由于研究方法不同或肠道微生态系统太复杂, 各项关于肠道菌群的研究结果不尽相同, 但目前仍无法阐明UC患者中的肠道菌群变化, 究竟是导致肠道炎症的原因还是结果, 因此肠道菌群与UC的相关性还有待更深入的研究.

## 4 参考文献

- 1 Gentschew L, Ferguson LR. Role of nutrition and microbiota in susceptibility to inflammatory bowel diseases. *Mol Nutr Food Res* 2012; 56: 524-535 [PMID: 22495981 DOI: 10.1002/mnfr.201100630]
- 2 Stephani J, Radulovic K, Niess JH. Gut microbiota, probiotics and inflammatory bowel disease. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)* 2011; 59: 161-177 [PMID: 21445715 DOI: 10.1007/s00005-011-0122-5]
- 3 Khan MW, Kale AA, Bere P, Vajjala S, Gounaris E, Pakanati KC. Microbes, intestinal inflammation and probiotics. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 6: 81-94 [PMID: 22149584 DOI: 10.1586/egh.11.94]
- 4 Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, Benchimol EI, Panaccione R, Ghosh S, Barkema HW, Kaplan GG. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology* 2012; 142: 46-54. e42; quiz e30 [PMID: 22001864 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.10.001]
- 5 Prideaux L, Kamm MA, De Cruz PP, Chan FK, Ng SC. Inflammatory bowel disease in Asia: a systematic review. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1266-1280 [PMID: 22497584 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07150.x]
- 6 中华医学会消化病学分会炎症性肠病协作组, 欧阳钦, 胡品津, 钱家鸣, 郑家驹, 胡仁伟. 对我国炎症性肠病诊断治疗规范的共识意见(2007年, 济南). *中华消化杂志* 2007; 27: 545-550
- 7 Kappelman MD, Moore KR, Allen JK, Cook SF. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 519-525 [PMID: 22926499 DOI: 10.1007/s10620-012-2371-5]
- 8 Hope B, Shahdadpuri R, Dunne C, Broderick AM, Grant T, Hamzawi M, O'Driscoll K, Quinn S, Hussey S, Bourke B. Rapid rise in incidence of Irish paediatric inflammatory bowel disease. *Arch Dis Child* 2012; 97: 590-594 [PMID: 22550323 DOI: 10.1136/archdischild-2011-300651]
- 9 中国炎症性肠病协作组, 王玉芳, 欧阳钦. 3100例溃疡性结肠炎住院病例回顾分析. *中华消化杂志* 2006; 26: 368-372
- 10 欧阳钦, Rakesh T, Kl G, 潘国宗, Km F, Claudio F, Sk L, 萧树东, 张虎, 梁红亮, 王玉芳. 亚太地区炎症性肠病处理共识意见(一). *胃肠病学* 2006; 11: 233-238
- 11 Hill MJ, Drasar BS. The normal colonic bacterial flora. *Gut* 1975; 16: 318-323 [PMID: 1093952]
- 12 Hugenholtz P, Goebel BM, Pace NR. Impact of culture-independent studies on the emerging phylogenetic view of bacterial diversity. *J Bacteriol* 1998; 180: 4765-4774 [PMID: 9733676]
- 13 Tannock GW. Molecular methods for exploring the intestinal ecosystem. *Br J Nutr* 2002; 87 Suppl 2: S199-S201 [PMID: 12088519 DOI: 10.1079/BJN-BJN/2002538]
- 14 Ott SJ, Musfeldt M, Ullmann U, Hampe J, Schreiber S. Quantification of intestinal bacterial populations by real-time PCR with a universal primer set and minor groove binder probes: a global approach to the enteric flora. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 2566-2572 [PMID: 15184435 DOI: 10.1128/JCM.42.6.2566-2572.2004]
- 15 Arin Letamendia A, Borda Celaya F, Burusco Pater-nain MJ, Prieto Martínez C, Martínez Echeverría A, Elizalde Apestegui I, Laiglesia Izquierdo M, Macias Mendizábal E, Tamburri Moso P, Sánchez Valverde F. [High incidence rates of inflammatory bowel disease in Navarra (Spain). Results of a prospective, population-based study]. *Gastroenterol Hepatol* 2008; 31: 111-116 [PMID: 18341841]
- 16 Buenavida G, Casañias A, Vázquez C, De Souza M, Martínez L, Gardil I, Silveira A, Iade B. Incidence of inflammatory bowel disease in five geographical areas of Uruguay in the biennial 2007-2008. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2011; 41: 281-287 [PMID: 22292223]
- 17 Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijis I, Eeckhaut V, Ballet V, Claes K, Van Immerseel F, Verbeke K, Ferrante M, Verhaegen J, Rutgeerts P, Vermeire S. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2013 Sep 10. [Epub ahead of print] [PMID: 24021287 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304833]
- 18 Rajilić-Stojanović M, Shanahan F, Guarner F, de Vos WM. Phylogenetic analysis of dysbiosis in ulcerative colitis during remission. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 481-488 [PMID: 23385241 DOI: 10.1097/MIB.0b013e31827fec6d]
- 19 白鹏, 吕愈敏, 顾芳. 细菌16SrDNA荧光定量PCR法分析溃疡性结肠炎患者肠道菌群变化. *胃肠病学和肝病杂志* 2008; 17: 566-571
- 20 张静, 韩英, 王继恒, 王志红. UC和其他肠道疾病肠道菌丛结构的ERIC-PCR指纹图谱分析. *胃肠病学和肝病杂志* 2007; 16: 430-433
- 21 Walker AW, Sanderson JD, Churcher C, Parkes GC, Hudspeth BN, Rayment N, Brostoff J, Parkhill J, Dougan G, Petrovska L. High-throughput clone library analysis of the mucosa-associated microbiota reveals dysbiosis and differences between inflamed and non-inflamed regions of the intestine in inflammatory bowel disease. *BMC Microbiol* 2011; 11: 7 [PMID: 21219646 DOI: 10.1186/1471-2180-11-7]
- 22 Takaishi H, Matsuki T, Nakazawa A, Takada T, Kado S, Asahara T, Kamada N, Sakuraba A, Yajima T, Higuchi H, Inoue N, Ogata H, Iwao Y, Nomoto K, Tanaka R, Hibi T. Imbalance in intestinal microflora constitution could be involved in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Int J Med Microbiol* 2008; 298: 463-472 [PMID: 17897884 DOI: 10.1016/j.ijmm.2007.07.016]

编辑 田滢 电编 闫晋利





## 注水法与注气法在老年患者结肠镜检查中的比较

王文静, 高建新, 钱晶瑶, 齐艳荣, 孙明昊, 韩海英, 刘文天

王文静, 天津医科大学 天津市 300070

王文静, 高建新, 钱晶瑶, 齐艳荣, 天津市大港油田总医院消化内科 天津市 300280

孙明昊, 天津市大港油田总医院神经内科 天津市 300280

韩海英, 天津市大港油田总医院内镜室 天津市 300280

刘文天, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

王文静, 医师, 主要从事消化内科和消化内镜的研究。

作者贡献分布: 此课题由刘文天与王文静设计; 研究过程由王文静、高建新及钱晶瑶完成; 数据处理由齐艳荣、孙明昊及韩海英完成; 论文写作由王文静完成。

通讯作者: 刘文天, 教授, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科。wentianliu160@gmail.com

电话: 022-25966484

收稿日期: 2013-11-17 修回日期: 2013-12-07

接受日期: 2013-12-12 在线出版日期: 2014-02-08

### Water injection versus air insufflation for colonoscopy in elderly patients

Wen-Jing Wang, Jian-Xin Gao, Jing-Yao Qian, Yan-Rong Qi, Ming-Hao Sun, Hai-Ying Han, Wen-Tian Liu

Wen-Jing Wang, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Wen-Jing Wang, Jian-Xin Gao, Jing-Yao Qian, Yan-Rong Qi, Department of Gastroenterology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China

Ming-Hao Sun, Department of Neurology, Tianjin Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China  
Hai-Ying Han, Department of Neurology, Dagang Oil Field General Hospital, Tianjin 300280, China

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

Correspondence to: Wen-Tian Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. wentianliu160@gmail.com

Received: 2013-11-17 Revised: 2013-12-07

Accepted: 2013-12-12 Published online: 2014-02-08

### Abstract

**AIM:** To compare the impact of water injection versus air insufflation for colonoscopy on cecal intubation rate, cecal intubation time and pain degree in elderly patients.

**METHODS:** Two hundred elderly patients (aged 65-82 years) who underwent non-narcotic colonoscopy were randomly divided into two groups: water injection and air insufflation. The cecal intubation rate, cecal intubation time and pain degree were compared between the two groups.

**RESULTS:** There were no significant differences in cecal intubation rate (98% vs 94%,  $P > 0.05$ ) or cecal intubation time ( $7.83 \text{ min} \pm 1.58 \text{ min}$  vs  $8.01 \text{ min} \pm 1.26 \text{ min}$ ,  $P > 0.05$ ) between the water injection and air insufflation groups. Abdominal pain score was significantly lower in the water injection than in the air insufflation group ( $3.23 \pm 1.71$  vs  $4.87 \pm 1.94$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Compared with air insufflation colonoscopy, water injection colonoscopy has similar cecal intubation rate and cecal intubation time, but is associated with significantly lower pain in elderly patients.

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

**Key Words:** The elderly; Injection colonoscopy; Cecal intubation rate; Cecal intubation time; Abdominal pain

Wang WJ, Gao JX, Qian JY, Qi YR, Sun MH, Han HY, Liu WT. Water injection versus air insufflation for colonoscopy in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(4): 601-605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/601.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.601>

### 摘要

**目的:** 明确注水法结肠镜与注气法结肠镜比较在老年患者结肠镜检查中达盲率、达盲时间及疼痛程度方面的影响。

**方法:** 门诊非麻醉结肠镜检查的老年患者(年龄65-82岁)200例, 随机分为结肠注水法组(A组)和传统注气法组(B组), 比较两组患者达盲率、达盲时间及疼痛程度等方面的差异。

**结果:** 注水组最终达盲率为98%, 注气组的达盲率为94%, 注水组与注气组达盲时间分别为 $7.83 \text{ min} \pm 1.58 \text{ min}$ 、 $8.01 \text{ min} \pm 1.26 \text{ min}$ , 达盲率及达盲时间方面差异均没有显著性( $P > 0.05$ )。注水组腹痛评分( $3.23 \text{ 分} \pm 1.71 \text{ 分}$ )明显低于注气组腹痛评分( $4.87 \text{ 分} \pm 1.94 \text{ 分}$ )( $P < 0.05$ )。

### ■背景资料

近年来, 消化系统肿瘤的发生在全球范围呈上升趋势。我国大肠癌发病率上升趋势亦十分明显。目前使用结肠镜是发现并治疗结肠疾病较理想方法, 但进行结肠镜检查时的不适感使多数患者存在顾虑。本文就结肠镜检查中注水法与注气法的优劣进行比较与分析, 以发现更好的操作方法, 提高患者舒适度。

### ■同行评议者

董蕾, 主任, 教授, 博士生导师, 西安交通大学第二附属医院消化内科

## ■研发前沿

本文重点研究注水法结肠镜与注气法结肠镜相比在老年患者结肠镜检查中的应用价值: 针对老年人肠道特点, 注水法是否可以提高老年患者结肠镜操作过程中的舒适度。

**结论:** 注水法结肠镜虽然对于老年患者在达盲率及达盲时间上没有显著影响, 但是可以有效减轻老年患者检查中的腹痛程度。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 老年人; 注水结肠镜; 达盲率; 达盲时间; 腹痛程度

**核心提示:** 本研究发现注水法与注气法结肠镜在达盲率、达盲时间方面没有显著性差异, 但是注水法结肠镜可有效减轻患者检查过程中腹痛程度, 提高患者舒适度。

王文静, 高建新, 钱晶瑶, 齐艳荣, 孙明昊, 韩海英, 刘文天. 注水法与注气法在老年患者结肠镜检查中的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 601-605 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/601.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.601>

## 0 引言

结肠恶性肿瘤是我国常见消化系恶性肿瘤之一, 随着我国逐步步入老龄化社会, 结肠癌对老年人的健康和生活质量均已构成严重的危害. 近年来, 结肠镜筛查不仅增加了肠息肉的检出率, 同时对于结肠癌的早期发现及诊治起到了重要作用<sup>[1-3]</sup>. 但是由于老年人横结肠冗长、腹部肌肉相对松弛、肠道活动度相对较大, 常常给结肠镜的插入带来困难<sup>[4,5]</sup>. 国外有关报道指出, 结肠镜插入的成功率及插镜时间与患者的年龄、性别、腹部或盆腔手术史及肠道憩室病有关<sup>[6-8]</sup>, 老年女性、有腹部或盆腔手术史的患者, 结肠镜检查的插镜时间较长. 结肠镜检查是诊断结肠疾病最可靠的方式之一. 结肠镜检查可常规应用注气法, 就是检查的整个过程中注入空气. 也有的结肠镜检查中应用注水法, 就是在结肠镜操作过程中除常规注入空气外, 间断注入温水. 常规注气法结肠镜检查往往会造成不同程度的腹痛、腹胀等不适, 导致一些患者不愿接受检查, 甚至有可能因惧怕检查而延误严重肠道疾病的最佳诊治时机. 因此探求更好的结肠镜检查方式具有重要临床意义. 下面我们探讨在老年患者当中, 结肠镜注水法与注气法的优劣.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-06/2012-12于我院门诊就诊或住院、准备行结肠镜检查的老年患者. 排除标准: 年龄<65岁或年龄>82岁; 肠道准备差; 近

期急性肠道出血; 伴严重慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)、严重心脏病以及结肠镜检查禁忌证; 非疼痛原因不能配合的患者. 结果共纳入200例老年患者, 其中A: 注水组100例, 男性61例, 女性39例, 中位年龄73.4岁±4.67岁. B: 注气组100例, 男58例, 女42例, 中位年龄72.8岁±5.58岁. 以相应方式行结肠镜检查. 所有入组患者均需要签署知情同意书. 两组患者在性别、年龄、肠道准备、体质质量指数、是否便秘以及是否曾有腹部手术史等方面无显著性差异( $P>0.05$ ). 肠镜为奥林巴斯CF-H260型结肠镜.

**1.2 方法** 全部患者均经过肠道准备, 清肠药物为聚乙二醇电解质散, 检查前禁食8-12 h, 检查清晨分别于4:00、6:00各口服1000 mL清肠药物, 20-30 min内服用完毕, 肠道清洁好后接受肠镜检查. 患者常规采取左侧卧位的姿势, 操作前需要在患者肛门处和镜身前部涂抹复方丁卡因胶浆, 可以局部麻醉并且减少摩擦利于进镜. 由1名有经验肠镜医师利用单盲法进行检查. A组(注水组)应用Olympus OFP内镜送水泵, 将消毒过的水泵至于36℃的恒温控制的温盐水中, 可调节水的流量的注水端插入活检孔道, 左手操作部控制注气按钮, 结肠镜进入直肠后, 可直接注气穿过直肠, 向右旋转进镜便可进入乙状结肠. 脚部控制注水量, 提供视野, 轻调角度向上并左旋镜身便可进入Rs部位; 于此处继续左旋内镜并且通过低压注水保持镜头清晰以便观察狭窄腔隙的走形, 并循腔推进内镜, 然后右旋镜身进镜便可越过另一皱褶进入乙状结肠. 解剖学上, 乙状结肠处于多种多样的弯曲松弛状态, SD移行部急峻弯曲, 是一个注气结肠镜不容易通过也容易结攀并且患者容易出现腹痛之处, 边注水打开肠腔, 进镜方向根据肠黏膜面上光的明暗、反射的不同、皱褶的走行等因素, 在瞬间确定下一步插入的方向, 并迅速将内镜的前端对准预定走行方向, 并且因为操作中水的重力作用, 乙状结肠处较为急峻的弯曲处变钝, 使得通过时痛苦程度减轻. 通过乙状结肠后进入降结肠可直接注气通过, 直至横结肠下垂角. 因为很多老年患者横结肠冗长下垂, 形成一个锐角, 用同样的注水方法通过此处. 如果检查过程中残留粪便的污水影响了视野, 可以随时将污水吸出, 注入干净的温水使视野清晰利于进镜并且观察阑尾开口. 整个操作过程中, 间断应用注水法打开肠腔, 其他容易通过之处仍然注气完

## ■相关报道

注水法与注气法的对比在国外多有报道, LEUNG等的一项研究表明, 对于有经验内镜医师, 注气结肠镜到达回盲部的平均时间长达37 min, 注水结肠镜长为34 min, 也就是说两者在达盲时间方面没有显著性差异.

表 1 接受结肠镜检查的老年患者总体情况 ( $n = 100$ )

分组	性别 (男/女)	年龄 (岁)	体质量指数 (kg/m <sup>2</sup> )	腹部手术史 (n)	便秘 (n)	肠道准备(n)			
						理想	尚可	稍差	很差
A组	61/39	73.4 ± 4.67	25.87 ± 5.50	12	16	55	34	8	3
B组	58/42	72.8 ± 5.58	25.85 ± 4.96	10	14	50	41	7	2
P值	0.773	0.428	0.974	0.974	0.822	0.763			

A组: 注水组; B组: 注气组。

表 2 两种检查方法达盲率及达盲时间的比较

分组	达盲率(%)	达盲时间(min)	平均腹痛VAS评分(分)
A组	98	7.65(7.83 ± 1.58)	4.05(3.23 ± 1.71)
B组	94	8.11(8.01 ± 1.26)	5.68(4.87 ± 1.94)
P值	0.279	0.207	0.000

A组: 注水组; B组: 注气组。

表 3 操作失败病例原因比较( $n = 100, n$ )

分组	未达盲总数	因腹痛放弃或改为麻醉	肠道清洁差	横结肠冗长
A组	2	0	0	2(均到达横结肠)
B组	6	3(到达降乙交界处)	2(到达乙状结肠)	1(到达横结肠)

A组: 注水组; B组: 注气组。

成。B组(注气组)采用传统的单人结肠镜操作法, 全程注气完成, 边进镜边充气打开肠腔, 边观察, 如发现问题可及时处理。两组均使用奥林巴斯 CF-H260型结肠镜。检查中, 如果因为腹痛难忍等原因, 患者要求可以改为麻醉无痛结肠镜。如果需要留取病理及小息肉切除等方面操作, 均于退镜时完成。患者的腹痛评分由护士负责, 按照可视疼痛评分(visual analog scale, VAS)疼痛评分标准, 分为0-10分, 0分: 无痛; 3分以下: 有轻微的疼痛, 能忍受; 4-6分: 患者疼痛并影响睡眠, 尚能忍受; 7-10分: 患者有渐强烈的疼痛, 疼痛难忍, 影响食欲, 影响睡眠。比较两组患者在达盲率、达盲时间、腹痛程度等方面的差异。

**统计学处理** 所有数据采用SPSS17.0软件进行分析。计数资料两组间比较采用 $\chi^2$ 检验。计量资料以mean ± SD表示, 两组间数据比较依据资料的性质, 采用t检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 病例组成** 注气组100例和注水100例, 在结肠镜检查中, 注气组6例, 注水组2例, 未能到达回

盲部, 或者临时要求改为麻醉结肠镜才到达回盲部。两组在性别、年龄、体质量指数、肠道准备、是否便秘以及是否曾有腹部手术史等方面无显著性差异( $P > 0.05$ , 表1)。

**2.2 一般结果** A组(注水组)和B组(注气组)结肠镜检查达盲率分别为98%和94%。平均达盲时间分别为7.65 min(7.83 min ± 1.58 min) vs 8.11 min(8.01 min ± 1.26 min)。平均腹痛VAS评分分数分别为4.05分(3.23分 ± 1.71分)和5.68分(4.87分 ± 1.94分)(表2)。由表2可以看出, 两种检查方法在腹痛程度上存在显著性差异( $P < 0.05$ ), 注水组明显较注气组腹痛VAS评分要低, 但是达盲率及达盲时间方面没有显著性差异( $P > 0.05$ )。

**2.3 操作失败病例原因比较** 注水组2例失败均因为横结肠冗长, 到达横结肠下垂角处无法继续操作。注气组6例失败, 其中3例因为腹痛不能忍受要求停止或改为麻醉结肠镜, 均到达降乙交界处。2例因为肠道清洁差导致失败, 到达乙状结肠无法继续。1例因为横结肠冗长到达横结肠下垂角无法再继续操作(表3)。

## ■创新盘点

以往类似文章、报道也多对比研究了注水法与注气法结肠镜在舒适度、达盲率、达盲时间等方面的影响, 本文的创新之处在于, 分析和对比了失败案例的失败原因, 同时详细介绍了注水法的操作细节, 值得参考。

## ■应用要点

将来可以将注水法应用于结肠镜操作过程中, 全程注气为主, 间断注水减轻操作中腹痛程度。同时可以应用二氧化碳气体的注入, 减轻患者肠镜操作后的腹胀及腹痛程度。将几种方法相结合应用, 提高患者肠镜操作中及操作后的舒适度。



### ■名词解释

Olympus OFP内镜送水泵: OFP内镜送水泵是专为奥林巴斯电子内镜设计的周边产品, 是一款高效的蠕动式冲洗泵, 注入水后, 可直接对黏膜表面进行冲洗, 从而取得良好的观察、诊断、治疗效果。

### 3 讨论

近些年来, 许多学者都在努力研究怎样才能有效减轻结肠镜检查时的痛苦。同时对于老年人来讲, 因为老年人横结肠冗长、腹部肌肉相对松弛、肠道活动度相对较大, 结肠镜检查更是困难。年龄>80岁的女性患者、长期便秘的老年患者、有腹部或盆腔手术史的老年患者在行结肠镜检查时都容易出现插镜困难的情况。这是因为老年女性肠道活动度较大、腹部肌肉松弛, 所以插镜时镜身就很容易结袢。并且老年女性对于疼痛的忍受性较差, 包括腹部或盆腔手术后特别容易造成肠管之间黏连等。所以对老年患者, 尤其是老年女性患者行结肠镜检查会相对比较困难, 有过腹部及盆腔手术史的人会更加困难。随着麻醉技术的不断发展, 近些年来“无痛内镜”在临床得到广泛的应用。在麻醉状态下, 患者行结肠镜检查时的舒适度会明显提高, 但是跟普通肠镜相比较, 除了需要耗费更多的人力及物力成本以外, 麻醉下结肠镜又增加了麻醉的风险, 尤其对心肺功能不好的老年患者危险性就会更是会大大增加。同时麻醉下结肠镜检查难以观察患者的表情变化, 无法准确掌握患者的耐受力并及时预防并发症发生<sup>[9]</sup>, 部分患者会在检查过程中出现不同程度心率减慢、血压下降和呼吸暂停<sup>[10]</sup>, 所以影响了麻醉结肠镜在临床中对于老年患者的应用。同时有学者在不断研究应用二氧化碳作为肠镜检查时的注入气体, 但是其实这种方法本身只能使检查完成后肠道内气体快速吸收, 减轻检查以后的腹胀感, 并不能减轻结肠镜操作过程中的腹痛程度<sup>[11,12]</sup>。也有一些学者试图应用背景音乐的方法减轻患者肠镜检查过程中的腹痛, 但效果不佳。

结肠镜检查过程中失败并且造成患者痛苦的最常见原因就是乙状结肠成角或存在结肠冗长症<sup>[13]</sup>。最近研究<sup>[14-16]</sup>表明, 注水法结肠镜可减少患者检查过程中腹痛程度。在本研究中, 我们对比了传统的注气法结肠镜及注水法结肠镜在达盲率、达盲时间及患者疼痛程度方面的差异。虽然注气法结肠镜在检查的过程中一直在边吸气边退镜再进镜, 但肠腔内必然会有大量气体残留。乙状结肠气体上升至患者右侧结肠, 会使乙状结肠更加扭曲, 角度更加锐利, 使通过痛苦程度增加, 因此结肠镜无碍通过乙状结肠是结肠镜检查成功的关键。而注水法可良好的避免肠道痉挛或者延长, 减少成角的发生。患者

躺在检查床上, 采取左侧卧位, 由于重力的作用, 水向低位降结肠流去, 拉直乙状结肠部位的弯曲, 打开肠腔, 乙状结肠的肠系膜牵拉减少, 使患者的不适感明显降低。本研究结果表明, 注水组的患者腹痛的评分(3.23分±1.71分), 明显低于注气组的(4.87分±1.94分)。这说明, 注水法结肠镜检查确实能够有效减轻患者的腹痛程度。注水组结肠镜检查达盲率达98%, 注气组为94%, 按照常理推断, 注水法使通过乙状结肠时角度变钝, 疼痛程度减轻, 应该最终注水组达盲率明显高于注气组, 但是研究结果计算出 $P>0.05$ , 差异没有统计学意义, 也可能与我们的例数不多有关。

在本次研究当中, 注水组结肠镜操作过程中2例患者未能到达回盲部, 均因为横结肠冗长最终镜身长度不够导致无法到达回盲部, 且该两位患者均有便秘和结肠黑变病病史。而注气组有6例未能达盲, 只有1例由于横结肠冗长导致操作不能继续进行, 其余3例是因为操作过程中的腹痛难以忍受最终导致要求终止操作或者改为麻醉结肠镜, 另外2例则是因为肠道清洁差, 视野不清楚无法继续进镜导致操作终止。从失败的案例可以看出, 注水组患者更少的因为腹痛或者肠道清洁差操作失败, 因为注水可以减轻腹痛程度, 并且如果注水组患者肠道清洁差, 我们可以间断注入清水、吸出粪水直至肠道被冲刷干净, 看清肠腔继续进镜, 而注气组却无法做到这一点。再比较未达盲患者操作停止时镜子前端所到达的位置, 注水组两个失败患者均到达横结肠, 而注气组只有1例因为横结肠冗长的患者到达横结肠, 其余5例患者均在乙状结肠或者降乙交界处操作无法再继续进行。总之注水法结肠镜确实有其优势所在, 减轻患者腹痛程度, 并且即使在失败的患者当中, 注水法也可以尽可能观察更多的肠腔。

目前结肠镜检查时应用注水法时注入水的最适宜温度与最佳注水量尚存在一定的争议。目前应用最为广泛的水温就是36℃, 因为这个温度相对来说最接近人体的温度, 患者应用起来舒适度较好, 不会出现黏膜烫伤、腹痛或者直肠刺激症状<sup>[17]</sup>。本例研究注水量为约为200-1500 mL左右。

应用影像学方面的检查来检查肠道疾患, 存在不能更直观的观察病灶、容易遗漏较小病变、或不能留取病理确定疾病性质等等的弊端, 所以内镜检查有很多其他非侵入性检查不可替

代的价值. 因此寻找更舒适的结肠镜检查方法变得更加重要. 本研究表明, 注水法结肠镜检查是一种可以明显减轻老年患者肠镜检查操作过程中腹痛的方法. 它操作并不复杂、同时节省了麻醉药物的费用, 并且降低了老年患者的麻醉方面的风险, 临床上值得进一步推广实施. 展望未来, 也许有一天, 我们的老年患者在行结肠镜检查时可以有背景音乐帮助他们舒缓紧张的情绪, 可以应用间断注水法, 同时间断注入二氧化碳气体<sup>[18]</sup>, 这样既减轻了操作过程中的痛苦, 又减轻了操作完成后的腹胀程度, 同时应用透明帽<sup>[19]</sup>的检查方法提高各种肠道疾病的检出率. 那将是很理想的事情, 希望通过我们的研究逐步变为现实, 让更多的患者从中受益.

#### 4 参考文献

- Lieberman DA, Weiss DG, Bond JH, Ahnen DJ, Garewal H, Chejfec G. Use of colonoscopy to screen asymptomatic adults for colorectal cancer. Veterans Affairs Cooperative Study Group 380. *N Engl J Med* 2000; 343: 162-168 [PMID: 10900274 DOI: 10.1056/NEJM200007203430301]
- Imperiale TF, Wagner DR, Lin CY, Larkin GN, Rogge JD, Ransohoff DF. Risk of advanced proximal neoplasms in asymptomatic adults according to the distal colorectal findings. *N Engl J Med* 2000; 343: 169-174 [PMID: 10900275 DOI: 10.1056/NEJM200007203430302]
- Rex DK, Johnson DA, Lieberman DA, Burt RW, Sonnenberg A. Colorectal cancer prevention 2000: screening recommendations of the American College of Gastroenterology. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 868-877 [PMID: 10763931 DOI: 10.1016/S0002-9270(00)00851-0]
- Bowles CJ, Leicester R, Romaya C, Swarbrick E, Williams CB, Epstein O. A prospective study of colonoscopy practice in the UK today: are we adequately prepared for national colorectal cancer screening tomorrow? *Gut* 2004; 53: 277-283 [PMID: 14724164 DOI: 10.1136/gut.2003.016436]
- Ransohoff DF. Colon cancer screening in 2005: status and challenges. *Gastroenterology* 2005; 128: 1685-1695 [PMID: 15887159 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.04.005]
- Dafnis G, Granath F, Pahlman L, Ekblom A, Blomqvist P. Patient factors influencing the completion rate in colonoscopy. *Dig Liver Dis* 2005; 37: 113-118 [PMID: 15733524 DOI: 10.1016/j.dld.2004.09.015]
- Church JM. Complete colonoscopy: how often? And if not, why not? *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 556-560 [PMID: 8147359]
- Ciocco WC, Rusin LC. Factors that predict incomplete colonoscopy. *Dis Colon Rectum* 1995; 38: 964-968 [PMID: 7656745 DOI: 10.1007/BF02049733]
- 夏莉. 结肠镜检查的护理体会. *临床和实验医学杂志* 2008; 7: 193-194
- 周骥, 付雄, 周正华. 无痛肠镜单人操作132例临床分析. *中国社区医师* 2008; 32: 337-342
- Shi WB, Wang ZH, Qu CY, Zhang Y, Jiang H, Zhou M, Chen Y, Xu LM. Comparison between air and carbon dioxide insufflation in the endoscopic submucosal excavation of gastrointestinal stromal tumors. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7296-7301 [PMID: 23326136 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7296]
- Wu J, Hu B. The role of carbon dioxide insufflation in colonoscopy: a systematic review and meta-analysis. *Endoscopy* 2012; 44: 128-136 [PMID: 22271023 DOI: 10.1055/s-0031-1291487]
- Gay G, Delvaux M. Double-balloon colonoscopy after failed conventional colonoscopy: a pilot series with a new instrument. *Endoscopy* 2007; 39: 788-792 [PMID: 17703387]
- Leung J, Mann S, Siao-Salera R, Ransibrahmanakul K, Lim B, Canete W, Samson L, Gutierrez R, Leung FW. A randomized, controlled trial to confirm the beneficial effects of the water method on U.S. veterans undergoing colonoscopy with the option of on-demand sedation. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 103-110 [PMID: 21184876 DOI: 10.1016/j.gie.2010.09.020]
- Leung FW, Leung JW, Mann SK, Friedland S, Ramirez FC, Olafsson S. DDW 2011 cutting edge colonoscopy techniques - state of the art lecture master class - warm water infusion/CO(2) insufflation for colonoscopy. *J Intern Gastroenterol* 2011; 1: 78-82 [PMID: 21776430]
- Radaelli F, Paggi S, Amato A, Terruzzi V. Warm water infusion versus air insufflation for unsedated colonoscopy: a randomized, controlled trial. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 701-709 [PMID: 20883846 DOI: 10.1016/j.gie.2010.06.025]
- Rabenstein T, Radaelli F, Zolk O. Warm water infusion colonoscopy: a review and meta-analysis. *Endoscopy* 2012; 44: 940-951 [PMID: 22987214 DOI: 10.1055/s-0032-1310157]
- 陈英, 杜斌, 杨春敏, 范勤, 韩全利, 李静, 贾敏, 于妍. 二氧化碳灌注提高老年患者结肠镜检查舒适度的随机对照研究. *胃肠病学* 2012; 17: 288-292
- 李明阳, 王志强, 张子其, 陈孝, 刘婧, 付永和. 透明帽辅助结肠镜单人操作在老年患者检查中的临床应用. *现代生物医学进展* 2010; 10: 4504-4506

#### ■同行评价

注气和注水两种方法临床上均有应用, 注气法应用更为普遍, 而日本医生喜欢注水. 两者临床效果差别不大, 但注水法较为麻烦, 中国医生大多不用. 本文在两种方法上做了对比, 对临床有一定的指导作用.

编辑 郭鹏 电编 闫晋利



# 回盲部病变1例

王玉珍, 胡义亭, 杨晶, 苏少慧

## ■背景资料

患者从8岁开始因右下腹部症状就医, 9年间辗转多家医院, 做过多次肠道检查, 口服过多种药物, 最终因肠梗阻行手术治疗, 病理报告不支持结核和Crohn病, 未见淋巴瘤。患者术后无腹部不适, 能正常上学。

王玉珍, 胡义亭, 杨晶, 苏少慧, 河北省人民医院消化科 河北省石家庄市 050071

王玉珍, 主任医师, 主要从事慢性肝病和功能性胃肠病的研究。  
作者贡献分布: 王玉珍为文章起草者; 胡义亭负责资料的收集; 杨晶与苏少慧负责患者的治疗。

通讯作者: 王玉珍, 主任医师, 050071, 河北省石家庄市和平西路348号, 河北省人民医院消化科。wyzhen211@126.com  
收稿日期: 2013-07-23 修回日期: 2013-12-05  
接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-08

## A case of ileocecal lesion

Yu-Zhen Wang, Yi-Ting Hu, Jing Yang, Shao-Hui Su

Yu-Zhen Wang, Yi-Ting Hu, Jing Yang, Shao-Hui Su, Department of Digestive, Hebei People's Hospital, Shijiazhuang 050071, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Zhen Wang, Chief Physician, Department of Digestive, Hebei People's Hospital, 348 Heping West Road, Shijiazhuang 050071, Hebei Province, China. wyzhen211@126.com

Received: 2013-07-23 Revised: 2013-12-05  
Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-08

## Abstract

A female patients presented with a lower right abdominal lesion initially found at the age of 12. Subsequently, the lesion was once diagnosed as "appendicitis", "intestinal tuberculosis", and "Crohn's disease" and received corresponding treatments. She received surgical treatment at 17 years of age due to incomplete intestinal obstruction, and postoperative pathology did not support the diagnosis of tuberculosis, Crohn's disease, and lymphoma. Her condition was stable during the following 3 years of postoperative follow-up.

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

Key Words: Ileocecal lesion; Follow-up

Wang YZ, Hu YT, Yang J, Su SH. A case of ileocecal lesion. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(4): 606-608  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/606.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.606>

## ■同行评议者

张国梁, 主任医师, 天津市第一中心医院消化内科

## 摘要

女, 从12岁开始发现右下腹部病变, 曾经按

“阑尾炎”、“肠结核”、“Crohn病”给予治疗, 17岁因发生不全肠梗阻行手术治疗, 术后病理不支持结核和Crohn病, 未见淋巴瘤。术后随访3年病情稳定。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 回盲部; 随访

**核心提示:** 患者因回盲部病变辗转多年就诊, 进行过结肠镜、消化系造影、腹部CT等各种检查, 口服过5联抗痨药物, 按照克罗恩病进行过规范治疗, 最终发生不全肠梗阻行手术治疗, 术后病理报告不支持结核和Crohn病, 未见淋巴瘤。患者术后无腹部不适, 能正常上学。

王玉珍, 胡义亭, 杨晶, 苏少慧. 回盲部病变1例. 世界华人消化杂志 2014; 22(4): 606-608 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/606.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i4.606>

## 0 引言

回盲部是消化系统小肠与大肠的交汇区, 该部位淋巴组织丰富, 是多种疾病如淋巴瘤、结核、炎症性肠病等好发部位, 是消化科医生面临的诊治难点。

## 1 病例报告

女, 学生, 出生于1993年, 2001年(8岁)开始出现间断腹痛, 右下腹隐痛, 可忍受, 无发热、腹泻、便血, 腹痛严重时当地输“抗菌素”能减轻疼痛, 2005年(12岁)腹痛加重, 右侧为主, 伴有恶心、呕吐, 无发热, 无大便异常, 当地按“阑尾炎”行阑尾切除, 术中发现“阑尾明显水肿”, 给予切除, 同时发现“周围有一包块”, 大小不详, 未予处理。术后半年患者食欲好, 体重增加。手术半年后患者腹痛时有发作, 在北京医科大学附属第一医院行钡灌肠检查, 结果未见异常, 未行治疗。

患者于2006年(13岁)因右下腹痛就诊于我院消化科。入院查体, T 36.5 °C, P 90次/min, BP 120/80 mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa), 患者比同龄



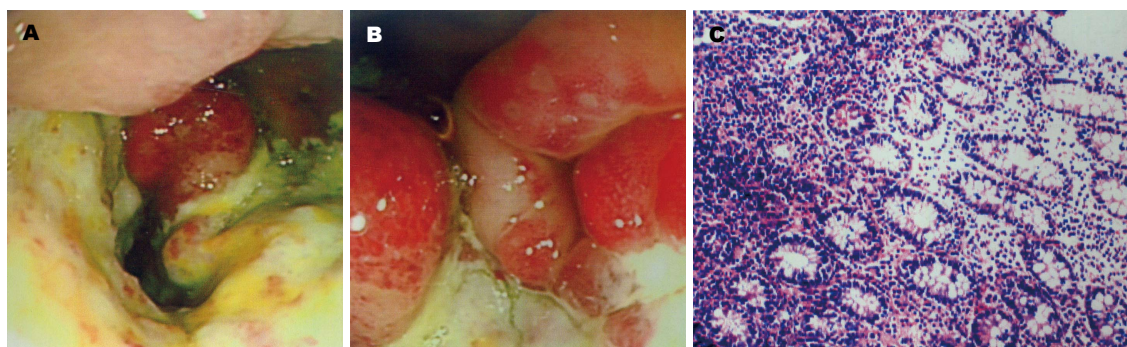


图1 2006年结肠镜及病理结果. A: 回盲瓣; B: 盲肠; C: 回盲部( $\times 200$ ), 咬检组织, 黏膜中度慢性炎症, 急性反应, 伴炎性肉芽组织.

人消瘦, 体质量30 kg, 心肺查体无异常, 右下腹触及饱满, 有压痛, 无反跳痛, 肌紧张, 胸片显示心肺膈未见异常, 3次血常规检查WBC:  $10.1 \times 10^9/L$ - $13.1 \times 10^9/L$ 之间, 中性粒细胞(N)0.75-0.8, 血红蛋白(Hb)115-120 g/L, 血小板 $320 \times 10^9/L$ - $390 \times 10^9/L$ , 血沉正常, PPD(-), 尿便常规未见异常, 生化检查无异常. 结肠镜检查回肠末端未见异常, 回盲瓣及盲肠、部分升结肠可见巨大浅表溃疡, 约占2/3官腔周径, 附着白苔, 周边皱襞隆起, 局部呈结节样改变. 结肠镜检查如图所示, 并同时附病理检查结果(图1).

盲肠黏膜涂片, 发现耐酸杆菌. CT示盲肠升结肠中下段及末端回肠管壁增厚, 肠系膜及大网膜多发结节影, 不排除结核. 给予试验性抗痨治疗(2006-12开始)口服异烟肼0.3, 1次/d, 利福喷丁0.45, 2次/wk, 乙胺丁醇0.5, 1次/d. 患者腹痛缓解, 带药出院. 出院后患者坚持口服抗痨药物, 半年内体质量逐渐增加.

2007-09患者又因消瘦、乏力(服抗痨药9 mo)就诊于北京市儿童医院, 当时体质量29 kg, 同龄儿应在45 kg左右. 行结肠镜及全消化系造影等检查诊断肠结核? 给予5联抗痨治疗, 分别是异烟肼、利福平、吡嗪酰胺、乙胺丁醇、链霉素. 住院12 d出院后继续坚持5联抗痨治疗半年.

2008-05(服抗痨药1年5 mo)出现腹痛, 伴有不全肠梗阻的临床表现, 腹痛发作时右下腹部可以触及大小5 cm $\times$ 5 cm包块. 再次就诊于河北省级医院, 复查结肠镜示: 回盲部、升结肠黏膜充血糜烂, 血管纹理不清晰, 肠腔变窄, 应用靛胭脂染色后可见铺路石样改变, 放大肠镜观察病变处正常黏膜结构消失. 镜下诊断为Crohn病? 回盲部咬检病理报告肠壁黏膜浅表性溃疡, 肠壁大部分由较多的淋巴细胞, 中性粒细胞及血管构成肉芽肿结构, 符合克罗恩病. 停抗痨药物给

予奥沙拉嗪, 3 g/d口服, 腹痛仍有间断发作, 自己有时能触到右下腹包块.

2009-03患者再次就诊于北京医科大学附属医院, 当时查结肠镜报告: 盲肠溃疡, 回盲瓣狭窄性质待查, 克罗恩病可能性大. 病理报告: 黏膜慢性炎症, 间质淋巴、单核及中性粒细胞浸润, 腺体增生, 伴有轻度非典型变, 伴有溃疡形成. 小肠造影报告: 回盲部溃疡、狭窄, 伴有不全梗阻. 诊断为克罗恩病. 口服美沙拉嗪基础上加上强的松和硫唑嘌呤, 住院16 d, 糖皮质激素逐渐减量出院, 出院后坚持口服美沙拉嗪和硫唑嘌呤, 腹痛症状略有缓解, 腹痛时仍可触到右下腹部包块.

2010-02因反复发生不全肠梗阻就诊我院外科, 当时患者17岁, 体质量45 kg, 生命体征稳定, 血常规、便常规及生化检查均在正常范围, 钡灌肠显示回盲部结肠轻度狭窄, 外形无明显异常, 考虑盲肠及部分升结肠炎性病变. 行手术治疗, 手术记录回盲部探及肿物5 cm $\times$ 4 cm $\times$ 3 cm, 和周围轻度黏连, 回肠末端20 cm扩张, 肠壁增厚, 行右半结肠切除术, 距离回盲部25 cm断小肠, 切除肠管33 cm, 行回肠横结肠端侧吻合, 切除肠段经我院及北京医科大学病理科会诊均不支持结核和Crohn病, 未见淋巴瘤. 手术标本及病理图片如下(图2).

术后患者未服用任何药物, 已经随诊3年多, 饮食正常, 无腹痛发作, 大便正常, 体质量55 kg, 学习成绩优秀, 未再进一步行肠道检查.

## 2 讨论

该患者自8岁开始因腹部症状多次、多地就诊, 检查结果集中在回盲部病变上. 回盲部结构复杂, 功能特殊, 肠内容物在此停留时间较长, 导致该部位疾病发生率高. 回盲部病变主要病因

## ■研发前沿

回盲部病变病情复杂, 是消化科医生面临的诊治难点, 尤其在结核和炎症性肠病之间鉴别起来很困难, 目前, 回盲部病变的诊断没有金标准, 需要消化科医生积累更多的临床经验与同行分享.

## ■创新盘点

该病例报道随诊患者7年, 对各种检查及治疗有详细的追踪资料, 有手术标本及病理检查结果, 对回盲部病变的诊治贡献了1份难得的病例.

## ■同行评价

本文对内镜医师和临床医师有很好的学术价值,具有一定指导意义.

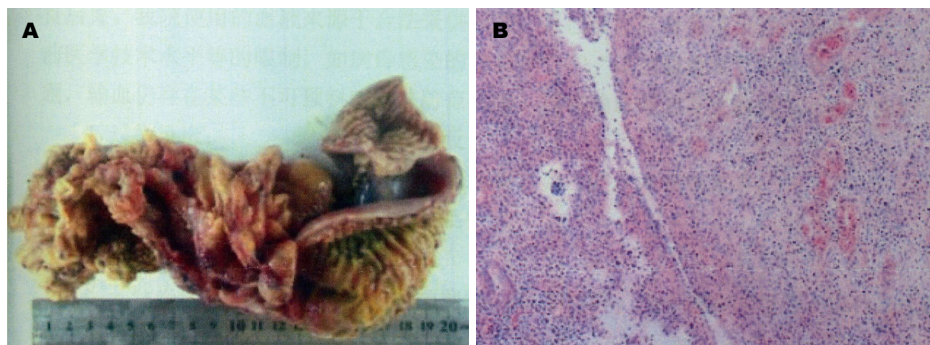


图 2 2012年手术标本及病理结果. A: 大体标本; B: 病理( $\times 40$ ), 不支持肠结核或克罗恩病, 考虑炎性病变伴有淋巴组织增生.

有结核、Crohn病、淋巴瘤、白塞氏病、慢性感染性疾病如耶尔森菌感染、癌肿等. 该患者多次结肠镜检查取组织活检未见肿瘤细胞, 无口腔、外阴溃疡及皮肤病变, 可以除外该部位癌肿及白塞病, 无发热及生化上酶学变化, 组织学也不支持淋巴瘤. 因盲肠黏膜涂片找到耐酸杆菌和随后活检组织病理报告符合Crohn病, 先后给予抗痨治疗和5氨基水杨酸、强的松和硫

唑嘌呤治疗, 最终因反复发生的不全肠梗阻行手术治疗, 术后病理否定结核和Crohn病, 术后随诊3年多未发现患者异常. 回顾患者诊疗过程, 是否有慢性细菌感染存在? 抗结核治疗可能对患者的病情发展起到了一定的控制作用.

### 3 参考文献

- 1 孔文霞, 高青. 回盲部病变诊断的研究进展. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2382-2387

编辑 田滢 电编 闫晋利



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。



《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wjcd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$  ( $P>0.05$  不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上



角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

## 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司  
100025, 北京市朝阳区东四环中路62号  
远洋国际中心D座903室  
电话: 010-5908-0035  
传真: 010-8538-1893  
E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2013年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈国忠 主任医师  
广西医科大学消化内科

戴朝六 教授  
中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

党双锁 教授  
西安交通大学医学院第二附属医院感染科

杜雅菊 主任医师  
哈尔滨医科大学附属第二医院

杜奕奇 副教授  
中国人民解放军第二军医大学长海医院

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

傅华群 教授  
南昌大学第二附属医院

官泳松 教授  
四川大学华西医院放射科

关玉盘 教授  
首都医科大学附属北京朝阳医院消化科

郝丽萍 副教授  
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

官泳松 教授  
四川大学华西医院放射科

何敏 教授  
广西医科大学医学科学实验中心

江建新 副主任医师  
贵阳医学院附属医院肝胆胰脾外科

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内镜科

刘连新 教授  
哈尔滨医科大学第一临床医学院

林潮双 主任医师  
中山大学附属第三医院

倪润洲 教授  
南通大学附属医院消化内科

任粉玉 教授  
吉林省延边大学附属医院消化内科

石毓君 副研究员  
四川大学华西医院

齐清会 教授  
大连医科大学附属第一医院

邱伟华 主任医师  
上海交通大学医学院附属瑞金医院普外科

王德盛 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院

魏睦新 教授  
南京医科大学第一附属医院

吴建兵 教授  
南昌大学第二附属医院

肖秀英 主治医师  
上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科

薛东波 教授  
哈尔滨医科大学附属第一医院

殷正丰 教授  
中国人民解放军第二军医大学东方肝胆外科医院

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张明辉 副主任医师  
河北医科大学第一医院



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士:

我们谨此郑重通知:依据文献计量学的原理和方法,经研究人员对相关文献的检索、统计和分析,以及学科专家评审,贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系,列出了73个学科的核心期刊表,并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括:题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作,是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动,研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊(光盘版)电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究,进一步改进了核心期刊评价方法,使之更趋科学合理,力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种,统计到的文献数量共计221177余万篇次,涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是,该研究成果只是一种参考工具书,主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考,例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等,不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章:





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 2 月 18 日      第 22 卷      第 5 期      (Volume 22 Number 5)**



**5/2014**

ISSN 1009-3079



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



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇副研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君副研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年2月18日 第22卷 第5期 (总第445期)

述 评	609 Wnt/ $\beta$ -catenin通路与肝星状细胞的活化、增殖 王心蕊, 鲁玉辉
基础研究	615 P162抑制Hedgehog信号转录因子Gli-1增强食管癌Eca109细胞的放射敏感性 陈洁, 吴清明, 龙辉, 张红, 陈建华 624 结肠癌中相关miRNA对NRP2调控的预测及鉴定 李明, 连海峰, 刘成霞, 马锋振, 谢书阳
临床研究	630 肝癌患者血浆中PLAG1的异常表达 付琳, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达
文献综述	637 NDRG2与肝纤维化相关性的研究进展 马继征, 刘绍能, 陈兰羽, 姚乃礼 642 质子泵抑制剂防治化疗引起胃肠道黏膜损伤的研究进展 谢一娜, 黄其春 648 胆管癌支架治疗的现状及进展 于泓, 缪林 654 miR-375在消化系肿瘤中的研究进展 颜俊伟, 廖家智, 林菊生, 何星星
研究快报	661 肠癌大鼠与正常大鼠粪便菌群的结构差异 高仁元, 朱庆超, 伍雯, 秦环龙 668 P38MAPK抑制剂对溃疡性结肠炎大鼠外周血淋巴细胞凋亡及相关调控蛋白的影响 李军华, 周薇
临床经验	674 核素胃排空检查在功能性消化不良患者中的临床应用 张悦, 张遵城, 董萍, 董华, 肖连东, 王国强 679 冰帽参与治愈显著肝性脑病后患者认知功能的评价 张玉波, 刘振坤, 陈立敏, 袁亚松, 纪志伟, 李佳桂 685 超声内镜辅助治疗恶性梗阻性黄疸105例 李明, 郝芳, 秦鸣放 690 应用SELDI-TOF-MS技术筛选肝癌遗传性血清蛋白标志物 邓敬恒, 陈智平, 李山, 秦雪, 黄东萍 695 INPP4B和PTEN蛋白在肝细胞癌中的表达及其意义 张洋洋, 李建生, 贺德志, 蒋冬 700 腹腔镜胆囊切除术对HIV感染者细胞免疫的影响 胡明辉, 魏国, 赵勇, 范合璋, 华欣, 何永, 蔡林 705 导丝超选胆管插入法与乳头直接插入法对ERCP术后并发症的影响比较 毕荣欣, 薛志广, 张伟, 周亮 709 内镜黏膜下剥离术治疗直肠类癌17例 王海波, 吴会超, 彭丹若, 刘 黔, 度必光 713 机会性结肠镜检查对结直肠肿瘤发现率的影响 兰君, 孙方利, 吴军, 付信娟, 滕春媛, 王燕平 718 LETM1蛋白在结肠癌组织中的表达及临床意义 高爱花, 金永民, 孙红花, 金文彪, 崔海, 崔现, 崔玉珍, 沈雄虎, 张松男, 朴龙镇 724 IGF- I 、IGF- I R、IGF- II 在结直肠腺瘤中的表达及意义 谭晓林, 刘祥玉, 米贤军, 谢彩虹, 赵超, 陈冬妹, 肖文, 尹泉, 施为建 730 ESD术治疗上消化道疾病50例 沈睿炜, 孙聪, 郑惠虹, 孙常波, 李江波, 魏冬梅, 朱红梅, 王贤君 735 医用胶经导管行消化系出血血管栓塞的疗效 程斌, 许敏, 蒋天鹏, 宋杰, 安天志, 周石 742 IL-10、TNF- $\alpha$ 在不同菌型幽门螺杆菌感染消化性溃疡中的表达 游海梅, 胡团敏



病例报告	747 胰胆管合流异常术后残余胆管复发结石1例 张恺, 路军华, 张宪文
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	641 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 660 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 678 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 689 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 694 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 746 《世界华人消化杂志》栏目设置
封面故事	《世界华人消化杂志》编委, 鲁玉辉, 副教授, 350122, 福建省福州市闽侯上街邱阳西路1号, 福建中医药大学中医学院
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-02-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

http://www.wjgnet.com

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## February 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 5

<b>EDITORIAL</b>	609 Role of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in activation and proliferation of hepatic stellate cells <i>Wang XR, Lu YH</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	615 P162 enhances radiosensitivity of esophageal carcinoma Eca109 cells by inhibiting Hedgehog signaling transcription factor Gli-1 <i>Chen J, Wu QM, Long H, Zhang H, Chen JH</i> 624 Prediction and identification of microRNAs involved in regulating neuropilin-2 in colorectal carcinoma <i>Li M, Lian HF, Liu CX, Ma FZ, Xie SY</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	630 Abnormal expression of PLAG1 in plasma of patients with hepatocellular carcinoma <i>Fu L, Yang YX, Bai YQ, Zhang LD</i>
<b>REVIEW</b>	637 NDRG2 and hepatic fibrosis <i>Ma JZ, Liu SN, Chen LY, Yao NL</i> 642 Advances in prevention and treatment of chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis with proton pump inhibitors <i>Xie YL, Huang QC</i> 648 Biliary stenting for cholangiocarcinoma: An update <i>Yu H, Miao L</i> 654 Roles of miR-375 in digestive tumors <i>Yan JW, Liao JZ, Lin JS, He XX</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	661 Compositional differences in fecal microbiota between rats with colorectal cancer and normal rats <i>Gao RY, Zhu QC, Wu W, Qin HL</i> 668 P38 mitogen-activated protein kinase inhibitor SB203580 promotes peripheral blood lymphocyte apoptosis in rats with colitis <i>Li JH, Zhou W</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	674 Radionuclide gastric emptying scintigraphy in patients with function dyspepsia <i>Zhang Y, Zhang ZC, Dong P, Dong H, Xiao LD, Wang GQ</i> 679 Assessment of cognitive function of patients after resolution of overt hepatic encephalopathy with ice cap participated treatment <i>Zhang YB, Liu ZK, Chen LM, Yuan YS, Ji ZW, Li JG</i> 685 Endoscopic ultrasonography for auxiliary treatment of malignant obstructive jaundice: An analysis of 105 cases <i>Li M, Hao F, Qin MF</i> 690 Detection of hereditary serum markers for liver cancer using SELDI-TOF-MS protein chip technology <i>Deng JH, Chen ZP, Li S, Qin X, Huang DP</i> 695 Significance of expression of INPP4B and PTEN in hepatocellular carcinoma <i>Zhang YY, Li JS, He DZ, Jiang D</i> 700 Impact of laparoscopic cholecystectomy on cellular immunity in patients with HIV infection <i>Hu MH, Wei G, Zhao Y, Fan HZ, Hua X, He Y, Cai L</i> 705 Comparison of post-ERCP complications between patients using guidewire ultra-election duct insertion versus those using direct papillary insertion <i>Bi RX, Xue ZG, Zhang W, Zhou L</i> 709 Endoscopic submucosal dissection for rectal carcinoid tumors: An analysis of 17 cases <i>Wang HB, Wu HC, Peng DR, Liu Q, Tuo BG</i> 713 Detection rate of colorectal neoplasms by opportunistic colonoscopy <i>Lan J, Sun FL, Wu J, Fu XJ, Teng CY, Wang YP</i> 718 Clinical significance of LETM1 protein expression in colonic cancer <i>Gao AH, Jin YM, Sun HH, Jin WB, Cui H, Cui X, Cui YZ, Shen XH, Zhang SN, Piao LZ</i> 724 Significance of expression of IGF- I , IGF- I R and IGF- II in colorectal adenoma <i>Tan XL, Liu XY, Mi XJ, Xie CH, Zhao C, Chen DM, Xiao W, Yin Q, Shi WJ</i> 730 Endoscopic submucosal dissection for upper gastrointestinal lesions: Our experience with 50 cases <i>Shen RW, Sun C, Zheng HH, Sun CB, Li JB, Wei DM, Zhu HM, Wang XJ</i> 735 Transcatheter arterial embolization with medical adhesive for nonvariceal gastrointestinal bleeding <i>Chen B, Xu M, Jiang TP, Song J, An TZ, Zhou S</i> 742 Serum levels of IL-10 and TNF- $\alpha$ in patients with peptic ulcer caused by different <i>Helicobacter pylori</i> strains <i>You HM, Hu TM</i>

<b>CASE REPORT</b>	747 Recurrent gallstones in residual bile ducts after surgery for pancreaticobiliary maljunction: A case report and literature review <i>Zhang K, Lu JH, Zhang XW</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	Editorial Board Member of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> , Yu-Hui Lu, Associate Professor, College of TCM, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 1 Qiuyang West Road, Minhou Shang Street, Fuzhou 250122, Fujian Province, China
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** February 18, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

E-mail: wjcd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpg@baishideng.com

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# Wnt/ $\beta$ -catenin通路与肝星状细胞的活化、增殖

王心蕊, 鲁玉辉

王心蕊, 鲁玉辉, 福建中医药大学中医学学院 福建省福州市 350122

鲁玉辉, 副教授, 主要从事中医湿热病证治规律及肝病中西医结合防治的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81173180/H2704

福建省自然科学基金资助项目, No. 2011J01216

作者贡献分布: 本文综述由王心蕊与鲁玉辉完成; 王心蕊贡献较多; 鲁玉辉审核。

通讯作者: 鲁玉辉, 副教授, 350122, 福建省福州市闽侯上街邱阳西路1号, 福建中医药大学中医学学院. luyuhui2006@163.com

收稿日期: 2013-12-20 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-18

## Role of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in activation and proliferation of hepatic stellate cells

Xin-Rui Wang, Yu-Hui Lu

Xin-Rui Wang, Yu-Hui Lu, College of TCM, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, Fuzhou 250122, Fujian Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81173180/H2704; the Natural Science Foundation of Fujian Province, No. 2011J01216

Correspondence to: Yu-Hui Lu, Associate Professor, College of TCM, Fujian University of Traditional Chinese Medicine, 1 Qiuyang West Road, Minhou Shang Street, Fuzhou 250122, Fujian Province, China. luyuhui2006@163.com

Received: 2013-12-20 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-18

## Abstract

Liver fibrosis refers to a pathological state in which a variety of pathogenic factors lead to hepatocyte inflammation and necrosis, the imbalance between degradation and deposition of collagen and other extracellular matrix (ECM) molecules, and the abnormal proliferation of liver connective tissue. In the process of the formation of hepatic fibrosis, hepatic stellate cells are the major contributor. Activated hepatic stellate cells secrete extracellular matrix components, and excessive deposition of extracellular matrix is the central event in liver fibrosis. Currently, there have been many articles reporting that the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway is involved in organ fibrosis and liver fibrosis, but the underlying mechanism has not been clearly clarified. Some studies have also confirmed that there is a certain relationship

between the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and activation of hepatic stellate cells in liver fibrosis.

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

Key Words: Hepatic fibrosis; Hepatic stellate cells; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling

Wang XR, Lu YH. Role of Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in activation and proliferation of hepatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 609-614 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/609.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.609>

## 摘要

肝纤维化是指各种致病因子导致肝细胞炎症、坏死, 肝脏中胶原蛋白等细胞外基质(extracellular matrix)降解与沉积失衡, 进而导致肝脏内结缔组织异常增生的病理状态。在肝纤维化的形成过程中, 肝星状细胞为主要效应细胞。肝星状细胞的激活、分泌细胞外基质、过度的细胞外基质的沉积是形成肝纤维化的中心环节。Wnt/ $\beta$ -catenin通路参与器官纤维化的机制并没有被明确, 但已有文献报道Wnt信号通路参与器官纤维化和肝纤维化的过程中。国内外也均有研究证实Wnt/ $\beta$ -catenin通路与肝星状细胞的活化增殖、肝纤维化存在着一定的关系。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝纤维化; 肝星状细胞; Wnt/ $\beta$ -catenin通路

**核心提示:** 经典的Wnt/ $\beta$ -catenin通路与肝星状细胞的激活存在着一定的关联, 非经典Wnt通路亦参与到肝星状细胞的激活之中。Wnt通路与肝纤维化的形成存在着一定的联系。且Wnt通路可与细胞内其他的信号通路存在着信号通讯。TGF- $\beta$ 与Wnt通路之间的信号通讯, 参与了肝纤维化的形成。

王心蕊, 鲁玉辉. Wnt/ $\beta$ -catenin通路与肝星状细胞的活化、增殖. *世界华人消化杂志* 2014; 22(5): 609-614 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/609.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.609>

## ■背景资料

目前普遍认为, 在肝纤维化的过程中, 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)为主要效应细胞。HSCs的激活, 分泌细胞外基质, 过度的细胞外基质的沉积是形成肝纤维化的关键环节。而活化的HSCs, 也将成为人们抗纤维化的主要治疗靶点。而HSCs的激活机制并未清楚阐明, 本文从Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路来浅述该通路与HSCs的激活、肝纤维化的形成之间的关联。

**■同行评议者**  
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

## ■ 研发前沿

HSCs可藉由不同的细胞通路活化,如TGF- $\beta$ /Smad通路、MAPK通路、PDGF、NF- $\kappa$ B这些信号通路。新兴研究的Wnt通路亦参与到HSCs的活化中。Wnt通路分为经典通路和非经典通路,越来越多的研究证实了异常的Wnt通路与人类许多疾病有关,如神经系统退行性病变、癌症、器官纤维化、心血管系统疾病等。干扰异常的Wnt通路的活性的分子机制,是否可成为治疗疾病的策略,有待更深入的研究。

## 0 引言

肝纤维化是指各种致病因子导致肝细胞炎症、坏死,肝脏中胶原蛋白等细胞外基质(extracellular matrix, ECM)降解与沉积失衡,进而导致肝脏内结缔组织异常增生。肝纤维化是慢性肝病以及各种损肝因素所致的肝脏损伤重要的病理特征。目前普遍认为,在肝纤维化的过程中,肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)为主要效应细胞。HSCs的激活,分泌细胞外基质,过度的细胞外基质的沉积是形成肝纤维化的关键环节。而活化的HSCs,也将成为人们抗纤维化的主要治疗靶点<sup>[1]</sup>。而新兴研究的Wnt/ $\beta$ -catenin通路,在动物胚胎发育、器官形成、组织再生等生理过程中,具有重要的作用,激活的异常的Wnt/ $\beta$ -catenin通路也参与到癌症的形成、阿兹海默病、器官纤维化等过程中。本文旨在从Wnt/ $\beta$ -catenin通路来浅述该通路、HSCs与肝纤维化之间的关系。

## 1 HSCs的活化与肝纤维化

HSCs位于窦周Disse腔内,正常情况下主要起着代谢和储存维生素A的作用,能够合成与分泌少量的细胞外基质,有一定的产生胶原酶的能力。肝纤维化时,静止状态的星状细胞活化。而活性氧、脂质过氧化产物,或者其他由邻近细胞如活化的Kupffer细胞、肝窦内皮细胞、损伤的肝细胞分泌的分子,都有可能促进静止态的星状细胞活化<sup>[2]</sup>。活化后的星状细胞存在着形态学上的改变,包括分泌 $\alpha$ 平滑肌肌动蛋白(alpha smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)、细胞内储存维生素A的丢失、粗面内质网的增加<sup>[2,3]</sup>。星状细胞的活化亦伴随一系列基因表达的改变,包括活化的星状细胞细胞膜上增加了对旁分泌刺激产生应答的受体<sup>[4]</sup>;以及一系列细胞内信号级联反应,该细胞内信号级联反应有利于维持活化的细胞表型、控制纤维化的发生以及星状细胞增殖状态以及I型和III型胶原蛋白的转录与翻译的增加<sup>[3]</sup>。

肝纤维化是一种可逆的伤口愈合反应,在各种慢性肝损伤中,肝纤维化最具特色的特征是I型胶原蛋白过多的沉积<sup>[2,3]</sup>,主要产自活化的HSCs。细胞外基质的过度分泌与积累主要责之于活化的HSCs。HSCs激活后,转变为类成肌纤维细胞,具有了收缩能力、增殖、趋药性、纤维形成、基质减少和维生素A的丢失等特性<sup>[4]</sup>。已有研究显示活化的HSCs在肝损伤后一段时间,

具有了纤维化形成和肝组织再生的能力,且慢性肝损伤伴随着明显的基质减少,而这些最终导致大量的胶原沉积<sup>[5]</sup>。已研究的TGF- $\beta$ /Smad通路、MAPK通路、PDGF、NF- $\kappa$ B这些信号通路,在HSCs活化后,主要控制纤维化反应的基因表达的诱导<sup>[3,6]</sup>。与静止期HSC比较,能观察到前胶原 $\alpha$ 1与 $\alpha$ 2、纤连蛋白等细胞外基质组成成分基因的表达<sup>[3]</sup>。HSCs亦对VEGF和血管生成素1作用的应答,表现在增殖、ECM组成成分的沉积增加<sup>[7]</sup>。另有文献报道,阻止HSCs的活化或通过细胞凋亡、免疫清除、细胞表型逆转、细胞衰老等减少活化的HSCs,都有利于肝纤维化的逆转<sup>[8]</sup>。使用抗氧化剂和抗细胞凋亡的半胱天冬酶,亦可增强大鼠肝纤维化的逆转<sup>[9]</sup>。肝纤维化复原过程中HSCs的死亡通过凋亡和衰老两种方式已被证明,其量化的贡献是未知的,理论上来说,活化的HSCs可能分化为另一种表型或恢复为静止态HSCs<sup>[10]</sup>。Ariane Mallat与Sophie Lotersztajn研究表示,在肝纤维化复原过程中,半数肌成纤维细胞并未凋亡,而是下调了形成纤维化的基因,获得一种类似于静止态HSCs的表型,但与静止态HSCs的表型相比,区别之处在于,在与促进纤维化形成刺激物的反应应答中更迅速再活化为肌成纤维细胞以及更具有形成肝纤维化的能力<sup>[11]</sup>。

## 2 Wnt/ $\beta$ -catenin通路与器官纤维化

Wnt蛋白是一类富含半胱氨酸的糖蛋白家族,参与调控了器官发育,细胞增殖和迁移,细胞分化以及细胞极性的产生。Wnt蛋白与细胞膜上的卷曲样蛋白结合,诱发一系列信号分子的表达与活化,发挥其生物学效应。Wnt途径分为经典途径和非经典途径。到目前为止,至少有19种Wnt蛋白被人们鉴别。一般说来,wnt1、wnt2、wnt3a、wnt8和wnt8a属于经典wnt信号途径蛋白,而wnt4、wnt5a、wnt5b、wnt6、wnt7a和wnt11是非经典wnt信号蛋白<sup>[12]</sup>。经典的wnt信号途径是指 $\beta$ -catenin介导的wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,Wnt蛋白与细胞膜表面Frizzled和LRP家族受体结合,将信号传给Dishevelled(Dsh),活化的Dsh抑制Axin、APC、GSK-3 $\beta$ 组成的复合物的活性,使胞浆内 $\beta$ -catenin蛋白不能被磷酸化,积累的 $\beta$ -catenin与转录因子TCF/LEF结合,调节靶基因的表达。在没有Wnt信号时,胞浆内 $\beta$ -catenin被GSK-3 $\beta$ 磷酸化,后被泛素化,最终被蛋白酶体降解。Wnt蛋白拮抗剂、核转录因子TCF的显性负

性突变体等, 均可阻断Wnt信号通路<sup>[13]</sup>.

已有大量文献报道, 活化的异常的Wnt/ $\beta$ -catenin通路参与到多种疾病中. 在神经系统中, Wnt信号通路可调节神经元形态发生和突触分化, 异常的Wnt信号通路涉及到多种神经系统疾病, 如慢性疼痛的发病机制<sup>[14]</sup>以及阿尔兹海默病<sup>[15]</sup>, 在帕金森综合征中, 调节经典和非经典Wnt信号通路来改善细胞治疗颇具前景<sup>[16]</sup>. Wnt/ $\beta$ -catenin通路能维持干细胞的自我更新与分化的特性, 包括在细胞培养中使用Wnt蛋白或Wnt通路激动剂来维持干细胞的特性, 如在具有多向分化潜能的间充质干细胞和肿瘤干细胞中<sup>[17]</sup>, Wnt信号通路在该两类细胞的自我更新与分化中起到重要作用; 在癌症中, 也能较频繁地观察到Wnt通路的活性与突变, 如APC基因的胚系突变导致的家族性腺瘤性息肉病<sup>[18]</sup>, 且与Notch信号通路存在着信号通讯<sup>[19]</sup>. 另有文献报道, 在乙型肝炎诱导的肝细胞癌中, Wnt3结合于FZD7致肝细胞癌细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin通路的活化, 说明在肝细胞癌形成过程中Wnt3可能起到一定作用<sup>[20]</sup>; 较近的研究亦发现Wnt通路与代谢类疾病<sup>[18]</sup>、心血管疾病如心肌梗死<sup>[21]</sup>、气道炎症性疾病<sup>[22]</sup>亦有关联.

Wnt/ $\beta$ -catenin通路亦参与到器官纤维化中. 虽然参与器官纤维化的机制并没有被明确, 但已有文献报道Wnt信号通路与器官纤维化的形成有一定关系. 有学者研究12例心脏同种异体移植失败并伴有心脏舒张期功能障碍的心外膜纤维化患者, 观察到细胞核内 $\beta$ -catenin的积累与TCF-4阳性, 显示了经典的Wnt/ $\beta$ -catenin通路与心外膜纤维化之间有关联<sup>[23]</sup>. 在特发性肺间质纤维化,  $\beta$ -catenin蛋白通过siRNA的沉默, 能够阻止TGF- $\beta$ 1处理过的纤维母细胞中 $\alpha$ -SMA的表达, 进一步支持GSK-3 $\alpha$ / $\beta$ -catenin通路成为特发性肺间质纤维化发病机制的假设<sup>[24]</sup>. 有学者在观察特发性肺间质纤维化胶原沉积的动态过程中, 发现新的胶原纤维形成与弹性蛋白、Wnt-1诱导的信号通路蛋白1、IV型胶原蛋白的基因表达关联紧密<sup>[25]</sup>. 国内有学者报道, 体外培养正常皮肤的纤维母细胞, 在分化成为肌成纤维细胞的过程中, 使用实时定量聚合酶链反应、Western blot以及免疫组织化学等方法, 可以观察到Wnts mRNA和 $\beta$ -catenin蛋白在TGF- $\beta$ 1诱导的分化过程中出现上调情况, 表示 $\beta$ -catenin可能有参与到肌成纤维细胞的分化中并起到负调节作用<sup>[26]</sup>. 在使用经典Wnt通路下游抑制剂PKF118-310和

ICG-001, 在皮肤纤维化的实验模型上具有抗纤维化作用<sup>[27]</sup>. 近几年已经有研究证明在纤维化疾病如系统性硬化中存在着异常的Wnt信号通路, 因此Dees C等研究证实, 在系统性硬化中, 激活的经典的Wnt信号通路诱导了纤维母细胞的激活以及下一步的分化为肌成纤维细胞和过多的胶原分泌, 最终导致组织纤维化, 而基因的或药理的Wnt信号通路阻滞剂减轻了实验性纤维化<sup>[28]</sup>. 作为Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路负性调节剂Dapper3, 有学者观察到在输尿管阻塞诱导的肾纤维化中, Dapper3基因的缺失增强了肾组织中肌成纤维细胞活性与细胞外基质的过度产生<sup>[29]</sup>. 亦有文献证明, Wnt信号通路活性的改变可能与骨骼肌纤维化的形成有关<sup>[30]</sup>.

### 3 Wnt/ $\beta$ -catenin通路参与HSCs活化及肝纤维化过程

Wnt通路属于新兴研究的细胞通路. Wnt/ $\beta$ -catenin通路、HSCs的激活与肝纤维化的具体机制并不明确, 但国内外均有研究证实到Wnt/ $\beta$ -catenin通路与HSCs的活化、肝纤维化的形成存在着一定关系. Tsukamoto等<sup>[31]</sup>在研究中亦展示了TGF- $\alpha$ 与Wnt, 作为抗脂肪生成的调节剂, 可减少过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ 的活性并促进HSCs向肌成纤维细胞的转化. 在体外培养的HSCs中, 瘦素增加 $\beta$ -catenin蛋白数量, 且瘦素诱导的 $\beta$ -catenin通路减少了固醇调节原件结合蛋白-1c的表达和活性, 而该蛋白可阻止HSC的活化, 因此 $\beta$ -catenin参与到瘦素诱导的肝纤维化过程中<sup>[32]</sup>.  $\beta$ -catenin和TGF- $\beta$ 2为小分子RNA-200a的两类功能性下游靶蛋白, 而小分子RNA-200a可通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路和依赖TGF- $\beta$ 的机制部分减轻肝纤维化<sup>[33]</sup>. Yanagida等<sup>[34]</sup>报道, HSCs通过丢失Sept4转化为促纤维化细胞, 部分原因, 是因为Dkk2与其同系物的表达减少直接导致经典Wnt途径的抑制解除, 而Sept4, 只在静止期HSCs细胞内表达, 在HSC转化为肌成纤维细胞后表达明显被下调. 在体外培养的HSC中, 加入Wnt3a通过减少肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体(TRAIL)诱导的HSCs的凋亡, 明显促进了HSC的活化<sup>[35]</sup>. 腺病毒表达的小发夹RNA(shRNA)引起抑蛋白necdin, 一种黑色素瘤抗原家族蛋白的基因表达沉默, 可通过依赖过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ 和抑制经典Wnt通路的方式, 将活化的HSCs逆转转为静止态细胞<sup>[36]</sup>. 有学者使用大鼠实验性胆汁淤积性肝纤维化的

#### ■创新盘点

本文旨在综述经典的Wnt/ $\beta$ -catenin通路与HSCs的活化, 以及肝纤维化的形成之间的关联, 内容较丰富.



### ■应用要点

本文综述经典的Wnt/ $\beta$ -catenin通路与HSCs的活化、肝纤维化的形成之间的关系,对将来清楚阐释经典的Wnt/ $\beta$ -catenin通路参与肝纤维化的分子机制,有一定指导意义。而经典的Wnt/ $\beta$ -catenin通路预计也可成为肝纤维化治疗的一个重要有效靶点。

HSC, 分离并体外培养后, 观察到HSC中存在着Wnt和Fz基因的诱导和表达, 而在活化的HSC的培养中使用Wnt蛋白的竞争性拮抗剂Dkk-1, 增加了HSC的凋亡, 说明Wnt拮抗剂可能成为治疗肝纤维化的一种手段<sup>[37]</sup>。Arellanes-Robledo等<sup>[38]</sup>在对离体的人HSCs进行体外培养后发现, 累积的 $\beta$ -catenin蛋白定位于细胞核上, 上调促进纤维化的基因的表达。非经典Wnt通路也参与到肝纤维化过程中, 如Jiang等<sup>[39]</sup>研究证实明显上调的Wnt5a与Wnt5a受体Frizzled2的表达, 使得Wnt通路参与静止状态的HSCs分化为肌成纤维细胞, 预示了Wnt信号通路在肝纤维化发展过程中起到重要作用。亦有学者文献报道, 观察大鼠肝移植(整块肝移植和小肝移植作比较; 正常肝组织移植与40%脂肪样变性的脂肪肝移植作比较), 得出上调Wnt4信号通路可以直接导致HSC的活化和小肝综合征损伤<sup>[40]</sup>。Fizzled10和钙/钙调素依赖蛋白激酶2 $\alpha$ (CAMK2A)的表达上调, 也说明了非经典通路Wnt/ $\text{Ca}^{2+}$ 在含有人端粒酶逆转录酶的HSCs (hTERT HSCs)中是活化的状态, 可能参与到HSC的活化与增殖<sup>[41]</sup>。Wnt5a可增加HSCs LX-2细胞系来源的细胞外基质和肝纤维化, 通过对静止期和活化的大鼠HSCs基因表达的分析, 可发现活化的HSCs Wnt5a mRNA水平上调<sup>[42]</sup>。

而Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路与肝纤维化也存在一定关系。国内已有学者使用带有商陆抗病毒蛋白(pokeweed antiviral protein, PAP)的质粒(plasmid pXF3H-PAP), 通过尾静脉注射对CCl<sub>4</sub>诱导的肝纤维化大鼠进行基因转染, 观察到商陆抗病毒蛋白可以通过下调Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路来减轻肝纤维化的发生, 为肝纤维化的治疗提供了新的对策<sup>[43]</sup>。已有学者在研究Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在参与肺纤维化、肝纤维化、皮肤纤维化和肾纤维化等组织纤维化的分子机制过程中, 与TGF- $\beta$ 信号通路、microRNAs之间存在着信号通讯<sup>[44]</sup>。有实验研究检测到, 活化的星状细胞和发展期的纤维化与TGF- $\beta$ 1、TGF- $\beta$ 受体2、Smad3a、Smad3b、 $\beta$ -catenin等表达相关<sup>[45]</sup>。有学者通过使用细胞移植, 展示了存在于肿瘤微环境的肿瘤MIM-R肝细胞, 与有活性的HSCs或由其衍生的肌成纤维细胞一起, 会诱导进展的恶性肿瘤发生, 且MIM-R肝细胞和肌成纤维细胞的共同移植, 伴随着Smad2/3和 $\beta$ -catenin的核定位出现明显的肿瘤形成, 通过MIM-R肝细胞的拮抗剂Smad7的累积对TGF信

号通路进行基因干扰, 在与HSCs或肌成纤维细胞互相作用的过程中减弱了上皮去分化和肿瘤形成, 进一步分析显示肿瘤内受到干扰的Smad通路缺乏了 $\beta$ -catenin的积累, 该研究结果展示了TGF- $\beta$ 与 $\beta$ -catenin通路之间存在着细胞通讯<sup>[46]</sup>。通过分析干扰素- $\alpha$ 2b与TGF- $\beta$ 1对Wnt/ $\beta$ -catenin通路的影响、检测Smad蛋白水平、 $\beta$ -catenin/TCF4/Smads的互相作用以及HepG2/C3A和Huh7细胞系的增殖与凋亡, 发现干扰素- $\alpha$ 2b和TGF- $\beta$ 1可通过减少 $\beta$ -catenin与Frizzled7受体蛋白结合, 减少 $\beta$ -catenin与TCF4的互相作用来减弱Wnt/ $\beta$ -catenin通路, 证明TGF- $\beta$ 1和干扰素- $\alpha$ 2b为Wnt/ $\beta$ -catenin通路的有效调节物<sup>[47]</sup>。国内李文庭等在研究肝纤维化分子机制中发现, 在肝纤维化的大鼠肝组织中, 明显可见 $\beta$ -catenin的表达; 活化的HSC-T6细胞株亦可见 $\beta$ -catenin蛋白的表达;  $\beta$ -catenin也参与到TGF- $\beta$ 1/Smad3通路致肝纤维化的过程中, 通过1ng/ml TGF- $\beta$ 1刺激2 h后, HSC表达 $\beta$ -catenin mRNA、Smad3 mRNA和 $\alpha$ -SMA mRNA量最大,  $\beta$ -catenin mRNA表达与两者均具有明显的相关关系<sup>[48]</sup>。国外已有文献报道TGF- $\beta$ 1可以通过 $\beta$ -catenin通路下调过氧化物酶体增殖物激活受体- $\gamma$ 的表达而达到增加体外培养的HSCs  $\alpha$ 1(1)胶原的水平<sup>[49]</sup>。使用TGF- $\beta$ /Smad通路和Wnt/ $\beta$ -catenin通路的抑制物组氨酸三聚体核苷酸结合蛋白1, 可升高Smad7的基因表达水平, 降低TGF- $\beta$ 1/Smad3和 $\beta$ -catenin/cyclin D1的基因表达水平, 阻止肝脏组织中 $\alpha$ -SMA的表达<sup>[50]</sup>。

## 4 结论

Wnt/ $\beta$ -catenin通路、HSCs活化增殖与肝纤维化存在着一定关系。通过Wnt/ $\beta$ -catenin通路活化HSCs参与肝纤维化的机制依然未能明确阐明, 有待进一步深入研究。活化的HSCs内该通路的调控亦有希望成为抗肝纤维化治疗的一个重要靶点。

## 5 参考文献

- 1 Zhang DW, Zhao YX, Wei D, Li YL, Zhang Y, Wu J, Xu J, Chen C, Tang H, Zhang W, Gong L, Han Y, Chen ZN, Bian H. HAb18G/CD147 promotes activation of hepatic stellate cells and is a target for antibody therapy of liver fibrosis. *J Hepatol* 2012; 57: 1283-1291 [PMID: 22878468 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.07.042]
- 2 Friedman SL. Hepatic fibrosis - overview. *Toxicology* 2008; 254: 120-129 [PMID: 18662740 DOI: 10.1016/j.tox.2008.06.013]

- 3 Tsukada S, Parsons CJ, Rippe RA. Mechanisms of liver fibrosis. *Clin Chim Acta* 2006; 364: 33-60 [PMID: 16139830]
- 4 Atzori L, Poli G, Perra A. Hepatic stellate cell: a star cell in the liver. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 1639-1642 [PMID: 19433304 DOI: 10.1016/j.biocel.2009.03.001]
- 5 Alatas FS, Masumoto K, Matsuura T, Hayashida M, Saeki I, Kohashi K, Oda Y, Taguchi T. Synchronized expressions of hepatic stellate cells and their trans-activation and liver regeneration during liver injury in an animal model of cholestasis. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 2284-2290 [PMID: 22152866 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.09.016]
- 6 Lee UE, Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 195-206 [PMID: 21497738 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.005]
- 7 Forbes SJ, Parola M. Liver fibrogenic cells. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 207-217 [PMID: 21497739 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.006]
- 8 Kong D, Zhang F, Zhang Z, Lu Y, Zheng S. Clearance of activated stellate cells for hepatic fibrosis regression: molecular basis and translational potential. *Biomed Pharmacother* 2013; 67: 246-250 [PMID: 23201010 DOI: 10.1016/j.biopha.2012.10.002]
- 9 Kim do Y, Chung SI, Ro SW, Paik YH, Lee JI, Jung MK, Lee MG, Park YN, Lee KS, Park JG, Park HD, Han KH. Combined effects of an antioxidant and caspase inhibitor on the reversal of hepatic fibrosis in rats. *Apoptosis* 2013; 18: 1481-1491 [PMID: 24045874 DOI: 10.1007/s10495-013-0896-5]
- 10 Kisseleva T, Brenner DA. Anti-fibrogenic strategies and the regression of fibrosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 305-317 [PMID: 21497747 DOI: 10.1016/j.bpg.2011.02.011]
- 11 Mallat A, Lotersztajn S. Reversion of hepatic stellate cell to a quiescent phenotype: From myth to reality? *J Hepatol* 2013; 59: 383-386 [PMID: 23567083 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.03.031]
- 12 Ling L, Nurcombe V, Cool SM. Wnt signaling controls the fate of mesenchymal stem cells. *Gene* 2009; 433: 1-7 [PMID: 19135507 DOI: 10.1016/j.gene.2008.12.008]
- 13 江鸣, 熊伍军, 刘菲. Wnt信号通路与抗纤维化策略. 国际内科学杂志 2009; 36: 230-233
- 14 Tang SJ. Synaptic Activity-Regulated Wnt Signaling in Synaptic Plasticity, Glial Function and Chronic Pain. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2013 Dec 22. [Epub ahead of print] [PMID: 24365183]
- 15 De Ferrari G, Avila M, Medina  $\beta$ , Pérez-Palma E, Bustos B, Alarcón M. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling in Alzheimer's Disease. *CNS Neurol Disord Drug Targets* 2013 Dec 22. [Epub ahead of print] [PMID: 24365184]
- 16 Parish CL, Thompson LH. Modulating Wnt signaling to improve cell replacement therapy for Parkinson's disease. *J Mol Cell Biol* 2013 Dec 13. [Epub ahead of print] [PMID: 24334258]
- 17 Holland JD, Klaus A, Garratt AN, Birchmeier W. Wnt signaling in stem and cancer stem cells. *Curr Opin Cell Biol* 2013; 25: 254-264 [PMID: 23347562 DOI: 10.1016/j.ceb.2013.01.004]
- 18 Clevers H, Nusse R. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and disease. *Cell* 2012; 149: 1192-1205 [PMID: 22682243 DOI: 10.1016/j.cell.2012.05.012]
- 19 赵渊源, 李春艳. Wnt与Notch信号通路的串话与肿瘤发生、发展的关系. 国际病理科学与临床杂志 2010; 30: 255-259
- 20 Kim M, Lee HC, Tsedensodnom O, Hartley R, Lim YS, Yu E, Merle P, Wands JR. Functional interaction between Wnt3 and Frizzled-7 leads to activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway in hepatocellular carcinoma cells. *J Hepatol* 2008; 48: 780-791 [PMID: 18313787 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.12.020]
- 21 郭志雷, 左伋, 金惠铭. Wnt-frizzled信号通路与心血管疾病关系的研究进展. 中国病理生理杂志 2004; 20: 2134-2138
- 22 申永春, 万春, 文富强. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在气道炎症性疾病中的研究进展. 临床肺科杂志 2013; 18: 317-318
- 23 Ye B, Ge Y, Perens G, Hong L, Xu H, Fishbein MC, Li F. Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin signaling in epicardial fibrosis of failed pediatric heart allografts with diastolic dysfunction. *Cardiovasc Pathol* 2013; 22: 54-57 [PMID: 22475572 DOI: 10.1016/j.carpath.2012.03.004]
- 24 Caraci F, Gili E, Calafiore M, Failla M, La Rosa C, Crimi N, Sortino MA, Nicoletti F, Copani A, Vancheri C. TGF- $\beta$ 1 targets the GSK-3 $\beta$ /catenin pathway via ERK activation in the transition of human lung fibroblasts into myofibroblasts. *Pharmacol Res* 2008; 57: 274-282 [PMID: 18346908 DOI: 10.1016/j.phrs.2008.02.001]
- 25 Blaauboer ME, Emson CL, Verschuren L, van Erk M, Turner SM, Everts V, Hanemaaijer R, Stoop R. Novel combination of collagen dynamics analysis and transcriptional profiling reveals fibrosis-relevant genes and pathways. *Matrix Biol* 2013; 32: 424-431 [PMID: 23648810 DOI: 10.1016/j.matbio.2013.04.005]
- 26 Liu J, Wang Y, Pan Q, Su Y, Zhang Z, Han J, Zhu X, Tang C, Hu D. Wnt/ $\beta$ -catenin pathway forms a negative feedback loop during TGF- $\beta$ 1 induced human normal skin fibroblast-to-myofibroblast transition. *J Dermatol Sci* 2012; 65: 38-49 [PMID: 22041457 DOI: 10.1016/j.jdermsci.2011.09.012]
- 27 Beyer C, Reichert H, Akan H, Mallano T, Schramm A, Dees C, Palumbo-Zerr K, Lin NY, Distler A, Gelse K, Varga J, Distler O, Schett G, Distler JH. Blockade of canonical Wnt signalling ameliorates experimental dermal fibrosis. *Ann Rheum Dis* 2013; 72: 1255-1258 [PMID: 23595143 DOI: 10.1136/annrheumdis-2012-202544]
- 28 Dees C, Distler JH. Canonical Wnt signaling as a key-regulator of fibrogenesis -Implications for targeted therapies? *Exp Dermatol* 2013 Oct 3. [Epub ahead of print] [PMID: 24118232 DOI: 10.1111/exd.12255]
- 29 Xue H, Xiao Z, Zhang J, Wen J, Wang Y, Chang Z, Zhao J, Gao X, Du J, Chen YG. Disruption of the Dapper3 gene aggravates ureteral obstruction-mediated renal fibrosis by amplifying Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *J Biol Chem* 2013; 288: 15006-15014 [PMID: 23580654 DOI: 10.1074/jbc.M113.458448]
- 30 Cisternas P, Henriquez JP, Brandan E, Inestrosa NC. Wnt Signaling in Skeletal Muscle Dynamics: Myogenesis, Neuromuscular Synapse and Fibrosis. *Mol Neurobiol* 2013 Sep 7. [Epub ahead of print] [PMID: 24014138]
- 31 Tsukamoto H, She H, Hazra S, Cheng J, Miyahara T. Anti-adipogenic regulation underlies hepatic stellate cell transdifferentiation. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21 Suppl 3: S102-S105 [PMID: 16958658]
- 32 Zhai X, Yan K, Fan J, Niu M, Zhou Q, Zhou Y, Chen

# 同行评价

本文能反映我国 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路活化与肝纤维化研究的水平。

- H, Zhou Y. The  $\beta$ -catenin pathway contributes to the effects of leptin on SREBP-1c expression in rat hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Br J Pharmacol* 2013; 169: 197-212 [PMID: 23347184 DOI: 10.1111/bph.12114]
- 33 Sun X, He Y, Ma TT, Huang C, Zhang L, Li J. Participation of miR-200a in TGF- $\beta$ 1-mediated hepatic stellate cell activation. *Mol Cell Biochem* 2013 Nov 16. [Epub ahead of print][PMID: 24242045]
- 34 Yanagida A, Iwaisako K, Hatano E, Taura K, Sato F, Narita M, Nagata H, Asechi H, Uemoto S, Kinoshita M. Downregulation of the Wnt antagonist Dkk2 links the loss of Sept4 and myofibroblastic transformation of hepatic stellate cells. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1812: 1403-1411 [PMID: 21763422 DOI: 10.1016/j.bbdis.2011.06.015]
- 35 Myung SJ, Yoon JH, Gwak GY, Kim W, Lee JH, Kim KM, Shin CS, Jang JJ, Lee SH, Lee SM, Lee HS. Wnt signaling enhances the activation and survival of human hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 2007; 581: 2954-2958 [PMID: 17544413]
- 36 Zhu NL, Wang J, Tsukamoto H. The Necdin-Wnt pathway causes epigenetic peroxisome proliferator-activated receptor gamma repression in hepatic stellate cells. *J Biol Chem* 2010; 285: 30463-30471 [PMID: 20663865 DOI: 10.1074/jbc.M110.156703]
- 37 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602]
- 38 Arellanes-Robledo J, Reyes-Gordillo K, Shah R, Domínguez-Rosales JA, Hernández-Nazara ZH, Ramirez F, Rojkind M, Lakshman MR. Fibrogenic actions of acetaldehyde are  $\beta$ -catenin dependent but Wingless independent: A critical role of nucleoredoxin and reactive oxygen species in human hepatic stellate cells. *Free Radic Biol Med* 2013; 65: 1487-1496 [PMID: 23880292 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.07.017.Epub]
- 39 Jiang F, Parsons CJ, Stefanovic B. Gene expression profile of quiescent and activated rat hepatic stellate cells implicates Wnt signaling pathway in activation. *J Hepatol* 2006; 45: 401-409 [PMID: 16780995]
- 40 Cheng Q, Ng KT, Fan ST, Lim ZX, Guo DY, Liu XB, Liu Y, Poon RT, Lo CM, Man K. Distinct mechanism of small-for-size fatty liver graft injury--Wnt4 signaling activates hepatic stellate cells. *Am J Transplant* 2010; 10: 1178-1188 [PMID: 20420630 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03102.x]
- 41 Shin HW, Park SY, Lee KB, Shin E, Nam SW, Lee JY, Jang JJ. Transcriptional profiling and Wnt signaling activation in proliferation of human hepatic stellate cells induced by PDGF-BB. *Korean J Hepatol* 2009; 15: 486-495 [PMID: 20037267 DOI: 10.3350/kjhep.2009.15.4.486]
- 42 Rashid ST, Humphries JD, Byron A, Dhar A, Askari JA, Selley JN, Knight D, Goldin RD, Thursz M, Humphries MJ. Proteomic analysis of extracellular matrix from the hepatic stellate cell line LX-2 identifies CYR61 and Wnt-5a as novel constituents of fibrotic liver. *J Proteome Res* 2012; 11: 4052-4064 [PMID: 22694338 DOI: 10.1021/pr3000927]
- 43 Li W, Zhu C, Chen X, Li Y, Gao R, Wu Q. Pokeweed antiviral protein down-regulates Wnt/ $\beta$ -catenin signalling to attenuate liver fibrogenesis in vitro and in vivo. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 559-566 [PMID: 21444256 DOI: 10.1016/j.dld.2011.02.016]
- 44 Guo Y, Xiao L, Sun L, Liu F. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling: a promising new target for fibrosis diseases. *Physiol Res* 2012; 61: 337-346 [PMID: 22670697]
- 45 Van Wettene AJ, Law JM, Hinton DE, Kullman SW. Anchoring hepatic gene expression with development of fibrosis and neoplasia in a toxicant-induced fish model of liver injury. *Toxicol Pathol* 2013; 41: 744-760 [PMID: 23197195 DOI: 10.1177/0192623312464308]
- 46 Mikula M, Proell V, Fischer AN, Mikulits W. Activated hepatic stellate cells induce tumor progression of neoplastic hepatocytes in a TGF-beta dependent fashion. *J Cell Physiol* 2006; 209: 560-567 [PMID: 16883581]
- 47 Ceballos MP, Parody JP, Alvarez Mde L, Ingaramo PI, Carnovale CE, Carrillo MC. Interferon- $\alpha$ 2b and transforming growth factor- $\beta$ 1 treatments on HCC cell lines: Are Wnt/ $\beta$ -catenin pathway and Smads signaling connected in hepatocellular carcinoma? *Biochem Pharmacol* 2011; 82: 1682-1691 [PMID: 21843516 DOI: 10.1016/j.bcp.2011.08.001]
- 48 李文庭, 贺永文, 肖志宏. 转化生长因子 $\beta$ 1对大鼠肝星状细胞表达 $\beta$ -连环蛋白的影响. *肝脏* 2009; 14: 30-32
- 49 Qian J, Niu M, Zhai X, Zhou Q, Zhou Y.  $\beta$ -Catenin pathway is required for TGF- $\beta$ 1 inhibition of PPAR $\gamma$  expression in cultured hepatic stellate cells. *Pharmacol Res* 2012; 66: 219-225 [PMID: 22706027 DOI: 10.1016/j.phrs.2012.06.003]
- 50 Wu F, Huang S, Zhu N, Liu W, Zhang Y, He Y. Recombinant human histidine triad nucleotide-binding protein 1 attenuates liver fibrosis induced by carbon tetrachloride in rats. *Mol Med Rep* 2013; 8: 1023-1028 [PMID: 23934318 DOI: 10.3892/mmr.2013.1618]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# P162抑制Hedgehog信号转录因子Gli-1增强食管癌Eca109细胞的放射敏感性

陈洁, 吴清明, 龙辉, 张红, 陈建华

陈洁, 张红, 武汉大学 湖北省武汉市 430065  
吴清明, 龙辉, 武汉科技大学附属天佑医院 湖北省武汉市 430064

陈建华, 武汉凯泰新生物技术有限公司 湖北省武汉市 430074

陈洁, 在读硕士, 主要从事食管癌的基础研究。

作者贡献分布: 课题设计由陈洁、吴清明、龙辉及张红完成; 研究过程由陈洁操作完成; 新药多肽P162由陈建华提供; 论文写作与数据分析由陈洁与吴清明共同完成。

通讯作者: 吴清明, 教授, 430064, 湖北省武汉市丁字桥涂家岭9号, 武汉科技大学附属天佑医院. wuhe9224@sina.com  
电话: 027-51164093

收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2013-12-24

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## P162 enhances radiosensitivity of esophageal carcinoma Eca109 cells by inhibiting Hedgehog signaling transcription factor Gli-1

Jie Chen, Qing-Ming Wu, Hui Long, Hong Zhang, Jian-Hua Chen

Jie Chen, Hong Zhang, Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, Hubei Province, China

Qing-Ming Wu, Hui Long, Tianyou Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, Wuhan 430064, Hubei Province, China

Jian-Hua Chen, Wuhan KatyGen Pharmaceuticals Inc., Wuhan 430074, Hubei Province, China

Correspondence to: Qing-Ming Wu, Professor, Tianyou Hospital Affiliated to Wuhan University of Science and Technology, 9 Tujialing Dingziqiao, Wuhan 430064, Hubei Province, China. wuhe9224@sina.com

Received: 2013-12-02 Revised: 2013-12-24

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate whether P162 enhances radiosensitivity of esophageal carcinoma cell line Eca109 by inhibition of Hedgehog signaling transcription factor Gli-1.

**METHODS:** Repeatedly irradiate (a total irradiation dose of 60 Gy) Eca109 cells were repeatedly irradiated (a total dose of 60 Gy) to induce radioresistant esophageal carcinoma cell line Eca109R. The inhibition of cell proliferation was determined by Cell Counting Kit assay. The

expression of Gli-1 was detected by immunohistochemistry and immunofluorescence. HE staining was employed to observe the changes in cell morphology. Western blot was employed to determine the nuclear expression of Gli-1 and dynamic changes of Gli-1 in irradiated Eca109 cells. Apoptosis was determined by flow cytometry. The following four groups were included in the experiments: untreated cells, P162-treated cells, irradiated cells, and P162-treated irradiated cells. Eca109 and Eca109R cells were included in each group.

**RESULTS:** Eca109R possessing certain radiation resistance displayed lower ability of growth inhibition than Eca109 cells. Nuclear Gli-1 expression was significantly higher in Eca109R cells than in Eca109 cells ( $0.45 \pm 0.01$  vs  $0.32 \pm 0.01$ ,  $P < 0.0001$ ). On days 2 and 14 after irradiation, the nuclear expression of Gli-1 in Eca109 cells was higher than that in control cells ( $0.0882 \pm 0.011$ ,  $0.3560 \pm 0.015$  vs  $0.2552 \pm 0.0103$ ,  $P < 0.05$  for both). In both Eca109R and Eca109 cells, the nuclear expression of Gli-1 was reduced after treatment with  $20 \mu\text{mol/L}$  P162 [ $0.2553 \pm 0.011$ ,  $0.2578 \pm 0.014$  (non-irradiation);  $0.1324 \pm 0.012$ ,  $0.0595 \pm 0.011$  (2 d after irradiation);  $0.1741 \pm 0.013$ ,  $0.2397 \pm 0.112$  (14 d after irradiation),  $P < 0.0001$  for all]. P162 combined with radiotherapy facilitated cells apoptosis.

**CONCLUSION:** Nuclear Gli-1 expression is related to radioresistance of esophageal cancer cells. P162 enhances radiosensitivity of Eca109 cells possibly by inhibiting Gli-1 expression and promoting apoptosis.

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

**Key Words:** Esophageal carcinoma cell; Hedgehog; Gli-1; P162; Radioresistance

Chen J, Wu QM, Long H, Zhang H, Chen JH. P162 enhances radiosensitivity of esophageal carcinoma Eca109 cells by inhibiting Hedgehog signaling transcription factor Gli-1. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 615-623

## ■背景资料

食管癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一,放疗是其晚期主要治疗手段。据统计发现临床上放疗后大约有68%的食管癌会复发,研究证实放疗治疗并不能完全杀死肿瘤细胞。进一步研究发现其与放疗抵抗相关。目前研究表明食管癌放疗抵抗涉及多种基因、多条信号通路调控细胞的DNA损伤修复、细胞周期重分布、细胞凋亡、细胞再增殖、细胞再氧合等。因此研究食管癌放疗抵抗主要机制并使用药物增敏放射敏感性具有重要的临床价值。

## ■同行评议者

张志坚, 教授, 福州总医院消化内科

## ■ 研发前沿

Hedgehog(Hh)是肿瘤干细胞信号通路之一,发现其信号分子在食管鳞癌中异常表达,近年的研究显示肿瘤干细胞在肿瘤放疗抵抗中起极其重要的作用,那么,Hedgehog是否导致食管癌的放疗抵抗?

URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/615.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.615>

## 摘要

**目的:** 探讨新药多肽P162通过抑制Hedgehog(Hh)信号转录因子Gli-1对人食管癌细胞株Eca109起放射增敏作用。

**方法:** 反复多次X线(剂量累计60 Gy)照射Eca109诱导食管癌细胞Eca109R,采用CCK8法测增殖抑制率,免疫细胞化学法、免疫荧光技术测Gli-1的表达,HE染色观察细胞形态学改变,Western blot测核内Gli-1表达及动态监测Eca109放疗后核内Gli-1变化,流式细胞仪测细胞凋亡率。实验分以下4组:未照射加药组、照射加药组、未照射不加药组和照射不加药组,每组中含Eca109、Eca109R两种细胞。

**结果:** Eca109R增殖抑制率明显低于Eca109,具有一定放射抗拒性;Eca109R较Eca109高表达Gli-1( $0.45 \pm 0.01$ ,  $0.32 \pm 0.01$ ,  $P < 0.0001$ );Eca109放疗后Gli-1于2 d, 14 d表达相比( $0.0882 \pm 0.011$ ,  $0.3560 \pm 0.015$  vs  $0.2552 \pm 0.0103$ ),差异有统计学意义( $P < 0.0001$ );20  $\mu\text{mol/L}$  P162干预Eca109R、Eca109细胞中,与0  $\mu\text{mol/L}$  P162干预比较Gli-1表达下调,分别为: $0.2553 \pm 0.011$ ,  $0.2578 \pm 0.014$ (未照射), $0.1324 \pm 0.012$ ,  $0.0595 \pm 0.011$ (照射2 d), $0.1741 \pm 0.013$ ,  $0.2397 \pm 0.112$ (照射14 d),差异均有统计学意义( $P < 0.0001$ ),P162联合放疗促细胞凋亡。

**结论:** Hh信号转录因子Gli-1与食管癌放射抗拒相关。P162放射增敏作用可能与抑制转录因子Gli-1、促细胞凋亡相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管癌; Hedgehog; Gli-1; P162; 放射抗拒

**核心提示:** Hedgehog(Hh)信号转录因子Gli-1与食管癌放射抗拒相关。P162放射增敏作用可能与抑制转录因子Gli-1、促细胞凋亡相关。

陈洁, 吴清明, 龙辉, 张红, 陈建华. P162抑制Hedgehog信号转录因子Gli-1增强食管癌Eca109细胞的放射敏感性. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 615-623 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/615.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.615>

## 0 引言

食管癌是常见的消化系恶性肿瘤,放疗是晚期

治疗重要手段,但易形成放疗抵抗而复发<sup>[1,2]</sup>,靶向G3BP多肽162-P162(中国专利2010101400323, PCT WO2011/124063 A1),其结构能与G3BP蛋白的NTF2结构域发生特异性结合,干预G3BP蛋白磷酸化. 已证实P162对高表达G3BP的食管癌Eca109细胞有放射增敏作用,但具体增敏机制尚不完全清楚<sup>[3]</sup>,研究显示Hedgehog(Hh)通路在食管癌异常激活<sup>[4-6]</sup>,且与放疗抵抗相关<sup>[7,8]</sup>. 本实验以食管癌细胞株Eca109及其诱导的具有一定放射抗拒性细胞Eca109R为对象,探讨食管癌放射抗拒及P162的放射增敏作用与Hh信号通路转录因子Gli-1的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人食管癌细胞株Eca109(由太和医院馈赠);多肽P162(武汉凯泰新生物技术有限公司);Gli-1抗体(Santa Cruz公司);新生胎牛血清(杭州四季青有限公司);RPMI 1640培养粉(Gibco公司);胰蛋白酶粉(Amresco公司),CCK-8试剂(Sigma公司);苏木素(Gibco公司)、伊红(Gibco公司);丙烯酰胺(Amresco);甲叉双丙烯酰胺(Amresco);BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧云天);核蛋白和胞浆蛋白提取试剂盒(凯基生物);Annexin V-FITC凋亡试剂盒(Roche). CO<sub>2</sub>恒温细胞培养箱(Heal Force公司);酶联免疫检测仪(美国宝特ELX800);倒置显微镜(Olympus公司);超速低温离心机(Sigma公司);流式细胞仪(美国贝克曼公司FC 500 cytometers CXP分析软件);37 °C恒温水浴箱(华普达公司);垂直电泳槽(北京六一仪器厂);Nikon ECLIPSE 80i荧光显微镜(日本Nikon公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 细胞置37 °C、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养,其培养基为含有10%胎牛血清、青霉素100 U/L、链霉素100 U/L的RPMI 1640,细胞处于对数生长期时进行实验。

**1.2.2 诱导Eca109R细胞:** 取亲本细胞Eca109采用Varian2300直线加速器6MV-X线照射8 Gy,表面加1.5 cm标准等效填充物,放射源至标本距离100 cm,照射野10 cm×10 cm,吸收剂量率为1.5 Gy/min,照射后置培养箱继续培养,待细胞接近长满瓶底时,0.25%胰蛋白酶消化后重新接种培养. 细胞处于对数期时,再次X射线照射8 Gy. 重复以上过程,累计照射剂量至60 Gy<sup>[9]</sup>。

**1.2.3 CCK-8法测Eca109、Eca109R细胞增殖抑制率:** 0、2、4、6、8 Gy剂量照射Eca109、

Eca109R细胞后, 将其消化成悬液, 以5000 cells/well接种于96孔板, 重复6孔, 设空白调零组。孔中培养24、48、72 h后加10  $\mu$ L CCK-8, 培养箱孵育1 h, 选择450 nm处酶标仪测各孔吸光度(A), 计算增殖抑制率, 抑制率(inhibition rate, IR) = (1 - 实验组平均A值/对照组平均A值)  $\times$  100%。

**1.2.4 细胞免疫化学:** 将对数生长期细胞Eca109、Eca109R消化成悬液, 以 $5 \times 10^4$  cells/mL接种于6孔板中盖玻片上, 每孔2 mL, 孵育4 h后, 4%多聚甲醛固定, 0.5% Triton X-100室温通透, 3%  $H_2O_2$ -甲醇除内源性过氧化酶活性, 10%正常山羊血清封闭, 敷I抗兔抗人Gli-1(1:100), 4  $^{\circ}$ C湿盒过夜, 加入相应的II抗, 显微镜下控制DAB显色, 待显色充分后, 水冲洗终止反应。苏木素复染, 盐酸乙醇分化, 二甲苯透明, 树胶封片, 镜下观察, 拍照。Gli-1蛋白以胞质或胞核出现浅黄色至深棕色颗粒判断为阳性细胞。在显微镜下随机计数6个高倍视野的细胞。综合阳性细胞及染色强度所占百分比2个方面进行半定量分析。染色强度评分: 0分: 无或染色极淡, 阴性(-); 1分: 浅棕黄色, 弱阳性(+); 2分: 棕黄色, 阳性(++); 3分: 棕褐色, 强阳性(+++)。阳性细胞百分比(A、B、C、D)分别是-、+、++、+++各种染色强度细胞的百分比。染色强度指数 =  $A \times 0 + B \times 1 + C \times 2 + D \times 3$ 。

**1.2.5 免疫荧光:** 细胞爬片处理同细胞免疫化学, 4%的多聚甲醛固定, 0.5% Triton X-100室温通透20 min, 正常山羊血清封闭, 敷Gli-1 I抗(1:150), 4  $^{\circ}$ C湿盒过夜; 敷II抗荧光(Cy3)标记羊抗兔IgG(1:100), 湿盒中20  $^{\circ}$ C-37  $^{\circ}$ C孵育1 h, 复染核DAPI避光孵育5 min, 抗荧光淬灭剂封片液封片, 显微镜下随机计数6个高倍视野的细胞, 计算阳性细胞率。

**1.2.6 HE染色观察P162对Eca109、Eca109R细胞形态学影响:** Eca109、Eca109R细胞加入终浓度为20  $\mu$ mol/L P162, 同时对照细胞加入等量RPMI 1640培养液, 作用48 h后做爬片处理, 苏木素染色10 min, 盐酸乙醇分化, 伊红染色2 min, 二甲苯透明, 树胶封片, 镜下观察, 拍照。

**1.2.7 Western blot测放疗后Eca109核内Gli-1表达变化:** 6 Gy X射线照射Eca109细胞后, 分别于1、2、4、24、48、72 h、7、10、14、18 d后提取核蛋白, 未照射Eca109细胞作空白对照。测蛋白浓度, 取50  $\mu$ g总蛋白上样电泳, 蛋白分离后停止电泳, 电转移至硝酸纤维素膜, 5%脱脂奶粉封闭2 h, 加入封闭液稀释兔抗Gli-1 I抗(1:300), 4  $^{\circ}$ C孵育过夜, TBST洗膜, 加入相应II抗室温孵

育2 h, TBST洗膜, ECL试剂盒暗室曝光显影。

**1.2.8 Western blot测处理组细胞核内Gli-1表达:** 处理组给予两种干预方法, 先20  $\mu$ mol/L P162干预48 h, 后6 Gy X线照射, 可分为4组, 即: 未照射不加药组、未照射加药组、照射加药组和照射不加药组, 每组均含Eca109、Eca109R两种细胞。加药不加药干预48 h后, 不照射细胞立即提取核蛋白-80  $^{\circ}$ C保存, 照射处理细胞于照射后48 h、14 d提取核蛋白, 待核蛋白提取完毕统一进行Western blot。

**1.2.9 流式细胞术测细胞凋亡率:** 上述4组细胞加药及不加干预48 h后, 未照射及照射处理24 h后用不含EDTA胰酶消化收集 $5 \times 10^5$ 细胞, PBS洗涤2次(2000 r/min, 离心5 min), 悬浮于500  $\mu$ L Binding Buffer中, 加入5  $\mu$ L Annexin V-FITC混匀后, 再加入5  $\mu$ L Propidium Iodide混匀, 避光孵育15 min, 过滤后上流式细胞仪检测。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析。计量资料用mean  $\pm$  SD表示, 组间比较采用配对t检验, P162对Eca109、Eca109R细胞核内Gli-1影响采用2  $\times$  2析因设计, 正态Shapiro-Wilk检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Eca109、Eca109R细胞增殖抑制率差异** Eca109、Eca109R细胞经X线照射后24、48、72 h行CCK8检测, 发现相同时间各个照射剂量下Eca109R增殖抑制率明显低于Eca109(表1, 图1)(组间两两比较采用配对t检验,  $P < 0.05$ )。与亲本Eca109细胞相比, Eca109R细胞放射敏感性较低, 具有一定放射抗拒性。

**2.2 Gli-1蛋白在Eca109、Eca109R细胞定位表达** 免疫细胞化学法、免疫荧光技术显示Gli-1蛋白表达位于胞核及胞浆, Eca109、Eca109R细胞均有表达, 免疫组织化学染色强度分别为:  $1.05629 \pm 0.098$ ,  $1.703975 \pm 0.055$  ( $P < 0.05$ )(图2, 3)。免疫荧光阳性细胞率分别为:  $39.9567\% \pm 0.0097\%$ ,  $66.4589\% \pm 0.0251\%$  ( $P < 0.05$ )(图4, 5), 差异有统计学意义。

**2.3 P162对Eca109、Eca109R细胞形态学影响** HE观察显示: Eca109细胞呈圆形或不规则多边形, 如铺路石排列(图6A)。Eca109R细胞呈不规则梭形, 不规则排列(图6B)。20  $\mu$ mol/L P162处理48 h后, Eca109细胞皱缩聚集, 变为不规则条形, 可见细胞裂解相互融合(图6C)。Eca109R细胞亦表现为皱缩聚集, 可见核缩小、多核, 细胞裂解融合(图6D)。

### ■ 相关报道

Yoshikawa报道核蛋白Gli-1的表达与食管鳞癌放疗抵抗及复发有显著联系。Zhu等也表明Gli-1表达与食管鳞癌放疗抵抗相关。Chen等研究显示放疗诱使肝癌细胞分泌Shh配体激活Hh信号通路产生放疗抵抗。



## ■创新盘点

Hh信号转录因子Gli-1在食管癌Eca109细胞中表达, 并与其放射抗拒相关, 新药多肽P162能够抑制Gli-1的表达来增加食管癌放射敏感性。

表 1 不同剂量的X线对Eca109、Eca109R细胞的增殖抑制率(CCK8法) (mean  $\pm$  SD,  $n = 6$ , %)

照射剂量(Gy)	IR					
	24 h		48 h		72 h	
	Eca109	Eca109R	Eca109	Eca109R	Eca109	Eca109R
2	10.70 $\pm$ 1.08	3.91 $\pm$ 1.44	19.35 $\pm$ 1.45	6.65 $\pm$ 1.19	31.79 $\pm$ 1.25	7.51 $\pm$ 1.00
4	12.65 $\pm$ 1.09	9.53 $\pm$ 1.17	36.11 $\pm$ 1.47	11.81 $\pm$ 1.14	47.94 $\pm$ 0.93	13.64 $\pm$ 1.17
6	21.23 $\pm$ 1.55	13.73 $\pm$ 1.41	46.98 $\pm$ 1.32	21.73 $\pm$ 1.34	51.72 $\pm$ 1.32	23.68 $\pm$ 1.12
8	43.52 $\pm$ 1.07	31.64 $\pm$ 1.41	56.93 $\pm$ 1.20	32.84 $\pm$ 1.52	71.95 $\pm$ 1.36	38.35 $\pm$ 1.11

IR: 抑制率。

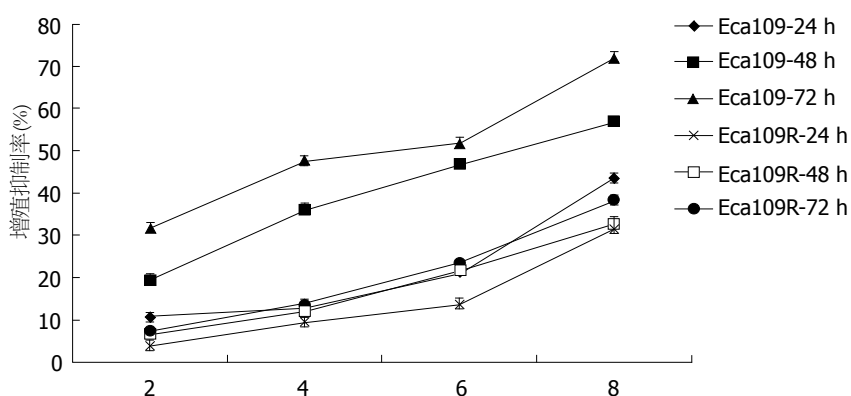
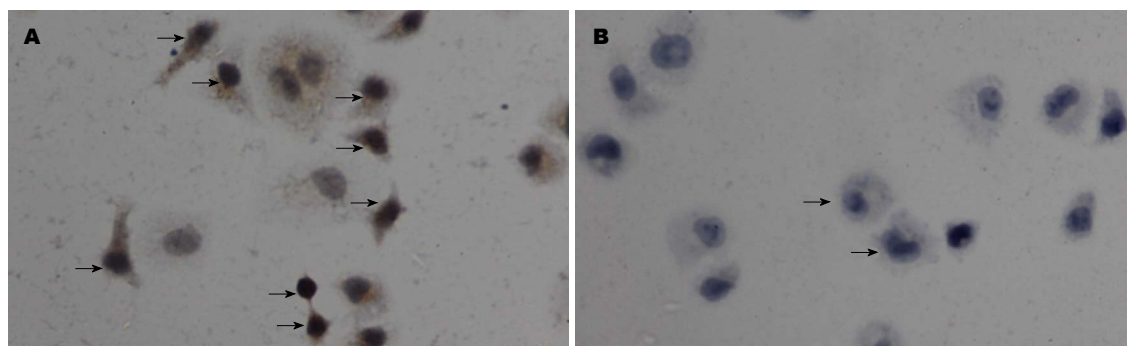
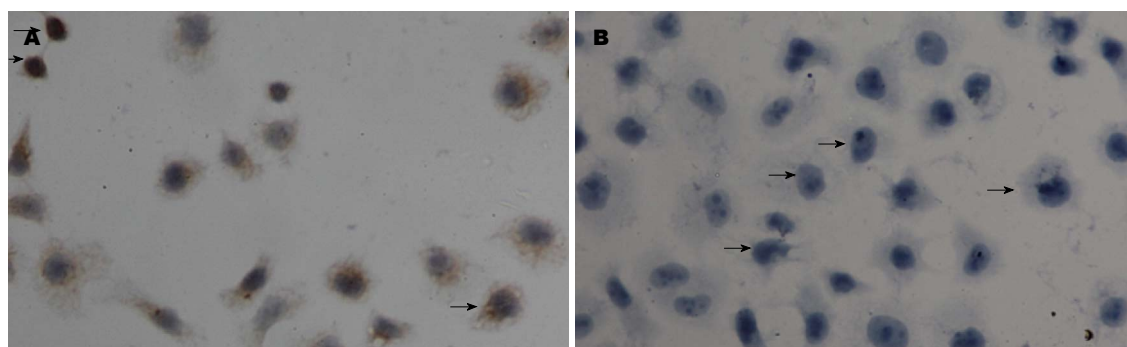


图 1 放疗对Eca109、Eca109R的增殖抑制曲线。

图 2 Gli-1在Eca109R细胞中表达的染色强度(免疫组织化学  $\times 400$ ). A: Gli-1阳性; B: 阴性对照。图 3 Gli-1在Eca109细胞中表达染色强度(免疫组织化学  $\times 400$ ). A: Gli-1阳性; B: 阴性对照。

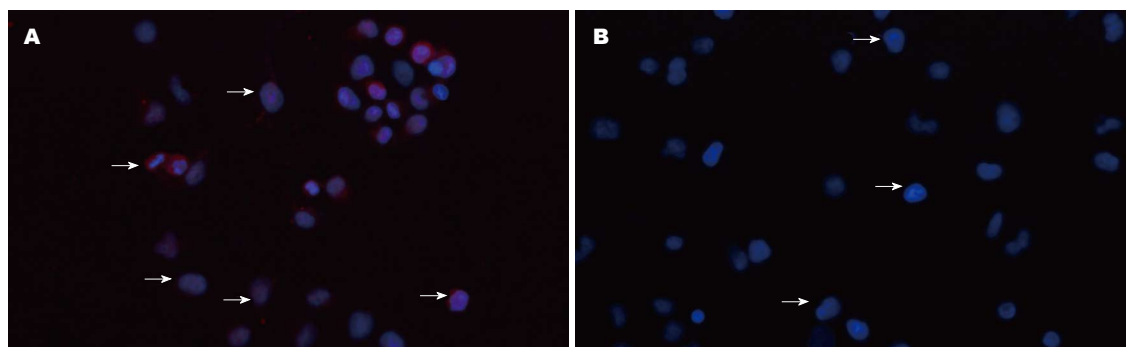


图 4 Gli-1在Eca109细胞中表达的阳性率(免疫荧光×400). A: Gli-1阳性; B: 阴性对照.

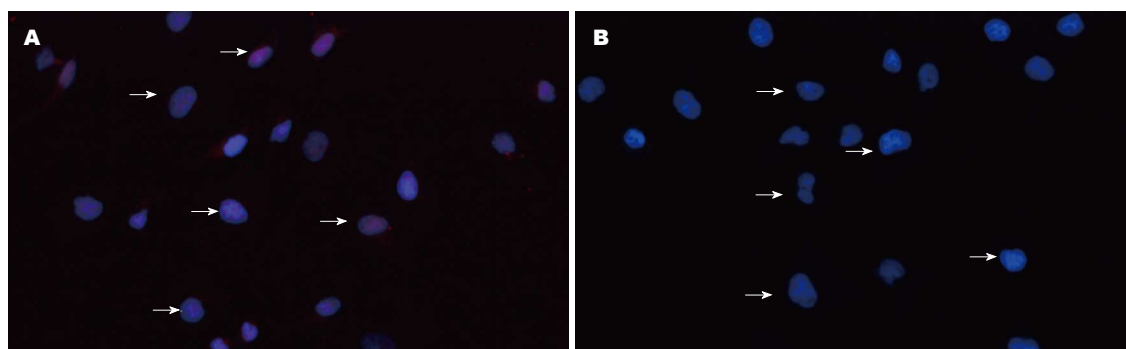


图 5 Gli-1在Eca109细胞中表达的阳性率(免疫荧光×400). A: Gli-1阳性; B: 阴性对照.

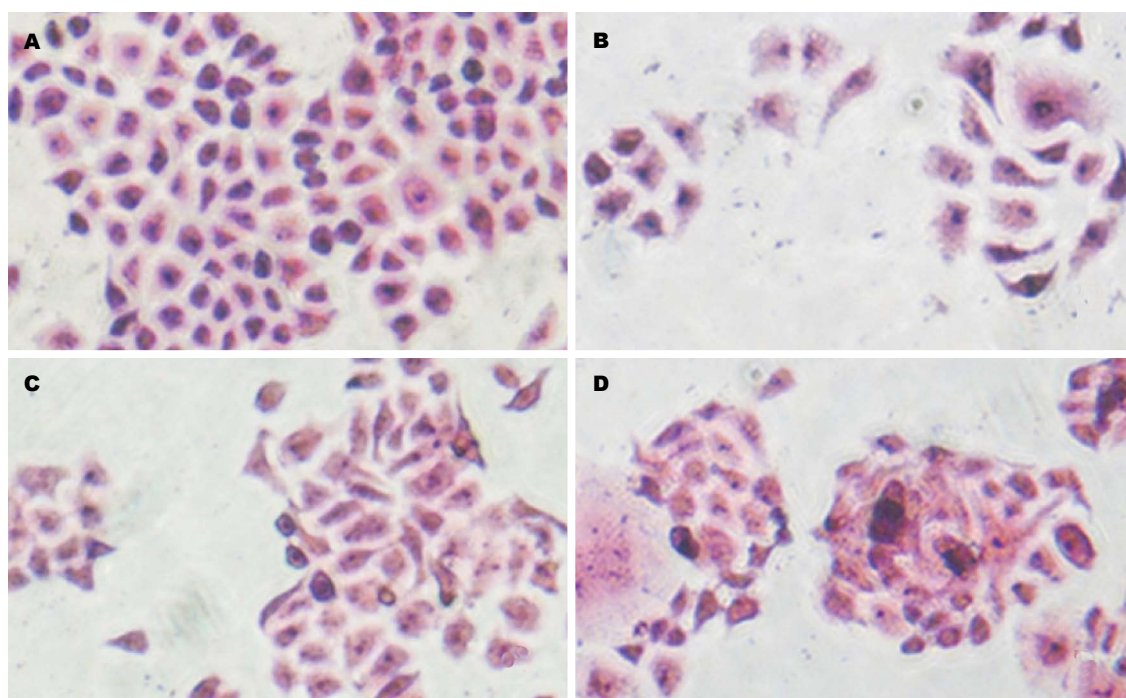


图 6 经20  $\mu\text{mol/L}$  P162作用48 h后Eca109、Eca109R细胞形态(HE×200). A: Eca109; B: Eca109R; C: P162+Eca109; D: P162+Eca109R.

2.4 放疗后Eca109细胞核内Gli-1表达变化 Western blot测X线照射后Eca109细胞1、2、4、24、48、72 h、7、10、14 d时间点核内Gli-1表达, 结果显示: 照射后Gli-1逐渐下调, 与未照射细胞

相比于第48小时表达最低( $P<0.05$ ), 此后逐渐上调, 于第14天表达最高( $P<0.05$ ), 18 d趋于下降趋势(图7), 差异有统计学意义.

2.5 P162对Eca109、Eca109R细胞核内Gli-1影响

**应用要点**  
靶向作用于G3BP的新型多肽P162通过抑制Hh信号通路逆转食管癌放疗抗拒, 阐明食管癌放疗抗拒和P162增敏放疗的最新机制, 为食管癌防治提供新的理论依据和手段.

## ■同行评价

本文设计合理可靠, 有系统的理论分析和有价值的结论。

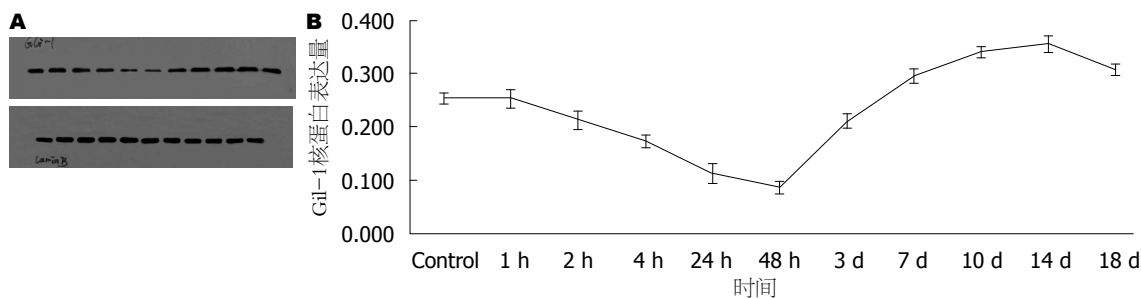


图7 Eca109细胞放疗后不同时间点核蛋白的表达。A: Western blot结果; B: Eca109细胞放疗后不同时间点核蛋白Gli-1表达水平。

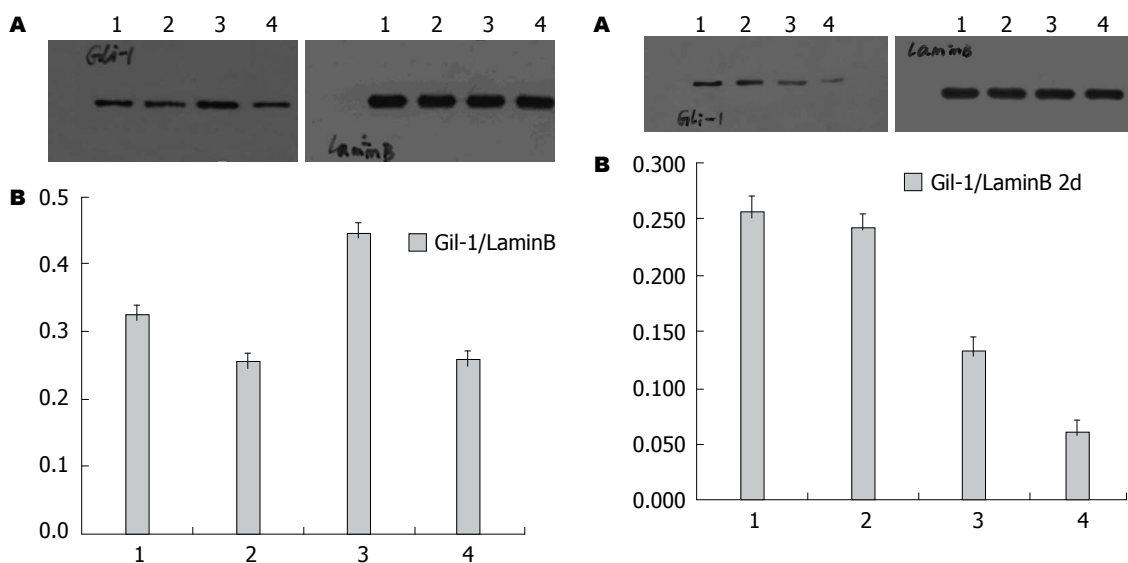


图8 照射加药组、未照射不加药组细胞核内蛋白Gli-1的表达。A: Western blot结果, 参照为核蛋白LaminB; B: 未照射加药组、未照射不加药组细胞核内蛋白Gli-1表达水平。1: Eca109; 2: Eca109+20 μmol/L P162; 3: Eca109R; 4: Eca109R+20 μmol/L P162。

图9 照射加药组、照射不加药组(照射后2 d)核蛋白Gli-1的表达。A: Western blot结果, 参照为核蛋白LaminB; B: 照射加药组、照射不加药组(照射后2 d)核蛋白Gli-1表达水平。1: Eca109; 2: Eca109+20 μmol/L P162; 3: Eca109R; 4: Eca109R+20 μmol/L P162。

Western blot测射线照射及P162干预后Eca109、Eca109R细胞核内Gli-1变化, 结果显示: 未照射加药组较未照射不加药组低表达Gli-1, 其中未照射不加药组中, Eca109R较Eca109高表达Gli-1( $F = 135.73$ ,  $P < 0.0001$ )(图8); 照射加药组较照射不加药组(照射后2、14 d)低表达Gli-1, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 其中照射不加药组(照射后2、14 d)中, Eca109与Eca109R的 Gli-1表达无统计学差异[分别为 $F = 1.89$ ,  $P = 0.2064$ (2 d),  $F = 0.45$ ,  $P = 0.5191$ (4 d)](图9, 10)。

2.6 P162联合放疗对Eca109、Eca109R细胞凋亡影响 由表2、图11可知P162联合放疗促进Eca109R、Eca109细胞凋亡。

### 3 讨论

Hh经典信号通路主要由Hh配体(Dhh、Ihh、Shh)、PTCH和Smo组成的受体复合物以及下游

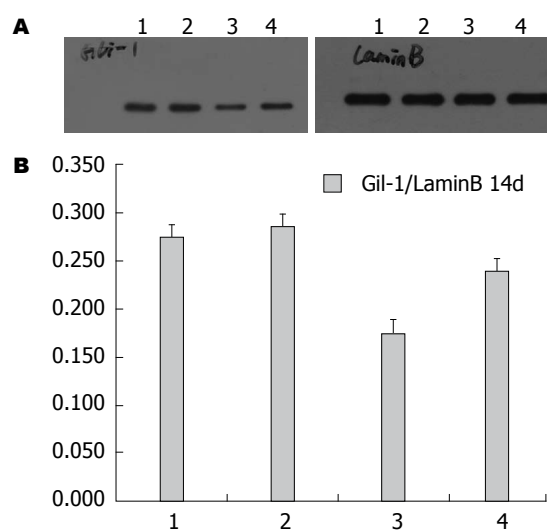


图10 照射加药组、照射不加药组(照射后14 d)核蛋白Gli-1的表达。A: Western blot结果, 参照为核蛋白LaminB; B: 照射加药组、照射不加药组(照射后14 d)核蛋白Gli-1表达水平。1: Eca109; 2: Eca109+20 μmol/L P162; 3: Eca109R; 4: Eca109R+20 μmol/L P162。



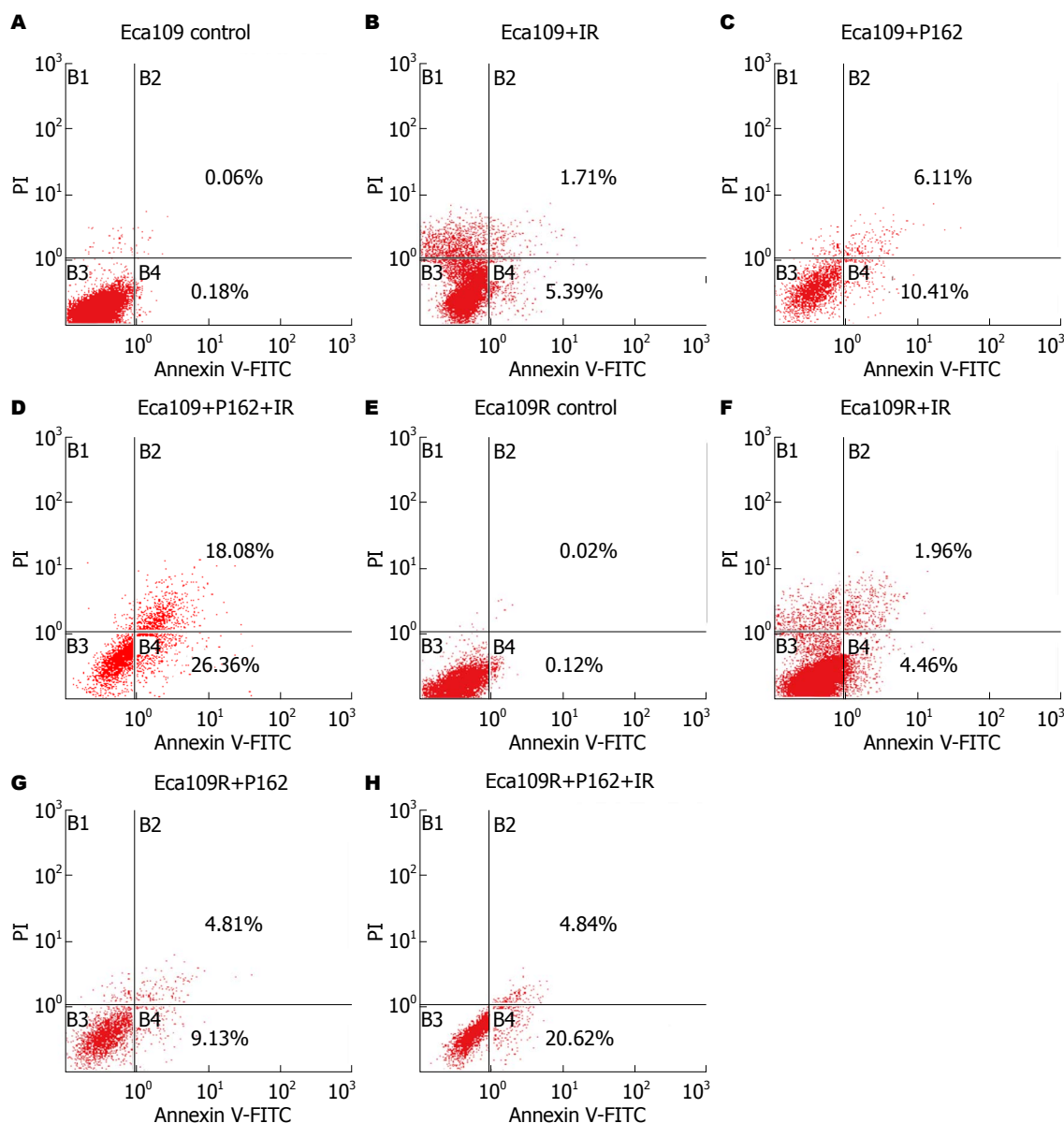


图 11 P162联合放疗对Eca109R、Eca109细胞凋亡影响流式图(20  $\mu$ mol/L P162, IR照射剂量为6 Gy). A: Eca109; B: Eca109+IR; C: Eca109+P162; D: Eca109+P162+IR; E: Eca109R; F: Eca109R+IR; G: Eca109R+P162; H: Eca109R+P162+IR.

转录因子Gli等组成, 其中Gli-1是Hh下游靶基因的强激活子, 核内Gli-1蛋白水平与Gli-1的转录活性成正比, 核蛋白Gli-1的表达水平是反映Hh信号通路活性<sup>[10]</sup>. Yoshikaw等<sup>[11]</sup>报道核蛋白Gli-1的表达与食管鳞癌放疗抵抗及复发有显著联系. Zhu等<sup>[7]</sup>也表明Gli-1表达与食管鳞癌放疗抵抗相关. Chen等<sup>[12]</sup>研究显示放疗诱使肝癌细胞分泌Shh(sonic hedgehog)配体激活Hh信号通路产生放疗抵抗. 本实验发现亲本食管癌Eca109细胞经放疗后Gli-1下调后上调, 放射抗拒性食管癌细胞较亲本食管癌细胞上调核蛋白Gli-1, 而两种细胞经放疗后2及4 d时Gli-1变化没有差异, 提示Hh信号通路异常激活可能与食管癌放射抗

拒相关.

Hh信号诱导放疗抗拒的机制目前尚不清楚, 推测其可能的机制是因Hh为调控肿瘤干细胞的重要通路之一, 在肿瘤干细胞自我更新、细胞持续分化以及肿瘤细胞侵袭转移等方面均扮演重要角色, 维持肿瘤的生存和促进肿瘤细胞的再增殖<sup>[13,14]</sup>, 而肿瘤干细胞是导致肿瘤复发、转移、放疗抵抗的主要根源<sup>[15-18]</sup>.

已证实食管癌放射抗拒细胞富集大量食管癌干细胞, 具有无限增殖、自我更新、细胞球形形成力、高致瘤力等干细胞特性<sup>[19,20]</sup>, 前期我们发现食管癌Eca109细胞随着放疗剂量的增加SP细胞、干细胞标志物 $\beta$ -catenin、食管癌干细

表 2 P162联合放疗对Eca109R、Eca109细胞早晚期凋亡率(%)

照射剂量(Gy)	分组	早期	晚期
0	Eca109	0.18	0.06
	Eca109R	0.12	0.02
	Eca109+P162	10.41	6.11
	Eca109R+P162	9.13	4.81
6	Eca109	5.39	1.71
	Eca109R	4.46	1.96
	Eca109+P162	26.36	18.08
	Eca109R+P162	20.62	4.84

胞标志物P75NTR的表达逐渐上调, 而P162抑制P75NTR表达<sup>[3]</sup>、干扰Ras-PI3K-Akt的增殖信号通路、抑制AKT、ERK、NF- $\kappa$ B的表达, 上调凋亡信号通路<sup>[21]</sup>。研究发现抑制Hh信号增敏放疗<sup>[22]</sup>, Gu等<sup>[23]</sup>表明阻滞Hh通过干扰肿瘤干细胞增敏放疗并阻止远处癌肿转移, Chen等<sup>[24]</sup>表明抑制Gli-1 mRNA表达可促进肝癌细胞凋亡。本实验发现单独P162及P162联合放疗下调Eca109、Eca109R核内蛋白Gli-1, 并促使其凋亡。提示多肽P162抑制Hh信号激活, 联合放疗促进食管癌细胞凋亡。

然而P162具体通过什么信号分子抑制Hh通路亦尚未清楚, 已发现非经典Hh通路是由信号通路RAS、AKT、TGF $\beta$ 不依赖配体蛋白激活转录因子Gli<sup>[25]</sup>, 其中RAS-MEK信号通路是最主要的非经典Hh信号通路<sup>[26,27]</sup>。NF- $\kappa$ B靶向激活Shh mRNA及蛋白的表达抵抗TNF诱导凋亡<sup>[28]</sup>, 据此可推测P162可通过NF- $\kappa$ B直接抑制经典Hh通路, 还可经RAS-MEK、PI3K-Akt抑制非经典Hh通路。

总之, Hh信号通路在人食管癌Eca109细胞系中存在异常激活, 并与放射抗拒相关。P162对食管癌的放疗增敏作用可能涉及促进细胞凋亡, 抑制Hh信号激活及食管癌干细胞表达, 还可能涉及其他影响因素, 如DNA损伤修复机制、细胞周期再分布、肿瘤细胞再增殖等。Hh信号激活导致放射抗拒的机制及其与食管癌干细胞之间的关系、P162增敏放疗的具体机制尚需进一步探讨。

#### 4 参考文献

- Wong R, Malthaner R. Combined chemotherapy and radiotherapy (without surgery) compared with radiotherapy alone in localized carcinoma of the

- esophagus. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (1): CD002092 [PMID: 16437440 DOI: 10.1002/14651858]
- Chen Y, Lu Y, Wang Y, Yang H, Xia Y, Chen M, Song H, Li T, Li D, Wang J, Li S. Comparison of salvage chemoradiation versus salvage surgery for recurrent esophageal squamous cell carcinoma after definitive radiochemotherapy or radiotherapy alone. *Dis Esophagus* 2012 Oct 22. [Epub ahead of print] [PMID: 23088212 DOI: 10.1111/j.1442-2050]
- 郑娇娇, 吴清明, 陈建华, 陈彩虹, 程静. P162对食管癌细胞株Eca109R的放射增敏作用及其对P75NTR表达的影响. *中国病理生理杂志* 2013; 29: 103-107
- Wei L, Xu Z. Cross-signaling among phosphoinositide-3 kinase, mitogen-activated protein kinase and sonic hedgehog pathways exists in esophageal cancer. *Int J Cancer* 2011; 129: 275-284 [PMID: 20839260 DOI: 10.1002/ijc.25673]
- Ma X, Sheng T, Zhang Y, Zhang X, He J, Huang S, Chen K, Sultz J, Adegboyega PA, Zhang H, Xie J. Hedgehog signaling is activated in subsets of esophageal cancers. *Int J Cancer* 2006; 118: 139-148 [PMID: 16003737]
- Berman DM, Karhadkar SS, Maitra A, Montes De Oca R, Gerstenblith MR, Briggs K, Parker AR, Shimada Y, Eshleman JR, Watkins DN, Beachy PA. Widespread requirement for Hedgehog ligand stimulation in growth of digestive tract tumours. *Nature* 2003; 425: 846-851 [PMID: 14520411 DOI: 10.1038/nature01972]
- Zhu W, You Z, Li T, Yu C, Tao G, Hu M, Chen X. Correlation of hedgehog signal activation with chemoradiotherapy sensitivity and survival in esophageal squamous cell carcinomas. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41: 386-393 [PMID: 21127038 DOI: 10.1093/jjco/hyq217]
- Sims-Mourtada J, Izzo JG, Apisarnthanarax S, Wu TT, Malhotra U, Luthra R, Liao Z, Komaki R, van der Kogel A, Ajani J, Chao KS. Hedgehog: an attribute to tumor regrowth after chemoradiotherapy and a target to improve radiation response. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 6565-6572 [PMID: 17085672 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0176]
- 金曙, 吴清明, 于皆平. NS398对放射抗拒食管鳞癌细胞的放射增敏作用. *医药导报* 2006; 25: 613-615
- Mori Y, Okumura T, Tsunoda S, Sakai Y, Shimada Y. Gli-1 expression is associated with lymph node metastasis and tumor progression in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncology* 2006; 70: 378-389 [PMID: 17179732]
- Yoshikawa R, Tsujimura T, Tao L, Kamikonya N, Fujiwara Y. The oncoprotein and stem cell renewal factor BMI1 associates with poor clinical outcome in oesophageal cancer patients undergoing preoperative chemoradiotherapy. *BMC Cancer* 2012; 12: 461 [PMID: 23046527 DOI: 10.1186/1471-2407-12-461]
- Chen YJ, Lin CP, Hsu ML, Shieh HR, Chao NK, Chao KS. Sonic hedgehog signaling protects human hepatocellular carcinoma cells against ionizing radiation in an autocrine manner. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2011; 80: 851-859 [PMID: 21377281 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2011.01.003]
- Merchant AA, Matsui W. Targeting Hedgehog--a cancer stem cell pathway. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 3130-3140 [PMID: 20530699 DOI: 10.1158/1078-0432]
- Song Z, Yue W, Wei B, Wang N, Li T, Guan L, Shi S, Zeng Q, Pei X, Chen L. Sonic hedgehog pathway is essential for maintenance of cancer stem-

- like cells in human gastric cancer. *PLoS One* 2011; 6: e17687 [PMID: 21394208 DOI: 10.1371/journal.pone.0017687]
- 15 Ogawa K, Yoshioka Y, Isohashi F, Seo Y, Yoshida K, Yamazaki H. Radiotherapy targeting cancer stem cells: current views and future perspectives. *Anti-cancer Res* 2013; 33: 747-754 [PMID: 23482741]
  - 16 Yu Z, Pestell TG, Lisanti MP, Pestell RG. Cancer stem cells. *Int J Biochem Cell Biol* 2012; 44: 2144-2151 [PMID: 22981632 DOI: 10.1016/j.biocel]
  - 17 Bohl SR, Pircher A, Hilbe W. Cancer stem cells: characteristics and their potential role for new therapeutic strategies. *Onkologie* 2011; 34: 269-274 [PMID: 21577035 DOI: 10.1159/000327815]
  - 18 Moncharmont C, Levy A, Gilormini M, Bertrand G, Chargari C, Alphonse G, Ardail D, Rodriguez-Lafrasse C, Magné N. Targeting a cornerstone of radiation resistance: cancer stem cell. *Cancer Lett* 2012; 322: 139-147 [PMID: 22459349 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.03.024]
  - 19 Che SM, Zhang XZ, Liu XL, Chen X, Hou L. The radiosensitization effect of NS398 on esophageal cancer stem cell-like radioresistant cells. *Dis Esophagus* 2011; 24: 265-273 [PMID: 21087344 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2010.01138.x]
  - 20 Li JC, Liu D, Yang Y, Wang XY, Pan DL, Qiu ZD, Su Y, Pan JJ. Growth, clonability, and radiation resistance of esophageal carcinoma-derived stem-like cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 4891-4896 [PMID: 24083764]
  - 21 Zhang H, Zhang S, He H, Zhao W, Ren K, Chen J, Shao RG. RasGAP-derived peptide 38GAP potentiates the cytotoxicity of cisplatin through inhibitions of Akt, ERK and NF- $\kappa$ B in colon carcinoma HCT116 cells. *Cancer Lett* 2011; 308: 62-70 [PMID: 21570766 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.04.014]
  - 22 Zeng J, Aziz K, Chettiar ST, Aftab BT, Armour M, Gajula R, Gandhi N, Salih T, Herman JM, Wong J, Rudin CM, Tran PT, Hales RK. Hedgehog pathway inhibition radiosensitizes non-small cell lung cancers. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2013; 86: 143-149 [PMID: 23182391 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2012.10.014]
  - 23 Gu D, Liu H, Su GH, Zhang X, Chin-Sinex H, Hanenberg H, Mendonca MS, Shannon HE, Chiorean EG, Xie J. Combining hedgehog signaling inhibition with focal irradiation on reduction of pancreatic cancer metastasis. *Mol Cancer Ther* 2013; 12: 1038-1048 [PMID: 23468532 DOI: 10.1158/1535-7163]
  - 24 Chen XL, Cao LQ, She MR, Wang Q, Huang XH, Fu XH. Gli-1 siRNA induced apoptosis in Huh7 cells. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 582-589 [PMID: 18203291 DOI: 10.3748/wjg.14.582]
  - 25 Lauth M, Toftgård R. Non-canonical activation of GLI transcription factors: implications for targeted anti-cancer therapy. *Cell Cycle* 2007; 6: 2458-2463 [PMID: 17726373 DOI: 10.4161/cc.6.20.4808]
  - 26 Goel HL, Pursell B, Chang C, Shaw LM, Mao J, Simin K, Kumar P, Vander Kooi CW, Shultz LD, Greiner DL, Norum JH, Toftgard R, Kuperwasser C, Mercurio AM. GLI1 regulates a novel neuropilin-2/ $\alpha$ 6 $\beta$ 1 integrin based autocrine pathway that contributes to breast cancer initiation. *EMBO Mol Med* 2013; 5: 488-508 [PMID: 23436775 DOI: 10.1002/emmm.201202078]
  - 27 Stecca B, Mas C, Clement V, Zbinden M, Correa R, Piguat V, Beermann F, Ruiz I Altaba A. Melanomas require HEDGEHOG-GLI signaling regulated by interactions between GLI1 and the RAS-MEK/AKT pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 5895-5900 [PMID: 17392427 DOI: 10.1073/pnas.0700776104]
  - 28 Kasperczyk H, Baumann B, Debatin KM, Fulda S. Characterization of sonic hedgehog as a novel NF-kappaB target gene that promotes NF-kappaB-mediated apoptosis resistance and tumor growth in vivo. *FASEB J* 2009; 23: 21-33 [PMID: 18772349 DOI: 10.1096/fj.08-111096]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 结肠癌中相关miRNA对NRP2调控的预测及鉴定

李明, 连海峰, 刘成霞, 马锋振, 谢书阳

## ■背景资料

结直肠癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 在全世界范围内普遍高发, 淋巴结转移是其最常见的转移途径, 也是预示患者肿瘤复发及死亡的强有力指标。神经纤毛蛋白2(neuropilin-2, NRP2)在结直肠癌淋巴结转移中起着重要作用, 其在结直肠癌中表达上调的机制尚不明确。MiRNA作为内源性、非编码调节RNA在肿瘤相关蛋白的表达中起着重要作用, 研究NRP2调控相关miRNA对于结直肠癌的治疗具有重要的临床意义。

李明, 连海峰, 刘成霞, 马锋振, 滨州医学院附属医院消化内科 山东省滨州市 256603

谢书阳, 滨州医学院肿瘤分子生物学重点实验室 山东省烟台市 264003

李明, 在读硕士, 主要从事大肠癌淋巴结转移的研究。

山东省自然科学基金资助项目, No. ZR2010HL051

作者贡献分布: 李明与连海峰对此论文所作贡献均等; 此课题由刘成霞与连海峰设计; 研究过程由李明与连海峰操作完成; 数据分析由马锋振与谢书阳完成; 本论文写作由李明与连海峰完成。

通讯作者: 刘成霞, 教授, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院消化内科。phdlcx@163.com

电话: 0543-3256764

收稿日期: 2013-11-20 修回日期: 2013-12-08

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-18

## Prediction and identification of microRNAs involved in regulating neuropilin-2 in colorectal carcinoma

Ming Li, Hai-Feng Lian, Cheng-Xia Liu, Feng-Zhen Ma, Shu-Yang Xie

Ming Li, Hai-Feng Lian, Cheng-Xia Liu, Feng-Zhen Ma, Department of Digestive Medicine, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Shu-Yang Xie, Key Laboratory of Tumor Molecular Biology, Binzhou Medical University, Yantai 264003, Shandong Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Shandong Province, No. ZR2010HL051

Correspondence to: Cheng-Xia Liu, Professor, Department of Digestive Medicine, the Affiliated Hospital of Binzhou Medical University, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. phdlcx@163.com

Received: 2013-11-20 Revised: 2013-12-08

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To predict and identify the possible microRNAs (miRNAs) involved in regulating neuropilin-2 (NRP2) in colorectal carcinoma.

**METHODS:** Bioinformatic technique was used to predict the possible miRNAs which might participate in regulating NRP2. miR-486-5p, which is most possibly involved in regulating NRP2, was selected for further study. A miR-486-5p over-expressing plasmid was constructed and transfected into the human colorectal carcinoma cell line SW620 using Lipofectamine 2000.

The expression of miR-486-5p in transfected cells was measured by quantitative real-time PCR (qRT-PCR). Western blot was conducted to detect the expression of NRP2 protein, and miR-486-5p targeting NRP2 3'UTR was verified by dual luciferase reporter assay.

**RESULTS:** Twenty-five possible NRP2-regulating miRNAs were predicted using bioinformatic software. By searching the literature, we chose miR-486-5p for further study. The expression of miR-486-5p in SW620 cells transfected with miR-486-5p over-expressing plasmid was obviously up-regulated. Western blot analysis revealed that miR-486-5p reduced the expression level of NRP2. Dual luciferase reporter assay demonstrated that miR-486-5p could directly targeting the NRP2 3'UTR.

**CONCLUSION:** miR-486-5p is involved in the post-transcriptional regulation of NRP2 by binding to the NRP2 3'UTR and interfering the normal translation of NRP2.

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

**Key Words:** Neuropilin-2; miR-486-5p; Transfection; Bioinformatic technique

Li M, Lian HF, Liu CX, Ma FZ, Xie SY. Prediction and identification of microRNAs involved in regulating neuropilin-2 in colorectal carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 624-629 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/624.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.624>

## 摘要

**目的:** 预测可能调控神经纤毛蛋白2(neuropilin-2, NRP2)的微小RNA(microRNA, miRNA), 鉴定其对NRP2的调控作用及可能的调控机制。

**方法:** 使用生物信息学软件预测可能调控NRP2的miRNA, 选择可能性最大的miRNA-486-5p进一步研究, 构建miRNA-486-5p过表达质粒, 采用脂质体法将质粒转染入人结肠

## ■同行评议者

王鲁平, 主任医师, 北京军区总医院病理科

癌细胞株SW620, 实时定量PCR(qRT-PCR)验证miRNA-486-5p的表达丰度, Western blot检测NRP2的表达, 双荧光素酶实验验证miRNA-486-5p对NRP2的调控机制。

**结果:** 生物信息学技术预测共有25条miRNA可能调控NRP2的表达, 结合文献选择miR-486-5p进一步研究; miR-486-5p过表达质粒转染SW620细胞后, 表达丰度升高, NRP2蛋白表达明显下调, 双荧光素酶实验证实miRNA-486-5p可与NRP2 mRNA 3'非转录区(3' untranslated region, 3'UTR)直接结合, 从而发挥对NRP2转录后翻译的抑制作用。

**结论:** miRNA-486-5p可调控的NRP2的表达, 其作用机制是通过结合NRP2 3'UTR而抑制NRP2 mRNA的正常翻译。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** NRP2; miRNA-486-5p; 转染; 生物信息学技术

**核心提示:** 本研究应用生物信息学软件预测可能调控神经纤毛蛋白2(neuropilin-2, NRP2)的微小RNA, 选择可能性最大的miRNA-486-5p进一步研究, 上调SW620细胞miRNA-486-5p的表达量后, Western blot表明miR-486-5p可抑制NRP2的表达, 双荧光素酶实验证实miRNA-486-5p可与NRP2 mRNA 3'非转录区直接结合, 从而发挥对NRP2转录后翻译的抑制作用。

李明, 连海峰, 刘成霞, 马锋振, 谢书阳. 结肠癌中相关miRNA对NRP2调控的预测及鉴定. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 624-629 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/624.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.624>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)在全世界范围内普遍高发, 其发病率在恶性肿瘤中居第4位, 术后复发和转移是结直肠癌患者的主要死因, 淋巴结转移是其最常见的转移途径, 也是判断患者预后及制定治疗方案的重要指标<sup>[1]</sup>。神经纤毛蛋白2(neuropilin-2, NRP2)是一种单链跨膜糖蛋白, 首先作为神经导向因子semaphorins的受体而被发现的<sup>[2]</sup>。新近发现NRP2可以与VEGFR3形成受体复合物, 促进淋巴管生成<sup>[3]</sup>。多项研究表明NRP2在肿瘤中发生发展中其重要作用: Gray等<sup>[4]</sup>研究发现NRP2在结直肠癌组织高表达, 周琪等<sup>[5]</sup>发现结直肠组织中NRP2高表

达, 并与肿瘤的淋巴结转移及肿瘤微淋巴管密度(micro-lymphatic density, MLD)呈正相关。目前关于NRP2在肿瘤中上调机制仍不明确, 研究其作用机制可为针对淋巴结转移的生物靶向治疗、预防结直肠癌的转移和复发及提高肿瘤患者的生存率提供理论依据。miRNA是一类长约22 nt的非编码小RNA, 作为基因转录后调控因子, 可抑制靶蛋白的转录后翻译, 由于miRNA作用于靶基因时只需其种子区域(seed region, 第2个至第8个核苷酸)完全匹配, 而不需要完全配对结合, 故一条miRNA可调控多个靶基因, 一个靶基因受多条miRNA的调控<sup>[6]</sup>。研究证明异常表达的miRNA在肿瘤的发生发展过程中起着重要的作用。我们推测NRP2在结直肠癌中的高表达可能与异常表达的miRNA相关, 故研究NRP2调控相关的miRNA可为结直肠癌的生物靶向治疗提供新的研究方向。本实验通过生物信息学技术及相关文献筛选高度可能调控NRP2的miRNA, 并验证其对NRP2的作用及机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 结肠癌细胞株SW620购自武汉博士德公司; miRNA-486-5p过表达质粒(GV214-miR)由上海吉凯公司构建、合成; 合成miRNA-486-5p前体序列并在两端设计BamH I /Hind III酶切位点, 插入GV214多克隆位点, 该载体以绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)为报告基因, 同时构建阴性质粒(GV214-NC); 双荧光素酶报告质粒(pmirGLO Vector)由上海吉玛公司构建合成; 全基因合成NRP2 3'UTR, 并在两端设计酶切位点, 插入荧光虫荧光素酶(firefly luciferase)3'UTR的克隆位点, 该质粒同时包含海肾荧光素酶(renilla luciferase)基因, 作为内参验证其转染效率(图1)。RPMI 1640培养基、标准胎牛血清、0.25%胰蛋白酶(Hyclone公司); Lipofectamine 2000(Invitrogen公司); 兔抗人NRP2多克隆抗体(英国Abcam公司); BCA蛋白浓度测定试剂盒、SDS-PAGE凝胶配制试剂盒、GAPDH兔单克隆抗体、硝酸纤维素膜、双荧光素酶报告基因检测试剂盒(碧云天生物技术研究); 总RNA提取试剂、逆转录试剂盒、实时荧光定量PCR试剂盒(大连宝生物公司); 荧光实时定量PCR引物: 广州锐博有限公司设计合成。

### 1.2 方法

**1.2.1 TargetScan软件预测NRP2调控相关的miRNA:** 利用TargetScan软件预测可能的NRP2

## ■ 研发前沿

本研究首先应用生物信息学软件预测可能调控NRP2的微小RNA, 结合文献选择可能性最大的miRNA-486-5p深入研究, 通过转染、Western blot及荧光素酶实验证实了对NRP2的直接调控作用, 丰富了NRP2调控的理论体系, 为结直肠癌的防治提供新的研究方向。

## ■相关报道

Gray等研究发现NRP2在结直肠癌组织高表达,并在体外实验证实抑制NRP2的表达可促进细胞凋亡,抑制其增殖和迁移。MiR-486-5p在胰腺癌、结肠癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌均表达下调。

表 1 TargetScan预测神经纤毛蛋白2调控相关的miRNA及其相应评分

编号	miRNA	Position of NRP2 3'UTR	Context score
1	has-miR-4433	79-86	99
2	has-miR-876-5p	85-92	99
3	has-miR-3167	85-92	98
4	has-miR-371-5p	107-114	98
5	has-miR-216b	112-119	97
6	has-miR-571	76-82	90
7	has-miR-4298	53-59	88
8	has-miR-1302	53-59	86
9	has-miR-4768-3p	80-86	85
10	has-miR-3913-3p	50-56	84
11	has-miR-3145-3p	100-106	82
12	has-miR-486-5p	30-36	81
13	has-miR-4459	80-86	79
14	has-miR-371b-5p	108-114	78
15	has-miR-452	63-69	75
16	has-miR-1290	86-92	73
17	has-miR-1255a	72-78	69
18	has-miR-4676-3p	32-38	68
19	has-miR-216a	113-119	68
20	has-miR-622	43-49	67
21	has-miR-1255b	72-78	66
22	has-miR-339-5p	32-38	59
23	has-miR-140-3p	26-32	50
24	has-miR-4760-5p	59-65	50
25	has-miR-1267	-	Too close to ORP

调控相关的miRNA,结果显示共有25条miRNA可能参与了NRP2转录后调控(表1)。NRP2在结肠癌中表达上调,miRNA对靶基因的表达是通过结合靶基因3'UTR而抑制基因的表达,故在癌组织应表达下调的miRNA才有可能对NRP2具有转录后的调控作用。因此我们首先查阅所有TargetScan预测miRNA的相关文献,首先排除掉无文献支持、预测评分较低和某些表达上调的miRNA,然后在剩下的miRNA中选择与肿瘤密切相关的miRNA进一步研究。结合文献、预测评分,我们采用miR-486-5p作为目的miRNA作为研究对象。miRNA-486-5p在包括结直肠癌在内的多个肿瘤中表达下调,并与肿瘤淋巴结转移密切相关。利用miRanda(v1.9)软件预测miR-486-5p的潜在靶基因,结果显示NRP2为其可能靶基因,因此本实验选择miRNA-486-5p进一步研究。

1.2.2 细胞培养: SW620细胞以含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基在37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中常规培养,每2-3天用0.25%的胰蛋白酶消化、

传代,取对数期细胞用于实验。

1.2.3 miRNA-486-5p过表达质粒瞬时转染SW620细胞: 取对数生长期细胞 $1 \times 10^6$ 个接种于6孔板,置于37℃、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养至细胞密度70%后,将细胞分为3组: 单纯RPMI 1640培养组、GV214-NC质粒转染组、GV214-miR过表达质粒转染组,将培养基换成无血清无双抗的1640培养基(每孔1 mL),质粒及转染试剂Lipofectamine 2000分别用100  $\mu$ L 1640培养基稀释后,以质粒( $\mu$ g): 脂质体( $\mu$ L) = 1:2的比例混匀后静置30 min,逐滴加入并轻晃混匀,培养6 h后换为含完全培养基,48 h后收集细胞进行下一步分析。

1.2.4 实时定量PCR检测miRNA-486-5p丰度: 转染48 h后收集细胞, (1)按照TRIzol试剂说明提取总RNA, 1%的琼脂糖变性凝胶电泳检测RNA的完整性,紫外可见分光光度计检测RNA的纯度和浓度; (2)按逆转录试剂盒逆转录得到cDNA,反应条件如下: 70℃ 10 min、冰浴2 min、42℃ 60 min、70℃ 10 min; (3)PCR反应参数设置:



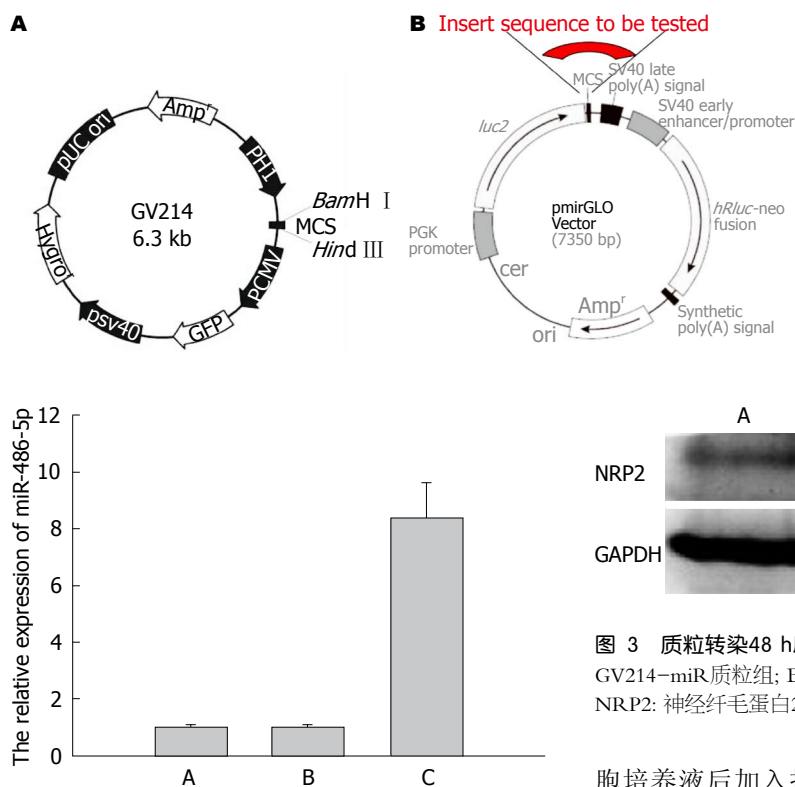


图2 各组细胞miRNA-486-5p相对表达量. A: 空白对照组; B: GV214-NC质粒组; C: GV214-miR质粒组.

95 °C 20 s; 95 °C 5 s, 60 °C 20 s, 72 °C 5 s, 40个循环, 每个样品做3个平行管, 每次实验至少重复3次; (4)数据分析miRNA-486-5p相对表达水平用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 方法计算(Ct值是目标扩增产物打到设定阈值所经历的循环数), 内参为U6基因.

**1.3.5 Western blot检测各组细胞NRP2蛋白的表达:** 细胞转染48 h后, 提取总蛋白, BCA蛋白浓度测定试剂盒测定蛋白浓度, 取50  $\mu$ g变性处理的蛋白质加入SDS-聚丙烯酰胺凝胶小孔进行电泳(浓缩胶层80 V, 分离胶层120 V), 电泳后于冰上0.25 mA转膜2 h 10 min, 丽春红染色观察转移效果满意后, TBST缓冲液洗膜后5%脱脂奶粉与摇床上孵育2 h, 加入一抗(1:500兔抗人NRP2多抗, 1:5000兔抗人GAPDH单抗)4 °C封闭过夜, 洗膜后加入羊抗兔IgG/HRP二抗(1:2000)室温孵育1 h, 增强化学发光法(ECL)显影得到蛋白印记条带, 以Tanon软件分析条带灰度值.

**1.2.6 双荧光素酶实验:** 取对数生长期细胞接种于96孔板, 置于37 °C、5%CO<sub>2</sub>的培养箱中培养至细胞密度70%后, 将细胞分为3组: 只转染pmirGLO质粒组、共转染GV24-miR质粒和pmirGLO质粒组、共转染GV214-NC和pmirGLO质粒组; 转染方法同前. 转染48 h后吸尽细

图1 质粒图谱. A: miRNA-486-5p过表达质粒; B: 双荧光素酶报告质粒.

**■创新盘点**  
本文将生物信息学技术和转染、Western blot、荧光素酶实验结合起来, 首次验证了miR-486-5p与NRP2之间的调控关系, 为结直肠癌的基因诊断及基因治疗的研究提供了新的理论依据和治疗靶点.

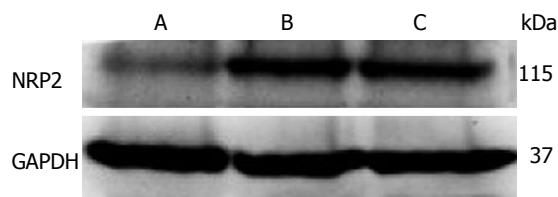


图3 质粒转染48 h后SW620细胞内NRP2蛋白的表达. A: GV214-miR质粒组; B: GV214-NC质粒组; C: 空白对照组. NRP2: 神经纤毛蛋白2.

胞培养液后加入报告基因细胞裂解液, 每孔加入萤火虫荧光素酶检测缓冲液100  $\mu$ L, 把96孔板放入多功能酶标仪内测定RLU(relative light unit), 检测完成后加入海肾荧光素酶检测工作液, 同样测定RLU. 用萤火虫荧光素酶测定得到的RLU值除以海肾荧光素酶测定得到的RLU值, 作为其荧光素酶活性的相对值.

**统计学处理** 实验数据以mean $\pm$ SD表示, 单因素方差分析比较各组间差异, 实验所得数据资料采用SPSS19.0统计分析软件分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 qRT-PCR检测转染细胞miRNA-486-5p丰度** miR-486-5p及U6扩增曲线均为典型S型曲线, 溶解曲线呈单峰且溶解温度均一, 表明引物特异性好, qRT-PCR结果可靠. 分析结果显示: GV214-miR质粒转染组中miRNA表达明显上调, 相对定量显示其表达量约为未转染组的8倍( $P<0.05$ ), 转染GV214-NC质粒组则无明显变化( $P>0.05$ )(图2).

**2.2 miRNA-486-5p对NRP2蛋白表达的影响** Western blot分析结果显示, 各组细胞 $\beta$ -actin蛋白杂交条带亮度相似, 但NRP2条带亮度有明显差异. 与空白对照组( $0.71\pm0.04$ )相比, 转染GV214-miR质粒组( $0.36\pm0.06$ )NRP2表达明显下调( $P<0.05$ ), 转染GV214-NC质粒组( $0.65\pm0.07$ )则无明显差异( $P>0.05$ )(图3).

### ■应用要点

本文发现miR-486-5p在结直肠癌中参与NRP2的调控,说明其在结直肠癌淋巴结转移中的重要临床意义,提示miR-486-5p可作为NRP2潜在的治疗靶位,并可作为结直肠癌诊断及预后的判断的分子标志,对于结直肠癌的早期诊断和治疗具有重要意义。

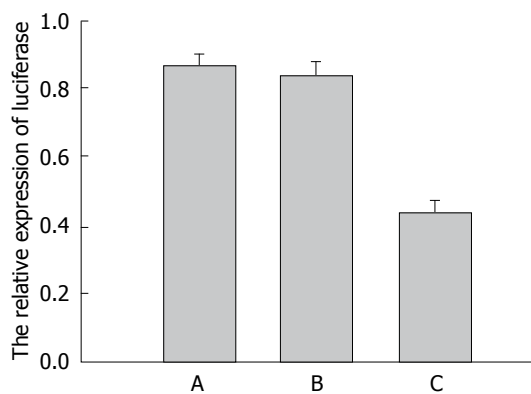


图4 各组SW620细胞荧光素酶相对表达量。A: 空白对照组; B: GV214-NC质粒组; C: GV214-miR质粒组。

**2.3 双荧光素酶实验** 为了研究miR-486-5p是否直接调控NRP2的表达,我们构建了双荧光素酶报告基因载体,采用荧光素酶报告基因实验进行检测。结果显示:和单独转染双荧光素酶质粒pmirGLO的空白对照组相比,共转染GV214-miR和pmirGLO质粒组荧光素酶活性明显降低( $P<0.05$ ),而共转染GV214-NC和pmirGLO质粒组荧光素酶无明显改变( $P>0.05$ )(图4)。

### 3 讨论

CRC是消化系最常见的恶性肿瘤之一,尽管采取手术、放疗、化疗等综合治疗措施,其疗效仍不理想。浸润和转移是包括结直肠癌在内的多数恶性肿瘤的基本特征,也是其死亡的主要原因,该过程涉及多个信号通路<sup>[7]</sup>。早期CRC主要通过淋巴管向局部淋巴结转移,研究证明结直肠癌周围存在许多扩张状的新生淋巴管,为其淋巴结转移提供了条件,目前关于淋巴结转移的具体分子学机制尚不明确<sup>[8]</sup>。NRP2是近年来被发现血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)家族的新型受体,与VEGFR-3形成共受体,促进淋巴管生成,有研究证明NRP2在多种肿瘤中表达上调,并与淋巴结转移密切相关,Caunt等<sup>[9]</sup>在动物实验中使用针对NRP2上与VEGF-C结合的b1b2结构域的特异性抗体阻断NRP2功能后,出现肿瘤转移至淋巴结及远隔器官的减少的现象,证实其在肿瘤淋巴管生成及肿瘤远处转移中起着重要作用。NRP2在结直肠癌中上调的机制尚不明确,研究上调机制对于针对结直肠癌淋巴结转移的靶向治疗有着重大的临床意义。miRNA是一类内源性转录后调控因子,可通过与靶基因mRNA的3'UTR结合抑制其翻译,调控大约30%的蛋白编

码基因的表达,从而广泛参与发育时序调控、细胞分化、凋亡等各种过程<sup>[10]</sup>。miRNA的基因突变或表达异常导致其下游靶蛋白的异常表达,参与包括肿瘤在内的多种疾病发生发展过程。大量研究表明miRNA在肿瘤中既可作为抑癌基因,下调原癌基因的活性,也可作为癌基因,下调抑癌基因的活性,miRNA在肿瘤转移中的调控作用亦被证实<sup>[11]</sup>。本研究旨在预测可能调控NRP2的miRNA,并验证其对NRP2的调控作用和机制。

生物信息学技术是使用不同的预测软件(主要包括TargetScan、PicTar、miRanda、EMBL、EIMM、PITA),分析miRNA的序列或靶基因mRNA 3'UTR的序列,这些软件使用不同的参数预测miRNA和靶基因mRNA 3'UTR上互补配对的种子序列。对于一个给定的miRNA可以预测出其所有的靶基因mRNA,同时也可以根据给定的基因mRNA 3'UTR序列,则可以预测出此基因的可能相关miRNAs以及结合位点的种子序列。由于不同的预测工具有不同的计算方法,会预测出不同的miRNA或靶mRNA以及互补配对的位点,因此需要使用多个预测工具进行预测,并结合相关文献,选择软件中预测出来的有高度的重叠性miRNA或靶基因,进一步用相关实验进行验证<sup>[12]</sup>。本研究首先使用TargetScan软件预测了25条可能调控NRP2的miRNA。结合相关文献,初步筛选可能性较大的miRNA: Tan等<sup>[13]</sup>使用微阵列实验检测肺癌及癌旁组织中差异表达的miRNA并qRT-PCR验证其准确性,结果显示miRNA-486-5p表达明显下调,可作为区分肺癌的分子标志物。Navon等<sup>[14]</sup>使用微阵列方法证实miRNA-486-5p在胰腺癌、结肠癌、肝癌、肺癌、淋巴瘤、卵巢癌、前列腺癌、睾丸癌的表达均下调。Oh等<sup>[15]</sup>发现miRNA-486-5p在胃癌中表达明显下调,且与胃癌淋巴结转移密切相关。miRanda(v1.9)软件显示NRP2是miRNA-486-5p的潜在靶基因之一,因此我们选择miRNA-486-5p作进一步研究。

我们使用miRNA-486-5p过表达质粒转染结肠癌细胞SW620,使用Western blot验证其对NRP2蛋白表达的影响,证实miRNA-486-5p可抑制SW620细胞NRP2的表达,虽然该方法能确定NRP2与miRNA-486-5p的调控相关性,但不能鉴定miRNA-486-5p的靶位点。为进一步确定miRNA-486-5p是直接与NRP2 3'UTR直接作用,我们进行了双荧光素酶实验。目前双荧光素

酶实验是最常用的miRNA靶位点鉴定方法, 其原理是构建荧光素酶表达载体, 将希望鉴定的miRNA靶基因的3'UTR克隆到含萤火虫荧光素酶基因标记的报告质粒中, 然后将构建好的载体与miRNA过表达质粒同时转染细胞, 最后检测荧光素酶的活性以分析转染3'UTR中是否含有miRNA的靶位点. 如果相应基因的3'UTR内含有miRNA的结合位点, 则细胞内上调的miRNA将结合于靶基因3'UTR, 阻碍萤火虫荧光素酶的翻译. miRNA-486-5p过表达质粒与含有NRP2 3'UTR的双荧光素酶载体共转染SW620细胞时, 萤火虫荧光素酶活性明显降低, 证实miRNA-486-5p是通过结合在NRP2 3'UTR而发挥对NRP2的抑制作用.

总之, 本研究使用生物信息学技术预测NRP2调控相关的miRNA, 从中选择miRNA-486-5p进一步研究, 结果表明miRNA-486-5p可抑制NRP2的表达, 双荧光素酶实验证实miRNA-486-5p可直接作用于NRP2 3'UTR, 提示NRP2可能为miRNA-486-5p的靶基因, 为结直肠癌的防治提供了新的靶点.

#### 4 参考文献

- Higa R. [Colorectal cancer: epidemiology and primary profilaxis]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2011; 41: 70-73 [PMID: 21539071]
- He Z, Tessier-Lavigne M. Neuropilin is a receptor for the axonal chemorepellent Semaphorin III. *Cell* 1997; 90: 739-751 [PMID: 9288753]
- Ellis LM. The role of neuropilins in cancer. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 1099-1107 [PMID: 16731741]
- Gray MJ, Van Buren G, Dallas NA, Xia L, Wang X, Yang AD, Somcio RJ, Lin YG, Lim S, Fan F, Mangala LS, Arumugam T, Logsdon CD, Lopez-Berestein G, Sood AK, Ellis LM. Therapeutic targeting of neuropilin-2 on colorectal carcinoma cells implanted in the murine liver. *J Natl Cancer Inst* 2008; 100: 109-120 [PMID: 18182619 DOI: 10.1093/jnci/djm279]
- 周琪, 梁后杰, 阎晓初, 彭秋平, 周进明, 吴峰, 龙艺, 刘以淑. 结肠癌组织NRP2的表达与淋巴结转移的关系. *临床肿瘤学杂志* 2009; 14: 797-802
- Petri A, Lindow M, Kauppinen S. MicroRNA silencing in primates: towards development of novel therapeutics. *Cancer Res* 2009; 69: 393-395 [PMID: 19147547 DOI: 10.1158/0008-5472]
- Vather R, Sammour T, Zargar-Shoshtari K, Metcalf P, Connolly A, Hill A. Lymph node examination as a predictor of long-term outcome in Dukes B colon cancer. *Int J Colorectal Dis* 2009; 24: 283-288 [PMID: 18716784 DOI: 10.1007/s00384-008-0540-y]
- Dekker JW, Peeters KC, Putter H, Vahrmeijer AL, van de Velde CJ. Metastatic lymph node ratio in stage III rectal cancer; prognostic significance in addition to the 7th edition of the TNM classification. *Eur J Surg Oncol* 2010; 36: 1180-1186 [PMID: 20884164]
- Caunt M, Mak J, Liang WC, Stawicki S, Pan Q, Tong RK, Kowalski J, Ho C, Reslan HB, Ross J, Berry L, Kasman I, Zlot C, Cheng Z, Le Couter J, Filvaroff EH, Plowman G, Peale F, French D, Carano R, Koch AW, Wu Y, Watts RJ, Tessier-Lavigne M, Bagri A. Blocking neuropilin-2 function inhibits tumor cell metastasis. *Cancer Cell* 2008; 13: 331-342 [PMID: 18394556]
- Calin GA, Croce CM. MicroRNA-cancer connection: the beginning of a new tale. *Cancer Res* 2006; 66: 7390-7394 [PMID: 16885332]
- Kunej T, Godnic I, Horvat S, Zorc M, Calin GA. Cross talk between microRNA and coding cancer genes. *Cancer J* 2012; 18: 223-231 [PMID: 22647358 DOI: 10.1097/PPO.0b013e318258b771]
- Lewis BP, Shih IH, Jones-Rhoades MW, Bartel DP, Burge CB. Prediction of mammalian microRNA targets. *Cell* 2003; 115: 787-798 [PMID: 14697198]
- Tan X, Qin W, Zhang L, Hang J, Li B, Zhang C, Wan J, Zhou F, Shao K, Sun Y, Wu J, Zhang X, Qiu B, Li N, Shi S, Feng X, Zhao S, Wang Z, Zhao X, Chen Z, Mitchelson K, Cheng J, Guo Y, He J. A 5-microRNA signature for lung squamous cell carcinoma diagnosis and hsa-miR-31 for prognosis. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 6802-6811 [PMID: 21890451 DOI: 10.1158/1078-0432]
- Navon R, Wang H, Steinfeld I, Tsalenko A, Ben-Dor A, Yakhini Z. Novel rank-based statistical methods reveal microRNAs with differential expression in multiple cancer types. *PLoS One* 2009; 4: e8003 [PMID: 19946373 DOI: 10.1371/journal.pone.0008003]
- Oh HK, Tan AL, Das K, Ooi CH, Deng NT, Tan IB, Beillard E, Lee J, Ramnarayanan K, Rha SY, Palanisamy N, Voorhoeve PM, Tan P. Genomic loss of miR-486 regulates tumor progression and the OLFM4 antiapoptotic factor in gastric cancer. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 2657-2667 [PMID: 21415212]

#### ■同行评价

本文设计合理, 科学性较强, 层次清楚. 为结肠癌基因治疗的研究提供了新的理论依据和治疗靶点.

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 肝癌患者血浆中PLAG1的异常表达

付琳, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达

## ■背景资料

肝细胞癌是世界范围内临床上最常见的恶性肿瘤之一。在当前临床实践中, 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)等血清标志蛋白被广泛应用于肝癌诊断, 但由于其敏感性和特异性往往令人无法满意, 而且他们无法完整的诠释肿瘤疾病复杂的分子进展过程, 所以急需新的分子标志物用于辅助诊断肝癌, 并监测预后。通过前期实验研究发现多形性腺瘤基因1(pleomorphic adenoma gene 1, *PLAG1*)是原发性肝癌中的一个明显高表达基因, 但研究仅提示在肝癌组织中高表达, 外周血浆中表达情况未见报道。

付琳, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450000

杨玉秀, 白阳秋, 张立达, 河南省人民医院消化内科 河南省郑州市 450000

付琳, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

河南省重点科技攻关基金资助项目, No. 132102310444

作者贡献分布: 此课题由杨玉秀与付琳设计; 研究过程由付琳、白阳秋及张立达操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由杨玉秀提供; 数据分析由付琳与白阳秋完成; 本论文写作由付琳完成; 杨玉秀审校。

通讯作者: 杨玉秀, 教授, 主任医师, 450000, 河南省郑州市纬五路7号, 河南省人民医院消化内科. yangyuxiu55@126.com

收稿日期: 2013-10-14 修回日期: 2013-12-24

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## Abnormal expression of *PLAG1* in plasma of patients with hepatocellular carcinoma

Lin Fu, Yu-Xiu Yang, Yang-Qiu Bai, Li-Da Zhang

Lin Fu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Yu-Xiu Yang, Yang-Qiu Bai, Li-Da Zhang, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Supported by: A Key Bio-Medical Research Grant from Henan Provincial Government, No. 132102310444

Correspondence to: Yu-Xiu Yang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Henan Provincial People's Hospital, 7 Weiwu Road, Zhengzhou 450000, Henan Province, China. yangyuxiu55@126.com

Received: 2013-10-14 Revised: 2013-12-24

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the abnormal expression of pleomorphic adenoma gene 1 (*PLAG1*) in plasma of patients with hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze its clinical significance.

**METHODS:** Plasma samples were collected from 42 HCC patients, 34 liver cirrhosis patients and 30 healthy donors. The mRNA expression levels of *PLAG1* were quantified by SYBR Green I real-time fluorescent quantitative PCR. The correlation between clinicopathologic characteristics of HCC and expression of *PLAG1* was evaluated.

**RESULTS:** The positive rate of *PLAG1* mRNA in the HCC group, liver cirrhosis group, and

healthy control group were 71.4%, 23.5% and 6.7%, respectively. *PLAG1* mRNA expression level in the HCC group was significantly higher than those in other two groups ( $P < 0.05$  for both). However, no significant difference was found between the liver cirrhosis group and healthy control group ( $P > 0.05$ ). Significant difference in quantitative data from SYBR Green I real-time fluorescent quantitative PCR was also found among the three groups ( $P < 0.05$ ). *PLAG1* mRNA expression level in HCC patients was significantly correlated with pathological grade and tumor metastasis ( $P < 0.05$  for both).

**CONCLUSION:** The expression level of *PLAG1* mRNA in plasma of HCC patients may play a significant role in the pathogenesis and development of HCC, and it may serve as a novel tumor marker for diagnosis and metastasis of HCC.

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

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Plasma; Pleomorphic adenoma gene 1; Real-time fluorescent quantitative PCR

Fu L, Yang YX, Bai YQ, Zhang LD. Abnormal expression of *PLAG1* in plasma of patients with hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 630-636 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/630.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.630>

## 摘要

**目的:** 本研究旨在探讨多形性腺瘤基因1(pleomorphic adenoma gene 1, *PLAG1*)在肝细胞癌患者血浆中的异常表达及其临床意义。

**方法:** 收集42例肝癌患者、34例肝硬化患者及30例健康人血浆, 应用SYBR Green I 实时荧光定量PCR技术检测*PLAG1* mRNA在健康人、肝硬化患者及肝癌患者血浆中的表达情况, 并分析其与肝癌患者临床病理特征之间的关系。

**结果:** SYBR Green I 实时荧光定量PCR结果显示, *PLAG1* mRNA在肝癌组、肝硬化组

## ■同行评议者

吴道澄, 教授, 西安交通大学生命学院

及健康体检组的血浆中阳性表达率分别为: 71.4%、23.5%和6.7%。PLAG1 mRNA在肝癌组血浆中的阳性表达率明显高于健康体检组及肝硬化组( $P<0.05$ )。而健康体检组和肝硬化组血浆中PLAG1 mRNA阳性表达率差异无统计学意义( $P>0.05$ )。同时对肝癌组、肝硬化组及健康体检组中PLAG1 mRNA的扩增产物进行相对定量的分析比对, 发现三组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )。肝癌患者血浆中PLAG1 mRNA表达水平与肝癌的病理分化程度及远处转移有显著的关系( $P<0.05$ )。

**结论:** PLAG1 mRNA在肝癌患者血浆中的表达, 提示其可能在肝癌的发生发展过程中发挥重要的作用, 有望成为新的辅助诊断肝癌, 判断转移风险的临床检测指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝细胞癌; 血浆; 多形性腺瘤基因1; SYBR Green I 实时荧光定量PCR技术

**核心提示:** 本研究发现多形性腺瘤基因1(pleomorphic adenoma gene 1, PLAG1) mRNA在肝癌患者血浆中明显高表达, 并与肝癌病理分化程度及远处转移的发生相关。提示PLAG1与肝癌的发生、发展及侵袭转移有着密切的关系, 有望成为辅助诊断肝癌, 并判断远处转移风险的临床检测指标。

付琳, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达. 肝癌患者血浆中PLAG1的异常表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 630–636 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/630.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.630>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 简称肝癌, 是世界范围内临床上最常见的恶性肿瘤之一, 位居恶性肿瘤发病率第5位, 其中约55%的病例发生于中国。肝癌起病隐匿, 进展快, 死亡率高, 严重威胁人类的生命健康, 其发生和发展是一个多因素、多阶段及多基因相互作用的过程。在前期相关实验中发现, 多形性腺瘤基因1(pleomorphic adenoma gene 1, PLAG1)在肝癌发展过程中呈上调表达, 并与肝癌病理分级、分化程度有着密切的关系<sup>[1]</sup>。目前有关研究的结果仅提示PLAG1在肝癌组织中高表达, 而在肝癌患者血浆中的表达情况鲜有报道。本研究采用SYBR Green I 实时荧光定量PCR技术检测PLAG1在健康人群、肝硬化患者及肝癌患者血浆中的表达水平, 探讨其在肝癌的发生发展过

程所发挥的作用及对临床的相关指导意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验组选择2012-06/2012-12河南省人民医院肝胆外科住院的肝癌患者42例, 其中男性34例, 女性8例, 年龄34-78岁, 平均年龄54.2岁 $\pm$ 11.1岁。所有肝癌患者诊断均经过病理证实, 收集标本时均未进行手术治疗、放疗及化疗。对照组34例为河南省人民医院消化内科住院的肝硬化患者, 并经影像学检查排除肝癌; 另30例为本院同期同年龄段健康体检者。所有受试者均获得知情同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集:** 抽取清晨空腹静脉血3 mL, 置于EDTA抗凝的无菌试管中, 室温3500 r/min离心15 min, 收集血浆, 置于-80 °C保存待测定。

**1.2.2 SYBR Green I 实时荧光定量PCR检测 PLAG1 mRNA:** (1)引物设计和合成: 目的引物碱基序列由上海生工生物工程股份有限公司合成, 内参基因GAPDH由大连宝生物工程有限公司购得(表1); (2)总RNA提取: 取血浆300  $\mu$ L按TRIzol试剂(Invitrogen公司)说明书提取血浆总RNA, 加20  $\mu$ L无核酶去离子水溶解, 所得RNA经1%琼脂糖凝胶电泳(150 V, 15 min)检测RNA 28S和18S比例, 估计总RNA的完整性, 并应用紫外分光光度计检测 $A_{260/280}$ , 测定总RNA吸光度; (3)逆转录合成cDNA: 逆转录试剂盒(TaKaRa)购自大连宝生物工程有限公司, 并按照逆转录试剂盒(Takara code No. DRR047A)说明书步骤进行逆转录聚合酶链反应。基因组DNA的除去反应体系总体积为10  $\mu$ L, 包含样本RNA 4  $\mu$ L, 5 $\times$ gDNA Eraser Buffer 2  $\mu$ L, gDNA Eraser 1  $\mu$ L, RNase Free dH<sub>2</sub>O 3  $\mu$ L, 反应条件42 °C, 2 min。逆转录反应在上述反应液中依次加入RNase Free dH<sub>2</sub>O 4  $\mu$ L, 5 $\times$ PrimeScript Buffer 4  $\mu$ L, RT Prime Mix 1  $\mu$ L, PrimeScript RT Enzyme Mix I 1  $\mu$ L, 逆转录反应体系总体积为20  $\mu$ L, 反转录条件依次为37 °C, 15 min, 85 °C, 5 s; (4)SYBR Green I 实时荧光定量PCR反应: 按照RT-PCR试剂盒(TaKaRa)进行操作, PCR反应体系为20  $\mu$ L, 反应体系中含SYBR Premix Ex Taq II 10  $\mu$ L、正、反PCR引物各0.8  $\mu$ L, ROX Reference Dye II 0.4  $\mu$ L、cDNA模板2.0  $\mu$ L、dH<sub>2</sub>O 6.0  $\mu$ L。PCR扩增条件为95 °C 30 s, 95 °C 5 s, 60 °C 31 s; 进行40个PCR循环。所用扩增仪型号为ABI7300。

**1.2.3 结果判断:** (1) $\Delta$ Ct = 样品Ct - 内参Ct,  $\Delta\Delta$ Ct =

## ■ 研发前沿

目前关于循环核糖酸在肿瘤发生发展过程中所起到的作用已逐渐成为国内外研究热点。同时血浆中PLAG1作为“分子标志物”应用于肝癌的辅助诊断也已成为令人期待的研究重点。

## ■ 相关报道

PLAG1在肝母细胞瘤、淋巴细胞型白血病、儿童胃肠道间质瘤、腺样囊性癌中高表达。并有文献报道显示PLAG1在肝癌组织中明显高表达,与肝癌的发生、发展关系密切。

表 1 荧光定量PCR引物序列

目的基因	序列	产物长度(bp)
PLAG1	上游引物: 5'-ATCCCTCTCACCACCTTTCTTT-3'	125
	下游引物: 5'-GCCACCTTGTAATCCATCAG-3'	
GAPDH(内参基因)	由大连宝生物工程有限公司提供	138

PLAG1: 多形性腺瘤基因1。

表 2 PLAG1 mRNA在3组样本中表达水平的比较

分组	n	PLAG1 mRNA		阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P值
		阳性	阴性			
肝癌组	42	30	12	71.4	$\chi^2_1 = 17.244$	<0.05
肝硬化组	34	8	26	23.5	$\chi^2_2 = 3.438$	>0.05
健康体检组	30	2	28	6.7	$\chi^2_3 = 29.726$	<0.05

$\chi^2_1$ : 肝癌组与肝硬化组;  $\chi^2_2$ : 肝硬化组与健康体检组;  $\chi^2_3$ : 肝癌组与健康体检组。PLAG1: 多形性腺瘤基因1。

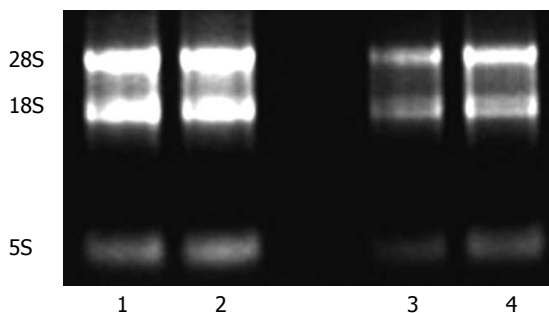


图 1 总RNA琼脂糖凝胶电泳图。1、2: 肝癌患者血浆; 3: 肝硬化患者血浆; 4: 健康体检者血浆。

$\Delta Ct$ -(随机阴性对照样品Ct均值-该样品的内参Ct均值), 以 $2^{-\Delta Ct}$ 表示样品中目的基因初始cDNA相对表达量<sup>[2]</sup>, 所有步骤均重复3遍取平均值; (2)取扩增产物10  $\mu$ L, 应用4%琼脂糖凝胶电泳(150 V, 45 min), BIO-RAD Gel Doc XR凝胶成像系统(美国BIO-RAD公司)进行扫描和分析检测扩增产物的正确性。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析。PLAG1 mRNA各组阳性表达率差异运用 $\chi^2$ 检验, 当样本量<40时, 运用Fisher确切概率法统计。多组定量资料运用Kruskal-Wallis秩和检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组总RNA 提取结果良好**, 1%琼脂糖电泳结果, 可见28S、18S二条清晰条带和稍欠清晰的5S条带(图1), 证实提取的是高纯度的RNA, 完

整性较好, 总RNA吸光度 $A_{260/280}$ 为1.5-1.9, 符合纯度要求(图1)。

**2.2 SYBR Green I 实时荧光定量PCR 肝癌组与肝硬化组、健康体检组血浆中PLAG1 mRNA表达水平比较:** 肝癌组、肝硬化组、健康体检组Ct $\leq 35$ 时PLAG1 mRNA荧光定量扩增曲线呈典型的S型, 溶解曲线分析可见只有单峰值(图2), 溶解温度均一, 排除引物二聚体及非特异性产物的产生。Ct>35时, 则未见或略见起翘, 为一不规则波浪线。以样品基因CT值 $\leq 35$ 表示目的基因阳性表达<sup>[3]</sup>。本研究中, 肝癌实验组30例患者PLAG1 mRNA Ct $\leq 35$ , PLAG1 mRNA阳性表达率为71.4%(30/42), 肝硬化组、健康体检组的阳性表达率分别为23.5%(8/34)、6.7%(2/30)。三组间比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 33.654$ ,  $P<0.05$ )。两两比较, 肝癌组与肝硬化组、肝癌组与健康体检组差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。肝硬化组与健康体检组差异无统计学意义( $P = 0.064$ )(表2)。运用Kruskal-Wallis秩和检验对三组PLAG1 mRNA扩增产物(Ct $\leq 35$ )的相对定量进行分析比对, 三组间比较差异有统计学意义( $\chi^2 = 23.47$ ,  $P<0.05$ )。

**2.3 PLAG1 mRNA表达与临床病理的关系** 42例原发性肝癌患者中, 高分化、中分化与低分化三组的阳性表达率分别为22.2%(2/9)、66.7%(8/12)、95.2%(20/21)。三组差异有统计学意义( $\chi^2 = 16.248$ ,  $P<0.05$ )(表3)。运用Fisher确切



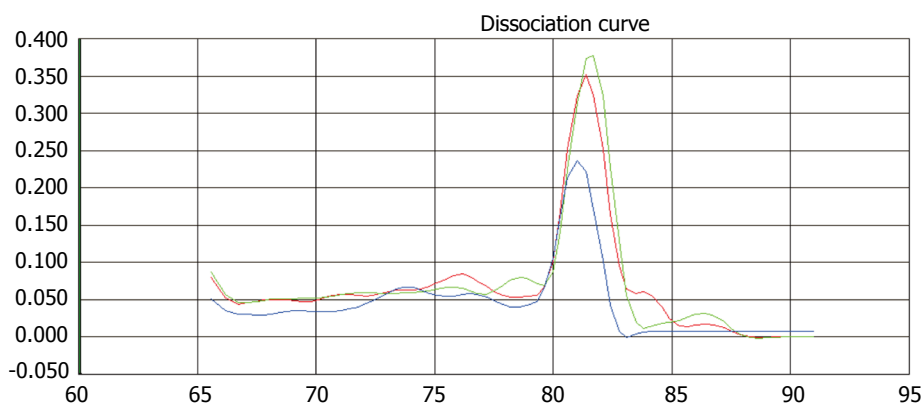


图2 部分肝癌患者血浆中PLAG1 mRNA荧光定量熔解曲线。

## ■创新盘点

本文应用SYBR Green I 荧光定量PCR技术检测PLAG1肝癌患者血浆中的表达,并分析其表达水平与肝癌临床病理的关系,为肝癌诊断及判断远处转移风险提供了进一步研究方向。

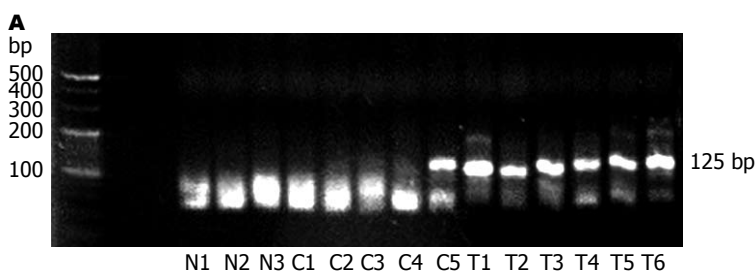


图3 PLAG1和GAPDH mRNA荧光定量PCR产物的琼脂糖凝胶电泳结果。A: PLAG1, T1-T6: 肝癌患者; C1-C5: 肝硬化患者; N1-N3: 健康体检者; B: GAPDH. PLAG1: 多形性腺瘤基因1。

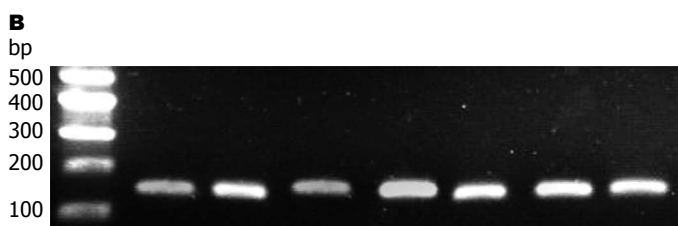


表3 不同分化程度的肝癌患者血浆中PLAG1 mRNA表达水平的比较

分组	n	PLAG1 mRNA		阳性率(%)	$\chi^2$ 值	P值
		阳性	阴性			
高分化组	9	2	7	22.2	$\chi^2_4 = 4.073$	0.044
中分化组	12	8	4	66.7	$\chi^2_5 = 4.849$	0.028
低分化组	21	20	1	95.2	$\chi^2_6 = 17.175$	<0.05

$\chi^2_4$ : 高分化组与低分化组;  $\chi^2_5$ : 中分化组与低分化组;  $\chi^2_6$ : 高分化组与低分化组. PLAG1: 多形性腺瘤基因1。

概率法两两比较, 低分化与高、中分化组差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ). 分化程度越低, PLAG1 mRNA表达率越高. 运用Kruskal-Wallis秩和检验对不同分化程度的三组中PLAG1 mRNA扩增产物( $Ct \leq 35$ )的相对定量进行比对, 三种不同分化程度肝癌患者血浆中PLAG1 mRNA相对定量差异无统计学意义( $\chi^2 = 4.590, P = 0.101$ ).

**2.4 肝癌组PLAG1 mRNA的表达与相关临床参数的关系** 运用Fisher确切概率法分析肝癌患者组血浆中PLAG1 mRNA表达与年龄、性别及

AFP无关, 与远处转移相关, 发生远处转移肝癌患者PLAG1 mRNA表达率高于未转移者(表4).

**2.5 PLAG1 mRNA扩增产物电泳结果** 最终扩增产物经4%琼脂糖凝胶电泳, BIO-RAD Gel Doc XR凝胶成像系统进行扫描和分析, 可见PLAG1和GAPDH对应的125、138 bp的电泳条带(图3).

### 3 讨论

Kas等<sup>[4]</sup>在1997年从t(3; 8)(p21; q12)染色体易位的多形性腺瘤组织中克隆到了一个高表达基因,

## ■应用要点

对于患者血浆中PLAG1表达水平的检测有望成为新的分子标志物应用于辅助诊断肝癌、判断远处转移风险。

表 4 PLAG1 mRNA的表达与相关临床参数的关系

	阳性	阴性	总例数	$\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)					
≥55	24	8	32	0.840	0.359
<55	6	4	10		
性别					
男	25	9	34	0.386	0.543
女	5	3	8		
AFP					
阳性	22	8	30	0.187	0.666
阴性	8	4	12		
有无远处转移					
有	21	4	25	4.783	0.029
无	9	8	17		

故命名为PLAG1。PLAG1是位于人染色体8q12的原癌基因,包含5个外显子, cDNA全长7313 bp, 基因库编号为U65002, 其中只有第4外显子的最后端和第5外显子的起始端进行编码, 编码框共1503 bp。正常情况下, PLAG1仅在胎儿的肺、肝、肾等脏器中表达, 但其在多种肿瘤中存在异常表达的现象也被多次报道。曾有相关文献报道其在肝母细胞瘤<sup>[5]</sup>、淋巴细胞型白血病<sup>[6]</sup>、儿童胃肠道间质瘤<sup>[7]</sup>、腺样囊性癌<sup>[8]</sup>中被激活表达。

既往研究中, PLAG1曾被认为是一个“良性癌基因”, 并一度被证实为肿瘤抑制基因<sup>[9]</sup>, 但Queimado等<sup>[10]</sup>的研究并不支持这个理论。在前期实验中, 我们曾应用含有19378个已知基因的核苷酸芯片筛选出肝炎、肝硬化及原发性肝癌差异基因表达谱, 显示PLAG1在原发性肝癌中是一个明显高表达基因<sup>[11]</sup>。PLAG1的致癌能力考虑与其多种靶基因如胰岛素样生长因子II (insulin-like growth factor II, IGF-II)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、胎盘生长因子(placental growth factor, PGF)的异常表达相关。其中IGF-II的表达受其4个启动子(P1-P4)控制<sup>[12]</sup>。PLAG1作为调控转录因子及原癌基因曾在相关文献中被报道过, 在体外实验中, 也有证据显示PLAG1与IGF-II启动子P3的共同结合位点相结合后激活其转录<sup>[13]</sup>。IGF-II是一种促生长因子, 由肝脏分泌和合成, 能够促细胞有丝分裂、刺激细胞增殖以及DNA复制和转录、刺激组织器官的生长和分化、抑制细胞凋亡。相关研究提示, IGF-II在肝细胞癌的早期即开始有过量表达, 并参与发生肝癌早期事件。而肝细胞癌的快速分裂, 会导致肝供血

不足, 局部出现缺氧状态, 也会促使IGF-II增加, 作为血管活性因子间接促进VEGF的合成, 从而刺激肝癌新生肿瘤血管的形成<sup>[14]</sup>。IGF-II的过度表达在人类多种类型的肿瘤中均可发现, 他通过自分泌或旁分泌机制强效刺激细胞增殖<sup>[15]</sup>。从这些结论及微阵列技术分析也可以得知, PLAG1的致癌能力至少一部分是通过IGF-II有丝分裂信号转导通路介导的<sup>[16]</sup>。

引起PLAG1异常表达主要原因与染色体易位相关。而发生染色体易位的原因主要为PLAG1与其广泛表达的“融合伴侣”基因如位于3p21的CTNNB1、CHCHD7、LIFR(leukemia inhibitory factor receptor)及TCEA1(transcription elongation factor A1)发生了启动子交换所导致<sup>[17]</sup>。这一论点曾在关于多形性腺瘤中PLAG1表达的相关实验得到证实<sup>[18,19]</sup>。其中CTNNB1负责编码 $\beta$ -catenin<sup>[20]</sup>, 是肝细胞癌中最常发生的突变基因。其作用机制可能为CTNNB1发生基因突变后, 使 $\beta$ -catenin在细胞胞浆内聚集进而入胞核导致Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路活化<sup>[21]</sup>, 促进细胞的增殖, 导致肝癌发生; 同时Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路还可以通过调节环氧酶2(cyclo-oxygenase 2, COX-2)表达, 促进肿瘤血管新生, 并加速肿瘤侵袭转移。

SYBR Green I 实时荧光定量PCR技术具有高特异性、高灵敏度、污染小等优点, 在研究基因表达方面, 不仅可以进行定性检测, 还可进行定量研究, 从而更加准确表达基因相关的差异性<sup>[22]</sup>。目前国内外陆续有报道显示应用该法检测肿瘤患者血浆中相关mRNA、miRNA表达情况<sup>[23]</sup>。本研究运用SYBR Green I 实时荧光定量PCR技术, 对肝癌、肝硬化患者及健康体检者血浆中PLAG1 mRNA进行分析, 并在实验过程中采用下列措施避免假阳性: (1)认真操作, 避免污染; (2)所有步骤均重复检测3次在无明显差异情况下取平均值; (3)扩增产物应用4%琼脂糖凝胶电泳, 进行分析验证扩增产物的正确性, 并结合熔解曲线排除假阳性。结果表明肝癌患者血浆中PLAG1 mRNA表达水平显著高于肝硬化组及健康体检组, 并跟病理分化程度相关, 分化程度越低, PLAG1 mRNA表达率越高。前期研究中曾发现PLAG1在肝癌组织中异常表达, 通过本组实验发现在肝癌患者血浆中PLAG1同样高表达, 尤其已发生远处转移组中PLAG1表达明显高于未发生转移组, 考虑其有可能来源于转移入血的肝癌细胞, 也不排除来源于血浆中存在的游

离循环核酸内的突变基因. 推测PLAG1可能既通过与“融合伴侣”发生染色体易位引起肝癌的发生, 又与其靶基因发生共同位点结合激活靶基因转录进一步加剧肝癌的发展, 与肝癌的发生、发展及侵袭转移有着密切的关系, 有望成为新的辅助诊断肝癌的肿瘤标志物, 并有可能成为帮助判断肝癌患者是否存在转移风险的有效指标.

循环核酸是指存在于血液(血浆或血清)中的细胞外游离RNA和DNA. 近年来循环核酸在肿瘤的发生发展过程中所起到的作用逐渐引起人们的重视. 特别是在Sorenson等<sup>[24]</sup>和Vasioukhin等<sup>[25]</sup>成功检测到循环核酸内的突变原癌基因导致的肿瘤发生后. 目前观点认为导致肿瘤患者体内循环RNA浓度升高的原因, 主要为原发灶肿瘤代谢过程中坏死细胞不断释放核酸入血; 或者在肿瘤转移过程中, 脱落的肿瘤细胞在血液循环中凋亡, 或被机体免疫系统识别后消灭, 释放核酸入血<sup>[26]</sup>. 虽然血液中存在大量核糖核酸酶(RNase), 但相关研究显示, 外周血中循环RNA可能与包括脂蛋白、核蛋白、P53蛋白、糖蛋白等多种物质形成复合体或包含于合胞体滋养层微粒<sup>[27]</sup>、凋亡小体<sup>[28]</sup>从而免受RNase的降解. 而最近的研究也表明, 循环mRNA很可能是来源于机体多种组织及多种类型细胞, 通过包装于外染色体(exosome)或是经转录修饰后释放入血, 从而免受RNase的降解<sup>[29]</sup>. 在当前的临床实践中, 许多血清标志蛋白如针对肝癌的AFP等作为肿瘤标志物得到广泛的应用<sup>[30]</sup>. 但是这些蛋白的敏感性和特异性往往令人无法满意, 而且他们无法完整的诠释肿瘤复杂的分子进展过程, 故以血浆中的游离循环核酸作为“分子标志物”逐渐成为临床医学肿瘤诊断的研究重点<sup>[31]</sup>. 本实验在以血浆为标本的研究基础上, 旨在了解肝癌患者血浆中PLAG1的表达情况, 并通过实验探究PLAG1可能有望作为“分子标志物”, 成为新的诊断肝癌的分子生物学辅助指标.

#### 4 参考文献

- 洪双双, 杨玉秀, 白阳秋, 张立达. 多形性腺瘤基因1与肝细胞癌关系探讨. *中华消化杂志* 2011; 31: 486-489
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408 [PMID: 11846609 DOI: 10.1006/meth.2001.1262]
- Tani N, Ichikawa D, Ikoma D, Tomita H, Sai S, Ikoma H, Okamoto K, Ochiai T, Ueda Y, Otsuji E, Yamagishi H, Miura N, Shiota G. Circulating cell-free mRNA in plasma as a tumor marker for patients with primary and recurrent gastric cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 1207-1212 [PMID: 17465264]
- Kas K, Voz ML, Röijer E, Aström AK, Meyen E, Stenman G, Van de Ven WJ. Promoter swapping between the genes for a novel zinc finger protein and beta-catenin in pleiomorphic adenomas with t(3; 8)(p21; q12) translocations. *Nat Genet* 1997; 15: 170-174 [PMID: 9020842 DOI: 10.1038/ng0297-170]
- Zatkova A, Rouillard JM, Hartmann W, Lamb BJ, Kuick R, Eckart M, von Schweinitz D, Koch A, Fonatsch C, Pietsch T, Hanash SM, Wimmer K. Amplification and overexpression of the IGF2 regulator PLAG1 in hepatoblastoma. *Genes Chromosomes Cancer* 2004; 39: 126-137 [PMID: 14695992 DOI: 10.1002/gcc.10307]
- Pallasch CP, Patz M, Park YJ, Hagist S, Eggle D, Claus R, Debey-Pascher S, Schulz A, Frenzel LP, Claasen J, Kutsch N, Krause G, Mayr C, Rosenwald A, Plass C, Schultze JL, Hallek M, Wendtner CM. miRNA deregulation by epigenetic silencing disrupts suppression of the oncogene PLAG1 in chronic lymphocytic leukemia. *Blood* 2009; 114: 3255-3264 [PMID: 19692702 DOI: 10.1182/blood-2009-06-229898]
- Agaram NP, Laquaglia MP, Ustun B, Guo T, Wong GC, Socci ND, Maki RG, DeMatteo RP, Besmer P, Antonescu CR. Molecular characterization of pediatric gastrointestinal stromal tumors. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 3204-3215 [PMID: 18483389 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-1984]
- Aström AK, Voz ML, Kas K, Röijer E, Wedell B, Mandahl N, Van de Ven W, Mark J, Stenman G. Conserved mechanism of PLAG1 activation in salivary gland tumors with and without chromosome 8q12 abnormalities: identification of SII as a new fusion partner gene. *Cancer Res* 1999; 59: 918-923 [PMID: 10029085]
- Bilanges B, Varrault A, Basyuk E, Rodriguez C, Mazumdar A, Pantaloni C, Bockaert J, Theillet C, Spengler D, Journot L. Loss of expression of the candidate tumor suppressor gene ZAC in breast cancer cell lines and primary tumors. *Oncogene* 1999; 18: 3979-3988 [PMID: 10435621 DOI: 10.1038/sj.onc.1202933]
- Queimado L, Obeso D, Hatfield MD, Yang Y, Thompson DM, Reis AM. Dysregulation of Wnt pathway components in human salivary gland tumors. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 2008; 134: 94-101 [PMID: 18209144 DOI: 10.1001/archotol.134.1.94]
- 白阳秋, 丁光伟, 杨玉秀. 肝癌发生过程中的差异基因表达. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 2537-2541
- Hartmann W, Waha A, Koch A, Albrecht S, Gray SG, Ekström TJ, von Schweinitz D, Pietsch T. Promoter-specific transcription of the IGF2 gene: a novel rapid, non-radioactive and highly sensitive protocol for mRNA analysis. *Virchows Arch* 2001; 439: 803-807 [PMID: 11787854]
- Akhtar M, Holmgren C, Göndör A, Vesterlund M, Kanduri C, Larsson C, Ekström TJ. Cell type and context-specific function of PLAG1 for IGF2 P3 promoter activity. *Int J Oncol* 2012; 41: 1959-1966 [PMID: 23023303]
- Lee YM, Bae MH, Lee OH, Moon EJ, Moon CK, Kim WH, Kim KW. Synergistic induction of in vivo angiogenesis by the combination of insulin-like growth factor-II and epidermal growth factor. *Oncol*

#### ■同行评价

本文提出了一种新的有效指标来表示肝癌患者是否发生转移, 有一定的实际意义和学术价值.



- Rep 2004; 12: 843-848 [PMID: 15375510]
- 15 Khandwala HM, McCutcheon IE, Flyvbjerg A, Friend KE. The effects of insulin-like growth factors on tumorigenesis and neoplastic growth. *Endocr Rev* 2000; 21: 215-244 [PMID: 10857553]
- 16 Van Dyck F, Declercq J, Braem CV, Van de Ven WJ. PLAG1, the prototype of the PLAG gene family: versatility in tumour development (review). *Int J Oncol* 2007; 30: 765-774 [PMID: 17332914]
- 17 Matsuyama A, Hisaoka M, Hashimoto H. PLAG1 expression in mesenchymal tumors: an immunohistochemical study with special emphasis on the pathogenetical distinction between soft tissue myoepithelioma and pleomorphic adenoma of the salivary gland. *Pathol Int* 2012; 62: 1-7 [PMID: 22192798 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2011.02740.x]
- 18 Asp J, Persson F, Kost-Alimova M, Stenman G. CHCHD7-PLAG1 and TCEA1-PLAG1 gene fusions resulting from cryptic, intrachromosomal 8q rearrangements in pleomorphic salivary gland adenomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2006; 45: 820-828 [PMID: 16736500 DOI: 10.1002/gcc.20346]
- 19 Martins C, Fonseca I, Roque L, Pereira T, Ribeiro C, Bullerdiek J, Soares J. PLAG1 gene alterations in salivary gland pleomorphic adenoma and carcinoma ex-pleomorphic adenoma: a combined study using chromosome banding, in situ hybridization and immunocytochemistry. *Mod Pathol* 2005; 18: 1048-1055 [PMID: 15920557 DOI: 10.1038/modpathol.3800386]
- 20 Chan TA, Wang Z, Dang LH, Vogelstein B, Kinzler KW. Targeted inactivation of CTNNB1 reveals unexpected effects of beta-catenin mutation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 8265-8270 [PMID: 12060769 DOI: 10.1073/pnas.082240999]
- 21 Klaus A, Birchmeier W. Wnt signalling and its impact on development and cancer. *Nat Rev Cancer* 2008; 8: 387-398 [PMID: 18432252 DOI: 10.1038/nrc2389]
- 22 汪洋, 宫琳琳, 邵淑娟. 实时荧光定量PCR在肿瘤研究中的应用. *肿瘤* 2004; 24: 196-197
- 23 Ayaz L, Görür A, Yaroğlu HY, Özcan C, Tamer L. Differential expression of microRNAs in plasma of patients with laryngeal squamous cell carcinoma: potential early-detection markers for laryngeal squamous cell carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 1499-1506 [PMID: 23817697 DOI: 10.1007/s00432-013-1469-2]
- 24 Sorenson GD, Pribish DM, Valone FH, Memoli VA, Bzik DJ, Yao SL. Soluble normal and mutated DNA sequences from single-copy genes in human blood. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1994; 3: 67-71 [PMID: 8118388]
- 25 Vasioukhin V, Anker P, Maurice P, Lyautey J, Lederrey C, Stroun M. Point mutations of the N-ras gene in the blood plasma DNA of patients with myelodysplastic syndrome or acute myelogenous leukaemia. *Br J Haematol* 1994; 86: 774-779 [PMID: 7918071 DOI: 10.1111/j.1365-2141.1994.tb04828.x]
- 26 戚鹏, 高春芳. 外周血循环RNA、微小RNA与肿瘤诊断. *中国生物工程杂志* 2009; 29: 94-101
- 27 Gupta AK, Holzgreve W, Huppertz B, Malek A, Schneider H, Hahn S. Detection of fetal DNA and RNA in placenta-derived syncytiotrophoblast microparticles generated in vitro. *Clin Chem* 2004; 50: 2187-2190 [PMID: 15502097 DOI: 10.1373/clinchem.2004.040196]
- 28 Hasselmann DO, Rappl G, Tilgen W, Reinhold U. Extracellular tyrosinase mRNA within apoptotic bodies is protected from degradation in human serum. *Clin Chem* 2001; 47: 1488-1489 [PMID: 11468248]
- 29 Taylor DD, Gercel-Taylor C. MicroRNA signatures of tumor-derived exosomes as diagnostic biomarkers of ovarian cancer. *Gynecol Oncol* 2008; 110: 13-21 [PMID: 18589210 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.04.033]
- 30 Ren FY, Piao XX, Jin AL. Efficacy of ultrasonography and alpha-fetoprotein on early detection of hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4656-4659 [PMID: 16937435]
- 31 Tsang JC, Lo YM. Circulating nucleic acids in plasma/serum. *Pathology* 2007; 39: 197-207 [PMID: 17454749 DOI: 10.1080/00313020701230831]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# NDRG2与肝纤维化相关性的研究进展

马继征, 刘绍能, 陈兰羽, 姚乃礼

马继征, 刘绍能, 陈兰羽, 姚乃礼, 中国中医科学院广安门医院 北京市 100053

马继征, 主治医师, 主要从事中医药防治消化系统疾病的研究。

国家青年自然科学基金资助项目, No. 81292633

作者贡献分布: 马继征负责文献检索与论文撰写; 陈兰羽负责课题设计与论文修改; 刘绍能与姚乃礼负责论文审阅。

通讯作者: 陈兰羽, 副主任医师, 100053, 北京市西城区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院. chenlanyu@163.com

收稿日期: 2013-10-25 修回日期: 2013-11-26

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## NDRG2 and hepatic fibrosis

Ji-Zheng Ma, Shao-Neng Liu, Lan-Yu Chen, Nai-Li Yao

Ji-Zheng Ma, Shao-Neng Liu, Lan-Yu Chen, Nai-Li Yao, Guang'an Men Hospital Affiliated to China Academy of Chinese Medical Science, Beijing 100053, China

Supported by: the National Natural Science Foundation for Young, No. 81292633

Correspondence to: Lan-Yu Chen, Associate Chief Physician, Guang'an Men Hospital Affiliated to China Academy of Chinese Medical Science, 5 Beixiangge, Xicheng District, Beijing 100053, China. chenlanyu@163.com

Received: 2013-10-25 Revised: 2013-11-26

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

N-mycdown stream-regulated gene 2 (NDRG2) is a potential regulator of liver fibrosis. Enhanced NDRG2 expression inhibits hepatic stellate cell activation, promotes the degradation of extracellular matrix, and regulates the regeneration of the liver. In addition, NDRG2 contributes to an enhanced capacity of liver and other tissues to hypoxic stresses. This article reviews the relationship between NDRG2 expression and liver fibrosis.

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

Key Words: N-mycdown stream regulated gene; Hepatic fibrosis; Hepatic stellate cells; Hypoxia inducible factor-1

Ma JZ, Liu SN, Chen LY, Yao NL. NDRG2 and hepatic fibrosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 637-641  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/637.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.637>

## 摘要

NDRG2(N-mycdown stream regulated gene)基因是多种癌症的候选抑癌基因,并在肝纤维化的发生发展中扮演重要角色,通过抑制肝星形细胞激活、促进细胞外基质降解、调节肝细胞再生、增强肝细胞缺氧应激能力等多种途径调节肝纤维化进程. 本文就NDRG2与肝纤维化的关系作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: NDRG2; 肝纤维化; 肝星形细胞; 缺氧诱导因子

核心提示: 本文就NDRG(N-mycdown stream regulated gene)基因对肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)激活、肝细胞外基质降解、肝细胞再生、肝细胞缺氧应激损伤等几方面,探讨NDRG2基因影响肝纤维化的机制.

马继征, 刘绍能, 陈兰羽, 姚乃礼. NDRG2与肝纤维化相关性的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(5): 637-641 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/637.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.637>

## 0 引言

NDRG(N-mycdown stream regulated gene)是近年来新发现的基因,因受N-Myc的抑制而得名. NDRG家族在人和鼠之间保持较高的同源性,人和鼠NDRG2基因同源性为92%<sup>[1]</sup>. 现已克隆的人源NDRG基因包括NDRG1、NDRG2、NDRG3和NDRG4, NDRG2于1999年首次被成功克隆<sup>[2-4]</sup>. 研究表明, NDRG2基因为多种癌症的候选抑癌基因<sup>[5-8]</sup>,在心、脑、肺、肝、骨骼肌等多种组织器官均有表达<sup>[9,10]</sup>. NDRG2与肝纤维化<sup>[11]</sup>及肿瘤的发生、发展与转归<sup>[12]</sup>、缺氧应激<sup>[13]</sup>、缺血再灌注损伤<sup>[14]</sup>、组织胚胎的发育和细胞的分化<sup>[15]</sup>等密切相关. NDRG2可通过多种途径调控肝脏的生理病理过程,在肝纤维化的发生发展中, NDRG2亦可能扮演重要角色,现介绍如下.

## ■背景资料

NDRG2基因是一种抑癌基因,并与肝纤维化密切相关,通过多种途径参与肝纤维化进程,并且该基因的表达水平与肝纤维化的进展存在相关性.

## ■同行评议者

吴君, 主任医师, 贵阳医学院附属医院感染科

## ■ 研发前沿

*NDRG2*基因是近年新发现的与肝纤维密切相关的基因,其影响肝纤维的机制仍有待深入研究,该基因在慢性肝损伤-肝纤维-肝硬化的发展病程中的表达,是否存在规律性也有待进一步研究。

## 1 抑制肝星形细胞的活化

肝星形细胞活化是肝纤维化形成的重要环节<sup>[16,17]</sup>,生理情况下肝星形细胞(hepatic stellate cell, HSC)处于静止状态,在各种肝损伤因素刺激下HSC被激活<sup>[18]</sup>, $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白( $\alpha$ -smooth muscle actin,  $\alpha$ -SMA)是肝星形细胞活化标志物,转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)是HSCs激活和胶原生成经典的激动因子<sup>[19,20]</sup>。TGF- $\beta$ 1/Smad信号转导通路与肝纤维化密切相关,其通过介导HSCs活化、增加细胞外基质(extracellular matrix, ECM)沉积、调节肝细胞生长等途径,参与肝纤维化的形成<sup>[21-23]</sup>。将洗脱血清后的LX-2细胞(肝星形细胞),用TGF- $\beta$ 1处理24 h,与对照组相比,处理组 $\alpha$ -SMA表达水平升高,NDRG2表达受到抑制,提示TGF- $\beta$ 1能促进LX-2活化。经腺病毒诱导NDRG2过表达,能够降低基础条件下LX-2细胞活化引起的 $\alpha$ -SMA蛋白表达水平,亦能降低经TGF- $\beta$ 1诱导引起的 $\alpha$ -SMA蛋白表达水平。 $\alpha$ -SMA表达增加时,NDRG2 mRNA和蛋白表达水平均降低。HSCs激活能够诱导NDRG2 mRNA和蛋白表达水平均降低,而增强NDRG2表达则能够减少Smad转录及磷酸化,通过阻断TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路,抑制HSCs活化。同时也发现,NDRG2抑制HSCs活化不受TGF- $\beta$ 1的影响,并且增加HSCs MMP的表达<sup>[11]</sup>。

## 2 调控肝细胞外基质降解

肝纤维化的发生是细胞外基质沉积过多和/或降解减少的结果<sup>[24]</sup>,生理情况下,基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMP)促进细胞外基质的降解,基质金属蛋白酶抑制蛋白(tissue inhibitors of metalloproteinase, TIMP)抑制细胞外基质的降解,二者之间分泌失衡是导致多种组织纤维化的重要因素之一<sup>[25-27]</sup>。在肝纤维化过程中,MMP2/TIMP2比例决定了细胞外基质的沉积与否以及肝纤维化的形成<sup>[28,29]</sup>。研究表明,TGF- $\beta$ 1诱导的LX-2细胞活化能增加MMP2、TIMP2的表达水平,与 $\beta$ -半乳糖苷酶组比较,经腺病毒诱导NDRG2过表达通过抑制TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路升高MMP2水平,同时降低TIMP2水平,升高MMP2/TIMP2比例,从而减少二甲基亚硝胺(Dimethylnitrosamine, DMN)肝纤维化模型大鼠肝细胞外基质的沉积<sup>[11]</sup>。上述研究结果与Takahara等<sup>[30]</sup>在DMN肝纤维化模型中的认识相一致,即“随着纤维化的进展,肝细胞NDRG2基因表

达下调”。在肿瘤的发生发展过程中,MMP2通过降解肿瘤细胞外基质,促进肿瘤的转移、侵袭。有研究表明在肝细胞癌中,NDRG2通过抑制MMP2的表达降低肿瘤细胞对周围组织的侵袭力<sup>[31]</sup>。另一项研究认为,NDRG2通过下调MMP2水平影响肝癌细胞株的增殖能力和拮抗TGF- $\beta$ 1介导的肝癌细胞侵袭<sup>[32]</sup>。这与NDRG2在肝纤维化发展过程中对MMP2的调节并不一致,但其内在机制尚不清楚。

## 3 调控肝细胞生长

NDRG2 mRNA和蛋白在不同胚胎发育期的人和 大鼠肝组织中的表达水平存在差异,通常在胚胎发育早期较低,后期则明显升高<sup>[33,34]</sup>。NDRG2参与肝细胞的再生、分化、信号转导等生理过程,当肝脏再生能力达到一定峰值时,NDRG2 mRNA和蛋白表达水平显著降低。经腺病毒转染诱导肝细胞NDRG2高表达,通过诱导p53和p21调节Bax/Bcl-2升高,同时抑制cyclin E-Cdk2表达,致使细胞周期静止,从而发挥抗增殖作用,与对照组相比细胞凋亡比例由9.4%升高至64.7%<sup>[35]</sup>。在DMN肝纤维化模型中,诱导NDRG2高表达能够促进肝细胞再生、改善肝脏功能,并不引起肝细胞凋亡<sup>[11]</sup>。NDRG2 mRNA和蛋白在鼠和人胚胎肝脏中高表达,且其表达水平随着肝脏的发育而逐渐升高<sup>[34]</sup>,而在部分肝切除模型肝再生过程中其表达呈现先下降后上升的趋势,即NDRG2蛋白和mRNA水平在肝细胞进入增殖阶段时(48 h内)表达下调,在肝细胞进入分化阶段时(48 h后)表达上调。NDRG2高表达导致肝细胞周期阻滞于G<sub>1</sub>/S期,表达下调则促进肝细胞周期G<sub>1</sub>/S期转换的顺利进行。NDRG2通过上调p21,抑制cyclin E实现对肝再生时肝细胞周期的调控<sup>[36,37]</sup>。

## 4 抗缺氧应激损伤

缺氧能够诱发基因和蛋白质组学的改变<sup>[38]</sup>,导致细胞周期终止、分化、凋亡、坏死<sup>[39,40]</sup>。低氧通过影响成纤维细胞的活性、胶原的合成与降解及生长因子的分泌,参与病理性瘢痕的形成<sup>[41]</sup>。病理性瘢痕组织中HIF-1 $\alpha$  mRNA及蛋白质表达水平均明显高于正常皮肤组织<sup>[42]</sup>。肝纤维化发生时,肝细胞外基质过度沉积,肝细胞缺血缺氧,缺氧诱导因子在肝纤维发生发展中扮演重要角色<sup>[43,44]</sup>。NDRG2是HIF-1的下游目的基因,参与HIF-1基因介导的多种缺氧应答反应。快速生长的肿瘤组织伴随癌细胞微环境的变化,因为



肿瘤细胞的快速分化, 导致局部血管无法提供充分的氧气和营养<sup>[45]</sup>. 缺氧成为实体瘤的生理病理特征之一<sup>[46]</sup>. 研究发现, 将人类肺癌细胞株A549细胞暴露在缺氧(2%O<sub>2</sub>)或类似的环境中, 能够明显增强NDRG2 mRNA的表达. 用干扰RNA(siRNA)阻断A549细胞内源性HIF-1 $\alpha$ 表达, 缺氧诱导NDRG2高表达现象便消失. 缺氧通过HIF- $\alpha$ 1, 促进NDRG2基因表达增加. NDRG2增强A549细胞对缺氧诱导凋亡的敏感性, 促进肿瘤细胞的凋亡. 阻断HIF-1 $\alpha$ 表达或敲除HRE1只能减少约60%或80%的缺氧应答反应, 表明还有其他因素参与缺氧诱导的NDRG2上调, 如p53、核因子 $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)、SP1等NDRG2的上游基因<sup>[47]</sup>. 实体瘤“缺氧”特征与肝纤维化、肝硬化细胞外基质过度沉积、假小叶形成、血管重建等所致的“缺氧”存在相似性, HIF- $\alpha$ 1的激活促进NDRG2基因的表达, 因此NDRG2在抗肝纤维化缺氧应激损伤方面可能发挥积极作用.

## 5 讨论

肝纤维化是慢性肝病向肝硬化、肝癌发展的过渡阶段, 其发展转归可对疾病预后产生重要影响. 目前的观点认为, 慢性肝损伤-肝纤维化-肝硬化-肝癌是慢性肝病由轻到重的一般进展模式. 肝纤维化的基本病理特征为肝细胞外基质的过度沉积, 其病理环节涉及HSCs的激活<sup>[18]</sup>、MMP/TIMP比例的失衡<sup>[25-27]</sup>、肝窦毛细血管化<sup>[48,49]</sup>、肝实质细胞的缺血缺氧<sup>[43,44]</sup>、肝细胞的再生<sup>[30,50]</sup>等, 目前已证实的与肝纤维化病理过程相关的基因有数十种之多, NDRG2是其中的一种<sup>[30]</sup>, 其与肝纤维化的多个病理过程相关. 目前研究发现, NDRG2基因通过阻断TGF- $\beta$ 1/Smad信号通路, 抑制肝星形细胞的活化和促进肝细胞外基质的降解; 通过诱导p53和p21调节Bax/Bcl-2升高, 同时抑制cyclin E-Cdk2表达, 促进肝细胞生长; 作为HIF-1的下游基因, 减轻肝细胞缺氧应激损伤等途径抑制肝纤维化. NDRG2在正常组织、良性肿瘤、恶性肿瘤中的表达水平逐渐降低<sup>[30,31,33]</sup>, 其与组织缺氧程度呈负相关<sup>[47]</sup>, 并且在肝脏再生过程中呈动态变化<sup>[33,34]</sup>. NDRG2通过阻断ERK1/2信号通路, 抑制MMP2、MMP9表达, 减少对癌细胞细胞外基质的降解, 降低肝细胞癌的侵蚀转移能力<sup>[31,51,52]</sup>, 而在肝纤维化病理过程中, NDRG2能够促进MMP表达、同时抑制TIMP表达, 改变MMP/TIMP比例, 促进肝细胞外

基质的降解, 抑制肝纤维化的进展<sup>[11,30]</sup>. NDRG2对MMP的调节作用, 在不同病理过程中截然相反, 可能与疾病本身的病理特点及通过影响不同的信号通路有关, 目前缺乏针对此现象的研究报道. 肝损伤过程中是否存在NDRG2表达水平的动态演变, 其变化对早期判断疾病预后是否具有指导性, 仍值得进一步探讨. HSC的激活抑制NDRG2基因的表达, 慢性肝损伤激活HSC致肝纤维化逐渐加重的过程中, 是否同时存在NDRG2的动态演变有待进一步研究.

## 6 参考文献

- 1 张健, 刘新平, 张万会, 药立波. ndrg家族研究进展. 生命科学 2003; 15: 203-206
- 2 邓艳春, 药力波, 刘新平, 聂晓燕, 王吉树, 张晓光, 苏成芝. 人脑内一含有ACP样结构域新基因的发现. 生物化学与生物物理进展 2001; 28: 72-76
- 3 Lachat P, Shaw P, Gebhard S, van Belzen N, Chaudhary P, Bosman FT. Expression of NDRG1, a differentiation-related gene, in human tissues. *Histochem Cell Biol* 2002; 118: 399-408 [PMID: 12432451]
- 4 Qu X, Zhai Y, Wei H, Zhang C, Xing G, Yu Y, He F. Characterization and expression of three novel differentiation-related genes belong to the human NDRG gene family. *Mol Cell Biochem* 2002; 229: 35-44 [PMID: 11936845]
- 5 Shen L, Zhao ZY, Wang YZ, Ji SP, Liu XP, Liu XW, Che HL, Lin W, Li X, Zhang J, Yao LB. Immunohistochemical detection of Ndr2 in the mouse nervous system. *Neuroreport* 2008; 19: 927-931 [PMID: 18520995 DOI: 10.1097/WNR.0b013e32830163d0]
- 6 Zheng J, Li Y, Yang J, Liu Q, Shi M, Zhang R, Shi H, Ren Q, Ma J, Guo H, Tao Y, Xue Y, Jiang N, Yao L, Liu W. NDRG2 inhibits hepatocellular carcinoma adhesion, migration and invasion by regulating CD24 expression. *BMC Cancer* 2011; 11: 251: 1-251: 9 [PMID: 21676268 DOI: 10.1186/1471-2407-11-251]
- 7 Gao L, Wu GJ, Liu XW, Zhang R, Yu L, Zhang G, Liu F, Yu CG, Yuan JL, Wang H, Yao LB. Suppression of invasion and metastasis of prostate cancer cells by overexpression of NDRG2 gene. *Cancer Lett* 2011; 310: 94-100 [PMID: 21741166 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.06.015].]
- 8 Furuta H, Kondo Y, Nakahata S, Hamasaki M, Sakoda S, Morishita K. NDRG2 is a candidate tumor-suppressor for oral squamous-cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 1785-1791 [PMID: 20045673 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.12.156]
- 9 Okuda T, Kondoh H. Identification of new genes ndr2 and ndr3 which are related to Ndr1/RTP/Drp1 but show distinct tissue specificity and response to N-myc. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 208-215 [PMID: 10581191]
- 10 Okuda T, Kokame K, Miyata T. Differential expression patterns of NDRG family proteins in the central nervous system. *J Histochem Cytochem* 2008; 56: 175-182 [PMID: 17998568]
- 11 Yang J, Zheng J, Wu L, Shi M, Zhang H, Wang X, Xia N, Wang D, Liu X, Yao L, Li Y, Dou K. NDRG2 ameliorates hepatic fibrosis by inhibiting the TGF- $\beta$ 1/Smad pathway and altering the MMP2/

## ■ 相关报道

长期以来NDRG2基因被认为是一种抑癌基因, 近年发现该基因广泛参与肝纤维的病理过程. NDRG2基因通过影响肝星形细胞(hepatic stellate cell)激活、调节MMP/TIMP、调节肝细胞生长等, 影响肝纤维化, 并且随着纤维化的进展, 肝细胞NDRG2基因表达下调.

## ■应用要点

- NDRG2基因与肝纤维化的多个病理环节密切相关, 并与肝纤维化的进展程度存在关联性, 为该病的诊断和治疗提供新的视角。
- 2008; 16: 1651-1653 [PMID: 16511523]
  - 27 Peng WH, Tien YC, Huang CY, Huang TH, Liao JC, Kuo CL, Lin YC. Fraxinus rhynchophylla ethanol extract attenuates carbon tetrachloride-induced liver fibrosis in rats via down-regulating the expressions of uPA, MMP-2, MMP-9 and TIMP-1. *J Ethnopharmacol* 2010; 127: 606-613 [PMID: 20035854 DOI: 10.1016/j.jep.2010.02.028]
  - 28 Okamoto K, Mimura K, Murawaki Y, Yuasa I. Association of functional gene polymorphisms of matrix metalloproteinase (MMP)-1, MMP-3 and MMP-9 with the progression of chronic liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1102-1108 [PMID: 15955221]
  - 29 Senties-Gómez MD, Gálvez-Gastélum FJ, Meza-García E, Armendáriz-Borunda J. [Hepatic fibrosis: role of matrix metalloproteinases and TGFβ1]. *Gac Med Mex* 2005; 141: 315-322 [PMID: 16164129]
  - 30 Takahara Y, Takahashi M, Wagatsuma H, Yokoya F, Zhang QW, Yamaguchi M, Aburatani H, Kawada N. Gene expression profiles of hepatic cell-type specific marker genes in progression of liver fibrosis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6473-6499 [PMID: 17072980]
  - 31 邱智泉, 姜小清. AQP5、CCL20、NDRG2在原发性肝细胞癌伴胆管癌栓中的表达意义及功能研究. 第二军医大学, 2012
  - 32 Lee DC, Kang YK, Kim WH, Jang YJ, Kim DJ, Park IY, Sohn BH, Sohn HA, Lee HG, Lim JS, Kim JW, Song EY, Kim DM, Lee MN, Oh GT, Kim SJ, Park KC, Yoo HS, Choi JY, Yeom YI. Functional and clinical evidence for NDRG2 as a candidate suppressor of liver cancer metastasis. *Cancer Res* 2008; 68: 4210-4220 [PMID: 18519680 DOI: 10.1158/0008-5472]
  - 33 Hu XL, Liu XP, Deng YC, Lin SX, Wu L, Zhang J, Wang LF, Wang XB, Li X, Shen L, Zhang YQ, Yao LB. Expression analysis of the NDRG2 gene in mouse embryonic and adult tissues. *Cell Tissue Res* 2006; 325: 67-76 [PMID: 16520977]
  - 34 Hu XL, Yao LB, Zhang YQ, Deng YC, Liu XP. [Distribution characteristic of NDRG2 expression in human fetal tissues]. *Shengli Xuebao* 2006; 58: 331-336 [PMID: 16906333]
  - 35 Yang J, Li Y, Wu L, Zhang Z, Han T, Guo H, Jiang N, Tao K, Ti Z, Liu X, Yao L, Dou K. NDRG2 in rat liver regeneration: role in proliferation and apoptosis. *Wound Repair Regen* 2005; 18: 524-531 [PMID: 20840522 DOI: 10.1111/j.1524-475X]
  - 36 杨建栋, 郑瑾, 李燕, 王德盛, 曹大勇, 刘新平, 药立波, 窦科峰. NDRG2调控大鼠肝细胞周期的机制. 现代生物医学进展 2010; 10: 4432-4435
  - 37 杨建栋, 李燕, 陶开山, 逯振宇, 刘新平, 药立波, 窦科峰. NDRG2参与调控大鼠肝再生的机制. 胃肠病学和肝病杂志 2010; 19: 440-443
  - 38 Höckel M, Vaupel P. Tumor hypoxia: definitions and current clinical, biologic, and molecular aspects. *J Natl Cancer Inst* 2001; 93: 266-276 [PMID: 11181773]
  - 39 Soengas MS, Alarcón RM, Yoshida H, Giaccia AJ, Hakem R, Mak TW, Lowe SW. Apaf-1 and caspase-9 in p53-dependent apoptosis and tumor inhibition. *Science* 1999; 284: 156-159 [PMID: 10102818]
  - 40 Seta KA, Millhorn DE. Functional genomics approach to hypoxia signaling. *J Appl Physiol* (1985) 2004; 96: 765-773 [PMID: 14715686 DOI: 10.1152/japplphysiol.00836.2003]
  - 41 Kischer CW. Contributions of electron microscopy
  - TIMP2 ratio in rats. *PLoS One* 2011; 6: e27710 [PMID: 22110735 DOI: 10.1371/journal.pone.0027710]
  - 20 Deuschle U, Schüler J, Schulz A, Schlüter T, Kinzel O, Abel U, Kremoser C. FXR controls the tumor suppressor NDRG2 and FXR agonists reduce liver tumor growth and metastasis in an orthotopic mouse xenograft model. *PLoS One* 2012; 7: e43044 [PMID: 23056173 DOI: 10.1371/journal.pone.0043044]
  - 21 Liu J, Zhang J, Wang X, Li Y, Chen Y, Li K, Zhang J, Yao L, Guo G. HIF-1 and NDRG2 contribute to hypoxia-induced radioresistance of cervical cancer HeLa cells. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1985-1993 [PMID: 20206160 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.028]
  - 22 Ostadal P, Elmoselhi AB, Zdobnicka I, Lukas A, Chapman D, Dhalla NS. Ischemia-reperfusion alters gene expression of Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup> ATPase isoforms in rat heart. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306: 457-462 [PMID: 12804585]
  - 23 胡晓兰, 药立波, 张远强, 邓艳春, 刘新平. NDRG2在人胚胎组织中的表达分布特点. 生理学报 2006; 58: 331-336
  - 24 Atzori L, Poli G, Perra A. Hepatic stellate cell: a star cell in the liver. *Int J Biochem Cell Biol* 2009; 41: 1639-1642 [PMID: 19433304 DOI: 10.1016/j.biocel.2009.05.001]
  - 25 Moreira RK. Hepatic stellate cells and liver fibrosis. *Arch Pathol Lab Med* 2007; 131: 1728-1734 [PMID: 17979495]
  - 26 Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250 [PMID: 10644669]
  - 27 Henderson NC, Iredale JP. Liver fibrosis: cellular mechanisms of progression and resolution. *Clin Sci (Lond)* 2007; 112: 265-280 [PMID: 17261089]
  - 28 Ahmad A, Ahmad R. Understanding the mechanism of hepatic fibrosis and potential therapeutic approaches. *Saudi J Gastroenterol* 2012; 18: 155-167 [PMID: 22626794 DOI: 10.4103/1319-3767.96445]
  - 29 Yoshida K, Matsuzaki K. Differential Regulation of TGF-β/Smad Signaling in Hepatic Stellate Cells between Acute and Chronic Liver Injuries. *Front Physiol* 2012; 3: 53 [PMID: 22457652 DOI: 10.3389/fphys.2012.00053]
  - 30 Uemura M, Swenson ES, Gaça MD, Giordano FJ, Reiss M, Wells RG. Smad2 and Smad3 play different roles in rat hepatic stellate cell function and alpha-smooth muscle actin organization. *Mol Biol Cell* 2005; 16: 4214-4224 [PMID: 15987742]
  - 31 Kaimori A, Potter J, Kaimori JY, Wang C, Mezey E, Koteish A. Transforming growth factor-beta1 induces an epithelial-to-mesenchymal transition state in mouse hepatocytes in vitro. *J Biol Chem* 2007; 282: 22089-22101 [PMID: 17513865]
  - 32 Arthur MJ. Fibrogenesis II. Metalloproteinases and their inhibitors in liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G245-G249 [PMID: 10915630]
  - 33 Préaux AM, Mallat A, Nhieu JT, D'Ortho MP, Hembry RM, Mavrier P. Matrix metalloproteinase-2 activation in human hepatic fibrosis regulation by cell-matrix interactions. *Hepatology* 1999; 30: 944-950 [PMID: 10498646]
  - 34 Wang CH, Lee TH, Lu CN, Chou WY, Hung KS, Concejero AM, Jawan B. Electroporative alpha-MSH gene transfer attenuates thioacetamide-induced murine hepatic fibrosis by MMP and TIMP modulation. *Gene Ther* 2006; 13: 1000-1009 [PMID: 16511523]

- to the study of the hypertrophic scar and related lesions. *Scanning Microsc* 1993; 7: 921-930; discussion 930-931 [PMID: 8146619]
- 42 郑旭东, 高建华. 缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (HIF-1 $\alpha$ )在病理性瘢痕形成中的作用. 南方医科大学, 2010
- 43 Haase VH. Hypoxia-inducible factor signaling in the development of kidney fibrosis. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2012; 5 Suppl 1: S16 [PMID: 23259746 DOI: 10.1186/1755-1536-5-S1-S16]
- 44 Nath B, Szabo G. Hypoxia and hypoxia inducible factors: diverse roles in liver diseases. *Hepatology* 2012; 55: 622-633 [PMID: 22120903 DOI: 10.1002/hep.25497]
- 45 Angst E, Sibold S, Tiffon C, Weimann R, Gloor B, Candinas D, Stroka D. Cellular differentiation determines the expression of the hypoxia-inducible protein NDRG1 in pancreatic cancer. *Br J Cancer* 2006; 95: 307-313 [PMID: 16832411]
- 46 Wang L, Liu N, Yao L, Li F, Zhang J, Deng Y, Liu J, Ji S, Yang A, Han H, Zhang Y, Zhang J, Han W, Liu X. NDRG2 is a new HIF-1 target gene necessary for hypoxia-induced apoptosis in A549 cells. *Cell Physiol Biochem* 2008; 21: 239-250 [PMID: 18209490 DOI: 10.1159/000113765]
- 47 Corpechot C, Barbu V, Wendum D, Kinnman N, Rey C, Poupon R, Housset C, Rosmorduc O. Hypoxia-induced VEGF and collagen I expressions are associated with angiogenesis and fibrogenesis in experimental cirrhosis. *Hepatology* 2002; 35: 1010-1021 [PMID: 11981751]
- 48 Braet F, Wisse E. Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review. *Comp Hepatol* 2002; 1: 1 [PMID: 12437787]
- 49 Sanz S, Pucilowska JB, Liu S, Rodríguez-Ortigosa CM, Lund PK, Brenner DA, Fuller CR, Simmons JG, Pardo A, Martínez-Chantar ML, Fagin JA, Prieto J. Expression of insulin-like growth factor I by activated hepatic stellate cells reduces fibrogenesis and enhances regeneration after liver injury. *Gut* 2005; 54: 134-141 [PMID: 15591519]
- 50 Lesurtel M, Graf R, Aleil B, Walther DJ, Tian Y, Jochum W, Gachet C, Bader M, Clavien PA. Platelet-derived serotonin mediates liver regeneration. *Science* 2006; 312: 104-107 [PMID: 16601191]
- 51 吴国强, 张健, 李开宗, 窦科峰, 刘新平. NDRG2基因在原发性肝细胞肝癌及正常肝组织中的表达研究. 中国普外基础与临床杂志 2012; 19: 266-270
- 52 Guo Y, Ma J, Wu L, Wang Q, Li X, Li X, Zhang Y, Zhang J, Yao L, Zhang J, Liu W. Hyperthermia-induced NDRG2 upregulation inhibits the invasion of human hepatocellular carcinoma via suppressing ERK1/2 signaling pathway. *PLoS One* 2013; 8: e61079 [PMID: 23630579 DOI: 10.1371/journal.pone.0061079]

## ■同行评价

NDRG2基因与肝纤维化发生相关性研究报道较少, 选题有新颖性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## ●消息●

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费。审稿周期及发表周期不变。(《世界华人消化杂志》编辑部)



# 质子泵抑制剂防治化疗引起胃肠道黏膜损伤的研究进展

谢一娜, 黄其春

## ■背景资料

肿瘤化疗引起的胃肠道黏膜损伤可影响患者的生活质量及化疗效果, 是肿瘤学界普遍关注的问题, 近年来质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)被用于防治化疗引起的胃肠道疾病, 但鲜有文献对此作用机制及临床疗效进行评估。

谢一娜, 黄其春, 广西医科大学附属肿瘤医院临床药学科 广西壮族自治区南宁市 530021

谢一娜, 硕士研究生, 主要从事抗肿瘤中药的研制。

作者贡献分布: 本文综述由谢一娜完成; 黄其春审核。

通讯作者: 黄其春, 副教授, 副主任药师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院临床药学科。

hqc28705@sina.com

电话: 0771-5318407

收稿日期: 2013-12-01 修回日期: 2013-12-17

接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-02-18

## Advances in prevention and treatment of chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis with proton pump inhibitors

Yi-Lang Xie, Qi-Chun Huang

Yi-Lang Xie, Qi-Chun Huang, Department of Pharmacology, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Qi-Chun Huang, Associate Professor, Associate Chief Pharmacist, Department of Pharmacology, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. hqc28705@sina.com

Received: 2013-12-01 Revised: 2013-12-17

Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-02-18

## Abstract

Proton pump inhibitors (PPIs) are potent acid-suppressive medications commonly used for management of acid-related diseases. Over the past decade, gastrointestinal injury following chemotherapy has attracted wide attention from oncologists. Two international clinical practice guidelines, the National Comprehensive Cancer Network (NCCN) and the Multinational Association of Supportive Care in Cancer (MASCC) antiemesis guidelines, recommend omeprazole for the treatment of chemotherapy-induced epigastric pain. In recent years, PPIs have been widely used for the prevention and treatment of chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis. This paper summarizes the mechanisms by which chemotherapy causes damage to the gastrointestinal tract, the mechanisms underlying the protection afforded by PPIs against gastro-

intestinal injury induced by chemotherapy, and their clinical applications.

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

**Key Words:** Proton pump inhibitors; Chemotherapy-induced; Gastrointestinal mucositis; Prevention treatment

Xie YL, Huang QC. Advances in prevention and treatment of chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis with proton pump inhibitors. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(5): 642-647 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/642.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.642>

## 摘要

质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)具有抑制胃酸分泌和保护胃黏膜作用, 临床常用于治疗酸相关性疾病。肿瘤化疗引起的胃肠道黏膜损伤, 一直受到肿瘤学界的重视, 在美国国立癌症综合网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)与癌症辅助治疗多国协会(Multinational Association of Supportive Care in Cancer, MASCC)临床止吐指南中, PPIs之一的奥美拉唑被推荐用于治疗肿瘤化疗引起的上腹痛症状。目前PPIs的适应症有增加趋势, 国内临床上广泛用于防治肿瘤化疗引起的胃肠道黏膜损伤。本文就化疗引起胃肠道黏膜损伤机制、PPIs保护胃肠道黏膜机制及其防治化疗引起胃黏膜损伤的临床应用作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 质子泵抑制剂; 化疗引起; 胃肠道黏膜损伤; 防治

**核心提示:** 质子泵抑制剂(proton pump inhibitors)兼具抑制胃酸及细胞保护作用, 能有效防治化疗引起的胃肠道黏膜损伤, 有助于提高化疗患者生活质量。临床医师应严格按照用药说明及临床指南应用此类药物。

谢一娜, 黄其春. 质子泵抑制剂防治化疗引起胃肠道黏膜损伤

## ■同行评议者

袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所

的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 642-647 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/642.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.642>

## 0 引言

1980年, 第一个质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)奥美拉唑始应用于临床, 现已成为治疗酸相关性疾病的主要药物<sup>[1]</sup>. 此后, 兰索拉唑、泮托拉唑、雷贝拉唑和埃索美拉唑等同类药物陆续上市, 其作用各有特点, 为临床用药提供了多种选择. 肿瘤化疗导致的胃肠道黏膜损伤一直是临床上比较关注的问题, Sartori等<sup>[2,3]</sup>通过两项随机试验证实PPIs可有效预防化疗引起的胃肠道黏膜损伤. 基于此研究结果, 2004年奥美拉唑被癌症辅助治疗多国协会(Multinational Association of Supportive Care in Cancer, MASCC)指南推荐用于治疗化疗引起的上腹痛及烧心症状<sup>[4]</sup>. 目前PPIs在国内临床上被广泛用于防治化疗引起的胃肠道黏膜损伤, 特别是预防化疗引起的恶心、呕吐等胃肠道反应的发生; 由于临床医师使用PPIs治疗此类胃肠疾病时多以国际指南作为用药参考, 而PPIs使用说明书均未明确提及此类适应证, 因此鲜有文献对其作用机制及治疗效果予以评估. 本文就化疗引起胃肠道黏膜损伤的机制、PPIs保护胃肠道黏膜的机制及其防治化疗引起胃肠道黏膜损伤的临床应用做一综述.

## 1 化疗引起胃肠道黏膜损伤的机制及PPIs保护胃肠道黏膜的机制

1.1 化疗引起胃肠道黏膜损伤的机制 化疗引起胃肠道黏膜损伤的机制尚未完全清楚, Sultani等和Sonis等<sup>[5,6]</sup>认为化疗引起胃肠道黏膜损伤大致可分为5个阶段, 首先细胞毒药物直接损伤细胞的DNA, 引起黏膜基层上皮细胞和黏膜下层细胞凋亡, 广泛的组织损伤导致活性氧簇(reactive oxygen species, ROS)的产生, ROS可刺激巨噬细胞的生成, 引发包括SP1相关视网膜母细胞瘤控制蛋白、P53、核转录因子(nuclear factor kappa-B, NF- $\kappa$ B)在内的炎症级联通路, 造成细胞凋亡和组织的损伤. 第二个阶段, 一系列信号通路及转录因子被激活, 其中最重要的是NF- $\kappa$ B. NF- $\kappa$ B主要调控各种炎症分子的基因表达与合成, 其中包括白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6、肿瘤坏死因子(tumour-necrosis factor, TNF)、黏附因子及环氧化酶2(cyclooxygenase-2,

COX-2)等促炎细胞因子<sup>[7,8]</sup>. 第三个阶段, 各类促炎细胞因子与NF- $\kappa$ B相互影响形成一炎症恶性反馈环, 如TNF在反馈环中强化了NF- $\kappa$ B的活性, 导致炎症信号被进一步放大, 放大的炎症恶性反馈环又促进TNF、IL-6及IL-1 $\beta$ 的产生, 使细胞凋亡和组织损伤进一步加重<sup>[6]</sup>. 第四个阶段, 胃肠道黏膜上皮的完整性遭到严重破坏, 溃疡形成. 溃疡处定殖的细菌可激活巨噬细胞渗透物和其他炎性细胞聚集到受损的组织中, 引起继发性感染. 最后一个阶段, 一般出现在停止治疗后的2 wk内, 是胃肠道黏膜上皮细胞自我修复和更新的一个过程, COX-2可能通过促进血管生成在这一“重建”过程中发挥重要作用<sup>[6,9,10]</sup>. 此外, 化疗引起胃肠道黏膜损伤还可能与其导致胃肠道菌群失衡有关. 化疗可引起胃肠道菌群的易位或过度生长, 破坏正常菌群对胃肠道的保护功能. 这些功能的破坏可导致胃肠道的局部感染或者菌血症的发生<sup>[11]</sup>.

### 1.2 PPIs保护胃肠道黏膜的机制

1.2.1 提高胃黏膜防御屏障: 正常情况下, 胃肠道黏膜的防御机制包括黏膜结构的完整、上皮细胞的自我更新及其分泌的碳酸氢盐与磷脂黏液、微血管持续的血液流动等多个方面. 其中微血管持续的血液流动对维持胃肠道黏膜的正常结构与功能起着关键作用. 前列腺素(prostaglandin, PG)可维持胃肠道黏膜上皮细胞的自我更新及微血管的血液流动, 在胃肠道黏膜防御机制中发挥重要作用<sup>[12,13]</sup>. 人体内的PG主要包括PGE<sub>2</sub>、PGI<sub>2</sub>、PGD<sub>2</sub>及PGF<sub>2 $\alpha$</sub>  4种类型, 其中PGE<sub>2</sub>含量最多, 并对调节人体各种生理功能起着重要作用, 其中包括调节免疫应答、维持血压稳定、保持胃肠道黏膜完整性等. PG的合成依赖于COX的活性, 其两个亚型分别为COX-1与COX-2<sup>[14]</sup>. Tsuji等<sup>[15]</sup>通过动物实验证实随着剂量的增加, 兰索拉唑可提高大鼠血清胃泌素水平及增加COX-2表达, 促进胃黏膜PGE<sub>2</sub>合成而发挥胃黏膜保护作用. 尽管胃泌素诱导COX-2表达的具体机制尚不清楚, 但是可以推断兰索拉唑保护胃黏膜的作用机制, 与内源性胃泌素激活胃泌素受体、增加COX-2介导的胃黏膜PGE<sub>2</sub>合成有关. Kobayashi等<sup>[16]</sup>研究还发现兰索拉唑可增加大鼠胃黏膜血管内皮生长因子受体(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达, VEGF可以促进血管内皮细胞生长加速血管再生. 而抑制PG的生成可减少VEGF的表达, 提示兰索拉唑修复胃肠道黏膜溃疡的机制可能与

### ■研发前沿

近年来研究显示PPIs除抑制胃酸分泌外还具有抗炎、抗氧化等细胞保护作用, 可使胃肠道黏膜免受各种致病因素的危害, 其中包括化疗药物损害.

## ■相关报道

代兴斌等对127例肿瘤化疗患者进行观察,结果显示兰索拉唑与奥美拉唑对化疗药物引起的消化系统反应均具有明显的预防及抑制作用。

增加VEGF的表达及提高PG合成有关;不过也可能存在另一个机制,即促进黏膜下基质内的基质金属蛋白酶2(matrix metalloproteinase-2, MMP-2)表达,一种可重建细胞外基质促进细胞损伤修复的内切酶,而这种机制与刺激内源性PG释放无关<sup>[16,17]</sup>。

1.2.2 抗氧化作用:一些体外研究发现PPIs可以阻止次氯酸引起的 $\beta$ -胡萝卜素的氧化、铁和铜介导的脱氧核糖的氧化以及铜引起的低密度脂蛋白氧化,并可有效清除过渡金属化学反应所产生的羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )<sup>[18-20]</sup>。在体内试验中,研究者发现小鼠因受束缚及冷应激引起的胃溃疡主要由胃黏膜产生的羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )导致。在冷应激前给予奥美拉唑处理的小鼠,其胃黏膜表现出较低水平的羟基自由基( $\cdot\text{OH}$ )、脂质过氧化反应以及蛋白质氧化<sup>[21]</sup>。在吡啶美辛引起胃溃疡的小鼠模型中,研究人员发现,小鼠胃溃疡与胃黏膜谷胱甘肽,一种强力的内源性抗氧化因子的消耗有关。埃索美拉唑可有效防止谷胱甘肽的损耗以保护胃黏膜的损伤,其机制尚不清楚。研究者估计在胃酸中埃索美拉唑转变成四环的次磺酰胺,为胃黏膜提供硫化化合物以起到抗氧化的作用<sup>[22]</sup>。另一个吡啶美辛致小鼠胃溃疡的研究中,Koch等<sup>[23]</sup>还发现埃索美拉唑可以提高过氧化歧酶水平和总抗氧化能力,不过其机制也尚未清楚。

1.2.3 抗炎作用:血红素加氧酶(heme oxygenase, HO)是血红素分解代谢的限速酶,其亚型HO-1广泛存在于胃肠道黏膜<sup>[24-26]</sup>。HO-1表达水平上调作为一种自然防御机制可减少炎症的发生及黏膜组织的损伤<sup>[27,28]</sup>。在应激及病理状态下,如休克、缺氧、缺血及ROS可刺激HO-1表达水平上调发挥细胞保护作用<sup>[29-31]</sup>。研究显示兰索拉唑可诱导大鼠胃黏膜上皮细胞HO-1表达增高,其机制可能为兰索拉唑促使Kelch样ECH联合蛋白1(Keap-1)释放核转录因子Nrf2,并激活Nrf2使其磷酸,从而上调HO-1 mRNA和蛋白表达,最终诱导HO-1的表达<sup>[32-34]</sup>。PPIs还可通过抑制促炎性细胞因子的释放发挥抗炎作用<sup>[35]</sup>。胃黏膜产生IL-8,一种强力的白细胞刺激物,在幽门螺杆菌介导的炎症反应中发挥重要的作用。Handa等<sup>[36]</sup>观察发现在人胃癌细胞与脐静脉内皮细胞中,奥美拉唑和兰索拉唑可能通过阻碍NF- $\kappa$ B的细胞通路以抑制幽门螺杆菌刺激IL-8的产生。这种现象也可以在动物实验中观察到<sup>[36,37]</sup>。在人工培养的气管上皮细胞中,兰索拉唑可以降低一系列促炎

症因子包括IL-6、IL-8及TNF- $\alpha$ 的水平。PPI减少上皮和内皮细胞产生的促炎症因子的机制尚不清楚<sup>[38]</sup>。

1.2.4 抑制胃酸分泌作用:胃黏膜壁细胞中主要功能性靶点为H<sub>2</sub>受体和H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶。组胺与H<sub>2</sub>受体结合导致胞内环磷腺苷(cyclic adenosine monophosphate, cAMP)浓度升高和蛋白激酶A(protein kinase A, PKA)激活。PKA激活的效应之一则是细胞骨架蛋白磷酸化,细胞骨架蛋白参与H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶由细胞质向细胞膜的转运,从而使H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶可以接触到胞外的KCl,使胞外K<sup>+</sup>与胞内H<sup>+</sup>进行交换,形成胃酸分泌。组胺H<sub>2</sub>受体对于壁细胞泌酸过程的特征性形态学改变至关重要,而H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶承担着泌酸的最后一项功能<sup>[39]</sup>。PPIs为苯并咪唑衍生物,以前体药物的形式在胃酸中激活,转化为次磺酰胺类化合物,与H<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATP酶亚单位上的半胱氨酸残基(Cys)中的巯基共价结合形成二硫键,使质子泵不可逆地失去活性,阻断酶的H<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>转运机制,从而抑制胃酸分泌的最后步骤,以保护胃黏膜免遭胃酸侵袭<sup>[40]</sup>。

## 2 PPIs防治化疗引起胃肠道黏膜损伤的临床应用

2.1 减轻胃肠道反应 化疗引起胃肠道反应以恶心、呕吐最为常见,人体超过95%的5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)由胃肠道黏膜分泌,细胞毒药物造成胃肠道黏膜损伤致使黏膜上的嗜铬细胞释放5-HT,与5-HT<sub>3</sub>受体结合产生神经冲动经迷走传入神经传入呕吐中枢引起患者呕吐<sup>[41,42]</sup>。代兴斌等<sup>[43]</sup>研究显示兰索拉唑、奥美拉唑联合止吐药在防治呕吐、恶心、食欲不振方面的有效率明显高于单用止吐药(格拉司琼+地塞米松)。提示PPI能提高止吐药物对化疗引起胃肠道反应的控制率,且药物安全性高。其机制可能与PPIs保护胃肠道黏膜,减少黏膜嗜铬细胞释放5-HT有关。

2.2 预防急性胃溃疡 细胞毒药物对胃肠道黏膜的直接损害加上胃酸侵袭常导致急性胃十二指肠溃疡形成。Sartori等<sup>[2,3]</sup>通过随机对照实验证实奥美拉唑组患者在化疗过程中急性胃溃疡的发生率、上腹痛及烧心感症状的出现率明显低于安慰剂组,差异有统计学意义。安慰剂组的患者化疗后内镜评分均高于化疗前,奥美拉唑组并无此表现。表明奥美拉唑能有效预防化疗引起的上消化系黏膜损伤,减少胃肠道溃疡的发生。其机制主要与PPIs减少胃酸分泌有关。



2.3 防治化疗性胃食管反流病 化疗引起胃食管返流病的机制不完全清楚, 可能与细胞毒药物抑制黏膜细胞正常增殖分裂、刺激炎性因子分泌、减弱食管下段括约肌功能引起胃容物回流等因素有关, 临床上头颈部及胸部肿瘤患者经常接受化疗及放疗联合治疗, 这更增加了食管黏膜损伤的风险<sup>[44,45]</sup>. Uwagawa等<sup>[46]</sup>在其研究中发现, 雷贝拉唑能够明显改善化疗引起的胃食管返流病症状频率评分, 提示化疗引起胃食管返流与胃酸分泌过度有关系, 也表明PPI可以改善化疗引起的胃食管反流病的症状.

2.4 PPIs的安全性 一项长达15年的开放性试验显示, 长期使用泮托拉唑治疗严重酸相关性疾病有良好的安全性及有效性. 研究从1999-09开始至2007-09结束, 研究人员定期记录患者在治疗期间的各项参考指标, 结果显示长期使用泮托拉唑不会导致患者胃部腺体萎缩和肠上皮化生, 虽然可引起胃部腺体可逆性轻至中度扩张, 但不会增加肿瘤发生的风险<sup>[47]</sup>. 一项Meta分析提示使用PPIs超过180 d并不增加患者患社区获得性肺炎的风险, 但是使用高剂量或者使用时间少于30 d的患者患社区获得性肺炎的风险增加<sup>[48]</sup>. 另一项Meta分析显示PPIs可轻微提高髌骨及脊柱骨折的风险<sup>[49]</sup>. 此外PPIs还可导致低镁血症、低钙血症及低钾血症等电解质紊乱的发生<sup>[50,51]</sup>.

### 3 结论

PPIs因其显著的抑酸效果被广泛用于治疗酸相关性疾病, 如胃食管反流病, 上消化系溃疡及卓-艾氏综合征等<sup>[52]</sup>. 近十几年来, 因PPIs对胃肠道黏膜的保护作用而应用于治疗化疗引起的胃肠道黏膜损伤. 两项国际指南美国国立癌症综合网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)与MASCC均提示在化疗患者出现上腹痛及烧心症状时可使用PPIs进行治疗. 以上综述表明PPIs可有效防治化疗引起的胃肠道黏膜损伤. 尽管如此, PPIs多种潜在的不良反应值得临床医生注意, 只有正确掌握PPIs的作用机制及适应症, 才能避免药物过度使用, 确保患者得到安全合理的治疗.

### 4 参考文献

- 1 Heidelberg JJ, Metz DC, Yang YX. Proton pump inhibitors: are they overutilised in clinical practice and do they pose significant risk? *Int J Clin Pract* 2012; 66: 582-591 [PMID: 22607510 DOI: 10.1111/j.1742-1241.2012.02921.x]

- 2 Sartori S, Trevisani L, Nielsen I, Tassinari D, Abbasciano V. Misoprostol and omeprazole in the prevention of chemotherapy-induced acute gastroduodenal mucosal injury. A randomized, placebo-controlled pilot study. *Cancer* 1996; 78: 1477-1482 [PMID: 8839554]
- 3 Sartori S, Trevisani L, Nielsen I, Tassinari D, Panzini I, Abbasciano V. Randomized trial of omeprazole or ranitidine versus placebo in the prevention of chemotherapy-induced gastroduodenal injury. *J Clin Oncol* 2000; 18: 463-467 [PMID: 10653861]
- 4 Rubenstein EB, Peterson DE, Schubert M, Keefe D, McGuire D, Epstein J, Elting LS, Fox PC, Cooksley C, Sonis ST. Clinical practice guidelines for the prevention and treatment of cancer therapy-induced oral and gastrointestinal mucositis. *Cancer* 2004; 100: 2026-2046 [PMID: 15108223 DOI: 10.1002/cncr.20163]
- 5 Sultani M, Stringer AM, Bowen JM, Gibson RJ. Anti-inflammatory cytokines: important immunoregulatory factors contributing to chemotherapy-induced gastrointestinal mucositis. *Chemother Res Pract* 2012; 2012: 490804 [PMID: 22973511 DOI: 10.1155/2012/490804]
- 6 Sonis ST. Pathobiology of oral mucositis: novel insights and opportunities. *J Support Oncol* 2007; 5: 3-11 [PMID: 18046993]
- 7 Lawrence T. The nuclear factor NF-kappaB pathway in inflammation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2009; 1: a001651 [PMID: 20457564 DOI: 10.1101/cshperspect.a001651]
- 8 Logan RM, Stringer AM, Bowen JM, Gibson RJ, Sonis ST, Keefe DM. Is the pathobiology of chemotherapy-induced alimentary tract mucositis influenced by the type of mucotoxic drug administered? *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 239-251 [PMID: 18351341 DOI: 10.1007/s00280-008-0732-8]
- 9 Perfetto B, Donnarumma G, Criscuolo D, Paoletti I, Grimaldi E, Tufano MA, Baroni A. Bacterial components induce cytokine and intercellular adhesion molecules-1 and activate transcription factors in dermal fibroblasts. *Res Microbiol* 2003; 154: 337-344 [PMID: 12837509 DOI: 10.1016/s0923-2508(03)00084-6]
- 10 Sonis ST, O'Donnell KE, Popat R, Bragdon C, Phelan S, Cocks D, Epstein JB. The relationship between mucosal cyclooxygenase-2 (COX-2) expression and experimental radiation-induced mucositis. *Oral Oncol* 2004; 40: 170-176 [PMID: 14693241]
- 11 Stringer AM, Gibson RJ, Bowen JM, Keefe DM. Chemotherapy-induced modifications to gastrointestinal microflora: evidence and implications of change. *Curr Drug Metab* 2009; 10: 79-83 [PMID: 19149515]
- 12 Tarnawski AS, Ahluwalia A, Jones MK. The mechanisms of gastric mucosal injury: focus on microvascular endothelium as a key target. *Curr Med Chem* 2012; 19: 4-15 [PMID: 22300071]
- 13 Tulassay Z, Herszényi L. Gastric mucosal defense and cytoprotection. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 99-108 [PMID: 20227024 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.02.006]
- 14 Ricciotti E, FitzGerald GA. Prostaglandins and inflammation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2011; 31: 986-1000 [PMID: 21508345 DOI: 10.1161/atvbaha.110.207449]
- 15 Tsuji S, Sun WH, Tsujii M, Kawai N, Kimura A,

### ■创新盘点

关于PPIs药理作用的研究比较多, 但对其防治化疗引起的胃肠道黏膜损伤作用机制的报道较少, 本文对此机制及临床应用等作一综述, 为指导临床合理使用PPIs提供科学依据.

## ■应用要点

目前,国内外临床上广泛存在超出药品说明书标示的适应症使用PPIs的情况,本文有助于临床医师深入了解PPIs的作用机制,正确掌握其适应症,使PPIs得到科学合理的使用。

- Kakiuchi Y, Yasumaru S, Komori M, Murata H, Sasaki Y, Kawano S, Hori M. Lansoprazole induces mucosal protection through gastrin receptor-dependent up-regulation of cyclooxygenase-2 in rats. *J Pharmacol Exp Ther* 2002; 303: 1301-1308 [PMID: 12438555 DOI: 10.1124/jpet.102.035204]
- 16 Kobayashi S, Nakajima N, Ito Y, Moriyama M. Effects of lansoprazole on the expression of VEGF and cellular proliferation in a rat model of acetic acid-induced gastric ulcer. *J Gastroenterol* 2010; 45: 846-858 [PMID: 20333532 DOI: 10.1007/s00535-010-0224-6]
- 17 Al-Dasooqi N, Gibson RJ, Bowen JM, Logan RM, Stringer AM, Keefe DM. Matrix metalloproteinases are possible mediators for the development of alimentary tract mucositis in the dark agouti rat. *Exp Biol Med* (Maywood) 2010; 235: 1244-1256 [PMID: 20682600 DOI: 10.1258/ebm.2010.010082]
- 18 Lapenna D, de Gioia S, Ciofani G, Festi D, Cuccurullo F. Antioxidant properties of omeprazole. *FEBS Lett* 1996; 382: 189-192 [PMID: 8612750]
- 19 Blandizzi C, Fornai M, Colucci R, Natale G, Lubrano V, Vassalle C, Antonioli L, Lazzeri G, Del Tacca M. Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4052-4060 [PMID: 15996031]
- 20 Simon WA, Sturm E, Hartmann HJ, Weser U. Hydroxyl radical scavenging reactivity of proton pump inhibitors. *Biochem Pharmacol* 2006; 71: 1337-1341 [PMID: 16494850 DOI: 10.1016/j.bcp.2006.01.009]
- 21 Biswas K, Bandyopadhyay U, Chattopadhyay I, Varadaraj A, Ali E, Banerjee RK. A novel antioxidant and antiapoptotic role of omeprazole to block gastric ulcer through scavenging of hydroxyl radical. *J Biol Chem* 2003; 278: 10993-11001 [PMID: 12529378 DOI: 10.1074/jbc.M210328200]
- 22 Pastoris O, Verri M, Boschi F, Kastsuichenka O, Balestra B, Pace F, Tonini M, Natale G. Effects of esomeprazole on glutathione levels and mitochondrial oxidative phosphorylation in the gastric mucosa of rats treated with indomethacin. *Naunyn Schmiedeberg Arch Pharmacol* 2008; 378: 421-429 [PMID: 18545984 DOI: 10.1007/s00210-008-0314-7]
- 23 Koch TR, Petro A, Darrabie M, Opara EC. Effect of the H, K-ATPase inhibitor, esomeprazole magnesium, on gut total antioxidant capacity in mice. *J Nutr Biochem* 2004; 15: 522-526 [PMID: 15350983 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2004.03.003]
- 24 Burger D, Xiang F, Hammoud L, Lu X, Feng Q. Role of heme oxygenase-1 in the cardioprotective effects of erythropoietin during myocardial ischemia and reperfusion. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H84-H93 [PMID: 18996987 DOI: 10.1152/ajp-heart.00372.2008]
- 25 Coëffier M, Le Pessot F, Leplingard A, Marion R, Lerebours E, Ducrotté P, Déchelotte P. Acute enteral glutamine infusion enhances heme oxygenase-1 expression in human duodenal mucosa. *J Nutr* 2002; 132: 2570-2573 [PMID: 12221210]
- 26 Barton SG, Rampton DS, Winrow VR, Domizio P, Feakins RM. Expression of heat shock protein 32 (hemoxygenase-1) in the normal and inflamed human stomach and colon: an immunohistochemical study. *Cell Stress Chaperones* 2003; 8: 329-334 [PMID: 15115285]
- 27 Vijayan V, Mueller S, Baumgart-Vogt E, Immen-schuh S. Heme oxygenase-1 as a therapeutic target in inflammatory disorders of the gastrointestinal tract. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3112-3119 [PMID: 20593496]
- 28 Guo X, Shin VY, Cho CH. Modulation of heme oxygenase in tissue injury and its implication in protection against gastrointestinal diseases. *Life Sci* 2001; 69: 3113-3119 [PMID: 11758836]
- 29 Umeda K, Takahashi T, Inoue K, Shimizu H, Maeda S, Morimatsu H, Omori E, Akagi R, Katayama H, Morita K. Prevention of hemorrhagic shock-induced intestinal tissue injury by glutamine via heme oxygenase-1 induction. *Shock* 2009; 31: 40-49 [PMID: 18497709 DOI: 10.1097/SHK.0b013e318177823a]
- 30 Chang AY, Chan JY, Cheng HL, Tsai CY, Chan SH. Hypoxia-inducible factor 1/heme oxygenase 1 cascade as upstream signals in the prolife role of heat shock protein 70 at rostral ventrolateral medulla during experimental brain stem death. *Shock* 2009; 32: 651-658 [PMID: 19333137 DOI: 10.1097/SHK.0b013e3181a71027]
- 31 Cooper KL, Liu KJ, Hudson LG. Enhanced ROS production and redox signaling with combined arsenite and UVA exposure: contribution of NADPH oxidase. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 381-388 [PMID: 19414066 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.04.034]
- 32 陈汉卿, 吕宾, 陈鸣艳, 张烁. 质子泵抑制剂对NSAIDs相关小肠损伤大鼠HO-1表达的影响. *胃肠病学* 2011; 16: 390-394
- 33 Takagi T, Naito Y, Yoshikawa T. The expression of heme oxygenase-1 induced by lansoprazole. *J Clin Biochem Nutr* 2009; 45: 9-13 [PMID: 19590701 DOI: 10.3164/jcbnSR09-28]
- 34 Takagi T, Naito Y, Okada H, Ishii T, Mizushima K, Akagiri S, Adachi S, Handa O, Kokura S, Ichikawa H, Itoh K, Yamamoto M, Matsui H, Yoshikawa T. Lansoprazole, a proton pump inhibitor, mediates anti-inflammatory effect in gastric mucosal cells through the induction of heme oxygenase-1 via activation of NF-E2-related factor 2 and oxidation of kelch-like ECH-associating protein 1. *J Pharmacol Exp Ther* 2009; 331: 255-264 [PMID: 19628634 DOI: 10.1124/jpet.109.152702]
- 35 Smith WB, Gamble JR, Clark-Lewis I, Vadas MA. Interleukin-8 induces neutrophil transendothelial migration. *Immunology* 1991; 72: 65-72 [PMID: 1997402]
- 36 Handa O, Yoshida N, Fujita N, Tanaka Y, Ueda M, Takagi T, Kokura S, Naito Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Molecular mechanisms involved in anti-inflammatory effects of proton pump inhibitors. *Inflamm Res* 2006; 55: 476-480 [PMID: 17122965 DOI: 10.1007/s00011-006-6056-4]
- 37 Kuroda M, Yoshida N, Ichikawa H, Takagi T, Okuda T, Naito Y, Okanoue T, Yoshikawa T. Lansoprazole, a proton pump inhibitor, reduces the severity of indomethacin-induced rat enteritis. *Int J Mol Med* 2006; 17: 89-93 [PMID: 16328016]
- 38 Sasaki T, Yamaya M, Yasuda H, Inoue D, Yamada M, Kubo H, Nishimura H, Sasaki H. The proton pump inhibitor lansoprazole inhibits rhinovirus infection in cultured human tracheal epithelial cells. *Eur J Pharmacol* 2005; 509: 201-210 [PMID: 15733557 DOI: 10.1016/j.ejphar.2004.12.042]
- 39 Shin JM, Kim N. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of the proton pump inhibitors. *J Neurogastroenterol Motil* 2013; 19: 25-35 [PMID: 23350044]

- DOI: 10.5056/jnm.2013.19.1.25]
- 40 Ward RM, Kearns GL. Proton pump inhibitors in pediatrics : mechanism of action, pharmacokinetics, pharmacogenetics, and pharmacodynamics. *Paediatr Drugs* 2013; 15: 119-131 [PMID: 23512128 DOI: 10.1007/s40272-013-0012-x]
  - 41 Morita H, Mochiki E, Takahashi N, Kawamura K, Watanabe A, Sutou T, Ogawa A, Yanai M, Ogata K, Fujii T, Ohno T, Tsutsumi S, Asao T, Kuwano H. Effects of 5-HT<sub>2B</sub>, 5-HT<sub>3</sub> and 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonists on gastrointestinal motor activity in dogs. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 6604-6612 [PMID: 24151388 DOI: 10.3748/wjg.v19.i39.6604]
  - 42 National Comprehensive Cancer Network. NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology: Antiemesis V.1.2012. Available from: URL: [http://www.nccn.org/professionals/physician\\_gls/f\\_guidelines.asp](http://www.nccn.org/professionals/physician_gls/f_guidelines.asp)
  - 43 代兴斌, 蒋楠, 魏学礼, 马兰. 兰索拉唑防治化疗药物所致消化道反应的临床研究. *中国医药* 2011; 6: 804-805
  - 44 Shields HM, Recht A, Wang HH. Exposure to both radiation and chemotherapy increases the risk of Barrett's and multilayered epithelium. *Dig Dis Sci* 2009; 54: 2143-2149 [PMID: 19093207 DOI: 10.1007/s10620-008-0619-x]
  - 45 Tutuian R. Adverse effects of drugs on the esophagus. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 91-97 [PMID: 20227023 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.02.005]
  - 46 Uwagawa T, Misawa T, Iida T, Sakamoto T, Gocho T, Wakiyama S, Hirohara S, Yanaga K. Proton-pump inhibitor as palliative care for chemotherapy-induced gastroesophageal reflux disease in pancreatic cancer patients. *J Palliat Med* 2010; 13: 815-818 [PMID: 20636150 DOI: 10.1089/jpm.2009.0404]
  - 47 Brunner G, Athmann C, Schneider A. Long-term, open-label trial: safety and efficacy of continuous maintenance treatment with pantoprazole for up to 15 years in severe acid-peptic disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2012; 36: 37-47 [PMID: 22531114 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2012.05106.x]
  - 48 Giuliano C, Wilhelm SM, Kale-Pradhan PB. Are proton pump inhibitors associated with the development of community-acquired pneumonia? A meta-analysis. *Expert Rev Clin Pharmacol* 2012; 5: 337-344 [PMID: 22697595 DOI: 10.1586/ecp.12.20]
  - 49 Yu EW, Bauer SR, Bain PA, Bauer DC. Proton pump inhibitors and risk of fractures: a meta-analysis of 11 international studies. *Am J Med* 2011; 124: 519-526 [PMID: 21605729 DOI: 10.1016/j.amjmed.2011.01.007]
  - 50 刘改芳. 长期应用质子泵抑制剂与低镁血症. *中华消化杂志* 2013; 33: 497-499
  - 51 Maeda Y, Kojima N, Araki Y, Uno T, Nishigaki K, Inaba N. Does a proton pump inhibitor cause hypokalemia? *Intern Med* 2011; 50: 1045-1050 [PMID: 21532230]
  - 52 Sugimoto M, Furuta T. Efficacy of esomeprazole in treating acid-related diseases in Japanese populations. *Clin Exp Gastroenterol* 2012; 5: 49-59 [PMID: 22649281 DOI: 10.2147/ceg.s23926]

#### 同行评价

本文综述PPIs保护胃肠黏膜免受化疗损伤的作用机制及临床应用等对临床更好的应用PPIs有很好的指导作用。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 胆管癌支架治疗的现状及进展

于泓, 缪林

## ■背景资料

胆管癌(cholangiocarcinoma, CCA)是最常见的胆道恶性肿瘤。因其起病隐匿、早期诊断困难、治疗方法有限, 预后极差。大多数患者就诊时已失去外科手术机会。胆道支架治疗是晚期胆管癌重要的姑息治疗手段, 可解除胆道梗阻, 改善患者生活质量, 延长生存期。

于泓, 缪林, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 南京医科大学消化内镜研究所 江苏省南京市 210011  
于泓, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。  
江苏省科技厅自然科学基金资助项目, No. BK2012871  
作者贡献分布: 本文综述由于泓完成; 缪林审校。  
通讯作者: 缪林, 副教授, 主任医师, 博士生导师, 210011, 江苏省南京市下关区姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心, 南京医科大学消化内镜研究所. maofrest@yahoo.com.cn  
电话: 025-58766446  
收稿日期: 2013-11-15 修回日期: 2013-12-11  
接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-02-18

## Biliary stenting for cholangiocarcinoma: An update

Hong Yu, Lin Miao

Hong Yu, Lin Miao, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Science and Technology Department of Jiangsu Province, No. BK2012871

Correspondence to: Lin Miao, Associate Professor, Chief Physician, Institute of Digestive Endoscopy and Medical Center for Digestive Diseases, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Xiaoguan District, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. maofrest@yahoo.com.cn

Received: 2013-11-15 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-02-18

## Abstract

Cholangiocarcinoma (bile duct cancer) is the most common malignant tumor of the biliary tree. This devastating malignancy presents late, and is notoriously difficult to diagnose, thus resulting a high mortality. The majority of cholangiocarcinoma patients present with an unresectable disease, and survive less than 12 mo following diagnosis. Biliary stent placement is an effective palliative therapy for malignant biliary obstruction, which can significantly improve the quality of life, and extend the survival time of patients. Different biliary stent placement methods would closely affect the prognosis of patients. The purpose of this article is to review the treatment efficacy, insertion paths and types of biliary stents. This paper also covers emerging

biliary stents including drug stents, and biliary stent combination local therapy.

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

**Key Words:** Cholangiocarcinoma; Biliary stent; Photodynamic therapy; Endobiliary radiofrequency ablation

Yu H, Miao L. Biliary stenting for cholangiocarcinoma: An update. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 648-653  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/648.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.648>

## 摘要

胆管癌(cholangiocarcinoma)是最常见的胆道恶性肿瘤。因其起病隐匿、早期诊断困难、治疗方法有限, 预后极差。大多数患者就诊时已失去外科手术机会。胆道支架治疗是晚期胆管癌重要的姑息治疗手段, 可解除胆道梗阻, 改善患者生活质量, 延长生存期。不同支架治疗方法的选择与患者的预后密切相关。本文结合最近几年有关文献, 就胆管癌支架治疗效果, 支架植入路径选择, 不同材质支架特点及应用, 载药支架等新兴胆道支架的研究进展, 以及支架联合局部治疗的应用等作一综述, 以供临床参考。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胆管癌; 胆道支架; 光动力治疗; 胆道内射频消融

**核心提示:** 不同支架治疗方法的选择与晚期胆管癌患者的预后密切相关。本文比较了不同支架植入路径的选择, 不同材质支架的特点及应用。介绍了近年来研究热点的药物洗脱支架、放射性支架等新兴胆道支架, 以及支架联合光动力治疗或射频消融治疗等局部治疗手段的最新研究进展, 对于临床和研究有重要指导价值。

于泓, 缪林. 胆管癌支架治疗的现状及进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 648-653 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/648.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.648>

## ■同行评议者

陈进宏, 副主任医师, 复旦大学附属华山医院普外科; 陈汝福, 教授, 中山大学第二附属医院肝胆胰外科

## 0 引言

胆管癌(cholangiocarcinoma, CCA)起源于胆管上皮细胞, 是全世界第2大原发性肝胆系肿瘤, 也是最常见的胆道恶性肿瘤<sup>[1,2]</sup>。胆管癌起病隐匿、早期诊断困难、治疗方法有限, 预后极差, 中位生存期不足24 mo<sup>[1]</sup>。胆道脓毒症、肝衰竭、恶病质和营养不良是胆管癌最主要的死因<sup>[3]</sup>。手术切除是唯一有效的治疗手段。然而大多数患者就诊时已失去手术切除机会, 在12 mo之内因恶病质及功能衰竭而死亡<sup>[4]</sup>。根治性手术五年生存率也仅为20%-40%<sup>[5]</sup>。

胆道支架植入术主要用于无法行手术切除的晚期胆管癌患者, 是解除其恶性胆道梗阻的一种有效的姑息性治疗手段。其目的是解除阻塞性胆汁淤积, 减轻黄疸、皮肤瘙痒、腹痛等相关并发症, 预防胆管炎, 避免渐进性胆道梗阻引起的肝衰竭, 通过微创治疗提高生活质量、降低治疗成本、减少手术相关并发症、缩短住院时间<sup>[6-8]</sup>。在晚期胆管癌的姑息性治疗中不同支架的选择及治疗方法至关重要。

## 1 经内镜胆道支架引流和经皮胆道支架引流

经内镜胆道引流比经皮胆道引流更符合生理特点、患者创伤小且舒适<sup>[9]</sup>。相对于经皮肝穿刺胆管造影(percutaneous transhepatic cholangiography, PTC), 内镜下逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangio-pancreatography, ERCP)有更多的优点: 可直视十二指肠及乳头, 检查肿瘤浸润情况, 可轻松获取细胞及组织样本, 后续放置支架可解除阻塞性胆汁淤积<sup>[10]</sup>。支架内引流可以恢复胆汁正常生理通道, 维持胆汁生理功能。一项美国的研究表明, 对无法行手术切除的患者内镜治疗费用明显低于手术治疗, 且可获得更长的生存期, 内镜下支架置入术可作为姑息性胆道引流的首选方法<sup>[11]</sup>。

经皮支架植入术通常用于内镜治疗失败或不能经内镜治疗的患者(例如胃部分切除史、幽门梗阻), 对于肝门部胆管狭窄的患者, 行经皮引流可避免内镜引流的高失败率和并发症发生率, 且经皮支架植入一枚以上金属支架更为容易<sup>[9]</sup>。在一项韩国的多中心回顾研究中, 经皮胆道引流成功率高于内镜下胆道引流, 两组中胆道引流成功后中位生存时间、支架通畅时间及并发症发生率均无明显差异, 其中胆道引流成功患者的中位生存时间均高于引流失败者<sup>[12]</sup>。经皮引流的主要缺点是经皮管所造成的不适及相关并

发症, 如出血、感染、胆汁瘘、导管阻塞和移动, 应根据恶性胆道狭窄的位置(肝门部或胆总管下段)选择合适的姑息性治疗的手段<sup>[10]</sup>。

## 2 塑料支架和金属支架

塑料支架和金属支架均可用于解除恶性胆道梗阻。塑料支架的直径为7.0-11.5 F, 长度为5-18 cm<sup>[13]</sup>。塑料支架费用较低、操作技术简单、发生阻塞时易于拆除和替换, 然而由于塑料支架直径较小, 更易发生阻塞, 引起胆管炎。有20%-40%单边或双边支架植入术后发生胆管炎, 其原因是支架直径小及胆道细菌感染继发生物膜形成和胆泥淤积, 多数塑料支架治疗恶性胆道梗阻的患者至少需要更换一次支架<sup>[1,2]</sup>。对于极高龄恶性梗阻性黄疸患者Grönroos等<sup>[14]</sup>认为对于应用塑料支架即可。

与塑料支架相比, 金属支架在近年来的研究中显示出更多的优势, 应用也日益增多。一方面, 他增大了支架的直径, 从而增加支架通畅时间、减少梗阻复发。其中自膨式金属支架(self-expanding metal stents, SEMSs)是应用最为广泛的金属支架, 大多数SEMSs的长度在4-10cm之间, 直径一般为10 mm<sup>[15]</sup>。另一方面, 金属支架的网眼可避免堵塞侧支胆管, 使胆汁得到更好的引流<sup>[16]</sup>。研究表明金属支架通畅时间明显高于塑料支架, 两者通畅时间分别为10-12 mo和3-4 mo<sup>[10]</sup>。对于肝门部胆管癌, SEMSs植入后通畅时间也明显高于塑料支架, 且SEMSs有利于减少再手术的次数, 降低总的治疗费用<sup>[17]</sup>。金属支架的主要缺点在于: 支架本身费用高, 植入后不易移除。

一般认为金属支架主要应用于预期生存时间>3 mo、接受化疗或其他姑息性治疗的不可切除的胆管癌患者, 植入金属支架可减少ERCP次数、缩短住院时间、减少并发症的发生<sup>[2,18,19]</sup>。欧洲胃肠内镜学会指南推荐: 对于肝门部胆管恶性狭窄的患者, 预期生存期>3 mo或并发胆道感染者首选SEMSs; 对于确诊为恶性胆总管梗阻的患者, 如果预期生存期>4 mo或SEMSs本身的成本小于ERCP费用的50%, 应首选直径10 mm的SEMSs<sup>[15]</sup>。

## 3 裸支架和覆膜支架

胆道金属支架可以进一步分为裸支架和覆膜支架。裸支架主要由不锈钢、镍钛合金等制成, 覆膜支架表面由硅橡胶、聚亚安酯、聚四氟乙烯等材质的膜覆盖, 可避免肿瘤向内生长造成支

## ■ 研发前沿

普通支架只能机械性阻止肿瘤生长, 并不能杀伤肿瘤, 作为近年来研究热点的药物洗脱支架和放射性支架克服了以上不足。在机械性解除胆道梗阻的同时具有抑制肿瘤细胞增殖的作用。另外, 支架联合光动力治疗或射频消融治疗也是新兴的肿瘤局部治疗手段, 通过联合治疗的方法局部抑制肿瘤生长, 可延长支架通畅时间, 提高患者生存率, 具有良好的发展前景, 也是胆管癌姑息性治疗具有良好发展前景的新方向。

## ■ 相关报道

《Biliary stents: models and methods for endoscopic stenting》本文献详细介绍了不同胆道支架的分类、材质、规格及特点,胆道支架植入移除的方法技巧,多枚支架植入的应用,以及新型支架的研究等,内容详实具有临床指导意义。

架阻塞,并使支架易于移除。其中膜覆盖整个支架者称为全覆膜支架,覆盖部分支架而两端不覆盖者称为半覆膜支架<sup>[15]</sup>。

覆膜支架会阻塞侧支胆管,且更易发生支架移位,在肝门部胆管癌中应用甚少<sup>[20,21]</sup>。一项多中心实验纳入了400例不可手术切除的胆管远端恶性梗阻患者,应用裸支架和覆膜支架治疗后,患者的生存期、支架通畅时间、并发症发生率均无明显差异,然而应用裸支架者更易发生肿瘤向内生长,应用覆膜支架者更易发生支架移位<sup>[22]</sup>。裸SEMS、半覆膜SEMS、全覆膜SEMS支架移位率分别约为1%、5%、20%<sup>[15]</sup>。近期一项meta分析则显示,在胆管远端恶性梗阻的患者,与裸支架相比植入覆膜支架可延长的支架通畅时间及患者的生存期<sup>[23]</sup>。

## 4 单侧支架和双侧支架

在胆管癌特别是肝门部胆管癌的姑息性治疗中,胆道引流的程度仍存在争议。单侧支架植入与双侧支架植入相比,操作更简单,费用更低,再介入治疗更容易<sup>[24]</sup>。De Palma等<sup>[25]</sup>认为胆管分叉处的肿瘤不应常规应用一个以上的支架治疗,双侧支架比单侧支架植入的成功率更低,且双侧支架植入会导致更高的并发症发生率。Iwano等<sup>[26]</sup>认为肝脓肿在双侧支架植入术后发病率更高。内镜下双侧支架植入比单侧支架植入操作难度更大,植入后行再介入手术情况也更复杂<sup>[24]</sup>。

然而随着内镜技术的提高,近期的研究则认为肝门部胆管癌双侧引流较单侧引流更有效,双侧引流可获得更长的支架通畅时间,而支架植入的成功率、引流成功率、并发症发生率无明显差别,双侧支架植入的成功率也达到了90%-93%<sup>[27-29]</sup>。双侧支架植入主要有两种方式:并排式和嵌入式。一项纳入52例肝门部恶性梗阻患者的实验显示:并排式双侧支架植入术后并发症发生率高于嵌入式支架植入,然而并排式支架通畅率也更高<sup>[30]</sup>。目前对于两种植入方式比较的研究较少,尚需进一步的研究来阐明两种方法的优劣势。

2013年亚太共识建议:肝门部胆管癌的姑息性胆道支架治疗应引流50%体积以上的肝脏,应根据个人肝脏的解剖特点决定应用单支架、双支架或多支架<sup>[31]</sup>。

## 5 药物洗脱支架和放射性支架

目前无论普通金属支架或塑料支架、裸支架或

腹膜支架都只是机械性的姑息治疗,并无抑制肿瘤细胞增殖的效应。

药物洗脱支架(drug-eluting stents, DESs),广泛应用于冠状动脉疾病,近年来越来越多的研究将非血管性载药支架(non-vascular DESs)应用于胃肠道、胆道、气管、支气管等恶性梗阻的治疗中。支架表面的抗肿瘤药物通过单纯扩散至黏膜及黏膜下层,使肿瘤微环境药物浓度达到最大,减小非肿瘤区域的药物毒性。同时,通过支架表面的抗肿瘤药物抑制肿瘤细胞增殖、黏膜增生,减少肿瘤向内生长的风险,增加支架通畅率<sup>[32,33]</sup>。

紫杉醇洗脱支架研究最为广泛,已在细胞、动物及临床研究中证明其安全有效<sup>[34-36]</sup>。一项前瞻性随机化研究纳入了52例恶性胆道梗阻患者,比较了紫杉醇载药覆膜支架与普通覆膜支架的治疗效果,证实了紫杉醇载药支架安全性,然而该研究中两组中支架通畅时间和患者生存时间均无明显差异<sup>[37]</sup>。近期亦有体内、外研究证实索拉非尼洗脱支架亦具有抑制细胞增殖、侵袭及血管生成的作用<sup>[38]</sup>。

放射性支架目前研究尚少,Guijin等<sup>[39]</sup>和He等<sup>[40]</sup>已在细胞水平证实(103)Pd放射性支架可抑制胆管癌细胞增殖,诱导凋亡。随着进一步的实验室及临床研究,药物洗脱支架及放射性支架将有望成为胆管癌安全有效的局部治疗手段。

## 6 支架联合光动力治疗和胆道内射频消融

光动力治疗(photodynamic therapy, PDT)是一种新兴的恶性肿瘤的姑息治疗方法,其原理是:静脉注射的光敏药物在肿瘤组织中聚集浓度大大高于周围组织,用特定波长的光照射时,光敏剂发生光化学反应产生氧自由基导致肿瘤细胞坏死,而周围正常组织受损很小或几乎不受损伤。多项研究证实支架联合PDT治疗晚期胆管癌安全有效,与单独应用支架治疗相比,可更好的引流胆汁,延长患者生存时间,改善生存质量,延长支架通畅时间<sup>[41,42]</sup>。Lee等<sup>[43]</sup>认为支架联合光动力治疗较单纯支架治疗可提高患者生存期延长支架通畅时间,并不增加并发症的发生率。在一些报道中少数病例会出现胆管炎或光毒性的不良反应<sup>[44-47]</sup>。

传统的射频消融术(radiofrequency ablation, RFA)主要用于治疗心律失常,近年来逐渐成为肿瘤微创治疗新技术,多用于肝癌等实体性肿瘤的治疗<sup>[48,49]</sup>。在肝内胆管癌的治疗中也有应用<sup>[50,51]</sup>。



胆道内射频消融(endobiliary radiofrequency ablation, RFA)是局部抑制胆管癌生长的又一新方法。其原理是通过高频电流使肿瘤组织、血管凝固坏死。近期的研究认为对于肝外胆管癌,采取胆道支架联合RFA的治疗方法安全有效<sup>[52-55]</sup>。患者在植入胆道支架引流之前,首先应用射频消融电极对肿瘤部位进行灼烧,减轻胆道狭窄,也可进行多次射频消融治疗增强抑瘤效果。胆道支架联合RFA可延长支架通畅时间,减少阻塞率,降低治疗成本,提高生存率<sup>[54,55]</sup>。

支架联合PDT或RFA治疗都是新兴的肿瘤局部治疗手段,通过联合治疗的方法克服了普通支架只能机械性阻止肿瘤生长的不足,已于临床证实可增加之间通畅时间,具有良好的发展前景,然而尚需大样本长时间的研究来证实其疗效。

## 7 结论

支架治疗是胆管癌姑息治疗安全有效的手段,在胆管癌的治疗过程中,选择不同的支架植入路径、支架材质、支架类型、支架数量、载药支架以及支架联合局部治疗的应用与患者的预后密切相关。应根据患者的预期生存期、一般情况、并发症、经济状况等具体情况综合考虑,选择最适治疗方案。新技术的发展也将提高胆管癌支架治疗的效果。目前双层支架(double layer stents, DLS)<sup>[56,57]</sup>、抗返流支架<sup>[58,59]</sup>期望通过改善支架材料、去除侧孔、增加支架内表面光滑程度、减少十二指肠中食物返流等方法延长支架通畅时间,也是新型支架发展的有益尝试,其治疗效果尚待进一步的研究。

## 8 参考文献

- Blechacz B, Komuta M, Roskams T, Gores GJ. Clinical diagnosis and staging of cholangiocarcinoma. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2011; 8: 512-522 [PMID: 21808282 DOI: 10.1038/nrgastro.2011.131]
- Khan SA, Davidson BR, Goldin RD, Heaton N, Karani J, Pereira SP, Rosenberg WM, Tait P, Taylor-Robinson SD, Thillainayagam AV, Thomas HC, Wasan H. Guidelines for the diagnosis and treatment of cholangiocarcinoma: an update. *Gut* 2012; 61: 1657-1669 [PMID: 22895392 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301748]
- Oh SW, Yoon YS, Shin SA. Effects of excess weight on cancer incidences depending on cancer sites and histologic findings among men: Korea National Health Insurance Corporation Study. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4742-4754 [PMID: 16034050]
- Khan SA, Thomas HC, Davidson BR, Taylor-Robinson SD. Cholangiocarcinoma. *Lancet* 2005; 366: 1303-1314 [PMID: 16214602 DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67530-7]
- Blechacz B, Gores GJ. Cholangiocarcinoma: advances in pathogenesis, diagnosis, and treatment. *Hepatology* 2008; 48: 308-321 [PMID: 18536057 DOI: 10.1002/hep.22310]
- Chahal P, Baron TH. Endoscopic palliation of cholangiocarcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 551-560 [PMID: 16891889 DOI: 10.1097/01.mog.0000239872.12081.a4]
- Van Laethem JL, De Broux S, Eisendrath P, Cremer M, Le Moine O, Devière J. Clinical impact of biliary drainage and jaundice resolution in patients with obstructive metastases at the hilum. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 1271-1277 [PMID: 12818268 DOI: 10.1016/S0002-9270(03)00284-3]
- Abu-Hamda EM, Baron TH. Endoscopic management of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 165-175 [PMID: 15192789 DOI: 10.1055/s-2004-828893]
- Cowling MG, Adam AN. Internal stenting in malignant biliary obstruction. *World J Surg* 2001; 25: 355-359; discussion 355-359 [PMID: 11343193]
- Kim JH. Endoscopic stent placement in the palliation of malignant biliary obstruction. *Clin Endosc* 2011; 44: 76-86 [PMID: 22741117 DOI: 10.5946/ce.2011.44.2.76]
- Martin RC, Vitale GC, Reed DN, Larson GM, Edwards MJ, McMasters KM. Cost comparison of endoscopic stenting vs surgical treatment for unresectable cholangiocarcinoma. *Surg Endosc* 2002; 16: 667-670 [PMID: 11972211]
- Paik WH, Park YS, Hwang JH, Lee SH, Yoon CJ, Kang SG, Lee JK, Ryu JK, Kim YT, Yoon YB. Palliative treatment with self-expandable metallic stents in patients with advanced type III or IV hilar cholangiocarcinoma: a percutaneous versus endoscopic approach. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 55-62 [PMID: 18657806 DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.005]
- Webb K, Saunders M. Endoscopic management of malignant bile duct strictures. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2013; 23: 313-331 [PMID: 23540963 DOI: 10.1016/j.giec.2012.12.009]
- Grönroos JM, Gullichsen R, Laine S, Salminen P. Endoscopic palliation of malignant obstructive jaundice in extremely elderly patients: plastic stent is enough. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2010; 19: 122-124 [PMID: 20151854 DOI: 10.3109/13645701003642941]
- Dumonceau JM, Heresbach D, Devière J, Costamagna G, Beilenhoff U, Riphaus A. Biliary stents: models and methods for endoscopic stenting. *Endoscopy* 2011; 43: 617-626 [PMID: 21614754 DOI: 10.1055/s-0030-1256315]
- Geller A. Klatskin tumor--palliative therapy: the jury is still out or may be not yet in... *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 63-65 [PMID: 19111687 DOI: 10.1016/j.gie.2008.06.025]
- Mukai T, Yasuda I, Nakashima M, Doi S, Iwashita T, Iwata K, Kato T, Tomita E, Moriwaki H. Metallic stents are more efficacious than plastic stents in unresectable malignant hilar biliary strictures: a randomized controlled trial. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2013; 20: 214-222 [PMID: 22415652 DOI: 10.1007/s00534-012-0508-8]
- Stern N, Sturgess R. Endoscopic therapy in the management of malignant biliary obstruction. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 313-317 [PMID: 18276101 DOI: 10.1055/s-0030-1256315]

## ■创新盘点

目前对于系统性比较胆管癌不同支架治疗技术,尤其是新型胆道支架及胆道支架联合治疗的报道较少。本文系统性论述了晚期胆管癌支架治疗的目前的研究现状及进展,介绍了胆管癌支架治疗的效果,支架植入路径的选择,不同材质支架的特点及应用,准确把握了载药支架、放射性支架等新兴胆道支架,以及支架联合光动力治疗、射频消融术的发展方向,可为临床和研究提供重要的参考。

## ■应用要点

本文详细介绍了支架植入路径的选择, 不同材质支架的特点及应用, 准确把握了载药支架、放射性支架等新兴胆道支架, 以及支架联合光动力治疗、射频消融术的发展方向。在临床应用中, 为胆管癌患者选择适合治疗方法提供参考依据。

- 10.1016/j.ejso.2007.07.210]
- 19 Kaassis M, Boyer J, Dumas R, Ponchon T, Coumaros D, Delcenserie R, Canard JM, Fritsch J, Rey JF, Burtin P. Plastic or metal stents for malignant stricture of the common bile duct? Results of a randomized prospective study. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 178-182 [PMID: 12556780 DOI: 10.1067/mge.2003.66]
- 20 Lee TH. Technical tips and issues of biliary stenting, focusing on malignant hilar obstruction. *Clin Endosc* 2013; 46: 260-266 [PMID: 23767037 DOI: 10.5946/ce.2013.46.3.260]
- 21 Sung J. Are covered stents superior to uncovered stents in the management of malignant biliary obstruction? *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2004; 1: 20-21 [PMID: 16265038 DOI: 10.1038/ncpgasthep0014]
- 22 Kullman E, Frozanpor F, Söderlund C, Linder S, Sandström P, Lindhoff-Larsson A, Toth E, Lindell G, Jonas E, Freedman J, Ljungman M, Rudberg C, Ohlin B, Zacharias R, Leijonmarck CE, Teder K, Ringman A, Persson G, Gözen M, Eriksson O. Covered versus uncovered self-expandable nitinol stents in the palliative treatment of malignant distal biliary obstruction: results from a randomized, multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 915-923 [PMID: 21034892 DOI: 10.1016/j.gie.2010.07.036]
- 23 Saleem A, Leggett CL, Murad MH, Baron TH. Meta-analysis of randomized trials comparing the patency of covered and uncovered self-expandable metal stents for palliation of distal malignant bile duct obstruction. *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 321-327. e1-e3 [PMID: 21683354 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.1249]
- 24 Yasuda I, Mukai T, Moriwaki H. Unilateral versus bilateral endoscopic biliary stenting for malignant hilar biliary strictures. *Dig Endosc* 2013; 25 Suppl 2: 81-85 [PMID: 23617655 DOI: 10.1111/den.12060]
- 25 De Palma GD, Galloro G, Siciliano S, Iovino P, Catanzano C. Unilateral versus bilateral endoscopic hepatic duct drainage in patients with malignant hilar biliary obstruction: results of a prospective, randomized, and controlled study. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 547-553 [PMID: 11323577 DOI: 10.1067/mge.2001.113381]
- 26 Iwano H, Ryozaawa S, Ishigaki N, Taba K, Senyo M, Yoshida K, Sakaida I. Unilateral versus bilateral drainage using self-expandable metallic stent for unresectable hilar biliary obstruction. *Dig Endosc* 2011; 23: 43-48 [PMID: 21198916 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.01036]
- 27 Naitoh I, Ohara H, Nakazawa T, Ando T, Hayashi K, Okumura F, Okayama Y, Sano H, Kitajima Y, Hirai M, Ban T, Miyabe K, Ueno K, Yamashita H, Joh T. Unilateral versus bilateral endoscopic metal stenting for malignant hilar biliary obstruction. *J Gastroenterol Hepatol* 2009; 24: 552-557 [PMID: 19220678 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05750]
- 28 Liberato MJ, Canena JM. Endoscopic stenting for hilar cholangiocarcinoma: efficacy of unilateral and bilateral placement of plastic and metal stents in a retrospective review of 480 patients. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 103 [PMID: 22873816 DOI: 10.1186/1471-230X-12-103]
- 29 Lee TH, Moon JH, Kim JH, Park DH, Lee SS, Choi HJ, Cho YD, Park SH, Kim SJ. Primary and revision efficacy of cross-wired metallic stents for endoscopic bilateral stent-in-stent placement in malignant hilar biliary strictures. *Endoscopy* 2013; 45: 106-113 [PMID: 23212727 DOI: 10.1055/s-0032-1325928]
- 30 Naitoh I, Hayashi K, Nakazawa T, Okumura F, Miyabe K, Shimizu S, Yoshida M, Yamashita H, Ohara H, Joh T. Side-by-side versus stent-in-stent deployment in bilateral endoscopic metal stenting for malignant hilar biliary obstruction. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 3279-3285 [PMID: 22732832 DOI: 10.1007/s10620-012-2270-9]
- 31 Rerknimitr R, Angsuwatcharakon P, Ratanachuek T, Khor CJ, Ponnudurai R, Moon JH, Seo DW, Pantongrag-Brown L, Sangchan A, Pisessongsa P, Akaraviputh T, Reddy ND, Maydeo A, Itoi T, Pausawasdi N, Punamiya S, Attasaranya S, Devereaux B, Ramchandani M, Goh KL. Asia-Pacific consensus recommendations for endoscopic and interventional management of hilar cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 593-607 [PMID: 23350673 DOI: 10.1111/jgh.12128]
- 32 Costamagna G, Boškoski I, Familiari P, Tringali A, Cesaro P, Perri V. Update in biliary endoscopy. *Dig Dis* 2011; 29 Suppl 1: 3-8 [PMID: 22104745 DOI: 10.1159/000331118]
- 33 Lee DK. Drug-eluting stent in malignant biliary obstruction. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009; 16: 628-632 [PMID: 19554255 DOI: 10.1007/s00534-009-0135-1]
- 34 Suk KT, Kim JW, Kim HS, Baik SK, Oh SJ, Lee SJ, Kim HG, Lee DH, Won YH, Lee DK. Human application of a metallic stent covered with a paclitaxel-incorporated membrane for malignant biliary obstruction: multicenter pilot study. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 798-803 [PMID: 17905025 DOI: 10.1016/j.gie.2007.05.037]
- 35 Lee DK, Kim HS, Kim KS, Lee WJ, Kim HK, Won YH, Byun YR, Kim MY, Baik SK, Kwon SO. The effect on porcine bile duct of a metallic stent covered with a paclitaxel-incorporated membrane. *Gastrointest Endosc* 2005; 61: 296-301 [PMID: 15729251]
- 36 Kalinowski M, Alfke H, Kleb B, Dürfeld F, Joachim Wagner H. Paclitaxel inhibits proliferation of cell lines responsible for metal stent obstruction: possible topical application in malignant bile duct obstructions. *Invest Radiol* 2002; 37: 399-404 [PMID: 12068162 DOI: 10.1097/00004424-200207000-00007]
- 37 Song TJ, Lee SS, Yun SC, Park do H, Seo DW, Lee SK, Kim MH. Paclitaxel-eluting covered metal stents versus covered metal stents for distal malignant biliary obstruction: a prospective comparative pilot study. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 727-733 [PMID: 21288514 DOI: 10.1016/j.gie.2010.11.048]
- 38 Kim do H, Jeong YI, Chung CW, Kim CH, Kwak TW, Lee HM, Kang DH. Preclinical evaluation of sorafenib-eluting stent for suppression of human cholangiocarcinoma cells. *Int J Nanomedicine* 2013; 8: 1697-1711 [PMID: 23658488 DOI: 10.2147/IJN.S43508]
- 39 Guijin H, QiYong G, XiaoDan Z, DaWei J, Xi G, ChunLai P, Liu W, XianWei D. Effect of 103Pd radioactive stent on caspase-9, cholangiocarcinoma cell growth and its radiosensitivity. *Surg Oncol* 2011; 20: 247-251 [PMID: 20231087 DOI: 10.1016/j.suronc.2010.02.001]
- 40 He GJ, Sun DD, Ji DW, Sui DM, Yu FQ, Gao QY, Dai XW, Gao H, Jiang T, Dai CL. Induction of biliary cholangiocarcinoma cell apoptosis by 103Pd cholangial radioactive stent gamma-rays. *Chin Med*

- J (Engl) 2008; 121: 1020-1024 [PMID: 18706251]
- 41 Cheon YK, Lee TY, Lee SM, Yoon JY, Shim CS. Longterm outcome of photodynamic therapy compared with biliary stenting alone in patients with advanced hilar cholangiocarcinoma. *HPB* (Oxford) 2012; 14: 185-193 [PMID: 22321037 DOI: 10.1111/j.1477-2574.2011.00424]
  - 42 Ortner ME, Caca K, Berr F, Liebetruht J, Mansmann U, Huster D, Voderholzer W, Schachschal G, Mössner J, Lochs H. Successful photodynamic therapy for nonresectable cholangiocarcinoma: a randomized prospective study. *Gastroenterology* 2003; 125: 1355-1363 [PMID: 14598251 DOI: 10.1016/j.gastro.2003.07.015]
  - 43 Lee TY, Cheon YK, Shim CS, Cho YD. Photodynamic therapy prolongs metal stent patency in patients with unresectable hilar cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5589-5594 [PMID: 23112552 DOI: 10.3748/wjg.v18.i39.5589]
  - 44 Talreja JP, DeGaetani M, Sauer BG, Kahaleh M. Photodynamic therapy for unresectable cholangiocarcinoma: contribution of single operator cholangioscopy for targeted treatment. *Photochem Photobiol Sci* 2011; 10: 1233-1238 [PMID: 21512706 DOI: 10.1039/c0pp00259c]
  - 45 Kahaleh M, Mishra R, Shami VM, Northup PG, Berg CL, Bashlor P, Jones P, Ellen K, Weiss GR, Brenin CM, Kurth BE, Rich TA, Adams RB, Yeaton P. Unresectable cholangiocarcinoma: comparison of survival in biliary stenting alone versus stenting with photodynamic therapy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2008; 6: 290-297 [PMID: 18255347 DOI: 10.1016/j.cgh.2007.12.004]
  - 46 Rumalla A, Baron TH, Wang KK, Gores GJ, Stadelheim LM, de Groen PC. Endoscopic application of photodynamic therapy for cholangiocarcinoma. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 500-504 [PMID: 11275896 DOI: 10.1067/mge.2001.113386]
  - 47 Zoepf T, Jakobs R, Arnold JC, Apel D, Riemann JF. Palliation of nonresectable bile duct cancer: improved survival after photodynamic therapy. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 2426-2430 [PMID: 16279895 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00318.x]
  - 48 Bruix J, Sherman M. Management of hepatocellular carcinoma: an update. *Hepatology* 2011; 53: 1020-1022 [PMID: 21374666 DOI: 10.1002/hep.24199]
  - 49 Siperstein AE, Berber E, Ballem N, Parikh RT. Survival after radiofrequency ablation of colorectal liver metastases: 10-year experience. *Ann Surg* 2007; 246: 559-65; discussion 565-7 [PMID: 17893492 DOI: 10.1097/SLA.0b013e318155a7b6]
  - 50 Xu HX, Wang Y, Lu MD, Liu LN. Percutaneous ultrasound-guided thermal ablation for intrahepatic cholangiocarcinoma. *Br J Radiol* 2012; 85: 1078-1084 [PMID: 22374282 DOI: 10.1259/bjr/24563774]
  - 51 Kim JH, Won HJ, Shin YM, Kim KA, Kim PN. Radiofrequency ablation for the treatment of primary intrahepatic cholangiocarcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2011; 196: W205-W209 [PMID: 21257864 DOI: 10.2214/AJR.10.4937]
  - 52 Monga A, Gupta R, Ramchandani M, Rao GV, Santosh D, Reddy DN. Endoscopic radiofrequency ablation of cholangiocarcinoma: new palliative treatment modality (with videos). *Gastrointest Endosc* 2011; 74: 935-937 [PMID: 21168839 DOI: 10.1016/j.gie.2010.10.018]
  - 53 Steel AW, Postgate AJ, Khorsandi S, Nicholls J, Jiao L, Vlavianos P, Habib N, Westaby D. Endoscopically applied radiofrequency ablation appears to be safe in the treatment of malignant biliary obstruction. *Gastrointest Endosc* 2011; 73: 149-153 [PMID: 21184881 DOI: 10.1016/j.gie.2010.09.031]
  - 54 Alis H, Sengoz C, Gonenc M, Kalayci MU, Kocatay A. Endobiliary radiofrequency ablation for malignant biliary obstruction. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2013; 12: 423-427 [PMID: 23924501 DOI: 10.1016/S1499-3872(13)60066-1]
  - 55 Wadsworth CA, Westaby D, Khan SA. Endoscopic radiofrequency ablation for cholangiocarcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2013; 29: 305-311 [PMID: 23449026 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32835faacc.]
  - 56 Elwir S, Sharzei K, Veith J, Moyer MT, Dye C, McGarrity T, Mathew A. Biliary stenting in patients with malignant biliary obstruction: comparison of double layer, plastic and metal stents. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 2088-2092 [PMID: 23456505 DOI: 10.1007/s10620-013-2607-z]
  - 57 Tringali A, Mutignani M, Perri V, Zuccalà G, Cipolletta L, Bianco MA, Rotondano G, Philipper M, Schumacher B, Neuhaus H, Schmit A, Devière J, Costamagna G. A prospective, randomized multicenter trial comparing DoubleLayer and polyethylene stents for malignant distal common bile duct strictures. *Endoscopy* 2003; 35: 992-997 [PMID: 14648409]
  - 58 Kim DU, Kwon CI, Kang DH, Ko KH, Hong SP. New antireflux self-expandable metal stent for malignant lower biliary obstruction: in vitro and in vivo preliminary study. *Dig Endosc* 2013; 25: 60-66 [PMID: 23286258 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2012.01324.x]

## ■同行评价

本文系统性论述了晚期胆管癌支架治疗的目前的现状及进展,介绍了胆管癌支架治疗的效果,比较了不同支架植入路径,不同材质类型支架的特点及应用,准确把握了载药支架、放射性支架等新兴胆道支架,以及支架联合光动力治疗、射频消融术的发展方向,可为临床和研究提供重要参考。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





## miR-375在消化系统肿瘤中的研究进展

颜俊伟, 廖家智, 林菊生, 何星星

### ■背景资料

肿瘤的早期诊断和治疗均缺乏有效的手段和方法, 所以肿瘤学研究的重心也是难点就是寻找合适生物分子标志物和有效分子治疗靶点。MicroRNA是一类内源性的具有调控基因表达功能的微小RNA分子其异常表达与肿瘤的发生发展密切相关。MicroRNA是较为理想的分子标志物, 其替代或拮抗治疗很可能成为未来肿瘤治疗的新方法。

颜俊伟, 廖家智, 林菊生, 何星星, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所 湖北省武汉市 430030

颜俊伟, 硕士研究生, 主要从事microRNA与肝癌的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101824

同济医院首届优秀青年科学基金资助项目, No. YXQN005

作者贡献分布: 本文综述由颜俊伟完成; 何星星指导; 廖家智与林菊生审校。

通讯作者: 何星星, 助理研究员, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肝病研究所。

xxhe@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 86-27-83663661

收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2013-12-19

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

### Roles of miR-375 in digestive tumors

Jun-Wei Yan, Jia-Zhi Liao, Ju-Sheng Lin, Xing-Xing He

Jun-Wei Yan, Jia-Zhi Liao, Ju-Sheng Lin, Xing-Xing He, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81101824; and the Outstanding Youth Science Foundation of Tongji Hospital, No. YXQN005

Correspondence to: Xing-Xing He, Research Assistant, Institute of Liver Diseases, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Dadao, Wuhan 430030, Hubei Province, China. xxhe@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-12-02 Revised: 2013-12-19

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

### Abstract

MicroRNAs (miRNAs) are a group of small non-coding RNAs that regulate gene expression post-transcriptionally. A large body of evidence has indicated that dysregulation of miRNAs is an important hallmark of cancer. MiRNAs modulate malignant phenotypes of cancer by repressing many critical oncogenes or tumor suppressors. MiR-375 was firstly identified in pancreatic beta-cells and it can regulate insulin secretion and pancreatic development. Further studies found that miR-375 is significantly downregulated in multiple types of tumors, especially digestive system tumors, such as hepatocellular carcinoma, gastric cancer, esophageal cancer, and pancreatic cancer. Overexpression of miR-375 represses target genes, such as AEG-1,

JAK2, ATG7, IGF1R, PDK1, 14-3-3Z and YAP1, and thereby inhibits malignant properties of cancer. It is also found that miR-375 in tissues or circulation could be used as a biomarker for diagnosis or prognosis prediction in digestive system tumors. Since miR-375 play an important roles in the initiation and progression of digestive system tumors, miR-375 can become a novel therapeutic target. Monitoring the levels of miR-375 may contribute to the early diagnosis and prognosis prediction.

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

Key Words: MiR-375; Tumor suppressor; Cancer

Yan JW, Liao JZ, Lin JS, He XX. Roles of miR-375 in digestive tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 654-660  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/654.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.654>

### 摘要

MiRNAs是一类在转录后水平调控基因表达的微小RNA分子。大量研究表明, MiRNAs的失调表达是肿瘤的重要特征之一。MiRNAs参与调控许多重要的癌基因或抑癌基因的表达, 从而调控肿瘤的恶性生物学表型。MiR-375最早发现在胰岛B细胞表达并调控胰岛素的分泌和胰岛的形成。进一步的研究发现, miR-375在肿瘤组织中普遍呈现低表达特别是在消化系统肿瘤中, 如肝癌、胃癌、食管癌、胰腺癌。在这些肿瘤中过表达miR-375可抑制靶基因, 如: 星形胶质细胞升高基因1、Janus激酶2、自噬相关蛋白7、胰岛素样生长因子1受体、3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1、YWHAZ以及YES相关蛋白1的表达从而抑制肿瘤的恶性表型。此外研究还发现组织或血清中的miR-375可作为消化系统肿瘤诊断和预后的生物标志物。因此, miR-375在消化系统肿瘤的发生和发展过程中发挥了重要的作用, 是潜在的肿瘤药物开发的新靶点, 监测miR-375的表达水平可能有助于消化系统肿瘤的早期诊断和预后判断。

### ■同行评议者

莫发荣, 副教授, 广西医科大学组织学与胚胎学教研室

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: MiR-375; 抑癌基因; 肿瘤

**核心提示:** 目前关于消化系肿瘤发生发展的分子机制仍不十分清楚. DNA高甲基化导致miR-375在众多常见的消化系肿瘤中均呈显著低表达. miR-375通过抑制星形胶质细胞升高基因1(astrocyte elevated gene-1)、Janus激酶2(janus kinase 2)、胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor 1 receptor)、3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1(3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1)、14-3-3Z以及YES相关蛋白1(Yes-associated protein)等重要癌基因发挥抑癌作用. 因此, 高甲基化导致抑癌基因miR-375低表达引起上述癌基因的异常激活可能是消化系肿瘤发生发展共同机制之一.

颜俊伟, 廖家智, 林菊生, 何星星. miR-375在消化系肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 654-660 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/654.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.654>

## 0 引言

MicroRNA(miRNAs)是长度约为22个碱基的单链非编码RNA分子. MiRNA基因经RNA聚合酶II转录后, 经核糖核酸酶III(RNase III)Drosha和Dicer酶分别在核内和核外剪切加工形成成熟的miRNA分子<sup>[1]</sup>. MiRNA与诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)在胞浆中结合后, 通过与靶mRNA的3'非翻译区的互补序列结合导致翻译抑制或mRNA的降解, 从而抑制靶基因的表达<sup>[2]</sup>. 据估计miRNA基因调控多达30%的所有蛋白质编码基因<sup>[3]</sup>. MiRNA通过调控靶基因参与肿瘤细胞的分化、增殖、存活、凋亡和转移<sup>[4-6]</sup>. MiR-375首先在胰腺中被发现并调节胰岛素的分泌以及参与胰岛细胞的发育和生长<sup>[7-10]</sup>. 随后的全基因组miRNA表达谱的研究显示, miR-375广泛存在于各种组织或器官中并在多种肿瘤特别是消化系统肿瘤如肝癌、食管癌、胃癌、胰腺癌中均显著下调<sup>[11-16]</sup>. 目前已经清楚地知道miR-375在上述这些肿瘤中发挥了重要的抑癌作用, miR-375很有可能成为未来肿瘤治疗的新型靶点以及作为重要的早期诊断和预后判断的肿瘤标志物. 以下总结了miR-375在消化系肿瘤中的抑癌机制以及其作为肿瘤治疗靶点的潜力和作为诊断和预后标志物的前景.

## 1 miR-375的分子结构与抑癌机制

遗传学分析表明人miR-375基因位于2号染色体长臂2区3带, *Cryba2*基因和*Ccdc108*基因之间, 因此属于基因间型的miRNA<sup>[17]</sup>. 该染色体区域在人和小鼠之间具有较高的保守性, Avnit-Sagi等<sup>[18]</sup>通过对miR-375上游启动子中人和小鼠的保守序列分析发现了重要的转录起始和调控元件如: TATA盒和E盒. 前者是DNA聚合酶II的结合位点, 后者是转录因子的结合位点. 这些证据表明miR-375拥有独立的启动子并受转录调控信号的调节. 进一步研究证明miR-375表达受转录因子如: PDX/NeruoD1<sup>[19]</sup>、ASH1<sup>[20]</sup>、ERα<sup>[21]</sup>、CTCF<sup>[21]</sup>、IL-13<sup>[22]</sup>以及糖代谢调节信号cAMP<sup>[23]</sup>的调控. 更重要的是, 研究还发现miR-375启动子区域存在高频率的CpG岛证明miR-375表达受甲基化的调控, 而miR-375启动子区域的高甲基化是miR-375在消化系肿瘤中低表达的重要原因<sup>[21,24-27]</sup>. 成熟的miR-375为长22个碱基的单链RNA分子, 碱基序列为UUUGUUCGUUCG-GCUCGCGUGA. miR-375在胞浆内加工成熟后与RNA诱导沉默复合物(RNA-induced silencing complex, RISC)结合, 该复合物通过miR-375的碱基序列识别众多mRNA分子导致靶mRNA的降解或抑制翻译过程, 从而调控基因的表达. 研究发现miR-375通过靶向抑制不同的促肿瘤相关基因可抑制众多类型肿瘤特别是消化系肿瘤的生长<sup>[11,15,27-30]</sup>. 因此, 高甲基化导致的miR-375低表达是消化系肿瘤发生发展的重要原因之一.

## 2 miR-375与消化系肿瘤的关系

大量证据表明miR-375在消化系肿瘤中显著下调, miR-375启动子区域高甲基化是miR-375下调的主要原因<sup>[24,25,27,28]</sup>. MiR-375通过靶向抑制许多重要的靶基因如: 星形胶质细胞升高基因(astrocyte elevated gene-1, *AEG-1*)、*PDK1*、*YAP1*抑制消化系肿瘤的恶性表型(图1).

**2.1 MiR-375与肝癌** He等<sup>[11]</sup>应用miRNA芯片和TaqMan qRT-PCR技术发现miR-375在肝癌细胞和肝癌组织中的表达都是显著下调的, 并且在原发性肝癌组织中miR-375和*AEG-1*的表达水平呈现负相关. *AEG-1*是重要的癌基因在肝癌中表达上调并参与到肿瘤进展的各个方面包括转化, 逃避凋亡、侵袭、转移以及药物的耐药<sup>[31]</sup>. 研究证实*AEG-1*是miR-375的一个重要靶基因, 而miR-375表达下调可能是*AEG-1*在肝癌中表达

## ■研发前沿

每年都有大量肿瘤相关的microRNA被发现和证实, 研究microRNA调控网络、血清microRNA作为肿瘤分子标志物的应用前景以及microRNA相关药物的开发是microRNA研究的热点. MicroRNA携带载体的开发是microRNA药物走向临床治疗的瓶颈.

## ■ 相关报道

Poy等证实miR-375基因敲除小鼠导致高血糖和胰岛素抵抗; Biton报道miR-375参与肠道免疫; Wang等发现miR-375参与肺泡上皮分化以及表面活性物质的分泌。

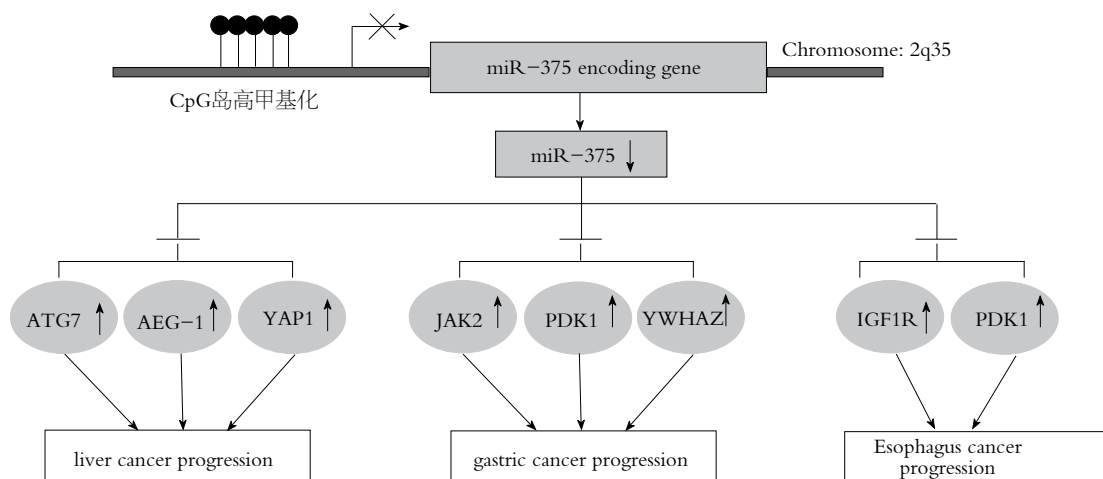


图1 MiR-375在消化系统肿瘤中低表达和抑癌机制。ATG7: 自噬相关蛋白7; YAP1: 靶向YES相关蛋白1; IGF1R: 胰岛素样生长因子1受体; PDK1: 3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1; AEG-1: 星形胶质细胞升高基因1; JAK2: 抑制Janus激酶2。

上调的原因之一<sup>[11]</sup>。进一步研究发现MiR-375通过靶向抑制AEG-1抑制了肝癌细胞的生长、侵袭,诱导肝癌细胞G<sub>1</sub>期阻滞和细胞凋亡<sup>[11]</sup>。此外,miR-375还可抑制缺氧诱导的细胞自噬从而影响肝癌细胞在缺氧条件下生存<sup>[32]</sup>。缺氧发生时细胞激活自噬作为一种保护机制,使细胞分解细胞器和蛋白质以维持生存所必需的能量和物质供应。MiR-375可抑制LC3I转化为LC3II,从而抑制自噬体的形成,后者可与溶酶体融合后被降解和回收利用因此是自噬的关键步骤。自噬相关蛋白7(autophagy-related protein 7, ATG7)被发现是miR-375的直接靶基因。ATG7介导其他ATGs分子的连接从而促进自噬的激活<sup>[33]</sup>。在肝癌细胞中过表达miR-375或者抑制ATG7的表达均可抑制肿瘤细胞在低氧状态下对损伤线粒体的清除,增加线粒体凋亡相关蛋白如细胞色素C的释放,从而抑制肝癌细胞的活性<sup>[32]</sup>。这些发现阐述了miR-375新的抑癌机制: miR-375通过抑制在缺氧等应激条件下保护性自噬的发生影响肝癌细胞的生存。研究发现自噬是肿瘤耐药的重要机制之一<sup>[34]</sup>,而恶性肿瘤特别是肝癌长期处于缺氧的微环境中,这提示我们miR-375的替代治疗或联合用药可能具有高效的治疗潜能。Liu等<sup>[35]</sup>的研究还发现miR-375通过靶向YES相关蛋白1(Yes-associated protein 1, YAP1)抑制了肝癌细胞的侵袭和扩散。

**2.2 MiR-375与胃癌** MiR-375在胃癌组织中呈低表达并发挥了重要的抑癌作用。Ding等<sup>[12]</sup>发现miR-375在胃癌中显著下调,并通过靶向抑制Janus激酶2(janus kinase 2, JAK2)抑制胃癌细胞的增殖。JAK2是Janus非受体酪氨酸激酶家族成

员其表达水平与miR-375在胃癌组织中呈负相关。利用酪氨酸磷酸化抑制剂AG490或RNA干扰抑制JAK2后胃癌细胞的生长受到抑制而表达JAK2则抵消了miR-375的生长抑制作用。Tsukamoto等<sup>[28]</sup>进一步证实了miR-375在胃癌中的抑癌作用并发现两个新的靶基因: 一是3-磷酸肌醇依赖性蛋白激酶1(3-phosphoinositide-dependent protein kinase 1, PDK1或PDPK1),可激活蛋白激酶Akt及其下游的信号通路<sup>[36,37]</sup>; 另一个是YWHAZ(也称14-3-3Z),属于高度保守的14-3-3家族的结合蛋白参与有丝分裂、细胞周期和细胞凋亡的调控<sup>[38]</sup>。干扰YWHAZ和PDK1均可诱导胃癌细胞Caspase的激活,从而启动凋亡信号<sup>[28]</sup>。

**2.3 MiR-375与食管癌** 针对食管癌和癌旁组织的miRNA芯片结果发现: 在众多下调的miRNA中miR-375下调最为明显,特别是在食管鳞状细胞癌中<sup>[39]</sup>。Kong等<sup>[27]</sup>发现miR-375靶向胰岛素样生长因子1受体(insulin-like growth factor 1 receptor, IGF1R)抑制食管鳞状细胞癌(esophageal squamous cell carcinoma, ESCC)的细胞的增殖,克隆形成及转移能力。胰岛素样生长因子1(Insulin-like growth factor 1, IGF-1)可与IGF1R结合激活PI3K/Akt信号通路。此外, Li等<sup>[25]</sup>也证实PDK1是miR-375的直接靶基因。因此,可以推测miR-375是PI3K/Akt信号通路的一个重要调节因子。在肿瘤发生过程中miR-375下调导致PI3K/Akt信号通路的异常激活,从而导致肿瘤的发生发展。

**2.4 MiR-375与其他消化系统肿瘤** Bloomston等<sup>[13]</sup>发现miR-375在正常胰腺组织、慢性胰腺炎、胰腺癌中呈逐渐下降的趋势。Bhatti等<sup>[40]</sup>检测了胰腺导管细胞癌(pancreatic ductal adenocarci-



表 1 miR-375作为消化系肿瘤预后判断生物标志物的总结

肿瘤类型	miRNA	来源	miR-375水平	预后	参考文献
食管鳞状细胞癌	miR-21, miR-375	血浆	下调	差	[51]
食管鳞状细胞癌	miR-375	组织	下调	差	[52]
食管腺癌	miR-21, miR-375	组织	下调	差	[39]
胃癌	miR-375/miR-142-5p	组织	下调	差	[53]

noma, PDAC)与癌旁组织中miR-375的表达水平发现miR-375在PDAC中明显下调。Zhou等<sup>[29]</sup>进一步证实上调miR-375可抑制胰腺癌细胞的增殖,促进癌细胞阻滞在G<sub>0</sub>期并诱导细胞凋亡。此外, Faltejsova等<sup>[41]</sup>发现结肠癌组织中miR-375的表达明显低于癌旁组织,上调miR-375可抑制结肠细胞的生长并抑制细胞从G<sub>1</sub>期向S期转换。虽然研究发现miR-375在胰腺癌和结肠癌具有抑癌作用,但具体的分子机制还需进一步阐明。

### 3 结论

MiR-375不仅在消化系肿瘤中显著低表达而且是消化系肿瘤的重要抑癌基因之一,因此进一步探索miR-375在临床方面的应用潜力具有重要的现实意义。MiRNA在肿瘤中的表达谱差异,使我们可以将miRNA作为诊断肿瘤和预后判断的标志物<sup>[42,43]</sup>。MiR-375在消化系肿瘤中显著低表达表明miR-375可能作为重要的分子标志物区分消化系肿瘤。Wang等<sup>[44]</sup>发现联合miR-375、miR-424和miR-92a 3个miRNA可准确的区分大肠标本中的腺瘤和高级别上皮内瘤变。研究发现血清miRNA可在循环中稳定存在是理想分子标志物<sup>[45,46]</sup>。Li等<sup>[47]</sup>发现血清miR-25、miR-375和let-7f可用于区分HBV阳性肝癌和健康对照人群。许多研究还发现miR-375在消化系肿瘤的预后判断方面也具有很大的潜力(表1)。值得注意的是,miR-375在众多的消化系统肿瘤中表达均下调这可能暗示miR-375的低表达不是某一肿瘤特异性而是一个广谱的分子标志物,因此联合miR-375与其他的特异性的miRNA分子标志物可能具有更高的特异性和灵敏度。

未来miRNA的替代或拮抗疗法可能成为疾病治疗特别是抗肿瘤治疗重要方法之一<sup>[48,49]</sup>。大量的证据表明miR-375在消化系肿瘤中显著下调,体内和体外实验均证明miR-375可显著抑制肿瘤的生长,这表明miR-375可作为肿瘤治疗的分子靶点,具有重要的治疗价值。实验证明胆固醇修饰的miR-375具有良好的稳定性可不依

靠其他载体高效率的进入细胞内发挥作用。将胆固醇修饰的miR-375注入到裸鼠移植瘤内明显抑制了肿瘤的生长<sup>[11]</sup>。此外,通过慢病毒介导miR-375过表达能抑制肝癌细胞自噬,影响肝癌细胞的生存从而减缓小鼠肝癌移植瘤的生长<sup>[32]</sup>。miR-375的过表达真核表达质粒在转染试剂的协助下,导入胃癌移植瘤内显著抑制了胃癌细胞的生长<sup>[12]</sup>。稳定转染miR-375前体食管癌细胞的裸鼠成瘤能力明显低于空白对照组<sup>[27]</sup>。这些证据表明miR-375在体内和体外都具有良好的抑癌作用,miR-375替代治疗肿瘤具有广阔的应用前景。未来针对miR-375的治疗探索,我们应该着眼于开发出新型的miRNA携带载体。新型的miRNA携带载体必须保证合成RNA在体内稳定性高,肿瘤靶向特异性强,药物作用时间持久,药物不良反应低。而纳米技术很可能成为这类新型miRNA携带载体中的一员<sup>[50]</sup>。通过纳米材料携带miRNA分子并偶联肝脏组织或肝癌细胞特异性的靶向分子如叶酸或转铁蛋白等可高效的将miRNA分子导向靶器官并被胞吞进入细胞内部发挥抗肿瘤作用。

MiRNAs为癌症研究开辟了一个新的领域。到目前为止,miR-375已被证实在消化系肿瘤中下调并作为一个重要的抑癌基因。虽然已经鉴别出许多重要的靶基因但miR-375参与的信号通路仍未完全阐明,利用生物信息学的方法分析miR-375靶基因的调控网络有助于全面解析miR-375的功能。MiR-375在癌症的诊断和治疗方面具有很大的潜力,未来我们的研究工作应探索miR-375的临床应用潜力,更好的实现基础医学向临床医疗的转化。

### 4 参考文献

- Winter J, Jung S, Keller S, Gregory RI, Diederichs S. Many roads to maturity: microRNA biogenesis pathways and their regulation. *Nat Cell Biol* 2009; 11: 228-234 [PMID: 19255566 DOI: 10.1038/ncb0309-228]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: S0092867404000455]

### ■创新盘点

miR-375与多种肿瘤密切相关但与消化系肿瘤的关系尤为突出,几乎参与所有常见消化系器官恶性肿瘤的进展并在这些肿瘤中显著低表达。本文重点概括总结了miR-375与消化系肿瘤的密切联系认为miR-375不管是在消化系肿瘤诊断还是治疗方面都具有很高的潜力。

## ■应用要点

未来可利用miR-375的类似物与具有靶向功能的新型携带载体偶联后通过局部注射或全身应用的方法治疗消化系肿瘤。

- 3 Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20 [PMID: 15652477 DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035]
- 4 Baranwal S, Alahari SK. miRNA control of tumor cell invasion and metastasis. *Int J Cancer* 2010; 126: 1283-1290 [PMID: 19877123 DOI: 10.1002/ijc.25014]
- 5 Lynam-Lennon N, Maher SG, Reynolds JV. The roles of microRNA in cancer and apoptosis. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2009; 84: 55-71 [PMID: 19046400 DOI: 10.1111/j.1469-185X.2008.00061.x]
- 6 Garzon R, Fabbri M, Cimmino A, Calin GA, Croce CM. MicroRNA expression and function in cancer. *Trends Mol Med* 2006; 12: 580-587 [PMID: 17071139 DOI: 10.1016/j.molmed.2006.10.006]
- 7 Poy MN, Eliasson L, Krutzfeldt J, Kuwajima S, Ma X, Macdonald PE, Pfeffer S, Tuschl T, Rajewsky N, Rorsman P, Stoffel M. A pancreatic islet-specific microRNA regulates insulin secretion. *Nature* 2004; 432: 226-230 [PMID: 15538371 DOI: 10.1038/nature03076]
- 8 El Ouaamari A, Baroukh N, Martens GA, Lebrun P, Pipeleers D, van Obberghen E. miR-375 targets 3'-phosphoinositide-dependent protein kinase-1 and regulates glucose-induced biological responses in pancreatic beta-cells. *Diabetes* 2008; 57: 2708-2717 [PMID: 18591395 DOI: 10.2337/db07-1614]
- 9 Poy MN, Hausser J, Trajkovski M, Braun M, Collins S, Rorsman P, Zavolan M, Stoffel M. miR-375 maintains normal pancreatic alpha- and beta-cell mass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 5813-5818 [PMID: 19289822 DOI: 10.1073/pnas.0810550106]
- 10 Kloosterman WP, Lagendijk AK, Ketting RF, Moulton JD, Plasterk RH. Targeted inhibition of miRNA maturation with morpholinos reveals a role for miR-375 in pancreatic islet development. *PLoS Biol* 2007; 5: e203 [PMID: 17676975 DOI: 10.1371/journal.pbio.0050203]
- 11 He XX, Chang Y, Meng FY, Wang MY, Xie QH, Tang F, Li PY, Song YH, Lin JS. MicroRNA-375 targets AEG-1 in hepatocellular carcinoma and suppresses liver cancer cell growth in vitro and in vivo. *Oncogene* 2012; 31: 3357-3369 [PMID: 22056881 DOI: 10.1038/onc.2011.500]
- 12 Ding L, Xu Y, Zhang W, Deng Y, Si M, Du Y, Yao H, Liu X, Ke Y, Si J, Zhou T. MiR-375 frequently down-regulated in gastric cancer inhibits cell proliferation by targeting JAK2. *Cell Res* 2010; 20: 784-793 [PMID: 20548334 DOI: 10.1038/cr.2010.79]
- 13 Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, Liu CG, Bhatt D, Taccioli C, Croce CM. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA* 2007; 297: 1901-1908 [PMID: 17473300 DOI: 10.1001/jama.297.17.1901]
- 14 Hui AB, Lenarduzzi M, Krushel T, Waldron L, Pintilie M, Shi W, Perez-Ordóñez B, Jurisica I, O'Sullivan B, Waldron J, Gullane P, Cummings B, Liu FF. Comprehensive MicroRNA profiling for head and neck squamous cell carcinomas. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1129-1139 [PMID: 20145181 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-09-2166]
- 15 Wang F, Li Y, Zhou J, Xu J, Peng C, Ye F, Shen Y, Lu W, Wan X, Xie X. miR-375 is down-regulated in squamous cervical cancer and inhibits cell migration and invasion via targeting transcription factor SP1. *Am J Pathol* 2011; 179: 2580-2588 [PMID: 21945323 DOI: 10.1016/j.ajpath.2011.07.037]
- 16 Chang C, Shi H, Wang C, Wang J, Geng N, Jiang X, Wang X. Correlation of microRNA-375 downregulation with unfavorable clinical outcome of patients with glioma. *Neurosci Lett* 2012; 531: 204-208 [PMID: 23103713 DOI: 10.1016/j.neulet.2012.10.021]
- 17 Baroukh NN, Van Obberghen E. Function of microRNA-375 and microRNA-124a in pancreas and brain. *FEBS J* 2009; 276: 6509-6521 [PMID: 20102393 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2009.07353.x]
- 18 Avnit-Sagi T, Kantorovich L, Kredon-Russo S, Hornstein E, Walker MD. The promoter of the pri-miR-375 gene directs expression selectively to the endocrine pancreas. *PLoS One* 2009; 4: e5033 [PMID: 19343226 DOI: 10.1371/journal.pone.0005033]
- 19 Keller DM, McWeeney S, Arsenlis A, Drouin J, Wright CV, Wang H, Wollheim CB, White P, Kaestner KH, Goodman RH. Characterization of pancreatic transcription factor Pdx-1 binding sites using promoter microarray and serial analysis of chromatin occupancy. *J Biol Chem* 2007; 282: 32084-32092 [PMID: 17761679 DOI: 10.1074/jbc.M700899200]
- 20 Nishikawa E, Osada H, Okazaki Y, Arima C, Tomida S, Tatematsu Y, Taguchi A, Shimada Y, Yanagisawa K, Yatabe Y, Toyokuni S, Sekido Y, Takahashi T. miR-375 is activated by ASH1 and inhibits YAP1 in a lineage-dependent manner in lung cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 6165-6173 [PMID: 21856745 DOI: 10.1158/0008-5472.can-11-1020]
- 21 de Souza Rocha Simonini P, Breiling A, Gupta N, Malekpour M, Youns M, Omranipour R, Malekpour F, Volinia S, Croce CM, Najmabadi H, Diederichs S, Sahin O, Mayer D, Lyko F, Hoheisel JD, Riazalhosseini Y. Epigenetically deregulated microRNA-375 is involved in a positive feedback loop with estrogen receptor alpha in breast cancer cells. *Cancer Res* 2010; 70: 9175-9184 [PMID: 20978187 DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-1318]
- 22 Lu TX, Lim EJ, Wen T, Plassard AJ, Hogan SP, Martin LJ, Aronow BJ, Rothenberg ME. MiR-375 is downregulated in epithelial cells after IL-13 stimulation and regulates an IL-13-induced epithelial transcriptome. *Mucosal Immunol* 2012; 5: 388-396 [PMID: 22453679 DOI: 10.1038/mi.2012.16]
- 23 Keller DM, Clark EA, Goodman RH. Regulation of microRNA-375 by cAMP in pancreatic  $\beta$ -cells. *Mol Endocrinol* 2012; 26: 989-999 [PMID: 22539037 DOI: 10.1210/me.2011-1205]
- 24 Furuta M, Kozaki KI, Tanaka S, Arii S, Imoto I, Inazawa J. miR-124 and miR-203 are epigenetically silenced tumor-suppressive microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2010; 31: 766-776 [PMID: 19843643 DOI: 10.1093/carcin/bgp250]
- 25 Li X, Lin R, Li J. Epigenetic silencing of microRNA-375 regulates PDK1 expression in esophageal cancer. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 2849-2856 [PMID: 21533613 DOI: 10.1007/s10620-011-1711-1]
- 26 Mazar J, DeBlasio D, Govindarajan SS, Zhang S, Perera RJ. Epigenetic regulation of microRNA-375 and its role in melanoma development in humans. *FEBS Lett* 2011; 585: 2467-2476 [PMID: 21723283 DOI: 10.1016/j.febslet.2011.06.025]
- 27 Kong KL, Kwong DL, Chan TH, Law SY, Chen L, Li Y, Qin YR, Guan XY. MicroRNA-375 inhibits tumour growth and metastasis in oesophageal squamous cell carcinoma through repressing insulin-like

- growth factor 1 receptor. *Gut* 2012; 61: 33-42 [PMID: 21813472 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300178]
- 28 Tsukamoto Y, Nakada C, Noguchi T, Tanigawa M, Nguyen LT, Uchida T, Hijiya N, Matsuura K, Fujioka T, Seto M, Moriyama M. MicroRNA-375 is downregulated in gastric carcinomas and regulates cell survival by targeting PDK1 and 14-3-3zeta. *Cancer Res* 2010; 70: 2339-2349 [PMID: 20215506 DOI: 10.1158/0008-5472.can-09-2777]
- 29 Zhou J, Song S, Cen J, Zhu D, Li D, Zhang Z. MicroRNA-375 is downregulated in pancreatic cancer and inhibits cell proliferation in vitro. *Oncol Res* 2012; 20: 197-203 [PMID: 23581226]
- 30 Nohata N, Hanazawa T, Kikkawa N, Mutallip M, Sakurai D, Fujimura L, Kawakami K, Chiyomaru T, Yoshino H, Enokida H, Nakagawa M, Okamoto Y, Seki N. Tumor suppressive microRNA-375 regulates oncogene AEG-1/MTDH in head and neck squamous cell carcinoma (HNSCC). *J Hum Genet* 2011; 56: 595-601 [PMID: 21753766 DOI: 10.1038/jhg.2011.66]
- 31 Hu G, Wei Y, Kang Y. The multifaceted role of MTDH/AEG-1 in cancer progression. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 5615-5620 [PMID: 19723648 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-09-0049]
- 32 Chang Y, Yan W, He X, Zhang L, Li C, Huang H, Nace G, Geller DA, Lin J, Tsung A. miR-375 inhibits autophagy and reduces viability of hepatocellular carcinoma cells under hypoxic conditions. *Gastroenterology* 2012; 143: 177-87.e8 [PMID: 22504094 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.04.009]
- 33 Komatsu M, Waguri S, Ueno T, Iwata J, Murata S, Tanida I, Ezaki J, Mizushima N, Ohsumi Y, Uchiyama Y, Kominami E, Tanaka K, Chiba T. Impairment of starvation-induced and constitutive autophagy in Atg7-deficient mice. *J Cell Biol* 2005; 169: 425-434 [PMID: 15866887 DOI: 10.1083/jcb.200412022]
- 34 Kondo Y, Kanzawa T, Sawaya R, Kondo S. The role of autophagy in cancer development and response to therapy. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 726-734 [PMID: 16148885 DOI: 10.1038/nrc1692]
- 35 Liu AM, Poon RT, Luk JM. MicroRNA-375 targets Hippo-signaling effector YAP in liver cancer and inhibits tumor properties. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 394: 623-627 [PMID: 20226166 DOI: 10.1016/j.bbrc.2010.03.036]
- 36 Alessi DR, James SR, Downes CP, Holmes AB, Gaffney PR, Reese CB, Cohen P. Characterization of a 3-phosphoinositide-dependent protein kinase which phosphorylates and activates protein kinase Balph. *Curr Biol* 1997; 7: 261-269 [PMID: 9094314]
- 37 Raimondi C, Falasca M. Targeting PDK1 in cancer. *Curr Med Chem* 2011; 18: 2763-2769 [PMID: 21568903]
- 38 Nishimura Y, Komatsu S, Ichikawa D, Nagata H, Hirajima S, Takeshita H, Kawaguchi T, Arita T, Konishi H, Kashimoto K, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Tsuda H, Otsuji E. Overexpression of YWHAZ relates to tumor cell proliferation and malignant outcome of gastric carcinoma. *Br J Cancer* 2013; 108: 1324-1331 [PMID: 23422756 DOI: 10.1038/bjc.2013.65]
- 39 Mathé EA, Nguyen GH, Bowman ED, Zhao Y, Budhu A, Schetter AJ, Braun R, Reimers M, Kumamoto K, Hughes D, Altorki NK, Casson AG, Liu CG, Wang XW, Yanaihara N, Hagiwara N, Dannenberg AJ, Miyashita M, Croce CM, Harris CC. MicroRNA expression in squamous cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus: associations with survival. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 6192-6200 [PMID: 19789312 DOI: 10.1158/1078-0432.ccr-09-1467]
- 40 Bhatti I, Lee A, James V, Hall RI, Lund JN, Tufarelli C, Lobo DN, Larvin M. Knockdown of microRNA-21 inhibits proliferation and increases cell death by targeting programmed cell death 4 (PDCD4) in pancreatic ductal adenocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2011; 15: 199-208 [PMID: 21088996 DOI: 10.1007/s11605-010-1381-x]
- 41 Faltejskova P, Svoboda M, Srutova K, Mlcochova J, Besse A, Nekvindova J, Radova L, Fabian P, Slaba K, Kiss I, Vyzula R, Slaby O. Identification and functional screening of microRNAs highly deregulated in colorectal cancer. *J Cell Mol Med* 2012; 16: 2655-2666 [PMID: 22469014 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2012.01579.x]
- 42 Calin GA, Croce CM. MicroRNA signatures in human cancers. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 857-866 [PMID: 17060945 DOI: 10.1038/nrc1997]
- 43 Cho WC. MicroRNAs: potential biomarkers for cancer diagnosis, prognosis and targets for therapy. *Int J Biochem Cell Biol* 2010; 42: 1273-1281 [PMID: 20026422 DOI: 10.1016/j.biocel.2009.12.014]
- 44 Wang S, Wang L, Bayaxi N, Li J, Verhaegh W, Janevski A, Varadan V, Ren Y, Merkle D, Meng X, Gao X, Wang H, Ren J, Kuo WP, Dimitrova N, Wu Y, Zhu H. A microRNA panel to discriminate carcinomas from high-grade intraepithelial neoplasms in colonoscopy biopsy tissue. *Gut* 2013; 62: 280-289 [PMID: 22535378 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301554]
- 45 Turchinovich A, Weiz L, Langheinz A, Burwinkel B. Characterization of extracellular circulating microRNA. *Nucleic Acids Res* 2011; 39: 7223-7233 [PMID: 21609964 DOI: 10.1093/nar/gkr254]
- 46 Arroyo JD, Chevillet JR, Kroh EM, Ruf IK, Pritchard CC, Gibson DF, Mitchell PS, Bennett CF, Pogosova-Agadjanyan EL, Stirewalt DL, Tait JF, Tewari M. Argonaute2 complexes carry a population of circulating microRNAs independent of vesicles in human plasma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 5003-5008 [PMID: 21383194 DOI: 10.1073/pnas.1019055108]
- 47 Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 9798-9807 [PMID: 21098710 DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-1001]
- 48 Kong YW, Ferland-McCollough D, Jackson TJ, Bushell M. microRNAs in cancer management. *Lancet Oncol* 2012; 13: e249-e258 [PMID: 22652233 DOI: 10.1016/s1470-2045(12)70073-6]
- 49 Bader AG, Brown D, Winkler M. The promise of microRNA replacement therapy. *Cancer Res* 2010; 70: 7027-7030 [PMID: 20807816 DOI: 10.1158/0008-5472.can-10-2010]
- 50 Hao L, Patel PC, Alhasan AH, Giljohann DA, Mirkin CA. Nucleic acid-gold nanoparticle conjugates as mimics of microRNA. *Small* 2011; 7: 3158-3162 [PMID: 21922667 DOI: 10.1002/smll.201101018]
- 51 Komatsu S, Ichikawa D, Takeshita H, Konishi H, Nagata H, Hirajima S, Kawaguchi T, Arita T, Shiozaki A, Fujiwara H, Okamoto K, Otsuji E. Prognostic impact of circulating miR-21 and miR-375 in plasma of patients with esophageal squamous cell carcinoma.

#### 同行评价

本文综述miR-375的抑癌机制以及其作为肿瘤治疗靶点的潜力和作为诊断和预后标志物的前景,具有一定的可读性,可为以后的研究提供思路。



- Expert Opin Biol Ther* 2012; 12 Suppl 1: S53-S59 [PMID: 22519435 DOI: 10.1517/14712598.2012.681373]
- 52 Li J, Li X, Li Y, Yang H, Wang L, Qin Y, Liu H, Fu L, Guan XY. Cell-specific detection of miR-375 downregulation for predicting the prognosis of esophageal squamous cell carcinoma by miRNA in situ hybridization. *PLoS One* 2013; 8: e53582 [PMID: 23301089 DOI: 10.1371/journal.pone.0053582]
- 53 Zhang X, Yan Z, Zhang J, Gong L, Li W, Cui J, Liu Y, Gao Z, Li J, Shen L, Lu Y. Combination of hsa-miR-375 and hsa-miR-142-5p as a predictor for recurrence risk in gastric cancer patients following surgical resection. *Ann Oncol* 2011; 22: 2257-2266 [PMID: 21343377 DOI: 10.1093/annonc/mdq758]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# 肠癌大鼠与正常大鼠粪便菌群的结构性差异

高仁元, 朱庆超, 伍雯, 秦环龙

高仁元, 朱庆超, 伍雯, 上海交通大学附属第六人民医院普外科 上海市 200233

秦环龙, 同济大学附属第十人民医院普外科 上海市 200072  
高仁元, 上海交通大学医学院在读硕士研究生, 主要从事胃肠病学研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81230057

上海市科学技术委员会基金资助项目, No. 11140902400

作者贡献分布: 此课题由高仁元与朱庆超设计; 实验操作由朱庆超与伍雯完成; 数据分析及论文撰写由高仁元完成; 秦环龙指导。

通讯作者: 秦环龙, 教授, 博士生导师, 200072, 上海市闸北区延长中路301号, 同济大学附属第十人民医院普外科。

huanqin@126.com

电话: 021-64361349

收稿日期: 2013-10-22 修回日期: 2013-12-16

接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-02-18

## Compositional differences in fecal microbiota between rats with colorectal cancer and normal rats

Ren-Yuan Gao, Qing-Chao Zhu, Wen Wu, Huan-Long Qin

Ren-Yuan Gao, Qing-Chao Zhu, Wen Wu, Department of General Surgery, Shanghai Jiaotong University Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China

Huan-Long Qin, Department of General Surgery, Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81230057; and Project from Science and Technology Committee of Shanghai, No. 11140902400

Correspondence to: Huan-Long Qin, Professor, Department of General Surgery, Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, 301 Yanchang Road, Zhabei District, Shanghai 200072, China. huanqin@126.com

Received: 2013-10-22 Revised: 2013-12-16

Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the compositional differences in fecal flora between rats with colorectal cancer and normal rats.

**METHODS:** A rat model of colorectal cancer was developed by intraperitoneal injection of 1, 2-dimethyl hydrazine (DMH). Fecal samples were collected from rats with colorectal cancer and normal controls, and the microbiota was isolated by PCR-DGGE technique to perform flora similarity analysis (cluster analysis) and polymorphism analysis (richness, uniformity,

Shannon-Wiener index, Simpson index) and to compare with the GenBank to identify the genus so as to study the variation.

**RESULTS:** Compared with normal rats, the abundance of *Lachnospiraceae*, *Ruminococcaceae*, *Lactobacillus intestinalis*, *Paraprevotella*, *Lactobacillus murinus*, *Lactobacillus*, *Prevotella*, *Lactobacillus crispatus* and *Lachnospiraceae incertae sedis* was significantly reduced and that of *Coproccobacillus* was significantly increased in rats with colorectal cancer. Although the flora diversity between the two groups showed no statistical difference, there was significant difference in flora composition.

**CONCLUSION:** The composition of fecal microflora changes in rats with colorectal cancer compared with normal rats, with the number of beneficial bacteria reduced and that of potential pathogens increased.

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

**Key Words:** Colorectal cancer; PCR; DGGE; Cluster analysis; Microbiota

Gao RY, Zhu QC, Wu W, Qin HL. Compositional differences in fecal microbiota between rats with colorectal cancer and normal rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 661-667 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.661>

## 摘要

**目的:** 研究结肠癌大鼠与正常大鼠粪便菌群结构性变化。

**方法:** 通过1,2-二甲肼(dimethyl hydrazine, DMH)腹腔注射构建大肠癌的动物模型, 造模成功后收集实验组和对照组大鼠肠道粪便, 利用PCR-DGGE(polymerase chain reaction-denaturing gradient electrophoresis)技术分离菌群, 对两组菌群相似性(聚类分析)和多态性(丰富度、均一性、Shannon-Wiener指数、Simpson指数)进行分析, 并对目的菌群与

## ■背景资料

随着肠癌发生率的逐年增加, 人们对肠道内环境的研究愈加重视。研究发现, 肠道微生态(microbiota)在肠癌的发生发展中具有重要作用。

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科; 侯凤刚, 副主任医师, 副教授, 上海中医药大学附属市中医院肿瘤科

## ■研究前沿

基于PCR-DGGE技术对两种不同肠道微生态环境的大鼠菌群进行比较,可以筛选出在肠癌发生发展过程中特异性的肠道菌群,便于进一步研究其可能促进肠癌的机制。

GenBank进行比对,确定菌群种属,研究其变化规律。

**结果:**相较于对照组,实验组中毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、*Ruminococcaceae*科菌、肠乳杆菌(*Lactobacillus intestinalis*)、帕拉普氏菌属(*Paraprevotella*)、鼠乳杆菌(*Lactobacillus murinus*)、乳杆菌属(*Lactobacillus*)、普氏菌属(*Prevotella*)、卷曲乳杆菌(*Lactobacillus crispatus*)和*Lachnospiraceae incertae sedis*等菌群丰度显著降低,而粪芽孢菌属(*Coprobaecillus*)丰度则明显增加。尽管两组菌群多样性均较丰富,但菌群结构相似性存在明显差异。

**结论:**肠癌大鼠与正常对照组相比出现粪便菌群结构的偏移,有益菌减少,潜在致病菌增加。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肠癌; PCR; DGGE; 聚类分析; 菌群

**核心提示:**与正常大鼠相比,肠癌大鼠粪便中菌群发生明显偏移,有益菌数量及种类明显下降,而致病菌却增加。

高仁元, 朱庆超, 伍雯, 秦环龙. 肠癌大鼠与正常大鼠粪便菌群的结构性差异. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 661-667 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/661.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.661>

## 0 引言

大肠癌的发生发展是伴随着一系列基因突变的多步骤病变过程,其发病率在全球范围内高居第3位,全球每年新发病例数超过120万例<sup>[1]</sup>。随着经济的发展,在发展中国家,大肠癌发生率呈现快速升高的趋势。如在中国上海地区,大肠癌发病率已猛增至56/10万人,达到欧美发达国家发病率水平<sup>[2]</sup>。目前,遗传因素和环境因素被认为是大肠癌发生发展的重要原因,而环境因素中的肠道微生态异常改变及其与肠癌相关性的研究近几年称为研究的热点,菌群结构和数量的异常促进肠癌发生的报道也逐渐增多<sup>[3]</sup>。在哺乳类动物肠道内也存在着种类繁多和数量庞大的微生物,他们在宿主肠道营养摄取、维生素合成、多酚类物质代谢、保护肠上皮细胞、脂肪贮存、刺激肠道组织血管生成以及肠道免疫功能形成等多方面具有不可或缺的作用<sup>[4,5]</sup>。因此,这些微生物构成了维持整个肠道微生态稳定的重要基础。而在这些微生物中,占据了绝大

部分数量的是细菌,他们的基因组大小是宿主的150-160倍<sup>[6,7]</sup>。因此,对其肠道菌群结构多样性及种群动态变化进行研究具有至关重要的意义。传统的微生物检测方法主要依赖从宿主新鲜粪便中分离微生物进行培养,进而明确菌属性质。但是由于技术条件、培养条件的严苛性,肠道中可以被培养的菌群较少(不超过20%-30%),且并不能代表全部肠道菌群,更不能明确物种之间的系统发育学关系<sup>[7]</sup>。随着微生态学检测技术的迅速发展,特别是应用了PCR-变性梯度凝胶电泳(polymerase chain reaction- denaturing gradient electrophoresis, DGGE)等较先进的技术后,菌群变化和相关疾病之间的关系研究取得了巨大的进步。DGGE技术主要原理是基于DNA碱基配对的基础,将具有相同长度但不同组成的双链PCR产物分离,使具有不同序列的DNA片段停留在凝胶的不同位置,形成相互分开的条带图谱,从而对菌群进行分离<sup>[8]</sup>。该技术不依赖于培养技术且最低可检测到只占总群数量1%的菌群<sup>[9]</sup>。因此,本研究我们利用DGGE技术来比较大鼠肠癌模型与正常对照组之间粪便中菌群的变化,并阐述肠道菌群在肠癌发生发展中的结构变化及潜在作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ Wistar大鼠共计12只,体质量150-180 g。购自上海史莱克实验动物有限公司,生产许可证号为SCXK(沪)2007-0005,使用许可证号为SYXK(沪)2006-0010。Taq酶等试剂(生工生物工程股份有限公司); PCR反应扩增仪(加拿大, BBI公司); DYY-8型稳压稳流电泳仪(上海琪特分析仪器有限公司); H6-1微型电泳槽(上海精益有机玻璃制品仪器厂); 凝胶成像系统(Gene Genius公司); U-3010紫外-可见分光光度计(Hitachi公司); DGGE仪(美国Bio-Rad公司); DMH(Sigma-aldrich上海贸易有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 构建动物模型及收集标本:**所有大鼠共计12只被随机分为两组,一组为正常饮食组,即对照组( $n_1 = 6$ )。另一组为1,2-二甲肼(1,2-dimethylhydrazine, DMH)诱导肠癌组<sup>[10]</sup>,即实验组( $n_2 = 6$ )。两组均给予啮齿类动物基础饲料。所有大鼠自由饮食、水1 wk,以适应周围环境。随后,对实验组大鼠腹腔注射DMH(剂量为40 mL/kg, 1次/wk),连续注射10 wk。对照组大鼠腹腔注射生理盐水和乙二胺四乙酸(ethylene diamine tetraacetic



表 1 PCR引物

引物	序列	扩增片段大小
F357-GC	5'-CCCGCCGCGCCCCGCGCCCGGCCCGCCCGCCCCCTACGGGAGGCAGCAG-3'	230 bp
R518	5'-ATTACCGCGGCTGCTGG-3'	

acid, EDTA). 12 wk肿瘤形成后(肿瘤组织由病理切片证实), 取其肠道内粪便, 无菌操作收集于冻存管中, 置于-80 °C冰箱中保存(实验组标记为T<sub>1</sub>-T<sub>6</sub>, 对照组标记为N<sub>1</sub>-N<sub>6</sub>). 该实验已获得上海市第六人民医院医学伦理委员会批准.

1.2.2 样品DNA的制备: 离心收集菌体, 溶于5 mL提取缓冲液中, 37 °C振荡45 min. 加入0.75 mL 20%SDS, 65 °C水浴1 h. 12000 r/min, 离心10 min, 收集上清. 上清用等体积的酚: 氯仿: 异戊醇(25:24:1)抽提2次, 加入终浓度0.3 mol/L醋酸钠(pH 5.2)及2倍体积的无水乙醇, 室温沉淀1 h. 4 °C, 12000 r/min, 离心20 min, 收集沉淀, 并用700 mL/L乙醇漂洗2次, 晾干后溶于50 μL TE中.

1.2.3 16S rRNA gene V3区扩增: 所用引物为细菌16S rRNA V3高变区F357和R518(表1), 反应体系总体积为50 μL, ddH<sub>2</sub>O 41.25 μL, 10×Buffer(含2.0 mmol/L MgCl<sub>2</sub>)5 μL, dNTP(10 mmol/L)1 μL, F357-GC(10 μmol/L)1 μL, R518(10 μmol/L)1 μL, Taq酶(5 U/μL)0.25 μL, 模板DNA 0.5 μL, 设置阴性对照. 反应程序按照以下进行: 94 °C预变性4 min; 94 °C 0.5 min; 56 °C 1 min; 72 °C 0.5 min; 30个循环, 72 °C延伸7 min. 取PCR产物各3 μL, 1.5%琼脂糖凝胶加5%Goldview染液, 120 V稳压电泳30 min, 用UVI凝胶成像系统拍照.

1.2.4 变性梯度凝胶电泳(DGGE): 取样品各400 ng的V3区PCR产物, 采用D-Code突变检测系统对样品进行DGGE分析. 所用的聚丙烯酰胺凝胶浓度为8%(丙稀酰胺: 双丙稀酰胺 = 37.5:1), 变性剂浓度从30%-60%(100%的变性剂为7 mol/L尿素+40%甲酰胺). 在180 V电压下, 60 °C恒温, 1×TAE中电泳4.0 h. 电泳完毕后, 用超纯水冲洗胶, 然后将胶放进染液中, 置于摇床上染色后, 在UVI成像系统拍照.

1.2.5 PCR扩增及产物回收及克隆: 选取较有代表性的条带, 用洁净的手术刀片将目标DGGE条带完整的切下并装入1.5 mL离心管中, 按UNIQ-10柱式DNA胶回收试剂盒回收. 对目的片段进行克隆测序, 与已知GenBank比对获得菌群的种属名称.

**统计学处理** 对DGGE凝胶图进行相似性和多样性分析. 相似性分析采用聚类分析, 使用非加权组平均法(unweighted pair-group method with arithmetic means, UPGMA)计算系统发育图<sup>[11]</sup>; 多样性分析采用丰富度和生物多样性分析. 丰富度(S)用DGGE图谱每条泳道的条带数表示; Shannon-Wiener指数(H')的计算方法为 $H' = -\sum_{i=1}^S (P_i)(\ln P_i)$ , P<sub>i</sub>为第i条带的吸光度与该泳道所有条带吸光度总和的比值, S为总的条带数目; 均一性(E)表示菌群种属分布的一致性, 计算方法为 $E = H'/\ln S$ <sup>[12]</sup>. Simpson多样性指数(D)计算方法为 $D = \frac{1}{\sum_{i=1}^S (P_i)^2}$ , P<sub>i</sub>及S计算方法同上, 该指数意义与Shannon指数相似<sup>[13]</sup>. 分析所得数据使用SPSS19.0进行Student-*t*检验, 计量资料结果以mean±SD表示. *P*<0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 大鼠体质量 对大鼠体质量按周记录, 结果显示两组之间体质量变化均无明显统计学差异(图1). 说明两组大鼠之间饮食水、环境等基本情况较为一致.

2.2 菌群多样性 PCR扩增结果示各组样本目标条带及大小合适(图2). 在DGGE指纹图谱中每一条泳道代表一个样本中的菌群(图3), 不同位置的条带代表不同的优势菌群. PCR-DGGE电泳结果显示对照组大鼠粪便中菌群与罹患肠癌的大鼠粪便中的菌群均有较好的多样性, 且两者的均一性均较好. Shannon-Wiener指数(H')和Simpson指数(D)分析实验组菌群多样性高于对照组, 但二者并无统计学上的差异(*P*>0.05)(表2).

2.3 菌群结构差异性 根据DGGE指纹图谱条带的亮度不同, 说明代表该样本中菌群的相对含量也不相同. 由此, 我们筛选了10组处于同一位置但亮度明显有差异(甚至消失)的条带进行菌群鉴定, 这些菌群主要分布在厚壁菌门(*Firmicutes*)和拟杆菌门(*Bacteroidetes*)(表3). 其中, 实验组中毛螺菌科(*Lachnospiraceae*)、*Ruminococcaceae*科菌、肠乳杆菌(*Lactobacillus intestinalis*)、帕拉普氏菌属(*Paraprevotella*)、鼠乳杆菌(*Lactobacillus murinus*)、乳杆菌属(*Lac-*

## ■ 相关报道

目前已有研究发现肠道菌群与肥胖、糖尿病以及心血管疾病等多种疾病密切相关, 甚至是起到关键作用, 其可能机制与炎症及肠屏障功能损伤相关. 通过调节肠道菌群, 可以帮助恢复肠道内环境的稳态, 减少疾病的发生.

### ■创新盘点

本文采用新型检测技术,对肠道菌群进行分离、鉴定和对比,初步揭示了大鼠肠癌模型中粪便菌群较正常菌群产生的偏移,帮助理解肠癌发生发展过程中内环境的改变。

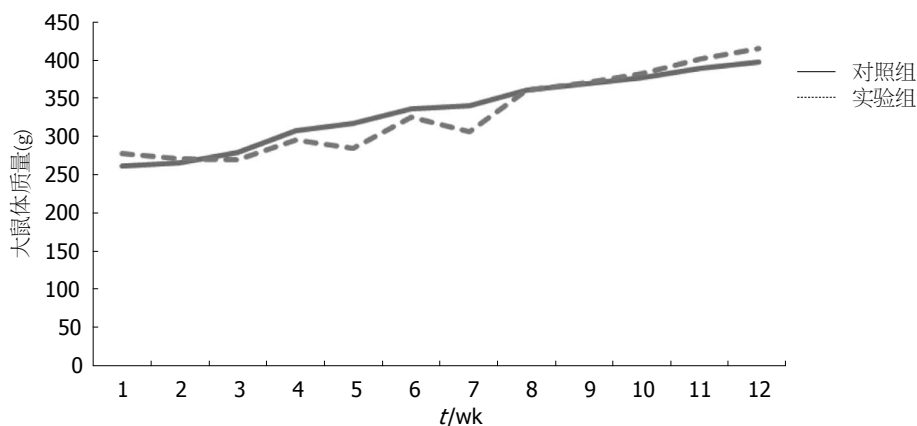


图1 两组大鼠体重变化图。

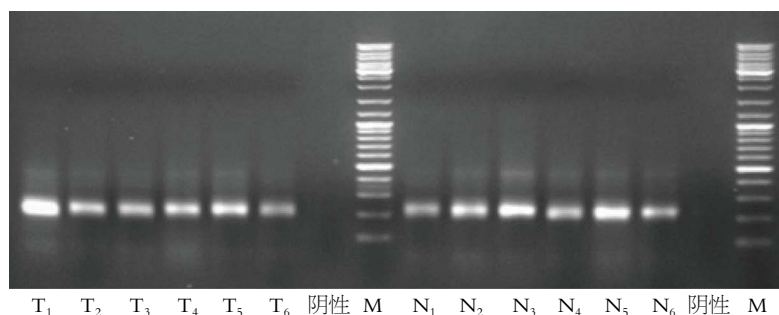


图2 PCR扩增结果. T<sub>1</sub>-T<sub>6</sub>: 实验组样本, N<sub>1</sub>-N<sub>6</sub>: 正常组样本. 每个编号对应不同的样本, 每个不同亮度的条带代表菌群的含量不同. M: Marker条带。

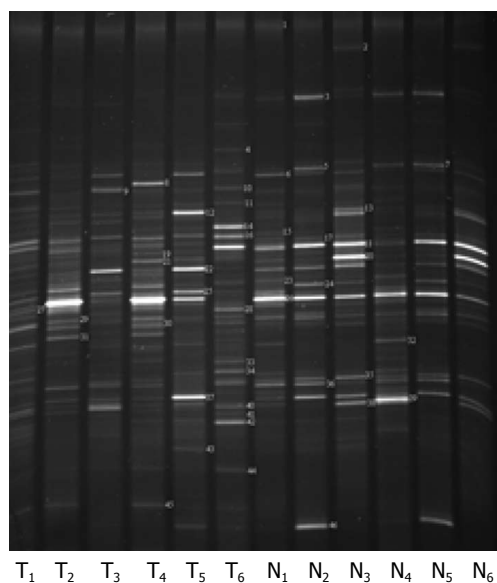


图3 DGGE图谱. T<sub>1</sub>-T<sub>6</sub>: 实验组样本, N<sub>1</sub>-N<sub>6</sub>: 正常组样本. 每个编号对应不同的样本, 每个不同亮度的条带代表菌群的含量不同. 图谱中标记的数字与表3中相对应。

*tobacillus*)、普氏菌属(*Prevotella*)、卷曲乳杆菌(*Lactobacillus crispatus*)等菌群丰度显著降低, 而粪芽孢菌属(*Coprobacillus*)丰度则明显增加. 此外, 对两组大鼠粪便菌群DGGE的图谱进行聚类分析, 结果表明实验组和对照组之间菌群相似

度较低(图4)。

### 3 讨论

人体肠道含有复杂的微生态系统, 他是由细菌、古细菌、真菌以及病毒等一系列微生物组成<sup>[14,15]</sup>. 肠道内微生物可以看作是人体这个“大器官”内的一个“小器官”, 他与人体共同进化, 逐渐形成共栖关系并维持肠道内环境的稳态<sup>[16]</sup>. 最近的研究揭示, 肠道菌群的确在肠癌的发生发展中具有重要的影响. Boleij等<sup>[17]</sup>研究显示感染牛链球菌的患者肠道中伴生腺瘤或癌的病例中位数高达60%, 而感染该链球菌I型的患者罹患大肠癌的风险非常高(合并OR值为7.26). 检测结果也证实牛链球菌抗原RpL7/L12浓度在早期(I/II)肠癌患者中明显增高<sup>[18]</sup>. Kostic等<sup>[19]</sup>发现梭形杆菌属细菌(*F. nucleatum*、*F. mortiferum*和*F. necrophorum*)在肿瘤组织内数量明显多于正常组织, 且组织学和肿瘤转移灶梭形杆菌属DNA分析也证实了该结果. Tjalsma等<sup>[20]</sup>提出了一种大肠癌发生过程中细菌动态变化的模式, 其认为肠道内有一部分菌群属于“启动(driver)”菌群, 如肠杆菌科、梭状芽孢杆菌等, 他们能够损害肠上皮细胞DNA, 诱导大肠癌的发生. 还有一部分

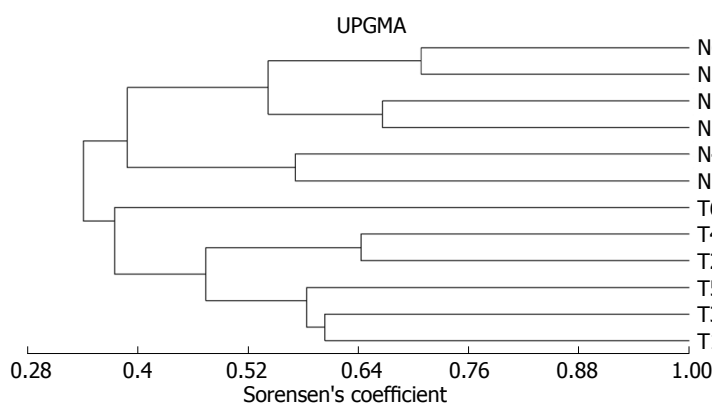


图 4 两组大鼠粪便菌群DGGE聚类分析  
图. T<sub>1</sub>–T<sub>6</sub>: 实验组样本, N<sub>1</sub>–N<sub>6</sub>: 正常组样本.

■应用要点  
随着对肠道微生物态及其致病机制的深入研究, 相关研究成果可以为预防和治疗肠癌提供新理论依据.

表 2 两组大鼠粪便菌群丰度及多样性指数结果

多样性指数	实验组	对照组	P值
丰富度(S)	25.833 ± 5.845	21.500 ± 2.665	0.142
均一性(E)	1.000	1.000	–
Shannon–Wiener指数(H')	3.231 ± 0.222	3.062 ± 0.122	0.133
Simpson指数(D)	0.960 ± 0.089	0.953 ± 0.060	0.149

表 3 代表性条带菌群鉴定结果

条带编号	菌群(门)	菌群(属)	种属相似性(%)	V3区大小(bp)
3	<i>Spirochaetes</i>	<i>Treponema amylovorum</i>	82	194
7	<i>Firmicutes</i>	<i>unclassified_Ruminococcaceae</i>	90	172
12	<i>Firmicutes</i>	<i>Lactobacillus crispatus</i>	93	193
16	<i>Firmicutes</i>	<i>Coprobacillus</i> <sup>1</sup>	95	193
18	<i>Firmicutes</i>	<i>Lachnospiraceae incertae sedis</i>	97	168
20	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Prevotella</i>	91	189
22	<i>Firmicutes</i>	<i>Lactobacillus intestinalis</i>	100	194
26	<i>Bacteroidetes</i>	<i>Paraprevotella</i>	100	188
27	<i>Firmicutes</i>	<i>Lactobacillus murinus</i>	100	194
35	<i>Firmicutes</i>	<i>Lactobacillus</i>	96	194

<sup>1</sup>代表菌群在实验组中比例升高; 未标记代表实验组菌群比例降低.

菌群属于“过路(passenger)”菌群, 他们能够适应肠道微环境的改变而大量增殖, 成为肠道内优势菌群, 包括梭形杆菌属、链球菌科等. 这些有害菌群通过刺激宿主免疫功能, 引起肠道炎症反应, 并通过诱导树突细胞和辅助性TH17细胞释放白介素(interleukin, IL)如IL-23、IL-17, 引起肠上皮细胞分泌β-防御素(β-defensins)、钙卫蛋白(calprotectin)和脂质运载蛋白-2(lipocalin 2)等抗菌物质, 或提供黏附界面, 帮助某些细菌定植于肿瘤微环境, 促进肿瘤生长.

本研究通过对正常组和实验组大鼠粪便菌群检测, 发现PCR-DGGE技术能够较清晰地分离出肠道内的主要菌群. 本试验两份样本均显

示了良好的菌群多样性. 但聚类分析发现, 实验组大鼠粪便的菌群组成结构与正常组有明显的差异性. 分析可见, 两组之间出现最显著差异的为四种菌, 其中毛螺旋菌科、帕拉普氏菌属、乳杆菌属在对照组中均有明显表达, 而在实验组中出现不表达. 毛螺旋菌科主要包括丁酸弧菌属(*Butyrivibrio*)、毛螺旋菌属(*Lachnospira*)和罗氏菌属(*Roseburia*)<sup>[21]</sup>. 在炎症性肠病(inflammatory bowel diseases, IBD)患者的肠道组织样本中, 毛螺旋菌科含量可降至正常含量的1/300<sup>[22]</sup>. 研究发现, 该科细菌具有水解多种植物多糖、脱乙酰基作用以降解毒素、拮抗艰难梭菌感染等作用<sup>[21,23]</sup>. 不过, 也有研究认为, 某些产丁酸



## ■同行评价

本文内容通过对正常大鼠肠道和结肠癌大鼠肠道内菌群的比较分析来研究结肠直肠癌肠内微环境的改变,有较好的研究价值及临床指导意义。

盐的细菌(如毛螺菌科)丰度下降,导致丁酸盐诱导凋亡和分化、抑制增生及血管形成等功能下降,也可能间接促进了肿瘤的进展<sup>[24]</sup>。帕拉普氏菌属为革兰染色阴性厌氧菌,一般在动物的瘤胃内易分离出该菌<sup>[25,26]</sup>。近期研究显示该菌也常存在于人群肠道中。研究人员对人肠癌组织及癌旁组织对比显示,帕拉普氏菌属在癌旁组织(距离癌组织10-20 cm)中丰度更高<sup>[27]</sup>。这种丰度差异提示其在预防肿瘤发生发展方面具有一定作用。乳杆菌属属于厚壁菌门,是存在于人体内的益生菌。研究显示乳杆菌属能够上调结肠癌细胞中肿瘤抑制基因,抑制核因子 $\kappa$ B抑制蛋白(nuclear factor of kappa light polypeptide gene enhancer in B-cells inhibitor, I $\kappa$ B)的降解,降低 $\beta$ -葡萄糖醛酸酶和硝基还原酶的活力,并且还能抵抗诱变剂突变的作用,从而抑制炎症、阻碍病原微生物定植,拮抗肿瘤的发生<sup>[28-31]</sup>。而在本实验中,由于这3种有益菌群数量大幅降低,导致菌群明显失调,可见其丰度降低与肿瘤的发生发展密切相关。另外,实验组还发现粪芽孢菌属在6组样本中均见明显条带,而在对照组中条带消失。该菌属于厚壁菌门,既往研究发现该细菌常在肠道炎症组织和高脂饮食大鼠体内出现,而这两者均为肠癌的高危因素,因此根据本实验结果,提示该菌其与肠癌的发生的相关性较高<sup>[3,32]</sup>。因此,本实验揭示了在正常组织中丰富较高的菌群(特别是乳杆菌属一般可达总数的10%-15%),在肠癌组织中出现了不同程度的比例降低,这与文献报道结果一致<sup>[33-35]</sup>。实验组大鼠肠道内菌群谱明显紊乱,除了受到大鼠个体的遗传性状的影响外,还可能与肿瘤生长的微环境及肿瘤的进展阶段有关。

总之,尽管本次实验样本数量较少,但已基本阐明肠癌模型大鼠肠道内菌群与正常相比,已发生了明显的偏移。实验结果表明大量有益菌的下降,有害菌的增殖,通过多种途径直接或间接地促进了肿瘤的发生发展。但是,对肠道内肿瘤组织的侵犯程度与菌群的相关性、肠癌发生不同时期菌群的结构和数量等的动态变化以及微生态致肠癌的最终生物学机制仍需要进一步探索。

## 4 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/

ijc.25516]

- 2 Siegel R, Naishadham D, Jemal A. Cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2012; 62: 10-29 [PMID: 22237781 DOI: 10.3322/caac.20138]
- 3 Castellarin M, Warren RL, Freeman JD, Dreolini L, Krzywinski M, Strauss J, Barnes R, Watson P, Allen-Vercos E, Moore RA, Holt RA. *Fusobacterium nucleatum* infection is prevalent in human colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 299-306 [PMID: 22009989 DOI: 10.1101/gr.126516.111]
- 4 Hamer HM, De Preter V, Windey K, Verbeke K. Functional analysis of colonic bacterial metabolism: relevant to health? *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G1-G9 [PMID: 22016433 DOI: 10.1152/ajpgi.00048.2011]
- 5 Zwielehner J, Lassl C, Hippe B, Pointner A, Switzeny OJ, Remely M, Kitzweger E, Ruckser R, Haslberger AG. Changes in human fecal microbiota due to chemotherapy analyzed by TaqMan-PCR, 454 sequencing and PCR-DGGE fingerprinting. *PLoS One* 2011; 6: e28654 [PMID: 22194876 DOI: 10.1371/journal.pone.0028654]
- 6 Zoetendal EG, Rajilic-Stojanovic M, de Vos WM. High-throughput diversity and functionality analysis of the gastrointestinal tract microbiota. *Gut* 2008; 57: 1605-1615 [PMID: 18941009 DOI: 10.1136/gut.2007.133603]
- 7 Maccaferri S, Biagi E, Brigidi P. Metagenomics: key to human gut microbiota. *Dig Dis* 2011; 29: 525-530 [PMID: 22179207 DOI: 10.1159/000332966]
- 8 Green SJ, Leigh MB, Neufeld JD. Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE) for Microbial Community Analysis. *Handbook of Hydrocarbon and Lipid Microbiology*. 1st ed. Germany: Springer Berlin Heidelberg, 2010: 4137-4158
- 9 Dar SA, Kuenen JG, Muyzer G. Nested PCR-denaturing gradient gel electrophoresis approach to determine the diversity of sulfate-reducing bacteria in complex microbial communities. *Appl Environ Microbiol* 2005; 71: 2325-2330 [PMID: 15870318 DOI: 10.1128/AEM.71.5.2325-2330.2005]
- 10 彭佳远, 张清福, 秦环龙. 结肠癌发生和发展不同阶段的差异蛋白质组学实验研究. *肿瘤* 2008; 28: 1023-1028
- 11 Fromin N, Hamelin J, Tarnawski S, Roesti D, Jourdain-Miserez K, Forestier N, Teyssier-Cuvellé S, Gillet F, Aragno M, Rossi P. Statistical analysis of denaturing gel electrophoresis (DGE) fingerprinting patterns. *Environ Microbiol* 2002; 4: 634-643 [PMID: 12460271 DOI: 10.1046/j.1462-2920.2002.00358.x]
- 12 Muyzer G, de Waal EC, Uitterlinden AG. Profiling of complex microbial populations by denaturing gradient gel electrophoresis analysis of polymerase chain reaction-amplified genes coding for 16S rRNA. *Appl Environ Microbiol* 1993; 59: 695-700 [PMID: 7683183]
- 13 Simpson EH. Measurement of diversity. *Nature* 1949; 163: 688 [DOI: 10.1038/163688a0]
- 14 Bäckhed F, Ley RE, Sonnenburg JL, Peterson DA, Gordon JI. Host-bacterial mutualism in the human intestine. *Science* 2005; 307: 1915-1920 [PMID: 15790844 DOI: 10.1126/science.1104816]
- 15 Reyes A, Haynes M, Hanson N, Angly FE, Heath AC, Rohwer F, Gordon JI. Viruses in the faecal microbiota of monozygotic twins and their mothers. *Nature* 2010; 466: 334-338 [PMID: 20631792 DOI: 10.1038/nature09199]
- 16 Lepage P, Leclerc MC, Joossens M, Mondot S,

- Blottière HM, Raes J, Ehrlich D, Doré J. A metagenomic insight into our gut's microbiome. *Gut* 2013; 62: 146-158 [PMID: 22525886 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301805]
- 17 Boleij A, van Gelder MM, Swinkels DW, Tjalsma H. Clinical Importance of Streptococcus gallolyticus infection among colorectal cancer patients: systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis* 2011; 53: 870-878 [PMID: 21960713 DOI: 10.1093/cid/cir609]
- 18 Boleij A, Roelofs R, Schaeps RM, Schülin T, Glaser P, Swinkels DW, Kato I, Tjalsma H. Increased exposure to bacterial antigen Rpl7/L12 in early stage colorectal cancer patients. *Cancer* 2010; 116: 4014-4022 [PMID: 20564125 DOI: 10.1002/cncr.25212]
- 19 Kostic AD, Gevers D, Pedamallu CS, Michaud M, Duke F, Earl AM, Ojesina AI, Jung J, Bass AJ, Taberner J, Baselga J, Liu C, Shivdasani RA, Ogino S, Birren BW, Huttenhower C, Garrett WS, Meyerson M. Genomic analysis identifies association of Fusobacterium with colorectal carcinoma. *Genome Res* 2012; 22: 292-298 [PMID: 22009990 DOI: 10.1101/gr.126573.111]
- 20 Tjalsma H, Boleij A, Marchesi JR, Dutilh BE. A bacterial driver-passenger model for colorectal cancer: beyond the usual suspects. *Nat Rev Microbiol* 2012; 10: 575-582 [PMID: 22728587 DOI: 10.1038/nrmicro2819]
- 21 Cotta M, Forster R. The Family Lachnospiraceae, Including the Genera Butyrivibrio, Lachnospira and Roseburia. The prokaryotes. 3th ed. USA: Springer US, 2006: 1002-1021
- 22 Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 13780-13785 [PMID: 17699621]
- 23 Reeves AE, Koenigskecht MJ, Bergin IL, Young VB. Suppression of Clostridium difficile in the gastrointestinal tracts of germfree mice inoculated with a murine isolate from the family Lachnospiraceae. *Infect Immun* 2012; 80: 3786-3794 [PMID: 22890996 DOI: 10.1128/IAI.00647-12]
- 24 Fung KY, Cosgrove L, Lockett T, Head R, Topping DL. A review of the potential mechanisms for the lowering of colorectal oncogenesis by butyrate. *Br J Nutr* 2012; 108: 820-831 [PMID: 22676885 DOI: 10.1017/S0007114512001948]
- 25 Sakamoto M, Ohkuma M. Identification and classification of the genus Bacteroides by multilocus sequence analysis. *Microbiology* 2011; 157: 3388-3397 [PMID: 21948050 DOI: 10.1099/mic.0.052332-0]
- 26 Kim M, Morrison M, Yu Z. Status of the phylogenetic diversity census of ruminal microbiomes. *FEMS Microbiol Ecol* 2011; 76: 49-63 [PMID: 21223325 DOI: 10.1111/j.1574-6941.2010.01029.x]
- 27 Chen W, Liu F, Ling Z, Tong X, Xiang C. Human intestinal lumen and mucosa-associated microbiota in patients with colorectal cancer. *PLoS One* 2012; 7: e39743 [PMID: 22761885 DOI: 10.1371/journal.pone.0039743]
- 28 Yang T, Owen JL, Lightfoot YL, Kladde MP, Mohammadzadeh M. Microbiota impact on the epigenetic regulation of colorectal cancer. *Trends Mol Med* 2013; 19: 714-725 [PMID: 24051204 DOI: 10.1016/j.molmed.2013.08.005]
- 29 Candela M, Guidotti M, Fabbri A, Brigidi P, Franceschi C, Fiorentini C. Human intestinal microbiota: cross-talk with the host and its potential role in colorectal cancer. *Crit Rev Microbiol* 2011; 37: 1-14 [PMID: 20874522 DOI: 10.3109/1040841X.2010.501760]
- 30 Grivennikov SI. Inflammation and colorectal cancer: colitis-associated neoplasia. *Semin Immunopathol* 2013; 35: 229-244 [PMID: 23161445 DOI: 10.1007/s00281-012-0352-6]
- 31 Chong ES. A potential role of probiotics in colorectal cancer prevention: review of possible mechanisms of action. *World J Microbiol Biotechnol* 2013 Sep 26. [Epub ahead of print] [PMID: 24068536 DOI: 10.1007/s11274-013-1499-6]
- 32 Greiner T, Bäckhed F. Effects of the gut microbiota on obesity and glucose homeostasis. *Trends Endocrinol Metab* 2011; 22: 117-123 [PMID: 21353592 DOI: 10.1016/j.tem.2011.01.002]
- 33 Daniel H, Gholami AM, Berry D, Desmarchelier C, Hahne H, Loh G, Mondot S, Lepage P, Rothballer M, Walker A, Böhm C, Wenning M, Wagner M, Blaut M, Schmitt-Kopplin P, Kuster B, Haller D, Clavel T. High-fat diet alters gut microbiota physiology in mice. *ISME J* 2013 Sep 12. [Epub ahead of print] [PMID: 24030595 DOI: 10.1038/ismej.2013.155]
- 34 Tomas J, Langella P, Cherbuy C. The intestinal microbiota in the rat model: major breakthroughs from new technologies. *Anim Health Res Rev* 2012; 13: 54-63 [PMID: 22853927 DOI: 10.1017/S1466252312000072]
- 35 Power SE, O'Toole PW, Stanton C, Ross RP, Fitzgerald GF. Intestinal microbiota, diet and health. *Br J Nutr* 2013 Aug 12. [Epub ahead of print] [PMID: 23931069]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# P38MAPK抑制剂对溃疡性结肠炎大鼠外周血淋巴细胞凋亡及相关调控蛋白的影响

李军华, 周 薇

## ■背景资料

细胞凋亡在溃疡性结肠炎发生发展过程中起重要作用, p38丝裂原活化蛋白激酶超家族(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是介导细胞生长, 发育, 分化和凋亡的重要信号通路之一, 该通路的激活与多种疾病发病密切相关, 其对细胞凋亡的调控可能参与了溃疡性结肠炎的发病。

李军华, 周薇, 荆门市第一人民医院消化内科 湖北省荆门市 448000

李军华, 副主任医师, 主要从事炎症性肠病的基础与临床研究。

湖北省荆门市科学技术计划基金资助项目, No. 08S11

作者贡献分布: 李军华与周薇对此文所作贡献均等; 此课题由李军华与周薇设计; 研究过程由李军华与周薇完成; 数据分析由周薇完成; 本论文写作由李军华与周薇完成。

通讯作者: 周薇, 副主任医师, 448000, 湖北省荆门市象山大道67号, 湖北省荆门市第一人民医院消化内科。zwcherry@tom.com  
电话: 0724-2305745

收稿日期: 2013-10-21 修回日期: 2013-12-16

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## P38 mitogen-activated protein kinase inhibitor SB203580 promotes peripheral blood lymphocyte apoptosis in rats with colitis

Jun-Hua Li, Wei Zhou

Jun-Hua Li, Wei Zhou, Department of Gastroenterology, the First People's Hospital of Jingmen, Jingmen 448000, Hubei Province, China

Supported by: the Science and Technology Program of Jingmen, No. 08S11

Correspondence to: Wei Zhou, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jingmen No. 1 People's Hospital, 67 Xiangshan Road, Jingmen 448000, Hubei Province, China. zwcherry@tom.com

Received: 2013-10-21 Revised: 2013-12-16

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the influence of p38 mitogen-activated protein kinase inhibitor SB203580 on peripheral blood lymphocyte (PBL) apoptosis in rats with colitis and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** Forty-five healthy female Sprague-Dawley (SD) rats were randomly divided into three groups: a normal group, a model group and a SB203580 group. Colitis was induced with 2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid (TNBS) in rats of the latter two groups. The normal group and the model group were treated intrarectally with saline, while the SB203580 group was given SB203580 [1 mg/(kg·d)]. The rats were sacri-

ficed after 2 wk to assess disease activity index (DAI) and macroscopic and histological changes of the colon. PBL apoptosis and Bcl-2 expression were examined by flow cytometry. p-ATF2 protein expression in colon tissue was determined by immunohistochemistry.

**RESULTS:** In the model group, the percentages of cells expressing p-ATF2 and Bcl-2 were higher than those in the normal group and SB203580 group ( $43.40\% \pm 2.67\%$  vs  $7.45\% \pm 1.26\%$ ,  $20.70\% \pm 2.79\%$ ;  $38.60\% \pm 3.53\%$  vs  $13.70\% \pm 2.45\%$ ,  $20.30\% \pm 2.87\%$ ,  $P < 0.01$  for all), but the percentage of apoptotic PBLs in the model group was lower than those in the normal group and SB203580 group ( $27.70\% \pm 3.02\%$  vs  $58.70\% \pm 3.09\%$ ,  $46.60\% \pm 4.14\%$ ,  $P < 0.01$  for both). DAI and macroscopic and histological scores in the model group were significantly higher than those in the normal group and SB203580 group ( $2.42 \pm 0.30$  vs  $0.28 \pm 0.29$ ,  $1.24 \pm 0.17$ ;  $5.42 \pm 0.30$  vs  $0.30 \pm 0.48$ ,  $3.30 \pm 0.22$ ;  $3.29 \pm 0.26$  vs  $0.05 \pm 0.20$ ,  $1.10 \pm 0.74$ ,  $P < 0.01$  for all).

**CONCLUSION:** P38MAPK inhibitor SB203580 reduces colonic inflammatory injury in rats with colitis by down-regulating expression of p-ATF2 and Bcl-2 and inducing PBL apoptosis. SB203580 can be considered as a novel therapeutic alternative for the treatment of UC.

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

**Key Words:** Ulcer colitis; P38MAPK; Bcl-2; Peripheral blood lymphocyte; Apoptosis

Li JH, Zhou W. P38 mitogen-activated protein kinase inhibitor SB203580 promotes peripheral blood lymphocyte apoptosis in rats with colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 668-673 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/668.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.668>

## 摘要

**目的:** 观察p38丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-

## ■同行评议者

刘杰民, 副主任医师, 贵州省人民医院消化内科



activated protein kinase, MAPK)特异性抑制剂SB203580对大鼠实验性结肠炎(ulcerative colitis, UC)外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)凋亡及相关调控蛋白的影响, 探讨P38MAPK通路在UC中的可能作用及机制。

**方法:** 45只健康SD大鼠随机均分为正常对照组、结肠炎模型组、SB203580组。模型组及SB203580组以三硝基苯磺酸(2,4,6-trinitrobenzene sulfonic acid, TNBS)制备大鼠溃疡性结肠炎模型, 正常对照组给予等量0.9%生理盐水灌肠, SB203580组于造模完成后给予1 mg/(kg·d) SB203580腹腔注射。流式细胞仪技术检测PBL凋亡率及Bcl-2表达率, 免疫组织化学方法检测活化转录因子-2(phosphor-activating transcription factor 2, p-ATF2)表达; 同时观察大鼠疾病活动指数(disease activity index, DAI)、肠道大体形态及组织学评分情况; 分析p-ATF2水平与PBL凋亡率及Bcl-2达率的相关关系。

**结果:** 与正常组相比, 模型组大鼠肠组织磷酸化p-ATF2及PBL中Bcl-2阳性表达显著增高( $43.40\% \pm 2.67\%$  vs  $7.45\% \pm 1.26\%$ ,  $38.60\% \pm 3.53\%$  vs  $13.70\% \pm 2.45\%$ ,  $P < 0.01$ ), PBL凋亡率明显降低( $27.70\% \pm 3.02\%$  vs  $58.70\% \pm 3.09\%$ ,  $P < 0.01$ ); SB203580组p-ATF2、Bcl-2阳性表达率较模型组明显下降( $20.70\% \pm 2.79\%$ ,  $20.30\% \pm 2.87\%$ ,  $P < 0.01$ ), PBL凋亡率较模型组明显上升( $46.60\% \pm 4.14\%$ ,  $P < 0.01$ )。大鼠DAI及肠道大体形态、组织学评分模型组明显高于正常组( $2.42 \pm 0.30$  vs  $0.28 \pm 0.29$ ,  $5.42 \pm 0.30$  vs  $0.30 \pm 0.48$ ,  $3.29 \pm 0.26$  vs  $0.05 \pm 0.20$ ,  $P < 0.01$ ), SB203580组较模型组明显下降( $1.24 \pm 0.17$ ,  $3.30 \pm 0.22$ ,  $1.10 \pm 0.74$ ,  $P < 0.01$ )。

**结论:** P38MAPK抑制剂SB203580通过下调p-ATF2活性及Bcl-2表达, 促进PBL的凋亡减轻UC大鼠肠道炎症损伤, 对UC具有保护作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 溃疡性结肠炎; P38丝裂原活化蛋白激酶; Bcl-2; 外周血淋巴细胞; 凋亡

**核心提示:** 本文通过观察p38丝裂原活化蛋白激酶超家族(mitogen-activated protein kinase)抑制剂对结肠炎大鼠外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)凋亡及相关调控蛋白的影响, 结果发现其可下调活化转录因子-2 (phosphor-activating transcription factor 2)活性及Bcl-2表达,

促进PBL凋亡, 减轻大鼠肠道炎症损伤, 对溃疡性结肠炎具有保护作用。

李军华, 周薇. P38MAPK抑制剂对溃疡性结肠炎大鼠外周血淋巴细胞凋亡及相关调控蛋白的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 668-673 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/668.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.668>

**■ 研发前沿**  
细胞信号通路是溃疡性结肠炎研究领域中的热点, 阻断导致肠道炎症损伤和免疫异常的信号通路的传导过程是溃疡性结肠炎治疗的又一新策略。

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是炎症性肠病的一种, 以肠道持续的慢性炎症为主要病理特征, 目前其病因和发病机制尚不十分清楚。一些研究表明, 细胞凋亡与UC发病关系密切, 免疫细胞凋亡延迟是UC炎症持续存在的主要原因之一<sup>[1-3]</sup>。p38蛋白激酶是丝裂原活化蛋白激酶超家族(mitogen-activated protein kinase, MAPK)中的重要成员, 其信号通路在炎症、细胞增殖、分化、凋亡等过程中发挥重要作用<sup>[4-7]</sup>。本研究通过观察P38MAPK特异性抑制剂对溃疡性结肠炎大鼠肠道损伤、外周血淋巴细胞(peripheral blood lymphocyte, PBL)及相关基因的影响, 探讨P38MAPK信号通路在溃疡性结肠炎中的可能作用和机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级健康成年♂大鼠45只, 体重180 ± 20 g。由武汉大学医学院实验动物中心提供。2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)(Sigma公司); 兔抗大鼠磷酸化的p-ATF2、Bcl-2单抗(Santa Cruz公司); SB203580(Calbiochem公司); RPMI 1640培养基为Gibco公司产品, SP、DAB试剂盒为晶美公司产品; Ficoll淋巴细胞分离液为天津TBD产品; Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒为南京凯基生物科技发展有限公司产品; 其他试剂为进口或国产分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物造模与处理:** 实验大鼠适应性喂养1 wk, 随机分为正常对照组、模型组及SB203580干预组共3组, 每组15只。模型组及SB203580组参照文献[8-10]建立大鼠溃疡性结肠炎模型。大鼠术前24 h禁食不禁水, 实验时以乙醚吸入麻醉大鼠, 采用橡胶软管由大鼠肛门轻柔插入结肠约8 cm, 每只大鼠以100 mg/kg注入5%(w/v)的2,4,6-三硝基苯磺酸(TNBS)/乙醇(体积比1:1)混合溶液。灌肠完成后倒提鼠尾轻摇大鼠半分钟, 防止灌注液倒流, 动物平躺放置自然清醒。正常对照组给予等量0.9%生理盐水灌

## ■相关报道

Feng等研究发现炎症性肠病中存在P38 MAPK信号通路的表达异常,其可通过对炎症细胞因子TNF- $\alpha$ 等表达的调控参与发病过程;同时也有研究表明在哮喘、急性胰腺炎等疾病中特异性阻断P38通路能够减轻炎症反应及损伤。

表 1 各组大鼠疾病活动指数及结肠大体形态、组织学损伤评分比较 ( $n = 15$ , mean  $\pm$  SD)

分组	DAI	大体评分	组织学评分
正常对照组	0.28 $\pm$ 0.29	0.30 $\pm$ 0.48	0.05 $\pm$ 0.20
模型组	2.42 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	5.42 $\pm$ 0.30 <sup>b</sup>	3.29 $\pm$ 0.26 <sup>b</sup>
SB203580组	1.24 $\pm$ 0.17 <sup>bd</sup>	3.30 $\pm$ 0.22 <sup>bd</sup>	1.10 $\pm$ 0.74 <sup>bd</sup>
F值	173.049	538.594	137.598

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组. DAI: 疾病活动指数.

表 2 各组大鼠肠组织p-ATF2及外周血PBL凋亡率、Bcl-2表达水平比较 ( $n = 15$ , mean  $\pm$  SD)

分组	p-ATF2(%)	PBL凋亡率(%)	Bcl-2表达率(%)
正常对照组	7.45 $\pm$ 1.26	58.70 $\pm$ 3.09	13.70 $\pm$ 2.45
模型组	43.40 $\pm$ 2.67 <sup>b</sup>	27.70 $\pm$ 3.02 <sup>b</sup>	38.60 $\pm$ 3.53 <sup>b</sup>
SB203580组	20.70 $\pm$ 2.79 <sup>bd</sup>	46.60 $\pm$ 4.14 <sup>bd</sup>	20.30 $\pm$ 2.87 <sup>bd</sup>
F值	600.077	204.302	186.744

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 正常对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 模型组. p-ATF2: 活化转录因子-2; PBL: 外周血淋巴细胞.

肠, SB203580组于造模完成后给予1 mg/(kg·d) SB203580腹腔注射. 2 wk后所有动物全麻下取材.

1.2.2 大鼠疾病活动度及肠组织损伤观察: 每日观察大鼠精神、食欲、活动等一般情况及大便、血便等消化系症状, 并计算疾病活动指数 (disease activity index, DAI)<sup>[11]</sup>. 肠组织标本取肛门至盲肠段, 沿肠管纵轴剪开, 冰生理盐水洗净, 参照文献[12]进行肠道大体形态评分. 结肠组织卷起来, 以4.0%多聚甲醛固定, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m连续切片, HE染色, 根据Fedorak积分标准进行病理组织学损伤评分<sup>[13]</sup>.

1.2.3 大鼠PBL提取及凋亡检测: 肠道取材前全麻下于大鼠尾静脉取血约5 mL, 肝素抗凝, 采用密度梯度离心法分离出PBL<sup>[14,15]</sup>. 以台盼蓝染色法检测PBL活力>96%. 将提取的PBL悬于含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液中, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6$ /L, 置于37  $^{\circ}$ C、体积分数5%的CO<sub>2</sub>培养箱内培养保存. 凋亡检测时以pH 7.4的PBS缓冲液洗涤2次后调整细胞浓度为 $1 \times 10^6$ /L上流式细胞仪检测, 操作步骤按Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒说明书进行.

1.2.4 大鼠PBL Bcl-2表达检测: 取培养保存的PBL以pH 7.4的PBS缓冲液洗涤2次, 调整细胞浓度为 $1 \times 10^6$ /L, 加入FITC标记的Bcl-2单抗, 常温孵育30 min. PBS缓冲液洗涤2次后加入碘化丙啶(propidium iodide, PI), 避光室温孵育30 min,

流式细胞仪检测, 计算Bcl-2阳性细胞表达率.

1.2.5 肠组织p-ATF2表达检测: 采用免疫组织化学SP法, 石蜡切片脱蜡水化, 经微波抗原修复, 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>孵育消除内源性过氧化物酶活性后, 以10%正常血清封闭非特异性抗原; 滴加1:100稀释的p-ATF2抗体, 4  $^{\circ}$ C过夜; 滴加生物素化二抗, 37  $^{\circ}$ C孵育10 min后滴加辣根过氧化物酶标记的卵白素工作液, 37  $^{\circ}$ C孵育15 min; 滴加抗体步骤之间均需PBS缓冲液洗涤3 $\times$ 5 min; DAB显色, 苏木素复染, 中性树脂封片. 显微镜下计算阳性细胞所占比例.

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件处理实验数据, 计量资料以mean  $\pm$  SD表示, 方差齐性检验采用单因素方差分析处理, 相关分析采取线性相关分析.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 大鼠一般情况及结肠损伤评分 TNBS造模大鼠出现精神倦怠, 活动减退, 食欲、体质量下降, 毛发失去光泽等改变; 可观察到腹泻, 黄色稀便或肛周体毛被稀便沾染, 约30%大鼠出现黏液血便. SB203580组经干预后上述症状逐渐减轻, DAI评分明显下降(表1). 模型组结肠黏膜充血、肿胀、糜烂多见, 可见散在溃疡及出血灶; 光镜下可见结肠上皮细胞坏死、脱落, 黏膜层及黏膜下层有较多炎症细胞浸润, 可见溃疡及隐窝脓肿形成. SB203580组大鼠肉眼及镜下结肠损



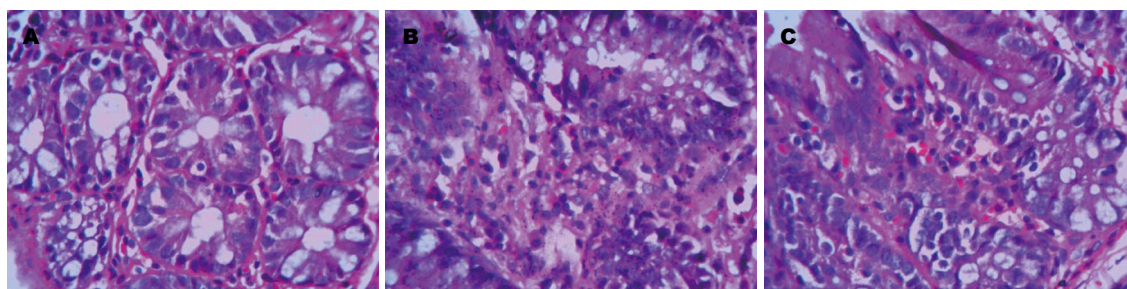


图1 结肠黏膜HE染色(×400). A: 正常对照组, 上皮细胞完整; B: 模型组, 见较多炎症细胞浸润; C: SB203580组, 腺体破坏较轻, 炎症细胞浸润减少, 但仍可见散在炎症细胞浸润.

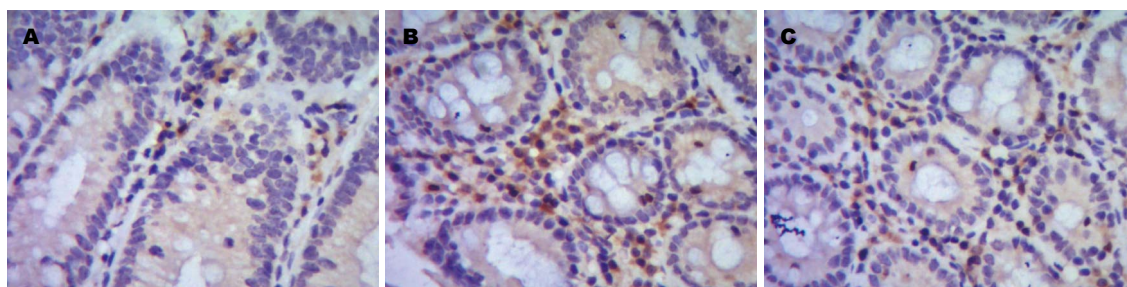


图2 p-ATF2表达免疫组织化学染色. A: 正常对照组, 见少许阳性细胞表达, 胞浆着色为主; B: 模型组, 阳性细胞表达密集, 胞浆着色为主, 部分见胞核着色; C: SB203580组, 阳性细胞明显减少.

#### ■创新盘点

有关溃疡性结肠炎中P38MAPK信号通路与细胞凋亡的关系目前鲜有研究报道, 本文发现P38MAPK信号通路活化可延迟外周血淋巴细胞凋亡, 导致肠道过度的炎症反应和损伤, 探讨了其对细胞凋亡的调控机制.

伤情况明显减轻, 黏膜充血水肿, 糜烂灶明显减轻或消失, 溃疡愈合, 结肠损伤大体评分及组织学评分均明显下降( $P<0.01$ , 表1, 图1).

**2.2 大鼠肠组织p-ATF2表达** p-ATF2阳性表达细胞以胞浆着色为主, 呈棕褐色, 胞核亦有少量着色, 阳性细胞多集中在黏膜固有层内. SB203580组中p-ATF2阳性表达率较模型组明显降低( $P<0.01$ , 表2, 图2).

**2.3 大鼠外周血PBL凋亡率及Bcl-2表达** 模型组大鼠PBL凋亡率明显低于正常组( $P<0.01$ ); SB203580组PBL凋亡率明显高于模型组( $P<0.01$ ), 但仍低于正常组( $P<0.01$ ). 与正常组相比, 模型组大鼠Bcl-2表达率明显上升( $P<0.01$ ), SB203580组干预后, Bcl-2表达明显下降, 但其表达水平仍高于正常组( $P<0.01$ ).

**2.4 p-ATF2表达水平与PBL凋亡率、Bcl-2表达率相关分析** 采用SPSS软件对上述指标进行线性相关分析, 得相关系数分别为 $r = -0.991$ ,  $0.985$ ( $P<0.01$ ); p-ATF2表达水平与PBL凋亡率呈显著负相关, 与Bcl-2表达率呈显著正相关.

### 3 讨论

UC目前病因仍未完全阐明, 可能涉及感染、遗传、免疫及环境等多个因素相互作用. 炎症因子网络失衡、免疫系统紊乱是导致UC肠道炎症

损伤持续存在或反复发作的重要因素, 而细胞凋亡与之关系密切; 资料表明, 在UC中, 结肠上皮细胞凋亡明显增多, 而淋巴细胞等免疫细胞凋亡延迟或减弱<sup>[16-18]</sup>. 本实验结果发现, 在UC大鼠外周血中, 淋巴细胞的凋亡率明显低于正常组大鼠, 提示UC中不仅仅在肠道局部, 外周血中的淋巴细胞液存在凋亡延迟情况.

P38是丝裂原活化蛋白激酶家族的成员之一, 是细胞内信号传递的重要分子, 在机体生理、病理过程如细胞生长、分化、凋亡及炎症、应激反应中起重要调控作用<sup>[4-7]</sup>. SB203580是一种人工合成的吡啶咪唑类制剂, 可特异性抑制P38MAPK活性, 其可竞争性结合P38MAPK的ATP位点, 抑制p38对下游分子如ATF2的磷酸化, 但并不影响p38的磷酸化过程<sup>[19,20]</sup>. 因此, 在SB203580干预情况下, 磷酸化的ATF2水平可以反映P38MAPK的酶活性. 近年来, 随着研究的不断深入, P38MAPK信号通路在炎症性肠病发病中的作用日益受到重视<sup>[21-24]</sup>, 研究表明<sup>[24]</sup>, P38MAPK信号通路可通过对UC中炎症细胞因子TNF- $\alpha$ 表达的调控参与UC的发病. 但在UC中, P38MAPK信号通路与细胞凋亡的关系目前尚未见报道. 本实验通过TNBS/乙醇灌肠复制溃疡性结肠炎模型, 采用P38MAPK选择性抑制剂SB203580进行干预, 结果发现, 模型组大



### ■同行评价

本文围绕溃疡性结肠炎防治开展研究,结果可信. 研究结果对丰富溃疡性结肠炎发病机理,寻求溃疡性结肠炎治疗新靶点方面有一定学术意义.

鼠肠组织p-ATF2表达较正常组明显升高,给予SB203580处理后,p-ATF2表达明显下降,且PBL凋亡率较模型组有明显上升,大鼠一般情况及肠道损伤情况明显改善,提示SB203580确实阻断了P38MAPK信号通路,并促进了UC大鼠外周血淋巴细胞的凋亡,减轻了肠道炎症损伤.

资料表明,P38MAPK可通过增强c-myc、TNF- $\alpha$ 表达,激活c-jun、c-fos,磷酸化P53,参与Fas/FasL途径等多种方式实现细胞凋亡调控,在细胞凋亡调控过程中作用关键<sup>[25-29]</sup>. ATF2在细胞增殖更新中亦发挥重要作用,其可诱导Bcl-2表达,从而引起下游效应<sup>[30]</sup>. Bcl-2是一个研究最早的细胞凋亡抑制基因,他与其同源蛋白Bax的比率可以调节细胞凋亡的速率<sup>[31,32]</sup>. 本实验进一步观察了p38特异性抑制剂对UC大鼠PBL中Bcl-2表达水平的影响,结果发现SB203580干预后,UC大鼠PBL中Bcl-2的表达率明显下降. 同时,相关分析结果显示,ATF2表达水平与Bcl-2的表达率呈显著正相关,而与PBL凋亡率呈显著负相关. 实验结果表明p38/ATF2-Bcl-2途径参与了UC大鼠外周血PBL的凋亡调控过程,其活化可延迟PBL的凋亡,导致肠道过度的炎症反应和损伤,而其特异性抑制剂SB203580可阻断这一过程. 总之,实验结果提示,阻断或调控p38信号通路有望成为溃疡性结肠炎防治的又一途径.

### 4 参考文献

- Araki Y, Mukaisyo K, Sugihara H, Fujiyama Y, Hattori T. Increased apoptosis and decreased proliferation of colonic epithelium in dextran sulfate sodium-induced colitis in mice. *Oncol Rep* 2010; 24: 869-874 [PMID: 20811666]
- Akcan A, Kucuk C, Sozuer E, Esel D, Akyildiz H, Akgun H, Muhtaroglu S, Aritas Y. Melatonin reduces bacterial translocation and apoptosis in trinitrobenzene sulphonic acid-induced colitis of rats. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 918-924 [PMID: 18240350]
- Pacheco RG, Esposito CC, Müller LC, Castelo-Branco MT, Quintella LP, Chagas VL, de Souza HS, Schanaider A. Use of butyrate or glutamine in enema solution reduces inflammation and fibrosis in experimental diversion colitis. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4278-4287 [PMID: 22969190]
- de la Cruz-Morcillo MA, Valero ML, Callejas-Valera JL, Arias-González L, Melgar-Rojas P, Galán-Moya EM, García-Gil E, García-Cano J, Sánchez-Prieto R. P38MAPK is a major determinant of the balance between apoptosis and autophagy triggered by 5-fluorouracil: implication in resistance. *Oncogene* 2012; 31: 1073-1085 [PMID: 21841826 DOI: 10.1038/onc.2011.321]
- Khan R, Khan AQ, Qamar W, Lateef A, Tahir M, Rehman MU, Ali F, Sultana S. Chrysin protects

against cisplatin-induced colon. toxicity via amelioration of oxidative stress and apoptosis: probable role of p38MAPK and p53. *Toxicol Appl Pharmacol* 2012; 258: 315-329 [PMID: 22155348 DOI: 10.1016/j.taap.2011.11.013]

- Zhang YP, Yao XX, Zhao X. Interleukin-1 beta up-regulates tissue inhibitor of matrix metalloproteinase-1 mRNA and phosphorylation of c-jun N-terminal kinase and p38 in hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 1392-1396 [PMID: 16552807]
- Ipaktchi K, Mattar A, Niederbichler AD, Hoesel LM, Hemmila MR, Su GL, Remick DG, Wang SC, Arbabi S. Topical p38MAPK inhibition reduces dermal inflammation and epithelial apoptosis in burn wounds. *Shock* 2006; 26: 201-209 [PMID: 16878030]
- Peterson TC, Peterson MR, Raoul JM. The effect of pentoxifylline and its metabolite-1 on inflammation and fibrosis in the TNBS model of colitis. *Eur J Pharmacol* 2011; 662: 47-54 [PMID: 21554874 DOI: 10.1016/j.ejphar.2011.04.030]
- Li JH, Yu JP, Yu HG, Xu XM, Yu LL, Liu J, Luo HS. Melatonin reduces inflammatory injury through inhibiting NF-kappaB activation in rats with colitis. *Mediators Inflamm* 2005; 2005: 185-193 [PMID: 16192667]
- 侯丽娟, 唐方, 王晓红, 孙晓萍. 溃疡性结肠炎模型的建立及影响因素. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 3242-3245
- 贺文成, 李谨, 周瑞, 唐平飞. 5-ASA对TNBS结肠炎大鼠血中性粒细胞凋亡及血清IL-8水平的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 1297-1302
- Mei Q, Yu JP, Xu JM, Wei W, Xiang L, Yue L. Melatonin reduces colon immunological injury in rats by regulating activity of macrophages. *Acta Pharmacol Sin* 2002; 23: 882-886 [PMID: 12370092]
- Fedorak RN, Empey LR, MacArthur C, Jewell LD. Misoprostol provides a colonic mucosal protective effect during acetic acid-induced colitis in rats. *Gastroenterology* 1990; 98: 615-625 [PMID: 2105254]
- 郑雪莲, 李园, 徐定远, 陈珂玲, 周总光. AEP大鼠外周血淋巴细胞的分离及其影响因素的探讨. *四川医学* 2007; 28: 1195-1196
- 陈肃标, 谢素和, 曾庆徐. 提高外周血淋巴细胞梯度离心分离率. *汕头大学医学院学报* 2001; 14: 135-137
- Buczyński J, Spychalski M, Ławska-Wierzhniewska A, Dziki A. Higher apoptosis index and proliferation index in colonocytes of patients with ulcerative colitis in remission. *Pol Przegl Chir* 2012; 84: 271-275 [PMID: 22842738 DOI: 10.2478/v10035-012-0046-8]
- Karakoyun B, Uslu U, Ercan F, Aydin MS, Yuksel M, Ogunc AV, Alican I. The effect of phosphodiesterase-5 inhibition by sildenafil citrate on inflammation and apoptosis in rat experimental colitis. *Life Sci* 2011; 89: 402-407 [PMID: 21806998 DOI: 10.1016/j.lfs.2011.07.005]
- Dirisina R, Katzman RB, Goretsky T, Managlia E, Mittal N, Williams DB, Qiu W, Yu J, Chandel NS, Zhang L, Barrett TA. p53 and PUMA independently regulate apoptosis of intestinal epithelial cells in patients and mice with colitis. *Gastroenterology* 2011; 141: 1036-1045 [PMID: 21699775 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.05.032]
- Su J, Cui X, Li Y, Mani H, Ferreyra GA, Danner RL, Hsu LL, Fitz Y, Eichacker PQ. SB203580, a p38 inhibitor, improved cardiac function but worsened lung injury and survival during Escherichia coli pneumonia in mice. *J Trauma* 2010;

- 68: 1317-1327 [PMID: 20068480 DOI: 10.1097/TA.0b013e3181bb9cd3]
- 20 Henklova P, Vrzal R, Papouskova B, Bednar P, Jan-cova P, Anzenbacherova E, Ulrichova J, Maurel P, Pavek P, Dvorak Z. SB203580, a pharmacological inhibitor of p38 MAP kinase transduction pathway activates ERK and JNK MAP kinases in primary cultures of human hepatocytes. *Eur J Pharmacol* 2008; 593: 16-23 [PMID: 18655782 DOI: 10.1016/j.ejphar.2008.07.007]
- 21 Feng YJ, Li YY. The role of p38 mitogen-activated protein kinase in the pathogenesis of inflammatory bowel disease. *J Dig Dis* 2011; 12: 327-332 [PMID: 21955425 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2011.00525.x]
- 22 Zhao X, Kang B, Lu C, Liu S, Wang H, Yang X, Chen Y, Jiang B, Zhang J, Lu Y, Zhi F. Evaluation of p38 MAPK pathway as a molecular signature in ulcerative colitis. *J Proteome Res* 2011; 10: 2216-2225 [PMID: 21428429 DOI: 10.1021/pr100969w]
- 23 Mihaescu A, Santen S, Jeppsson B, Thorlacius H. p38 Mitogen-activated protein kinase signalling regulates vascular inflammation and epithelial barrier dysfunction in an experimental model of radiation-induced colitis. *Br J Surg* 2010; 97: 226-234 [PMID: 20034051]
- 24 易文全, 甘华田, 黄晓丽, 张蒙, 欧阳钦. p38丝裂原活化蛋白激酶抑制剂SB203580对溃疡性结肠炎肠黏膜肿瘤坏死因子 $\alpha$ 表达的影响. *中华内科杂志* 2007; 46: 747-750
- 25 Stoneley M, Chappell SA, Jopling CL, Dickens M, MacFarlane M, Willis AE. c-Myc protein synthesis is initiated from the internal ribosome entry segment during apoptosis. *Mol Cell Biol* 2000; 20: 1162-1169 [PMID: 10648601]
- 26 Waetzig GH, Seeger D, Rosenstiel P, Nikolaus S, Schreiber S. p38 mitogen-activated protein kinase is activated and linked to TNF-alpha signaling in inflammatory bowel disease. *J Immunol* 2002; 168: 5342-5351 [PMID: 11994493]
- 27 Matsui Y, Watanabe J, Ding S, Nishizawa K, Kajita Y, Ichioka K, Saito R, Kobayashi T, Ogawa O, Nishiya-ma H. Dicoumarol enhances doxorubicin-induced cytotoxicity in p53 wild-type urothelial cancer cells through p38 activation. *BJU Int* 2010; 105: 558-564 [PMID: 19583730 DOI: 10.1111/j.1464-410X]
- 28 Kornmann M, Ishiwata T, Kleeff J, Beger HG, Korc M. Fas and Fas-ligand expression in human pancreatic cancer. *Ann Surg* 2000; 231: 368-379 [PMID: 10714630]
- 29 Chen KC, Chiou YL, Chang LS. JNK1/c-Jun and p38 alpha MAPK/ATF-2 pathways are responsible for upregulation of Fas/FasL in human chronic myeloid leukemia K562 cells upon exposure to Taiwan cobra phospholipase A2. *J Cell Biochem* 2009; 108: 612-620 [PMID: 19670268]
- 30 马秦, 宋红, 程晓兵, 张浚睿, 陈富林, 吴炜, 毛天球. 活化转录调控因子2(ATF2)在下颌骨髁突软骨细胞中调控Bcl-2机制的研究. *实用口腔医学杂志* 2009; 25: 459-461
- 31 Ueyama H, Kiyohara T, Sawada N, Isozaki K, Kitamura S, Kondo S, Miyagawa J, Kanayama S, Shinomura Y, Ishikawa H, Ohtani T, Nezu R, Nagata S, Matsuzawa Y. High Fas ligand expression on lymphocytes in lesions of ulcerative colitis. *Gut* 1998; 43: 48-55 [PMID: 9771405]
- 32 Karamanolis DG, Kyrlagkitis I, Konstantinou K, Papatheodoridis GV, Karameris A, Mallas E, Ladas SD, Raptis S. The Bcl-2/Bax system and apoptosis in ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1085-1088 [PMID: 17629044]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 核素胃排空检查在功能性消化不良患者中的临床应用

张悦, 张遵城, 董萍, 董华, 肖连东, 王国强

## ■背景资料

功能性消化不良患者占胃肠病专科门诊患者的50%, 不仅影响患者的生活质量, 而且构成相当高的医疗费用, 因此已逐渐成为现代社会中一个主要的医疗保健问题。迄今功能性消化不良的病因及发病机制未完全明了。

张悦, 张遵城, 董萍, 董华, 肖连东, 王国强, 天津医科大学第二医院核医学科 天津市 300211

张悦, 硕士, 主治医师, 主要从事临床核医学影像检查工作。

作者贡献分布: 此课题由张遵城与张悦共同设计; 研究过程由张悦、肖连东及王国强完成; 图像处理与数据分析由董萍与董华完成; 论文书写由张悦完成; 文章审阅由张遵城完成。

通讯作者: 张遵城, 教授, 300211, 天津市河西区平江道23号, 天津医科大学第二医院核医学科。zhangzuncheng@sina.com

电话: 022-88329419

收稿日期: 2013-09-02 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-02-18

## Radionuclide gastric emptying scintigraphy in patients with function dyspepsia

Yue Zhang, Zun-Cheng Zhang, Ping Dong, Hua Dong, Lian-Dong Xiao, Guo-Qiang Wang

Yue Zhang, Zun-Cheng Zhang, Ping Dong, Hua Dong, Lian-Dong Xiao, Guo-Qiang Wang, Department of Nuclear Medicine, Tianjin Medical University 2nd Hospital, Tianjin 300210, China

Correspondence to: Zun-Cheng Zhang, Professor, Department of Nuclear Medicine, Tianjin Medical University 2nd Hospital, 23 Pinjiang Road, Hexi District, Tianjin 300210, China. zhangzuncheng@sina.com

Received: 2013-09-02 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To assess the use of gastric emptying scintigraphy with solid test meal in patients with function dyspepsia (FD) and normal subjects.

**METHODS:** Forty-two patients with function dyspepsia and 30 normal subjects underwent gastric emptying scintigraphy with  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA labeling egg solid meal. The standard curve of gastric emptying was plotted to figure out the half-time of gastric emptying and emptying rate at 60 and 120 min by three different methods: method 1 with the radioactivity of the anterior view, method 2 with the mean value of and method 3 with the geometric mean of the radioactivity of the anterior and pastier views as the y-axis of the standard curve of gastric emptying, respectively. The differences in half-times and gastric emptying rates at 60 and 120 min figured out by the three different methods were

compared between patients with FD and normal subjects.

**RESULTS:** One-way analysis of variance was performed to compare the differences in half-times. The half-time figured out by method 1 did not differ significantly from that by method 2 ( $P = 0.808$ ,  $P = 0.243$ ,  $P > 0.05$ ), but the half-time figured out by method 3 differed significantly from those by methods 1 and 2 (1 vs 3:  $P = 0.007$ ,  $P = 0.000$ ; 2 vs 3:  $P = 0.035$ ,  $P = 0.023$ ;  $P < 0.05$  for all). The half-time and gastric emptying rates at 60 and 120 min differed significantly between FD patients and normal subjects ( $P = 0.000$ ). Method 1 figured out 80.9%, method 2 figured out 71.4% and method 3 figured out 90.5% of FD patients had longer half-time than normal subjects.

**CONCLUSION:** Radionuclide  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA gastric emptying scintigraphy with solid meal is a simple, accurate, quantitative and physiologic method for measuring gastric motility in FD patients.

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

**Key Words:** Radionuclide imaging; Gastric emptying; Half-time; Function dyspepsia

Zhang Y, Zhang ZC, Dong P, Dong H, Xiao LD, Wang GQ. Radionuclide gastric emptying scintigraphy in patients with function dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 674-678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/674.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.674>

## 摘要

**目的:** 前瞻性研究评价放射性核素标记固体试餐胃排空检查对功能性消化不良(function dyspepsia, FD)患者及正常对照者胃排空功能的测定。

**方法:** 应用双探头SPECT对42例FD患者及30例对照者进行放射性核素标记物 $^{99m}\text{Tc}$ -二乙基三胺五乙酸( $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA)标记鸡蛋固体试餐胃排空检查, 分别以方法1试餐前位放射性、

■同行评议者  
陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科



方法2试餐前、后位放射性的算术平均数及方法3试餐前、后位放射性的几何平均数为纵坐标, 时间为横坐标绘制每个受试者的胃排空曲线并计算半排时间及60、120 min胃排空率, 比较3种计算半排时间方法的差异及FD患者与对照者半排时间及60、120 min胃排空率的差异。

**结果:** 3种计算半排时间方法差异的比较采用单因素方差分析, 其中方法1与2计算的半排时间之间差异不具有统计学意义( $P = 0.808$ ,  $P = 0.243$ ,  $P > 0.05$ ), 方法1、2与3计算的半排时间之间差异具有统计学意义(1与3:  $P = 0.007$ ,  $P = 0.000$ ; 2与3:  $P = 0.035$ ,  $P = 0.023$ ;  $P < 0.05$ ); 3种方法计算FD患者与对照者胃排空的半排时间及60、120 min胃排空率之间差异的比较采用 $t$ 检验, 且差异均具有统计学意义( $P = 0.000$ ); 分别以对照组半排时间为诊断标准, 方法1诊断出80.9%(34/42)FD患者的半排时间延长, 方法2诊断出71.4%(30/42), 方法3诊断出90.5%(38/42)。

**结论:** 核素 $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA固体试餐胃排空检查能够简单、定量反映胃排空的功能状态, 为FD的诊断及研究提供客观、准确的依据。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 核素显像; 胃排空; 半排时间; 功能性消化不良

**核心提示:** 核素胃排空检查是在生理状态下准确了解胃排空功能的常用方法, 是一种高灵敏、无创性、重复性好、具有定量和符合生理特点的检查手段, 对功能性消化不良(function dyspepsia)的发病机制研究、诊断、临床疗效判断、随访评价等提供准确、客观依据。

张悦, 张遵城, 董萍, 董华, 肖连东, 王国强. 核素胃排空检查在功能性消化不良患者中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 674-678 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/674.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.674>

## 0 引言

胃肠运动功能障碍是功能性消化不良(function dyspepsia, FD)发病的重要病理生理基础<sup>[1]</sup>, 主要表现为胃排空功能下降. 目前, 临床上胃排空功能测定主要有插管法、超声法、X线钡餐法、核素显像、药物吸收试验及 $^{13}\text{C}$ 呼气试验等方法, 其中以核素胃排空检查最优, 被认为是评价胃排空功能的金标准<sup>[1,2]</sup>. 我们对42例FD患者及

30例正常对照者进行核素 $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA固体试餐胃排空检查, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2011-12/2013-02我院消化科门诊, 符合罗马III<sup>[3,4]</sup>标准的患者42例, 男16例, 女26例, 平均年龄 $49 \pm 11.9$ 岁. 正常对照组30例(系本院同期健康查体的志愿者), 均无消化系统疾病症状及体征, 其中男14例, 女16例, 平均年龄 $42.5 \pm 10.7$ 岁. 所有受试者在检查前1-2 wk停用影响胃肠动力的药物, 隔夜禁食(至少8 h以上), 签署知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 试餐的制备和鉴定:** 放射性核素标志物为 $^{99m}\text{Tc}$ -二乙基三胺五乙酸( $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA), 由中国原子高科核技术有限公司公司提供, 放化纯度 $>95\%$ . 取37-74 MBq  $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA, 加入到120 g鸡蛋中搅匀, 油中煎炒至固体状, 加入两片面包中备用. 为了评价放射性核素和鸡蛋结合的稳定性, 计算结合百分率(%). 取已标记的煎炒成固体状的鸡蛋适量, 切碎成约 $3 \text{ mm}^3$ 大小, 以模拟咀嚼, 并测定其放射性, 然后加入含有胃蛋白酶(400 mg/L)的盐酸(浓度为0.08 nmol/L),  $37^\circ\text{C}$ 保温2 h, 以模拟胃内消化, 最后用两层纱布过滤, 离心滤液, 测定上清液的放射性, 按下式计算结合百分率(%): 结合百分率(%) = (标记鸡蛋放射性-上清液放射性)/标记鸡蛋放射性 $\times 100\%$ 。

**1.2.2 核素检查:** 显像仪器: 美国Picker公司PRISM 2000XP双探头SPECT, 配置低能高分辨平行孔准直器, 能峰140 KeV, 窗宽20%, 图像矩阵 $128 \times 128$ . 检查程序: 要求受试者在5 min内吃完试餐, 即刻(记为0 min)仰卧于检查床上, 使胃及大部分小肠位于探头视野中, 同时采集前、后位平面图像, 随后每隔15 min(记为15、30、45、60、75、90、105、120 min)采集一幅图像, 每帧采集60 s, 连续观察120 min, 若120 min时胃内试餐放射性下降未达到0 min时放射性的50%, 可延迟显像直至放射性降至50%以下. 显像间期允许受试者适当走动, 但每次显像的体位及图像采集条件一致. 为了验证核素检查方法的重复性, 采用简单随机化抽样的方法在对照组中选择8例于3 d内进行相同条件下的重复检查。

**1.2.3 图像及数据分析:** 在每个时间点采集到的前、后位图像上沿胃的最大轮廓划定感兴趣区域, 得到每个时间点试餐前、后位的放射性计数(前位Ct、后位Ct)并进行放射性衰变校正(前

## ■ 研发前沿

目前, 临床诊断功能性消化不良主要根据临床症状, 胃排空功能的测定是其最重要的辅助诊断手段, 测定方法主要有插管法、超声法、X线钡餐法、药物吸收试验、 $^{13}\text{C}$ 呼气试验及核素胃排空检查等, 其中以核素胃排空检查最优, 被认为是评价胃排空功能的金标准。

## ■相关报道

过去进行核素胃排空检查使用的是单探头的 $\gamma$ 照相机,仅采集前位图像,即以试餐前位放射性为纵坐标计算半排时间;现在使用双探头SPECT,能够同时采集前、后位图像,目前国内进行核素胃排空检查较少,且以前、后位放射性的算术平均数为纵坐标,但国外研究考虑需要对射线的散射、胃运动及胃在人体内的空间位置造成的探测的几何条件的改变进行校正,以前、后位放射性的几何平均数为纵坐标。

表 1 3种方法计算 $T_{1/2}$ 比较 (min)

分组	<i>n</i>	方法1	方法2	方法3	<i>P</i> 值
FD患者	42	142.5 ± 48.1	134.5 ± 55.8	102.0 ± 22.1	1与2: 0.808 1与3: 0.007 2与3: 0.035
对照组	30	79.4 ± 12.4	73.6 ± 7.8	66.7 ± 7.1	1与2: 0.243 1与3: 0.000 2与3: 0.023
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000	
<i>F</i> 值		22.898	16.315	39.082	

方法1: 以试餐前位放射性为纵坐标; 方法2: 以试餐前、后位放射性的算术平均数为纵坐标; 方法3: 以试餐前、后位放射性的几何平均数为纵坐标。FD: 功能性消化不良。

位Ct/K、后位Ct/K, K为放射性衰变常数)后得到试餐前、后位的放射性; 以试餐放射性为纵坐标, 时间为横坐标绘制以时间—放射性表示的胃排空曲线。采用3种方法绘制胃排空曲线, 方法1: 以试餐前位放射性为纵坐标; 方法2: 以试餐前、后位放射性的算术平均数为纵坐标; 方法3: 以试餐前、后位放射性的几何平均数为纵坐标。分别对3种方法绘制的曲线进行线性拟和得到直线及公式, 根据直线公式计算胃排空的半排时间(half-time,  $T_{1/2}$ ): 即试餐放射性降至0 min时放射性一半的时间; 分别根据60、120 min时胃内试餐的放射性计算60、120 min胃排空率(gastric emptying rate, GER)。GER计算公式如下: 某时间GER(%) = (1-某时间试餐放射性/0 min时试餐放射性) × 100%。

**统计学处理** 采用SPSS11.5软件对所得数据进行统计学分析, 胃排空的 $T_{1/2}$ 及60、120 min GER用mean ± SD表示。3种计算 $T_{1/2}$ 方法之间的比较采用单因素方差分析; FD患者与对照者之间 $T_{1/2}$ 及60、120 min GER的比较采用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 标记试餐的稳定性** 采用简单随机化的方法对 $^{99m}\text{Tc}$ -DTPA标记的鸡蛋固体试餐抽样9次进行鉴定, 消化2 h后结合百分率均>95%(96.8%-98.5%), 说明标记试餐在检查过程中是稳定的。

**2.2 检查方法的重复性** 8例对照者于3 d内进行重复检查, 前、后两次检查结果显示: 受试者胃排空的 $T_{1/2}$ 最大差异在6%以内, 排除测定误差及两次检查时生理性差异的影响, 前、后两次检查

的差异明显比个体间的差异小, 说明检查重复性良好。

**2.3 3种计算 $T_{1/2}$ 方法的比较** 方法1与2计算的 $T_{1/2}$ 之间差异不具有统计学意义( $P > 0.05$ ), 方法1与3、2与3计算的 $T_{1/2}$ 之间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ , 表1)。

**2.4 FD患者与对照者 $T_{1/2}$ 及60、120 min GER比较** 3种方法计算FD患者及对照者胃排空的 $T_{1/2}$ 分别为: 142.5 min ± 48.1 min、134.5 min ± 55.8 min、102.0 min ± 22.1 min和79.4 min ± 12.4 min、73.6 min ± 7.8 min、66.7 min ± 7.1 min, 其差异均具有统计学意义( $P < 0.00$ , 表1)。分别以对照组 $T_{1/2}$ 的(mean ± SD)为诊断标准, 方法1诊断出34例FD患者 $T_{1/2}$ 延长, 占80.9%(34/42); 方法2诊断出30例FD患者 $T_{1/2}$ 延长, 占71.4%(30/42); 方法3诊断出38例FD患者 $T_{1/2}$ 延长, 占90.5%(38/42)。3种方法计算FD患者及对照者的60、120 min GER之间差异亦均有统计学意义( $P < 0.00$ , 表2)。

## 3 讨论

核素胃排空检查通过连续动态采集受试者胃内放射性核素标记试餐随时间变化的图像, 生成以试餐放射性为纵坐标、时间为横坐标的胃排空曲线, 获得衡量胃排空功能的指标, 如半排时间, 但其测定结果受很多因素影响, 如所用试餐成分、热量及体积, 试餐的核素标记率及稳定性, 检查体位及患者是否应用影响胃肠功能的药物等<sup>[5,6]</sup>。Américo等<sup>[6]</sup>通过研究认为同一人用不同体积固体试餐测得的半排时间不同, 试餐体积越大, 测得的半排时间越长; 此外, 站立位时胃排空速率较仰卧位时快。以往进行核素胃排空检查使用单探头 $\gamma$ 照相机, 仅采集试餐的前

表 2 3种方法计算60 min、120 min GER(%)

	方法1		方法2		方法3	
	60 min	120 min	60 min	120 min	60 min	120 min
FD患者	28.5±3.7	50.2±7.9	30.7±3.4	51.8±7.6	33.5±3.6	55.5±7.6
对照者	49.4±8.0	76.6±6.9	54.1±8.0	78.4±7.1	57.4±7.9	81.2±7.0
t值	11.113	10.371	12.683	10.669	12.791	10.559
P值	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

方法1: 以试餐前位放射性为纵坐标; 方法2: 以试餐前、后位放射性的算术平均数为纵坐标;

方法3: 以试餐前、后位放射性的几何平均数为纵坐标. GER: 胃排空率; FD: 功能性消化不良.

位图像, 且粗略认为胃腔与探头是平行的, 而后位图像存在脊柱遮挡, 故仅以试餐前位放射性为纵坐标计算半排时间<sup>[6]</sup>, 如本研究中的方法1; 现在使用双探头SPECT检查仪器能够同时采集试餐的前、后位图像, 国内研究多以试餐前、后位放射性的算术平均数为纵坐标计算半排时间, 如方法2, 而国外研究以试餐前、后位放射性的几何平均数为纵坐标计算半排时间, 如方法3. 为了比较3种计算半排时间方法的差异, 我们将其他影响因素标准化, 包括所用试餐及检查过程, 结果发现方法1与2计算的半排时间之间差异不具统计学意义, 方法1与3、2与3计算的半排时间之间差异具有统计学意义. 国外研究<sup>[7-9]</sup>认为在计算胃排空的半排时间时需要对接射线的散射、胃的运动及胃在人体内空间位置造成的探测的几何条件的改变进行校正, 因为胃腔与人体表面并不是平行的, 胃底位置靠近人体背侧, 而胃窦更接近腹侧; 食物由胃底向胃窦移动, 而胃底与胃窦收缩运动及排空方式亦不同, 这些差异的影响不容忽视, 所以采用计算试餐前、后位放射性几何平均数的方法对这些差异进行校正. 我们的检查结果表明无论对于FD患者还是对于对照者方法1与3、2与3计算的半排时间之间存在差异, 不能等同, 在实践工作中进行结果比较时需要注意.

FD是指具有上腹痛、上腹胀、早饱、嗝气、食欲不振、恶心、呕吐等临床症状, 经检查排除引起这些症状的器质性疾病的一组临床综合征, 症状可持续或反复发作, 是临床上最常见的一种功能性胃肠疾病<sup>[10,11]</sup>. FD的病因及发病机制未完全明了, 患者多存在胃排空功能障碍, 其诊断主要根据临床症状, 目前尚缺少准确、客观的诊断和评价依据<sup>[12]</sup>. 核素胃排空检查是在生理状态下准确了解胃排空功能的常用方法, 是一种高灵敏、无创性、重复性好、具有定量

和符合生理特点的检查手段. 根据所用试餐成分不同分为液体、固体及液体-固体混合食物试餐3种测定方法, 其中固体试餐胃排空检查灵敏度最高, 能够发现胃排空功能的轻度异常, 是目前应用最多的方法<sup>[13,14]</sup>. 我们采用放射性核素标记鸡蛋作为固体试餐, 制备简单, 稳定性高, 且合乎生理条件; 通过采集受试者胃内放射性核素标记试餐随时间变化的图像, 绘制胃排空曲线并获得衡量胃排空功能的指标: 半排时间及60、120 min胃排空率, 采用多个参数进行定量评价, 方法重复性好, 且测量准确. 检查结果证实FD患者与对照者的半排时间及60、120 min胃排空率的差异均具有统计学意义, 如以对照者半排时间的(mean±SD)为核素胃排空检查诊断功能性消化不良的标准, 大多数FD患者胃排空的半排时间延长(方法1诊断出80.9%FD患者半排时间延长; 方法2诊断出71.4%; 方法3诊断出90.5%), 与诸多文献报道一致<sup>[13-15]</sup>.

核素胃排空检查可以采用几何平均数的方法对试餐放射性进行校正并计算半排时间及胃排空率, 这些指标能够准确反映疾病状态下胃排空功能的异常变化, 对FD的发病机制研究、诊断、临床疗效判断、随访评价等提供准确、客观依据.

#### 4 参考文献

- 郭文娟, 张艳丽, 姚树坤, 尹立杰, 严珏, 李红磊. 功能性消化不良症状和近端胃功能的关系. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1623-1629
- 林敏, 郁立菲, 徐克勤, 薛乐宁. 胃排空检测方法的研究进展. 国际消化病杂志 2011; 31: 13-15.
- Ochi M, Tominaga K, Tanaka F, Tanigawa T, Yamagami H, Watanabe K, Watanabe T, Fujiwara Y, Arakawa T. Clinical classification of subgroups according to the Rome III criteria cannot be used to distinguish the associated respective pathophysiology in Japanese patients with functional dyspepsia. *Intern Med* 2013; 52: 1289-1293 [PMID: 23774536 DOI: 10.2169/internalmedicine.52.9205]
- 吴改玲, 蓝宇, 王纪, 闫冰, 张小晋. 胃运动和感觉功能

#### ■创新盘点

(1)采用双探头SPECT同时采集放射性试餐胃排空的前、后位图像, 分别以试餐前位放射性、前、后位放射性的算术平均数及几何平均数为纵坐标计算半排时间; (2)采用放射性核素标记鸡蛋作为固体试餐, 制备简单, 稳定性高, 且合乎生理条件; 检查过程简单, 方法重复性好; (3)采用多个参数进行定量评价, 且定量准确, 为FD的诊断及病情程度的判断提供客观准确的依据.



## ■同行评价

本文有一定的科学性和可读性。

- 5 Seok JW. How to interpret gastric emptying scintigraphy. *J Neurogastroenterol Motil* 2011; 17: 189-191 [PMID: 21602998 DOI: 10.5056/jnm.2011.17.2.189]
- 6 Américo MF, Ietsugu MV, Romeiro FG, Corá LA, Oliveira RB, Miranda JR. Effects of meal size and proximal-distal segmentation on gastric activity. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 5861-5868 [PMID: 21155008 DOI: 10.3748/wjg.v16.i46.5861]
- 7 Donohoe KJ, Maurer AH, Ziessman HA, Urbain JL, Royal HD, Martin-Comin J. Procedure guideline for adult solid-meal gastric-emptying study 3.0. *J Nucl Med Technol* 2009; 37: 196-200 [PMID: 19692450 DOI: 10.2967/jnmt.109.067843]
- 8 Braghetto I, Davanzo C, Korn O, Csendes A, Valladares H, Herrera E, Gonzalez P, Papapietro K. Scintigraphic evaluation of gastric emptying in obese patients submitted to sleeve gastrectomy compared to normal subjects. *Obes Surg* 2009; 19: 1515-1521 [PMID: 19714384 DOI: 10.1007/s11695-009-9954-z]
- 9 Maurer AH. Advancing gastric emptying studies: standardization and new parameters to assess gastric motility and function. *Semin Nucl Med* 2012; 42: 101-112 [PMID: 22293165 DOI: 10.1053/j.semnucled.2011.10.001]
- 10 Koskenpato J, Punkkinen JM, Kairemo K, Färkkilä M. Nizatidine and gastric emptying in functional dyspepsia. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 352-357 [PMID: 17682943 DOI: 10.1007/s10620-007-9898-x]
- 11 Vanheel H, Vanuytsel T, Van Oudenhove L, Farré R, Verbeke K, Tack J. Postprandial symptoms originating from the stomach in functional dyspepsia. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: 911-e703 [PMID: 23992049 DOI: 10.1111/nmo.12227]
- 12 于方. 功能性消化不良发病机制的研究进展. *中国疗养医学* 2013; 22: 515-517.
- 13 Miwa H, Watari J, Fukui H, Oshima T, Tomita T, Sakurai J, Kondo T, Matsumoto T. Current understanding of pathogenesis of functional dyspepsia. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 53-60 [PMID: 21443711 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06633.x]
- 14 Misiara GP, Troncon LE, Hara SH, Secaf M. Dynamic antral scintigraphy following solid and liquid meals in healthy human subjects. *Nucl Med Commun* 2007; 28: 479-483 [PMID: 17460539 DOI: 10.1097/MNM.0b013e32815aa5f7]
- 15 Talley NJ, Locke GR, Lahr BD, Zinsmeister AR, Tougas G, Ligozio G, Rojavin MA, Tack J. Functional dyspepsia, delayed gastric emptying, and impaired quality of life. *Gut* 2006; 55: 933-939 [PMID: 16322108 DOI: 10.1136/gut.2005.078634]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

# 冰帽参与治愈显著肝性脑病后患者认知功能的评价

张玉波, 刘振坤, 陈立敏, 袁亚松, 纪志伟, 李佳桂

张玉波, 刘振坤, 纪志伟, 涿州市医院急诊科 河北省涿州市 072750

陈立敏, 涿州市医院消化科 河北省涿州市 072750

袁亚松, 李佳桂, 涿州市医院重症监护室 河北省涿州市 072750

张玉波, 主治医师, 主要从事肝硬化和胰腺炎的研究.

作者贡献分布: 本课题由张玉波设计并撰写论文; 刘振坤与陈立敏进行数据分析; 由张玉波、刘振坤、陈立敏、袁亚松、纪志伟及李佳桂共同收集资料完成.

通讯作者: 张玉波, 主治医师, 072750, 河北省涿州市范阳西路129号, 河北省涿州市医院急诊科. qaz301214@126.com  
电话: 0312-5521022

收稿日期: 2013-11-22 修回日期: 2013-12-13

接受日期: 2013-12-19 在线出版日期: 2014-02-18

## Assessment of cognitive function of patients after resolution of overt hepatic encephalopathy with ice cap participated treatment

Yu-Bo Zhang, Zhen-Kun Liu, Li-Min Chen,  
Ya-Song Yuan, Zhi-Wei Ji, Jia-Gui Li

Yu-Bo Zhang, Zhen-Kun Liu, Zhi-Wei Ji, Department of Emergency Medicine, Zhuozhou City Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China

Li-Min Chen, Department of Gastroenterology, Zhuozhou City Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China

Ya-Song Yuan, Jia-Gui Li, Intensive Care Unit, Zhuozhou City Hospital, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China

Correspondence to: Yu-Bo Zhang, Attending Physician, Department of Emergency Medicine, Zhuozhou City Hospital, 129 Fanyang West Road, Zhuozhou 072750, Hebei Province, China. qaz301214@126.com  
Received: 2013-11-22 Revised: 2013-12-13  
Accepted: 2013-12-19 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To assess the cognitive function of patients after resolution of overt hepatic encephalopathy with ice cap participated treatment.

**METHODS:** Ninety patients diagnosed with grade 4 type C overt hepatic encephalopathy were randomly divided into 3 groups, a control group ( $n = 30$ ) undergoing conventional treatment + lactulose enema, a trial group ( $n = 30$ ) undergoing conventional treatment + ice cap, and another trial group ( $n = 30$ ) undergoing conventional treatment + ice cap + lactulose enema.

After the above treatments, 87 patients were back to conscious, and one week later, these patients (including 28 patients in the control group, 29 patients in the first trial group, and 30 patients in the another treatment group) were evaluated for cognitive function by the number connection test-A (NCT-A), number connection test-B (NCT-B), and inhibitory control test (ICT).

**RESULTS:** The times needed for both NCT-A and NCT-B were shortened in the two trial groups compared with the control group (NCT-A:  $42.00 \text{ s} \pm 7.91 \text{ s}$ ,  $39.20 \text{ s} \pm 9.95 \text{ s}$  vs  $46.61 \text{ s} \pm 10.55 \text{ s}$ ; NCT-B:  $114.48 \text{ s} \pm 27.05 \text{ s}$ ,  $100.30 \text{ s} \pm 31.32 \text{ s}$  vs  $120.68 \text{ s} \pm 28.68 \text{ s}$ ), but a significant difference was observed only between the second treatment group and control group ( $P = 0.004$ ,  $0.009$ ). In the inhibitory control test, after 6 similar 2-min runs, the lures were reduced in both trial groups compared with the control group ( $9.45 \pm 3.95$ ,  $7.43 \pm 4.02$  vs  $11.18 \pm 4.39$ ), but a significant difference was observed only between the second treatment group and control group ( $P = 0.001$ ). The correct target response rate was higher in both trial groups than in the control group ( $92.34\% \pm 4.90\%$ ,  $93.24\% \pm 3.31\%$  vs  $95.20\% \pm 3.52\%$ ), and a significant difference was observed only between the second treatment group and control group ( $P = 0.007$ ). The reduction for lure response may serve as a measure of learning improvement. In this study, the lure responses during runs 4-6 in the three groups were all less than those during runs 1-3, although the reduction was statistically significant ( $P \geq 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Ice cap can help to treat cognitive impairment in patients with overt hepatic encephalopathy whose consciousness had been recovered.

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

**Key Words:** Hepatic encephalopathy; Ice cap; Cognitive testing; Inhibitory control test

Zhang YB, Liu ZK, Chen LM, Yuan YS, Ji ZW, Li JG. Assessment of cognitive function of patients after

## ■背景资料

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是肝功能严重障碍和/或门体分流术后患者发生的以代谢紊乱为基础,神经、精神症状为主要表现的综合征,表现为认知功能障碍、行为异常、甚至昏迷、死亡,预后差,经积极治疗,患者神志恢复后,仍有心理智能障碍并逐渐进展恶化,严重影响患者的生活质量. HE发病机制尚不明确,普遍认为在高血氨症、炎症反应等因素的共同作用下,导致脑星状胶质细胞肿胀,进而引起脑水肿、颅内高压. 目前以降低血氨、抗炎对症治疗为主,而治疗性低温可直接减轻脑水肿、降低颅内压,改善机体炎症状态,综合保护脑功能,已应用于心肺复苏术后、缺血缺氧性脑病、急性肝衰竭的治疗,并取得了较好疗效,本文发现冰帽参与的综合治疗昏迷HE患者神志恢复后,亦有助于保护患者的认知功能.

## ■同行评议者

陈积圣, 教授, 中山大学孙逸仙纪念医院肝胆外科

## ■研究前沿

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)的发病机制、诊断、改善认知功能的治疗方法是目前研究的热点、难点、重点。探索简便的诊断轻微型HE的方法以及有效的改善认知功能的治疗手段是亟待解决的问题。

resolution of overt hepatic encephalopathy with ice cap participated treatment. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(5): 679-684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.679>

## 摘要

**目的:** 评估冰帽参与治愈显著肝性脑病后对患者认知功能的影响。

**方法:** 90例C型显著肝性脑病(依据West Haven标准分级为4级)患者, 随机分为3组接受如下治疗, 对照组(30例): 常规治疗+乳果糖灌肠; 试验1组(30例): 常规治疗+冰帽; 试验2组(30例): 常规治疗+冰帽+乳果糖灌肠。经治疗, 87例患者神志恢复正常(简易智能量表评分大于25分为诊断标准), 并在神志恢复正常后1 wk, 进入本研究(其中对照组28例; 试验1组29例; 试验2组30例)进行心理智能评估: 数字连接试验A、数字连接试验B、抑制控制试验。

**结果:** 数字连接试验A评估中, 与对照组( $46.61 \text{ s} \pm 10.55 \text{ s}$ )比较, 试验1、2组完成数字连接试验A所需时间均有缩短( $42.00 \text{ s} \pm 7.91 \text{ s}$ 、 $39.20 \text{ s} \pm 9.95 \text{ s}$ ), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P = 0.004 < 0.05$ )。数字连接试验B评估中, 与对照组( $120.68 \text{ s} \pm 28.68 \text{ s}$ )比较, 试验1、2组完成数字连接试验B所需时间均有缩短( $114.48 \text{ s} \pm 27.05 \text{ s}$ 、 $100.30 \text{ s} \pm 31.32 \text{ s}$ ), 但仅试验2组与对照的差异有统计学意义( $P = 0.009 < 0.05$ )。抑制控制试验6轮整体评估中, 与对照组( $11.18 \text{ 次} \pm 4.39 \text{ 次}$ )比较, 试验1、2组诱饵应答次数均有减少( $9.45 \text{ 次} \pm 3.95 \text{ 次}$ 、 $7.43 \text{ 次} \pm 4.02 \text{ 次}$ ), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P = 0.001 < 0.05$ )。而试验1、2组与对照组相比, 靶标应答正确率均有提高( $92.34\% \pm 4.90\%$ 、 $93.24\% \pm 3.31\%$ 、 $95.20\% \pm 3.52\%$ ), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P = 0.007 < 0.05$ )。第4-6轮诱饵应答次数较第1-3轮减少提示学习能力的改善, 在本次研究中, 3组患者第4-6轮的诱饵应答次数均较第1-3轮少, 但 $P \geq 0.05$ , 差异无统计学意义。

**结论:** 冰帽可有助于改善显著性肝性脑病患者意识恢复后的认知功能缺损。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝性脑病; 冰帽; 认知功能检测; 抑制控制试验

**核心提示:** 在综合治疗的基础上, 应用冰帽治疗

显著肝性脑病(overt hepatic encephalopathy, OHE)有利于缩短患者完成数字连接试验A/B所需的时间, 提高患者抑制控制试验中靶标应答率, 减少诱饵应答次数, 提示冰帽可有助于改善OHE患者意识恢复后的认知功能缺损。

张玉波, 刘振坤, 陈立敏, 袁亚松, 纪志伟, 李佳桂. 冰帽参与治愈显著肝性脑病患者认知功能的评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 679-684 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/679.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.679>

## 0 引言

肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)是临床上常见的一种以代谢紊乱为基础的神精精神异常综合征, 是严重肝病常见的并发症及死亡原因之一。患者可出现不同程度的智力、定向力、情感、行为、精细运动、意识等改变。根据临床症状的轻重分为轻微HE(minimal hepatic encephalopathy, MHE)和显著HE(overt hepatic encephalopathy, OHE)。因发病机制尚不明确, 目前以综合治疗为主, 目的是缓解病情, 及早恢复患者神志, 改善预后, 现有一线治疗为降低血氨药物乳果糖、利福昔明, 当OHE患者意识恢复后, 仍有认知功能缺损, 表现为心理智能障碍, 即MHE, 且认知功能缺损持续存在, 并随着MHE进展为OHE而进行性加重, 反复发作OHE, 最终导致患者明显智力、意识障碍甚至死亡。我们先前的研究证实局部治疗性低温即冰帽可通过减少血氨的产生及颅内转运、减少脑代谢、减轻脑水肿, 保护神经细胞, 缩短HE患者的昏迷时间。冰帽是否有利于改善HE患者的认知功能? 本文通过心理智能测试即传统笔试和计算机心理测试, 评价冰帽治疗OHE患者神志恢复后认知功能状况, 现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-09/2013-09在我院消化内科、感染科、急诊科、重症监护室收治的90例患者, 入选标准: 慢性肝炎肝硬化失代偿期的住院患者, 诊断为HE, 即C型HE<sup>[1]</sup>。采用West Haven标准对HE严重程度进行分级, 昏迷的4级患者入选<sup>[2]</sup>。排除标准: (1)其他疾病所致昏迷患者如低血糖、高血糖高渗性昏迷、肺性脑病、尿毒症、脑血管疾病等; (2)近4 wk内服用影响神经功能药物(如镇静剂、麻醉剂等)者; (3)酒精依赖尚未戒酒者、药物依赖者; (4)伴随严重心、



肺、肾疾病者及严重糖尿病者; (5) 颅脑外伤及颅脑手术史者; (6) 肝硬化合并原发性肝癌或合并其他恶性肿瘤者; (7) 本次发病前已经使用降氨药物、支链氨基酸等治疗者; (8) 孕妇、哺乳期妇女。

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: 90例患者随机分为3组, 对照组30例, 试验1组30例, 试验2组30例, 均予常规治疗: 去除诱因、限制经胃肠道蛋白摄入、纠正水电解质紊乱、抗感染、输白蛋白、输血浆、保肝(门冬氨酸鸟氨酸)。对照组加用乳果糖灌肠, 试验1组加用冰帽, 试验2组加用冰帽联合乳果糖灌肠。经治疗, 死亡3例, 神志恢复87例[简易智能量表(the mini-mental status examination, MMSE), 评分>25分为诊断标准]<sup>[3]</sup>, 87例患者均愿意参加心理智能评估。

1.2.2 评估项目: (1) 数字连接试验A(number connection test-A, NCT-A): 以计时方式测定患者连线1-25个数字点的时间, 评估患者心理运动的速度, 所需时间越长, 成绩越差; (2) 数字连接试验B(number connection test-B, NCT-B): 以计时方式测定患者连线数字与对应字母的时间, 评估患者心理运动速度, 注意力的定势转移与分配能力。同NCT-A, 完成试验时间越长, 成绩越差; (3) 抑制控制试验(inhibitory control test, ICT): 是应用计算机软件(下载自<http://www.hecme.tv>)测试受试对象的注意力及应答抑制能力。该试验包括练习和测试两部分: 电脑屏幕上每隔500 ms出现一个字母(A-Z任意一个), 其中散在X和Y, 在练习的前半段时间内, 要求受试者每看到X或Y后即按下空格键, 以建立起对X或Y的优先应答, 后半段时间里, 要求受试者仅对X和Y交替出现时按空格键即靶标应答, 而对X后跟X或Y后跟Y时不按任何键即抑制诱饵应答。练习完毕后进入测试部分, 分为六轮, 每轮持续约2 min, 共约15 min, 各轮中间允许受试者休息1 min, 全部测试共计40个诱饵, 212个靶标, 以1728个随机字母将诱饵(lures)或靶标(targets)分隔开, 测试完毕后, 软件自动计算诱饵应答出现的次数(以mean±SD表示)及靶标应答正确率(以%表示), 主要测试患者的警觉性、持续注意能力、反应能力及工作记忆。诱饵应答次数越低, 靶标应答率越高, 提示患者心理智能状态越好; (4) ICT前三轮及后三轮诱饵应答次数, 这两部分测试内容是一致的, 而后三轮诱饵应答的次数减少, 即成绩的提高, 提示受试者的学习能力改善, 可有

助于评估HE患者的学习能力。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件进行统计分析, 上述评估项目均可以计量资料(mean±SD)表示, 3组间数据比较行多样本均数比较的方差分析, 组内数据行独立样本t检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 患者一般临床资料 经治疗后, OHE发病诱因均有效消除, 不存在消化系出血、感染、电解质紊乱、便秘、腹泻等。87例患者一般临床资料: 对照组28例, 男22例, 女6例; 年龄47.8岁±8.2岁; 乙型肝炎肝硬化21例, 丙肝肝硬化3例, 酒精性肝硬化4例, 文化程度: 小学12例, 中学16例; 试验1组29例, 男24例, 女5例; 年龄49.3岁±8.2岁; 乙型肝炎肝硬化20例, 丙肝肝硬化5例, 酒精性肝硬化4例, 文化程度: 小学13例, 中学16例; 试验2组30例, 男21例, 女9例; 年龄51.2岁±8.1岁; 乙型肝炎肝硬化23例, 丙肝肝硬化4例, 酒精性肝硬化3例, 文化程度: 小学13例, 中学17例。各组患者肝功能Child-Pugh分级均为C级。

2.2 数字连接试验A评估 与对照组(46.61 s±10.55 s)比较, 试验1、2组NCT-A所需时间均有缩短(分别为42.00 s±7.91 s, 39.20 s±9.95 s), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P=0.004<0.05$ )。试验2组优于试验1组, 但差异无统计学意义( $P=0.262$ )。提示冰帽+乳果糖可缩短HE患者NCT-A完成时间, 改善患者的心理运动速度(表1)。

2.3 数字连接试验B评估 与对照组(120.68 s±28.68 s)比较, 试验1、2组NCT-B所需时间均有缩短(分别为114.48 s±27.05 s, 100.30 s±31.32 s), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P=0.009<0.05$ )。试验2组优于试验1组, 但差异无统计学意义( $P=0.065$ )。提示冰帽+乳果糖可缩短患者NCT-B完成时间, 改善患者心理运动速度, 提高注意力的定势转移与分配能力(表1)。

2.4 抑制控制试验6轮整体评估 与对照组(11.18次±4.39次)比较, 试验1、2组诱饵应答次数均有减少(分别为9.45次±3.95次, 7.43次±4.02次), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P=0.001<0.05$ )。而试验1、2组与对照组相比, 靶标应答正确率均有提高(分别为92.34%±4.90%、93.24%±3.31%、95.20%±3.52%), 但仅试验2组与对照组的差异有统计学意义( $P=0.007<0.05$ )。提示冰帽+乳果糖有利于改善患者

## ■ 相关报道

以往研究认为当显著肝性脑病(overt hepatic encephalopathy, OHE)患者的临床症状和体征消失后, 即表明患者的神经功能异常已完全纠正, 但Bajaj等经过一系列心理智能测验发现这些患者的认知功能缺损不能完全逆转, Chen等应用结构和功能性磁共振扫描亦证实了这个观点。治疗性低温具有脑保护作用, 已应用于急性肝衰竭、缺血缺氧性脑病的治理。

## ■创新盘点

本研究针对肝性脑病(hepatic encephalopathy, HE)主要发病病理脑水肿,脑代谢异常,在原有治疗基础上加用冰帽治疗的方法,首次应用随机对照试验研究冰帽应用于慢性肝病所致的HE,并通过心理智能测试评价患者的认知功能,从而得出治疗性低温有助于改善显著肝性脑病(overt hepatic encephalopathy, OHE)患者意识恢复后的认知功能缺损。

表 1 3组OHE患者经治疗神志恢复后心理智能测试结果

项目	对照组	试验1组	试验2组	试验1组与对照组比较 $P$ 值	试验2组与对照组比较 $P$ 值	试验1组与试验2组比较 $P$ 值
$n$	28	29	30			
NCT-A(s)	46.61 ± 10.55	42.00 ± 7.91	39.20 ± 9.95	0.072	0.004	0.262
NCT-B(s)	120.68 ± 28.68	114.48 ± 27.05	100.30 ± 31.32	0.424	0.009	0.065
ICT诱饵 应答次数	11.18 ± 4.39	9.45 ± 3.95	7.43 ± 4.02	0.117	0.001	0.064
ICT靶标应答率(%)	92.34 ± 4.90	93.24 ± 3.31	95.20 ± 3.52	0.383	0.007	0.061

表 2 分段评估3组患者在ICT中诱饵应答的次数(次)

项目	对照组	试验1组	试验2组
$n$	28	29	30
前三轮	8.64 ± 0.78	8.24 ± 0.99	7.97 ± 1.16
后三轮	7.39 ± 0.83	6.55 ± 1.35	5.20 ± 1.56
$F$ 值	0.278	3.906	4.02
$P$ 值	0.600	0.053	0.05

反应能力、抑制控制力、注意力及工作记忆力(表1)。

2.5 抑制控制试验分段评估 各组后三轮与前三轮诱饵应答次数均有所减少(表2),但 $P \geq 0.05$ ,差异无统计学意义。尚不能认为冰帽+乳果糖有助于改善OHE患者神志恢复后的学习能力。

### 3 讨论

HE是肝功能严重障碍和/或门体分流术后患者发生的以代谢紊乱为基础,神经、精神症状为主要表现的综合征。约30%-80%的肝硬化患者会发生不同程度的HE,除非及早行肝移植治疗,否则随着病程延长,出现HE后患者1年存活率42%,3年存活率仅23%<sup>[4]</sup>。

HE发病的确切分子机制还不清楚,普遍认为在高血氨症、炎症反应等因素的共同作用下,导致脑星状胶质细胞肿胀,进而引起脑水肿、颅内高压,神经细胞功能受损。不论HE严重程度如何,均存在一定程度的脑水肿<sup>[5]</sup>。目前治疗HE尚无特效治疗方法,综合的治疗方案主要是:(1)护肝,营养支持;(2)发现并消除其他并存的导致脑病的原因;(3)发现并治疗导致HE的诱发因素;(4)经验性药物治疗,主要包括:减少肠道内氨及其他毒素的产生与吸收:如乳果糖、利福昔明;降氨药物:如门冬氨酸鸟氨酸;乳果糖可酸化肠道减少氨的产生和吸收,并有缓泻作用,利于肠道内氨及毒素的排泄,从而改善HE<sup>[6]</sup>。但

乳果糖有腹胀、腹部痉挛性疼痛等不良反应,部分患者不耐受。利福昔明为广谱强效的不可吸收性抗生素,对肠道细菌生长具有抑制作用,减轻炎症反应,从而治疗并预防HE的发作<sup>[7]</sup>,应用前景好,但价格昂贵,国内尚未普及应用。门冬氨酸鸟氨酸可通过鸟氨酸循环,将血氨转化为尿素经肾代谢从体内排出,价格亦较贵,且疗效尚未肯定,不是一线用药。上述疗法均未直接改善HE的脑水肿、颅内高压的病理改变,且经内科合理治疗<sup>[8]</sup>、甚至肝移植后<sup>[9]</sup>,OHE患者神志虽可基本恢复,但患者的心理智能即认知功能缺损不能完全逆转,Chen等<sup>[10]</sup>应用结构和功能性磁共振扫描证实尽管在治疗OHE后神志精神明显好转,但脑功能受损确实存在。部分患者可经神经心理测试发现异常,仍可诊断为MHE,23%-30%MHE发展为OHE<sup>[11]</sup>,且MHE会逐渐加重发展为OHE,即认知功能障碍会有累积效应。导致OHE患者认知功能缺损且持续存在的机制目前尚不明确,可能是氨毒性未完全清除,其他毒性物质锰金属、炎症因子、硫醇蓄积颅内<sup>[12]</sup>,尸检结果及动物实验发现在海马、额皮质中,神经递质如神经类固醇、单胺、阿片样物质的发生一系列改变,均参与OHE的发病经过<sup>[13]</sup>。

治疗性低温(32 °C-35 °C)是一种切实有效的脑保护治疗措施,现已应用于急性肝衰竭<sup>[14]</sup>、缺血缺氧性脑病<sup>[15]</sup>和严重颅脑外伤<sup>[16]</sup>等疾病的治疗中,取得了较好效果。低温起效的机制是多重性的,他能在多个水平抑制导致脑损伤的级联反应,抑制氧化自由基和硝化自由基的产生,减少细胞外谷氨酰胺的生成,减慢蛋白质的代谢和血氨的生成,而起到明确的神经保护作用<sup>[17]</sup>。对于急性肝衰竭,治疗性低温可保护血脑屏障,减少血氨的产生及颅内转运、减少颅内乳酸的产生、抑制星状胶质细胞水肿及致炎因子的产生,从而减轻脑水肿,改善神志<sup>[18]</sup>。冰帽是最简单的一种选择性脑低温方法,可减缓脑代谢,减轻

脑水肿,降低颅内压,利于颅脑损伤及缺血性脑血管患者神智功能的恢复.研究表明颅内温度降低1℃,可使颅内代谢减少6%,其机制是限制氧耗和糖的消耗,减少能量耗竭的风险,预防钠泵衰竭,阻止钙离子内流,从而降低脑细胞死亡的风险.其亚细胞机制目前认为是减少兴奋性神经递质释放、自由基的生成,减少持续电除极,抑制炎症因子和凋亡路径,从而稳定血脑屏障,减轻脑水肿,恢复颅内压<sup>[19,20]</sup>.而研究认为延长低温治疗时间,可有助于改善神经功能<sup>[21]</sup>.

根据HE的发病机制、病理以及冰帽发挥疗效的机制,我们经随机对照研究证实冰帽可用于治疗4级C型HE,应用冰帽后试验组患者颅内温度降至34℃-35℃,躯体温度降至35℃-36℃,并稳定维持在该水平,而对照组温度在36℃-38℃之间,与对照组相比,试验组患者神志恢复时间缩短2-5 h,体温降低1℃-3℃,治疗前后血氨降低幅度增加,且体温降低程度越大,神志恢复越早.

本研究各组患者神志恢复后1 wk,我们对87例患者进行MMSE评分均高于25分,提示HE临床治愈.通过纸笔测试及计算机测试来评价患者的认知功能,与对照组及试验1组相比,试验2组患者完成NCT-A/B的时间均明显缩短,提示冰帽联合乳果糖治疗,有助于提高患者的心理运动速度,改善患者注意力的定势转移与分配能力.试验2组较对照组及试验1组相比,ICT中,诱饵应答次数减少,靶标应答正确率提高,差异有统计学意义,提示冰帽+乳果糖治疗有利于改善患者反应能力、抑制控制力、注意力及工作记忆力.上述结果表明在综合治疗的基础上,冰帽有助于减轻或延缓HE患者的神经认知功能减退.研究表明ICT中后三轮诱饵应答次数较前三轮减少即提示学习能力及工作记忆改善<sup>[22]</sup>,但我们进一步分析发现三组患者在ICT时,后三轮诱饵应答次数较前三轮相比虽有减少,但差异无统计学意义,提示发生OHE的患者学习能力受损,故从单一神经心理测试即ICT结果来看,可以认为认知能力在患者神志恢复后未完全改善,与Bajaj的研究结果<sup>[22]</sup>一致.但本研究发现试验1及2组后三轮诱饵应答低于前三轮,*P*值几乎接近0.05,考虑学习能力是有所提高的,分析原因:(1)样本量小,未能完全体现总体数据,今后可逐渐增加样本量以获得更准确性的结论;(2)评估时间短,本研究为经治疗神志恢复后1 wk所得数据,可通过长期随访,评估患者的心理智能状

况;(3)组合冰帽治疗HE确实有促醒、保护脑功能的作用.既往研究表明乳果糖、利福昔明单用或两者合用未能完全恢复OHE的认知功能<sup>[23]</sup>,并不能否定还存在其他方法,冰帽+乳果糖/利福昔明或者冰帽+乳果糖+门冬氨酸鸟氨酸可能是一种选择,随着对HE发病机制认识的深入,治疗HE的方法也将逐渐成熟、有效.

## 4 参考文献

- 1 肝性脑病诊断治疗专家委员会,成军,段芳龄,范建高,范小玲,郭利民,郭明洲,韩涛,刘景院,马雄,沈薇,施光峰,王宪波,乌云,谢雯,谢尧,邢卉春,袁平戈,杨永平,张福奎.肝性脑病诊断治疗专家共识.中华实验和临床感染病杂志(电子版) 2009; 3: 449-473
- 2 Eugene R. Schiff, Willis C. Maddrey, Michael F. Sorrell. Schiff's diseases of the liver. 11th ed. A John Wiley & Sons: Ltd., 2011: 424
- 3 Folstein MF, Folstein SE, McHugh PR. "Mini-mental state". A practical method for grading the cognitive state of patients for the clinician. *J Psychiatr Res* 1975; 12: 189-198 [PMID: 1202204 DOI: 10.1016/0022-3956(75)90026-6]
- 4 Bustamante J, Rimola A, Ventura PJ, Navasa M, Círrera I, Reggiardo V, Rodés J. Prognostic significance of hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis. *J Hepatol* 1999; 30: 890-895 [PMID: 10365817]
- 5 Prakash R, Mullen KD. Mechanisms, diagnosis and management of hepatic encephalopathy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 7: 515-525 [PMID: 20703237 DOI: 10.1038/nrgastro.2010.116]
- 6 Sharma P, Sharma BC, Agrawal A, Sarin SK. Primary prophylaxis of overt hepatic encephalopathy in patients with cirrhosis: an open labeled randomized controlled trial of lactulose versus no lactulose. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1329-1335 [PMID: 22606978 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07186.x]
- 7 Bass NM, Mullen KD, Sanyal A, Poordad F, Neff G, Leevy CB, Sigal S, Sheikh MY, Beavers K, Frederick T, Teperman L, Hillebrand D, Huang S, Merchant K, Shaw A, Bortey E, Forbes WP. Rifaximin treatment in hepatic encephalopathy. *N Engl J Med* 2010; 362: 1071-1081 [PMID: 20335583 DOI: 10.1056/NEJMoa0907893]
- 8 Mullen KD, Prakash RK. Management of covert hepatic encephalopathy. *Clin Liver Dis* 2012; 16: 91-93 [PMID: 22321467 DOI: 10.1016/j.cld.2011.12.006]
- 9 Sotil EU, Gottstein J, Ayala E, Randolph C, Blei AT. Impact of preoperative overt hepatic encephalopathy on neurocognitive function after liver transplantation. *Liver Transpl* 2009; 15: 184-192 [PMID: 19177446 DOI: 10.1002/lt.21593]
- 10 Chen HJ, Zhu XQ, Shu H, Yang M, Zhang Y, Ding J, Wang Y, Teng GJ. Structural and functional cerebral impairments in cirrhotic patients with a history of overt hepatic encephalopathy. *Eur J Radiol* 2012; 81: 2463-2469 [PMID: 22056487 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.10.008]
- 11 Huang E, Esrailian E, Spiegel BM. The cost-effectiveness and budget impact of competing therapies in hepatic encephalopathy - a decision analysis. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 26: 1147-1161 [PMID: 17894657]
- 12 Shawcross DL, Wright G, Olde Damink SW, Jalan

## ■应用要点

本研究以简单易行、便于基层医疗机构或家庭应用的方式即冰帽治疗HE,并通过笔试联合计算机测试评估患者的心理智能,提示对发病患者及早施行低温治疗,有助于缩短病程,减少认知功能的缺损,即减少医疗费用,又有助于提高患者生活质量、延长生存周期.



## ■同行评价

肝性脑病为严重肝病的常见并发症及死因,即使患者意识恢复,但仍有认知功能障碍。研究者在前期研究局部治疗性低温可治疗肝性脑病基础上进一步研究冰帽能否改善其认知功能,有一定临床治疗指导意义。

- R. Role of ammonia and inflammation in minimal hepatic encephalopathy. *Metab Brain Dis* 2007; 22: 125-138 [PMID: 17260161]
- 13 Ahboucha S, Layrargues GP, Mamer O, Butterworth RF. Increased brain concentrations of a neuroinhibitory steroid in human hepatic encephalopathy. *Ann Neurol* 2005; 58: 169-170 [PMID: 15984019]
- 14 Vaquero J. Therapeutic hypothermia in the management of acute liver failure. *Neurochem Int* 2012; 60: 723-735 [PMID: 21963992 DOI: 10.1016/j.neuint.2011.09.006]
- 15 De Georgia MA, Krieger DW, Abou-Chebl A, Devlin TG, Jauss M, Davis SM, Koroshetz WJ, Rordorf G, Warach S. Cooling for Acute Ischemic Brain Damage (COOL AID): a feasibility trial of endovascular cooling. *Neurology* 2004; 63: 312-317 [PMID: 15277626]
- 16 Clifton GL, Valadka A, Zygun D, Coffey CS, Drever P, Fourwinds S, Janis LS, Wilde E, Taylor P, Harshman K, Conley A, Puccio A, Levin HS, McCauley SR, Bucholz RD, Smith KR, Schmidt JH, Scott JN, Yonas H, Okonkwo DO. Very early hypothermia induction in patients with severe brain injury (the National Acute Brain Injury Study: Hypothermia II): a randomised trial. *Lancet Neurol* 2011; 10: 131-139 [PMID: 21169065 DOI: 10.1016/S1474-4422(10)70300-8]
- 17 González-Ibarra FP, Varon J, López-Meza EG. Therapeutic hypothermia: critical review of the molecular mechanisms of action. *Front Neurol* 2011; 2: 4 [PMID: 21331282 DOI: 10.3389/fneur.2011.00004]
- 18 Mpabanzi L, Jalan R. Neurological complications of acute liver failure: pathophysiological basis of current management and emerging therapies. *Neurochem Int* 2012; 60: 736-742 [PMID: 22100567 DOI: 10.1016/j.neuint.2011.10.014]
- 19 Feng JF, Zhang KM, Jiang JY, Gao GY, Fu X, Liang YM. Effect of therapeutic mild hypothermia on the genomics of the hippocampus after moderate traumatic brain injury in rats. *Neurosurgery* 2010; 67: 730-742 [PMID: 20651628 DOI: 10.1227/01.NEU.0000378023.81727.6E]
- 20 Truettner JS, Alonso OF, Bramlett HM, Dietrich WD. Therapeutic hypothermia alters microRNA responses to traumatic brain injury in rats. *J Cereb Blood Flow Metab* 2011; 31: 1897-1907 [PMID: 21505482 DOI: 10.1038/jcbfm.2011.33]
- 21 Wang H, Olivero W, Lanzino G, Elkins W, Rose J, Honings D, Rodde M, Burnham J, Wang D. Rapid and selective cerebral hypothermia achieved using a cooling helmet. *J Neurosurg* 2004; 100: 272-277 [PMID: 15086235]
- 22 Bajaj JS, Schubert CM, Heuman DM, Wade JB, Gibson DP, Topaz A, Saeian K, Hafeezullah M, Bell DE, Sterling RK, Stravitz RT, Luketic V, White MB, Sanyal AJ. Persistence of cognitive impairment after resolution of overt hepatic encephalopathy. *Gastroenterology* 2010; 138: 2332-2340 [PMID: 20178797 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.02.015]
- 23 Neff GW, Frederick RT. Assessing treatment patterns in patients with overt hepatic encephalopathy. *Hepatology* 2012; 56(Suppl S1): 945A

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 超声内镜辅助治疗恶性梗阻性黄疸105例

李明, 郝芳, 秦鸣放

李明, 郝芳, 秦鸣放, 天津市南开医院微创外科中心 天津市 300100

李明, 主要从事腹部外科疾病的微创治疗。

作者贡献分布: 李明负责研究设计、实施及数据处理、论文写作; 秦鸣放负责研究设计、实施及论文修改; 郝芳负责数据收集与统计计算。

通讯作者: 李明, 住院医师, 300100, 天津市南开区长江道6号, 南开医院天津市微创外科中心。lm\_peasant@hotmail.com

收稿日期: 2013-10-04 修回日期: 2013-12-23

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## Endoscopic ultrasonography for auxiliary treatment of malignant obstructive jaundice: An analysis of 105 cases

Ming Li, Fang Hao, Ming-Fang Qin

Ming Li, Fang Hao, Ming-Fang Qin, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, Tianjin 300100, China

Correspondence to: Ming Li, Resident Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, Tianjin Nankai Hospital, 6 Changjiang Road, Nankai District, Tianjin 300100, China. lm\_peasant@hotmail.com

Received: 2013-10-04 Revised: 2013-12-23

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

### Abstract

**AIM:** To assess the value of endoscopic ultrasonography in the auxiliary treatment of malignant obstructive jaundice.

**METHODS:** The clinical data for 105 patients with malignant obstructive jaundice who underwent endoscopic ultrasonography were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** One hundred and five patients who were diagnosed with malignant obstructive jaundice by both endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) and endoscopic ultrasonography were included. Based on the clinical condition, endoscopic metal biliary endoprosthesis were used in 61 patients, endoscopic retrograde biliary drainage in 39 patients, endoscopic nasobiliary drainage in 3 patients, and percutaneous transhepatic cholangial drain-

age in 2 patients. In the vast majority of patients, clinical symptoms were relieved and hepatic function was significantly recovered. The success rate of ERCP was 98.1%, and the rate of complications was 7.62%. Three patients had post-ERCP hyperamylasemia, 2 patients had mild cholangitis, and 3 patients had acute pancreatitis. During a follow-up period of 6.8 mo  $\pm$  5.3 mo (range, 1-18 mo), the half-year survival rate was 63.8% (67/105).

**CONCLUSION:** Endoscopic ultrasonography is a safe, effective and mildly invasive method for treating malignant obstructive jaundice.

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

**Key Words:** Endoscopic ultrasonography; Biliary stents; Malignant obstructive jaundice

Li M, Hao F, Qin MF. Endoscopic ultrasonography for auxiliary treatment of malignant obstructive jaundice: An analysis of 105 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 685-689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.685>

### 摘要

**目的:** 探讨超声内镜在辅助治疗恶性梗阻性黄疸中的临床价值。

**方法:** 回顾性分析我中心2010-02/2013-08超声内镜在105例恶性梗阻性黄疸患者中的临床效果。

**结果:** 105例患者行超声内镜检查均考虑恶性梗阻性疾病, 61例置入金属支架, 39例置入塑料支架, 3例患者行放置鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)引流, 2例患者行经皮经肝胆管引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)治疗, 十二指肠镜逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)操作成功率98.1%(103/105)。治疗后患者临床症状均见明显缓解, 复查肝功能明显改善。术

### ■背景资料

恶性胆道梗阻在临床上并不少见, 该病起病隐匿, 很多患者就诊时已发展至晚期, 失去手术根治的机会, 如何解除梗阻、消除黄疸, 进行有效的胆道引流, 从而减轻患者的痛苦、提高生存质量成为了治疗此类疾病的重要目标, 随着超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)的不断发展, 该项技术在此类疾病有着越来越多的应用。

### ■同行评议者

李健丁, 教授, 山西医科大学第一医院放射科CT室

## ■ 研发前沿

近年来随着内镜及介入技术的发展与成熟,经内镜下胆道引流术已广泛应用于恶性胆道梗阻,他对解除梗阻、恢复胆汁引流、缓解患者的症状具有确切的疗效,EUS在这方面的辅助作用得到了越来越多的体现。

后高淀粉酶血症3例,轻度胆管炎2例,急性胰腺炎3例,并发症发生率7.62%(8/105),随访1-18 mo(平均 $6.8 \text{ mo} \pm 5.3 \text{ mo}$ ),半年生存率63.8%(67/105)。

**结论:** 超声内镜辅助治疗恶性梗阻性黄疸微创、有效。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 超声内镜;胆道支架;恶性梗阻性黄疸

**核心提示:** 超声内镜在恶性梗阻性黄疸的姑息治疗中具有诊断准确性高,并发症少,存活率较高,操作简便,创伤小,患者痛苦少,并且可以根据超声内镜对肿瘤进行分期,提高临床诊断准确性,有助于评估手术可行性,并可辅助制定详细方案,提供新思路。

李明, 郝芳, 秦鸣放. 超声内镜辅助治疗恶性梗阻性黄疸105例. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 685-689 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/685.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.685>

## 0 引言

恶性梗阻性黄疸(malignant obstructive jaundice, MOJ)是由于恶性肿瘤侵及或压迫肝外胆道出现肝外胆管或肝内胆管阻塞所致的黄疸,临床主要表现为皮肤巩膜黄染、恶心呕吐、瘙痒、浓茶样尿及褪色样便等。传统主要以外科手术为重要的根治方法,但手术创伤较大,尤其不适应于晚期恶病质患者。随着内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangio pancreatography, ERCP)及超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)技术的发展,为临床治疗恶性梗阻性黄疸提供了新思路。本文主要回顾性分析2010-02/2013-08于天津市南开医院微创外科中心治疗的105例恶性梗阻性黄疸患者,具体分析报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本组105例患者,男62例,女43例,平均年龄62.3岁(43-81岁),均因不同程度皮肤巩膜黄染、上腹不适、消瘦乏力、恶心呕吐、浓茶样尿及陶土样便就诊。其中97例患者根据临床表现,血液化验及B超、CT、MRCP或超声内镜(术中检查)等影像学检查定性诊断为恶性梗阻性黄疸,8例有病理学检查结果,均证实为恶性梗阻性黄疸手术治疗效果较差或拒绝行手术

治疗的患者。治疗前患者黄疸病史7-87d,平均27.5 d。采用日本FUJINON公司的ED-250电子十二指肠镜、标准ERCP造影导管、SP702超声内镜及P2620超声探头,美国COOK公司标准乳头切开刀、针状切开刀、德国ERBE-ICC80高频电发生器、美国BOSTON公司标准及超滑亲水导丝、气囊导管、胆道扩张探条、胆管推送导管、支架释放导管、WALLSTEN和STERCKER可膨式胆道金属支架(直径8-10 mm,长度50-80 mm)、鼻胆引流管(7.0-8.5 Fr)等。

### 1.2 方法

**1.2.1 内镜检查及治疗:** 常规行十二指肠镜ERCP,插镜过幽门进入十二指肠降段寻找乳头,常规行内镜下乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST),插管成功同时行胆管腔内超声(intraductal ultrasonography, IDUS)检查,将微型超声探头插入胆管内自近端向远端多次扫查梗阻部位,对于部分因肿瘤转移等所致插管困难患者,在EUS指导下插管并扫查梗阻部位,之后选择扩张明显且引流范围最广的胆管,根据胆管狭窄的长度选择合适的胆道金属支架(endoscopic metal biliary endoprosthesis, EMBE)或塑料支架(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)进行内引流,或先行放置鼻胆管引流(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)外引流减轻胆道压力,1 wk后再次放置胆道支架内引流。对ERCP不成功者改行经皮经肝胆管引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)行体外引流。所有操作均在患者及家属知情同意后进行。

**1.2.2 内镜治疗后处理:** 术后禁食水24 h,监测血尿淀粉酶情况,观察生命指征和腹部体征的变化,对术后出现寒战发热等胆管炎或胰腺炎患者予对症治疗;对术前腹痛、发热、黄疸等症状改善情况进行评估,记录内镜后2 wk内肝功能变化[血清胆红素、谷氨酰转氨酶(glutamyl transferase, ALT)、谷氨酰转氨酶(gamma glutamyl transpeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)],进行统计学分析。

**1.2.3 疗效观察:** 减黄效果按以下标准评判: 黄疸迅速消退,1 wk内TBIL下降超过1/3,或2 wk内降至 $50 \mu\text{mol/L}$ 以下;一般: 黄疸有所下降,1 wk内TBIL下降不足1/3,或2 wk内未降至 $50 \mu\text{mol/L}$ 以下;无效: 黄疸下降程度不明显甚至上升<sup>[1]</sup>。

**统计学处理** 应用SPSS11.0软件进行数据,计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,两组均数比较用 $t$ 检



表 1 患者内镜治疗前后血清胆红素、谷氨酰转氨酶、谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶变化情况 ( $n = 105$ )

	术前	术后7 d
总胆红素( $\mu\text{mol/L}$ )	$351.2 \pm 29.1$	$101.9 \pm 23.4^a$
直接胆红素( $\mu\text{mol/L}$ )	$198.6 \pm 23.9$	$57.3 \pm 16.2^a$
谷丙转氨酶(U/L)	$286.3 \pm 45.2$	$92.7 \pm 20.1^a$
谷氨酰转氨酶(U/L)	$387.2 \pm 21.3$	$144.9 \pm 25.5^a$
碱性磷酸酶(U/L)	$165.5 \pm 37.6$	$73.3 \pm 27.1^a$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 术前。验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

随访时间1-18 mo(平均 $6.8 \text{ mo} \pm 5.3 \text{ mo}$ ), 除15例患者失访, 其余患者均得到门诊随访, 术后每1-2 mo复查肝功能, 若患者血清胆红素指数较支架后上升1-2倍以上, 则入院接受全面检查包括常规生化检查、CT或MRCP检查, 判断胆道支架阻塞者, 根据情况及患者治疗要求给予再次治疗方案。随访期间观察患者生存时间及支架通畅时间。半年生存率63.8%(67/105)。

本组病例内镜插管成功率98.1%(103/105), 61例置入金属支架, 39例置入塑料支架, 3例患者因导丝未能通过肿瘤狭窄部位仅单纯行ENBD引流。2例患者因肿瘤晚期恶病质严重未能成功插管改行PTCD治疗。术后高淀粉酶血症3例, 急性胰腺炎3例, 轻度胆管炎2例, 均经非手术治疗后在24-72 h内恢复正常, 并发症发生率为7.62%(8/105), 其中无出血、穿孔等内镜相关并发症发生, 无死亡报道。

本组患者行超声内镜检查均提示为恶性梗阻性黄疸, 诊断原发性肿瘤包括胆管癌53例(其中肝门部胆管癌27例, 胆管中段癌10例, 远端胆管癌16例), 胰头癌21例, 胆囊癌17例, 其他转移性肿瘤14例。具体超声表现为: 肿瘤多呈低回声, 少数可成高回声, 形态不规则, 内部回声不均匀, 边界不清晰, 病灶内可见散在的血流信号; 正常胆管壁结构破坏, 层次欠清晰; 可见肿瘤组织侵入周围组织。

105例患者在治疗后1wk, 黄疸明显消退, 其中满意69例(65.71%), 一般31例(29.52%), 无效5例(4.76%), 观察肝功能等指标, 可见血清胆红素、ALT、GGT、AKP(表1), 患者临床症状如皮肤巩膜黄染、腹胀、恶心呕吐、浓茶样尿、陶土样便均见改善。

## 3 讨论

恶性梗阻性黄疸是一类临床较常见疾病, 指由原发性胆管癌、壶腹癌、胰腺癌或肝癌压迫或其他部位癌肿淋巴结转移压迫胆道致肝内外胆管阻塞继发梗阻性黄疸<sup>[2]</sup>, 主要临床表现为进行性皮肤巩膜黄染、恶心呕吐、乏力纳差、浓茶样尿、陶土样便及消瘦等。他可引起进行性加重的梗阻性黄疸, 导致肝功能迅速恶化, 并易发生严重的感染、胃肠道出血及肾功能衰竭, 病死率很高<sup>[3]</sup>。传统以外科手术治疗为主, 但由于就诊时已出现严重黄疸, 甚至合并严重并发症, 全身状况差, 导致手术切除率较低, 预后较差<sup>[4]</sup>。目前随着ERCP及EUS技术的发展, 为姑息性治疗恶性梗阻性疾病提供了一种新方法, 减少患者痛苦, 尽可能延长生存期<sup>[5]</sup>。

文章中涉及的105例患者均因恶性肿瘤局部浸润致胆道梗阻, 按照梗阻部位, 大致可分为高位梗阻和低位梗阻。其中68例患者术前评估确诊为恶性肿瘤不可切除, 其余37例涉及壶腹周围癌及胰头癌者, 结合CT、EUS相关检查, 考虑肿瘤侵入门-肠系膜上静脉和肠系膜上动脉, 血管受侵犯范围较大, 无法行根治手术<sup>[6]</sup>, 均行超声内镜引导下支架置入姑息性治疗。

超声内镜是在内镜引导下, 在消化系腔内对消化系及消化系周围的脏器进行超声扫描的一种方法。我中心通常采用7.5或12 MHz的超声内镜, 此频率能清楚显示3-6 cm范围的病灶, 更适用于诊断肿瘤性疾病有无淋巴结转移。在超声内镜指导下插管成功后, 应用微型超声探头插入胆管内行腔内超声扫描, 其图像分辨率高, 可以更加准确的扫描胆管全长, 有利于发现小的病灶, 早期发现胆管癌, 并可对胆管癌进行分期, 较准确地显示肿瘤病变的侵犯深度<sup>[7]</sup>。正常胆管壁呈高、低、高3层回声结构, 恶性胆道梗阻的超声图像<sup>[8]</sup>为正常胆管壁结构破坏, 管壁可见边缘不规则的低回声肿块, 内部回声不均匀, 浸润至周围组织。并且超声内镜也有利于诊断其他肿瘤所致周围组织浸润及淋巴结转移。本组105例患者术中检查均考虑恶性梗阻性病变, 并在超声内镜指导下放置支架。此外, 鉴于不明原因的消化道疾病, 均可行超声内镜检查, 提高临床诊断的准确性<sup>[9]</sup>, 并有助于早期发现肿瘤及早治疗。

本组3例肝门部胆管癌患者因导丝未能通过肿瘤狭窄部位, 仅在超声内镜引导下单纯放置ENBD外引流。61例置入金属支架, 39例置入塑

## ■相关报道

EUS诊断胆管恶性疾病的总体准确性、敏感性、阳性预测值、阴性预测值及特异性分别为86.0%-94.1%、82.3%-84.0%、80.0%-84.2%、85.0%-93.3%、90.0%-96.0%。同时EUS对胆道恶性狭窄患者的T、N、M分期具有很高的准确性, 对于恶性梗阻性黄疸的姑息治疗具有很高的临床辅助价值。

### ■创新盘点

国内通过EUS辅助姑息性治疗恶性胆道梗阻的报道较少, 本研究中EUS的辅助作用, 为恶性梗阻性黄疸的治疗提供依据, 为独到之处, 具备诸多优点, 为治疗此类疾病的突破与亮点。

料支架, 均行内引流, 有效地防止胆汁的肝肠循环被阻断。有学者认为<sup>[10]</sup>, 金属支架对于生存期超过6 mo的患者总花费及住院天数低于使用塑料支架者, 而生存期不超过6 mo者则应用塑料支架更为合适。根据我中心治疗经验, 胆道金属支架及塑料支架可适用于无法根治性切除的恶性胆管梗阻患者, 预计存活3-6 mo或以上患者。一般塑料支架使用10-11.5 Fr支架, 引流效果好, 对于已堵塞的支架可根据情况应用导丝疏通及更换新支架或放置多支架, 同时在超声内镜引导下准确放置支架位置, 一般支架长度先端需越过梗阻段上缘1 cm, 尾端要距乳头外1 cm。胆道金属支架目前较多采用全覆膜可回收金属支架, 根据肿瘤继续生长的可能选择合适的直径及位置, 梗阻两端的支架长度应在2 cm以上为宜, 若支架阻塞, 可再置入一个内径较大或多根塑料支架引流, 并根据具体情况决定再次治疗与否及治疗方法<sup>[11,12]</sup>。

文中2例患者因肿瘤晚期恶病质严重未能成功插管改行PTCD治疗, 亦不失为一种较好的减黄方法, 取得一定的疗效, 但穿刺管有滑脱的可能性, 且不利于长期置管, 这些都使其临床治疗范围相对狭窄<sup>[13]</sup>。

ERCP术后的早期并发症有出血、穿孔、急性胆管炎、急性胰腺炎或高淀粉酶血症等。出血和穿孔大多与术者的技术水平和临床经验有关, 本组患者中无出血和穿孔发生。本组105例患者, 总的并发症发生率为7.62%(8/105), 无死亡报道, 内镜术后高淀粉酶血症3例, 急性胰腺炎3例, 均经非手术治疗后在24-72 h内恢复正常。轻度胆管炎2例, 国内有文献报道, ERCP术后胆管炎或胆管感染的发生率为0.35%-20.40%<sup>[14]</sup>, 这可能与术后早期金属支架膨胀不全, 引流较差有关。晚期并发症主要是支架阻塞。

本组病例半年生存率为63.8%(67/105)。术后患者的生存期与原发肿瘤的情况、恶性胆道梗阻的肝内外转移等密切相关。造成患者死亡的主要原因是肿瘤自身的生长, 支架治疗仅能解除胆道梗阻, 而对肿瘤本身并无直接的治疗作用, 为延长患者的生存期, 还应配合其他治疗, 如动脉灌注化疗、定位放疗、生物免疫治疗、射频消融、光动力疗法等<sup>[11]</sup>。

在行内镜操作时应注意以下几点: 支架长度的选择要合适, 精确测量梗阻或狭窄段上缘到乳头的距离是选择合适支架的关键, 在此长

度上增加1 cm左右的支架较为合适; 进行合理、适当的EST可以使支架的放置更为容易, 并且有利于术后胆道的引流; 必要时行胆道扩张, 在实际操作中常会遇到支架难以越过狭窄段的情况, 这时可使用胆道扩张探条或气囊行胆道扩张, 多可完成支架的放置; 如为高位胆道梗阻, 支架末端不必暴露于乳头外, 可置于胆管内<sup>[15]</sup>。

超声内镜联合胆道支架治疗恶性梗阻性黄疸患者的技术已日渐成熟, 相对于传统手术而言, 其诊断准确性高, 并发症少, 存活率较高, 操作简便, 创伤小, 患者痛苦少, 并且可以根据超声内镜对肿瘤进行分期<sup>[16]</sup>, 提高临床诊断准确性, 有助于评估手术可行性, 并对姑息性治疗恶性梗阻性疾病制定详细方案, 提供新思路。

### 4 参考文献

- 1 龚彪. 经内镜胆道金属支架引流术治疗恶性胆道梗阻的价值. 实用肿瘤杂志 2007; 22: 911-913
- 2 Oran NT, Oran I, Memis A. Management of patients with malignant obstructive jaundice. Nursing perspective from the interventional radiology room. *Cancer Nurs* 2000; 23: 128-133 [PMID: 10763284]
- 3 张景成, 康丽, 王悦友, 田国利, 董来春. 经内镜塑料支架置入治疗恶性胆道梗阻17例. 中国中西医结合消化杂志 2009; 17: 61-62
- 4 黄志强. 胆道癌外科治疗世纪回眸. 中华普通外科杂志 2001; 16: 69-72
- 5 Domagk D, Wessling J, Reimer P, Hertel L, Poremba C, Senninger N, Heinecke A, Domschke W, Menzel J. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography, intraductal ultrasonography, and magnetic resonance cholangiopancreatography in bile duct strictures: a prospective comparison of imaging diagnostics with histopathological correlation. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1684-1689 [PMID: 15330902]
- 6 Varadhachary GR. Preoperative therapies for resectable and borderline resectable pancreatic cancer. *J Gastrointest Oncol* 2011; 2: 136-142 [PMID: 22811843 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2011.030]
- 7 李焕喜, 秦鸣放, 王震宇, 王光霞. 胆管腔内超声对胆管良恶性狭窄的鉴别诊断. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2515-2517
- 8 Kim HM, Park JY, Kim KS, Park MS, Kim MJ, Park YN, Bang S, Song SY, Chung JB, Park SW. Intraductal ultrasonography combined with percutaneous transhepatic cholangioscopy for the preoperative evaluation of longitudinal tumor extent in hilar cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 286-292 [PMID: 19780880 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.05944.x]
- 9 Victor DW, Sherman S, Karakan T, Khashab MA. Current endoscopic approach to indeterminate biliary strictures. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6197-6205 [PMID: 23180939 DOI: 10.3748/wjg.v18.i43.6197]
- 10 Nguyen K, Sing JT. Review of endoscopic techniques in the diagnosis and management of cholangiocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 2995-2999 [PMID: 18494049 DOI: 10.3748/wjg.14.2995]

- 11 Bruha R, Petrtyl J, Kubecova M, Marecek Z, Dufek V, Urbanek P, Kodadova J, Chodounsky Z. Intraluminal brachytherapy and selfexpandable stents in nonresectable biliary malignancies--the question of long-term palliation. *Hepatogastroenterology* 2001; 48: 631-637 [PMID: 11462891]
- 12 Maluf-Filho F, Retes FA, Neves CZ, Sato CF, Kawaguti FS, Jureidini R, Ribeiro U, Bacchella T. Transduodenal endosonography-guided biliary drainage and duodenal stenting for palliation of malignant obstructive jaundice and duodenal obstruction. *JOP* 2012; 13: 210-214 [PMID: 22406603]
- 13 夏永辉, 徐克, 苏洪英, 冯博. 晚期恶性梗阻性黄疸经皮介入治疗近期并发症的临床观察及处理. *当代医学* 2009; 3: 88-90
- 14 李兆申, 许国铭, 孙振兴, 邹晓平, 金震东, 邹多武. 诊断性与治疗性ERCP早期并发症与处理. *中华消化内镜杂志* 2002; 19: 77-80
- 15 吴瑜, 秦鸣放, 王庆, 勾承月, 李宁. 内镜金属支架姑息性治疗胆管远端恶性梗阻272例分析. *中国内镜杂志* 2011; 17: 383-385
- 16 Choi JM, Kim JH, Kim SS, Yu JH, Hwang JC, Yoo BM, Park SH, Kim HG, Lee DK, Ko KH, Yoo KS, Park do H. A comparative study on the efficacy of covered metal stent and plastic stent in unresectable malignant biliary obstruction. *Clin Endosc* 2012; 45: 78-83 [PMID: 22741136 DOI: 10.5946/ce.2012.45.1.78]

## ■同行评价

本文通过分析EUS在辅助治疗恶性梗阻性黄疸中的临床应用, 立意较新颖, 具有一定的指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

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

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



# 应用SELDI-TOF-MS技术筛选肝癌遗传性血清蛋白标志物

邓敬桓, 陈智平, 李山, 秦雪, 黄东萍

## ■背景资料

广西是全国乃至全球肝癌高发区之一, 乙型肝炎病毒感染是广西肝癌高发的主要致病因子, 在相同民族、相同生活环境、生活水平、生活习惯和生活条件下, 存在许多肝癌易发家系, 也有大量无癌家系。

邓敬桓, 陈智平, 黄东萍, 广西医科大学公共卫生学院 广西  
壮族自治区南宁市 530021

李山, 秦雪, 广西医科大学第一附属医院检验科 广西壮族自  
治区南宁市 530021

邓敬桓, 助理研究员, 硕士, 主要从事肝病蛋白组学的研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 2011GXNSFA018271

作者贡献分布: 论文写作与质谱分析由邓敬桓完成; 课题设计由  
陈智平完成; 试剂由秦雪提供; 数据分析由李山与黄东萍完成。

通讯作者: 陈智平, 教授, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区  
南宁市双拥路22号, 广西医科大学公共卫生学院。

nanyangtang@yahoo.com.cn

电话: 0771-5358877

收稿日期: 2013-12-06 修回日期: 2013-12-30

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-18

## Detection of hereditary serum markers for liver cancer using SELDI-TOF-MS protein chip technology

Jing-Huan Deng, Zhi-Ping Chen, Shan Li, Xue Qin,  
Dong-Ping Huang

Jing-Huan Deng, Zhi-Ping Chen, Dong-Ping Huang,  
College of Public Health, Guangxi Medical University,  
Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region,  
China

Shan Li, Xue Qin, the First Affiliated Hospital of Guangxi  
Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Au-  
tonomous Region, China

Supported by: the Guangxi Natural Science Foundation,  
No. 2011GXNSFA018271

Correspondence to: Zhi-Ping Chen, Professor, College of  
Public Health, Guangxi Medical University, 22 Shuangyong  
Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Re-  
gion, China. nanyangtang@yahoo.com.cn

Received: 2013-12-06 Revised: 2013-12-30

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To detect specific serum biomarkers for liver cancer using surface enhanced laser desorption inhibition time-of-flight ionization mass spectrometry (SELDI-TOF-MS), and establish a serum protein pattern for screening liver cancer prone families.

**METHODS:** Serum samples collected from 30 patients from liver cancer prone families and 30 patients from liver cancer-free families were

detected by SELDI-TOF-MS. The data were analyzed by Biomarker Wizard and BPS software to establish a serum protein pattern for screening liver cancer prone families. The pattern was evaluated by a blind test.

**RESULTS:** A total of 20 peaks showed significant differences between the two groups, among which 4 (9645.48, 3960.65, 7895.66, 5916.07 kDa) were chosen to establish a serum protein pattern for screening liver cancer prone families. The accuracy, sensitivity and specificity of the pattern was 92% (55/60), 93% (28/30) and 90% (27/30), respectively. The blind test showed that the sensitivity and specificity were 92% (23/25) and 90% (18/20), respectively.

**CONCLUSION:** SELDI-TOF-MS has a high sensitivity and specificity in screening specific hereditary serum biomarkers for liver cancer.

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

**Key Words:** Liver cancer; Familial pedigree; Surface enhanced laser desorption ionization time of flight mass spectrometry; Serum biomarker

Deng JH, Chen ZP, Li S, Qin X, Huang DP. Detection of hereditary serum markers for liver cancer using SELDI-TOF-MS protein chip technology. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(5): 690-694 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.690>

## 摘要

**目的:** 采用表面增强激光解析/电离飞行时间质谱技术(surface enhanced laser desorption inhibition time of flight ionization mass spectrometry, SELDI-TOF-MS)检测肝癌易发家系患者和无癌家系患者血清蛋白生物标志物, 比较两者间的蛋白差异, 建立筛选血清蛋白质谱模型并初步验证。

**方法:** 选择30例肝癌易发家系患者, 30例无癌

## ■同行评议者

程树群, 副教授,  
中国人民解放军  
第二军医大学东  
方肝胆外科医院  
综合治疗三科

家系患者,应用SELDI-TOF-MS技术及相应的计算机软件进行比较分析,检测肝癌易发家系患者血清蛋白质的特异性生物标志,建立肝癌易发家系患者的筛选模型,并对其进行了双盲法验证。

**结果:**肝癌易发家系组与对照组共有20个蛋白质差异有显著性,以其中4个蛋白标志物(9645.48、3960.65、7895.66和5916.07 kDa),建立的筛选模型检测灵敏度为93%(28/30),特异性为90%(27/30),准确率为92%(55/60)。盲法验证,灵敏度为92%(23/25),特异性为90%(18/20)。

**结论:**SELDI-TOF-MS技术具有高灵敏度和特异性,在肝癌易发家系的血清蛋白特异性生物标志物的筛选等方面具有较好的应用前景。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝癌; 家系; 表面增强激光解吸电离-飞行时间质谱; 血清蛋白标志物

**核心提示:** 本研究筛选出的20个有统计学意义的差异性蛋白峰可能就是我们要寻找的遗传性蛋白峰,肝癌易发家系组与无癌家系组在血清蛋白组学方面确实存在差异,再次验证原发性肝癌的发生与遗传具有密切相关性。

邓敬恒, 陈智平, 李山, 秦雪, 黄东萍. 应用SELDI-TOF-MS技术筛选肝癌遗传性血清蛋白标志物. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 690-694 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/690.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.690>

## 0 引言

肝癌易发家系包括肝癌高发家系和肝癌非高发家系,相关研究表明<sup>[1]</sup>,肝癌的发生发展是多因素参与的多环节的病理过程,除了与病毒寄生虫和细菌的感染、黄曲霉毒素的摄入、水源污染以及吸烟喝酒这些外环境致癌因素有关,自身遗传因素也具有一定的相关性。本实验采用表面增强激光解吸电离-飞行时间质谱技术,以肝癌无癌家系为参照,筛选出肝癌遗传性的血清蛋白标志物,为将来建立能够判断肝癌易发家系发生肝癌危险性的预测体系奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 肝癌易发家系包含肝癌高发家系和肝癌非高发家系两类。肝癌高发家系:直系亲属

中发生过2例或2例以上原发性肝癌病例的家系。肝癌非高发家系:直系亲属中发生过1例原发性肝癌病例的家系。无癌家系:直系亲属中未发生过任何恶性肿瘤病例的家系。广西医科大学在承担国家“六五”和“七五”攻关课题时,已在肝癌高发区建立了癌症登记网,掌握了肝癌高发区中肝癌高发家系、肝癌非高发家系和无癌家系成员名单,在患者经病理或临床诊断确诊且未经治疗的情况下说明了采血的要求,给予知情权,并征得研究对象同意,在2010-01/2013-03期间,采集到肝癌高发家系患者30例血清,肝癌非高发家系患者25例血清,肝癌无癌家系患者50例血清。其中以相同的生活环境、生活习惯、相同职业、相同民族、相同性别、年龄±5岁作为配对条件,选取肝癌高发家系患者15例,肝癌非高发家系患者15例作为肝癌易发家系组,对照组肝癌无癌家系患者30例,用于筛选模型的建立,剩余样本用于所建模型的双盲法验证。尿素、3-环乙胺-1-丙磺酸、乙腈、二硫苏糖醇、醋酸钠、三氟乙酸、羟乙基哌嗪乙磺酸、芥子酸、超纯水均购自美国西格玛(Sigma)公司;蛋白芯片生物系统及CM10芯片购自美国赛弗吉(Ciphergen)公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 样品收集与预处理:**所有血样均于清晨空腹采集,放置4℃冰箱2 h后,1000 r/min离心10 min,冰浴上分装血清于-80℃低温冰箱保存备用。检测前取出血清样品,置冰盒上溶解;以1000 r/min,4℃离心2 min;取血清10 μL,加入2倍体积9 mol/L Urea缓冲液(含DTT)稀释,将样品冰浴震荡30 min;将30 μL上述变性后样品加入360 μL的50 mmol/L NaAC(pH 4.0)缓冲液,立即混匀。

**1.2.2 芯片预处理、上样和洗脱:**将CM10芯片装入生物芯片处理器,每孔加入200 μL 50 mmol/L NaAC(pH 4.0)缓冲液,震荡5 min,甩掉缓冲液。重复上述操作一次。在芯片处理器每孔中加入100 μL处理好的样品,4℃震荡1 h;弃去未结合样品,每孔加入200 μL的NaAC缓冲液,震荡5 min,甩去孔中液体,重复操作一次;每孔加入200 μL 1 mmol/L HEPES,然后立刻甩出;取出芯片待干后,在每个加样孔上加SPA 0.5 μL;待干后,重复加SPA一次。

**1.2.3 芯片检测、数据采集和参数设置:**采用PBS II C型蛋白芯片生物系统读取芯片信息。用加有标准蛋白质的All-in-one芯片校正仪器。芯片阅读仪参数设置如下:激光强度185,检测灵

### ■ 研发前沿

蛋白质的差异表达与肝癌发生发展存在着密切关系,这些易发家系家庭成员遗传的不同基因所表达的不同蛋白质本身可能具有发生肝癌的危险性。

## ■相关报道

肖开银等对101例家族聚集性肝癌家族史和临床进行分析,显示肝癌是遗传和环境因素相互作用的结果。

表 1 CM10芯片筛选肝癌易发家系组和肝癌无癌家系组血清差异蛋白的表达

差异蛋白峰的 相对分子质量	P值	蛋白质平均强度		差异蛋白质的 表达变化
		肝癌易发 家系组	肝癌无癌 家系组	
4700.91	0.00	1.13	3.62	↓
9125.89	0.00	1.89	3.21	↓
5317.22	0.00	4.65	8.04	↓
4856.19	0.00	3.14	2.28	↑
9645.48	0.00	28.1	4.95	↑
8282.61	0.00	4.12	6.16	↓
7679.40	0.00	3.74	4.11	↓
3960.65	0.00	0.27	3.58	↓
9179.55	0.00	8.11	6.96	↑
4760.91	0.00	4.39	2.85	↑
5916.07	0.00	3.35	10.65	↓
7554.67	0.00	1.95	1.15	↑
7895.66	0.00	11.49	3.27	↑
4598.00	0.00	23.47	27.60	↓
6315.22	0.00	10.54	6.96	↑
2742.85	0.00	8.05	5.29	↑
4681.23	0.00	1.18	2.47	↓
7847.62	0.00	3.14	1.57	↑
3565.86	0.00	3.89	1.78	↑
5701.52	0.01	2.71	4.92	↓

灵敏度8, 优化范围2000-10000, 最高相对分子质量50000, 芯片上的每个点采集130次。

1.2.4 分析差异蛋白: 用Proteinehip Software3.2 Software(BPS)对图谱进行标准化后, 筛选出有统计学意义的差异蛋白峰, 然后用Biomarker Wizard软件快速计算出有统计学意义相同相对分子质量的蛋白在肝癌易发家系组与对照组间峰值差异的表达强度, 最后以肝癌无癌家系组的蛋白质平均强度数值为参照进行比对两组差异蛋白质的表达变化。

1.2.5 诊断模型的建立与验证: 用Biomarker Pattern软件对两组间相同相对分子质量的差异表达蛋白峰值做线性分类分析, 经过进一步优化实验参数, 确定最佳的分类模型, 即诊断模型并输出原始判别结果, 用BPS进行交叉验证并输出结果, 以交叉验证为最终结果。

1.2.6 盲筛法验证诊断模型用剩余样本: 肝癌易发家系25例, 其中肝癌高发家系15例、肝癌非高发家系10例, 肝癌无癌家系组20例, 对上述建立的诊断模型进行盲法验证(masked analysis), 验证该模型的特异性和灵敏度。

**统计学处理** 数据的统计分析由统计软件包

表 2 模型中的4个蛋白所占的重要分值

Variable(变量)	Score(分值)	蛋白所占分值具体图示
M9645_48	100.00	
M3960_65	87.62	
M5916_07	67.40	
M7895_66	44.83	

SPSS10.0完成。两组间比较用t检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 蛋白质峰的初步筛选和评价 在相对分子质量2000-50000范围内共检测到45个蛋白质峰, 其中20个在两组间的比较差异有统计学意义( $P<0.05$ , 表1)。

2.2 诊断模型的建立与验证 将这些差异峰用BPS软件进行分析, 自动选取其中4个差异峰(9645.48、3960.65、5916.07、7895.66 kDa), 模型中的4个蛋白所占的重要分值(表2), 建立了筛选肝癌易发家系的诊断模型(图1), 此模型的根节点为9645.48 kDa, 首先根据此峰值强度, 28例标本被划分到左侧的枝结点, 32例被划分到右侧的枝结点, 又根据3960.65、5916.07、7895.66 kDa的峰值强度, 将标本进一步划分, 最终将60例标本划分开。经交叉验证该模型区分肝癌易发家系组和肝癌无癌家系组, 30例肝癌易发家系组有28例被正确划分, 30例肝癌无癌家系组有27例被正确划分, 该模型检测灵敏度为93%(28/30), 特异性为90%(27/30), 准确率为92%(55/60)。用该模型对肝癌易发家系25例(其中肝癌高发家系15例、肝癌非高发家系10例), 肝癌无癌家系组20例进行盲法验证, 23例肝癌易发家系, 18例肝癌无癌家系被区分正确, 盲法验证, 灵敏度为92%(23/25), 特异性为90%(18/20)。

## 3 讨论

蛋白质组是连接基因序列与细胞功能的桥梁。近年来, 人们认识到仅通过DNA序列来解释生物功能是不可能的, 蛋白质才是生命功能的主要执行者。而蛋白质组的研究方法现已广泛应用于临床各领域的研究<sup>[2]</sup>。特别是对原发性肝癌的发生、发展等方面的相关研究。

原发性肝癌的发生是多因素相互作用, 多途径多步骤长期作用的结果, 有外部的环境因素包



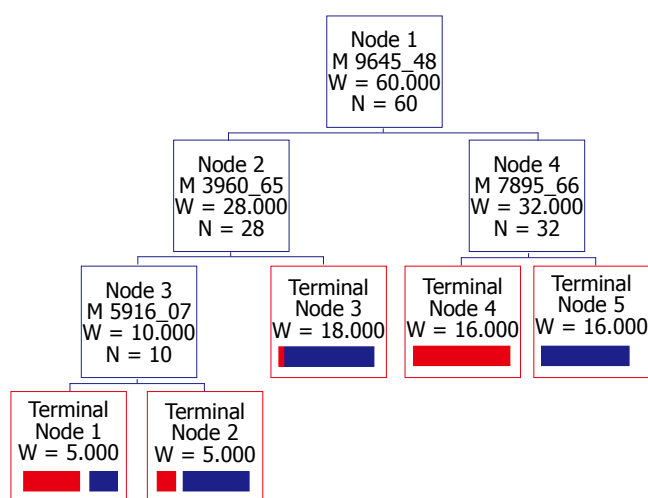


图 1 肝癌易发家系血清诊断筛选模型

## ■创新盘点

本研究采用SELDI-TOF-MS蛋白芯片技术分析广西肝癌高发区肝癌易发家系和无癌家系肝癌发展过程的血清蛋白质组,并鉴定出蛋白质谱中差异蛋白,探寻肝癌遗传性相关的蛋白标志。

括病毒感染, 黄曲霉毒素, 农村饮用水的污染, 饮酒、吸烟, 幽门螺旋杆菌肝吸虫感染等<sup>[3-8]</sup>; 而内部因素如自身的遗传因素, 在原发性肝癌的发生机制方面也起了非常重要的作用。广西医科大学在承担国家“六五”和“七五”攻关课题以及进行的一系列研究中发现, HBV感染是广西肝癌高发的主要致病因子在相同民族、相同生活环境、生活水平、生活习惯和生活条件下, 出现癌家族聚集性<sup>[9]</sup>, 为揭示这一流行病学现象。本实验从蛋白质组水平进行研究, 以30例肝癌易发家系患者、30例无癌家系患者作为研究对象, 采用(SELDI-TOF-MS)及CM10蛋白芯片筛选血清中蛋白质的差异表达, 并找到表达明显改变的标志蛋白, 实验结果发现肝癌易发家系组与无癌家系组在相对分子质量2000-50000范围内共检测到45个蛋白质峰, 其中20个在两组间的比较差异, 有统计学意义( $P < 0.05$ ), 筛选出的这些有统计学意义的蛋白质峰可能就是我们要寻找的遗传性蛋白质峰。运用BPS软件筛选出其中的4个蛋白标志物(9645.48、3960.65、7895.66和5916.07 kDa), 建立的血清蛋白质图谱诊断模型, 检测的灵敏度为93%(28/30), 特异性为90%(27/30), 准确率为92%(55/60), 能较好地将两组区分开来, 且经过盲筛将25例肝癌易发家系, 20例肝癌无癌家系组对建立的血清蛋白质图谱诊断模型进行验证, 得到较高灵敏度92%(23/25)与特异性(23/25), 说明模型的合理性和可操作性, 同时这也表明肝癌易发家系组与无癌家系组在血清蛋白组学方面确实存在差异, 原发性肝癌的发生与遗传具有密切相关性。肝癌易发家系的遗传基因可能在抑癌基因和癌基因上出现失衡或出现遗传易感性<sup>[10]</sup>, 陈圆圆等<sup>[11]</sup>和肖开银等<sup>[12]</sup>对广西扶绥县肝癌高

发家系遗传基因的相关研究显示谷胱甘肽转硫酶M1(glutathione-S-transferase M1, *GSTM1*)和谷胱甘肽转硫酶T1(glutathione-S-transferase T1, *GSTT1*)基因多态性与肝癌家族聚集性相关;*GSTM1*和*GSTT1*基因联合缺失与肝癌的发生呈显著正相关, 诸如*GST*基因多态性、第10号染色体缺失<sup>[13]</sup>、*p53*、*p21*基因表达差异<sup>[14]</sup>、细胞色素*P4501A*基因多态性、乙醛脱氢酶2基因多态性<sup>[15]</sup>等与肝癌之间存在密切相关, 其表达的相关蛋白质就可能异于无癌家系患者, 增加了原发性肝癌发生的危险性。

为了使筛选的遗传性的血清蛋白标志物更具有代表性, 做者将继续收集标本, 扩大样本例数, 验证其准确性, 并做相关性的生物学功能进行鉴定, 为将来建立能够判断肝癌易发家系发生肝癌危险性的预测体系奠定基础。

## 4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855]
- 牟文凤, 王亚秋, 孙佰秀, 王斌. SELDI蛋白质芯片技术检测膝骨性关节炎患者黏附关节液中蛋白质的差异改变. *中国现代医学杂志* 2008; 18: 2097-2099
- 吴江南, 陈裕明, 王翠玲. 丙型、乙型肝炎病毒对原发性肝癌影响的荟萃分析. *中华肝脏病杂志* 2007; 15: 137-140
- 李媛, 苏建家, 曹骥, 欧超, 仇效坤, 班克臣, 杨春, 覃柳亮, 罗丹, 岳惠芬, 张丽生, 万大方, 顾健人. 用cDNA阵列技术研究黄曲霉毒素B1诱发树鼯肝癌形成过程中的基因变化. *中华肝脏病杂志* 2003; 11: 96-99
- 苏德隆. 饮水中蓝绿藻毒素与肝癌的研究. *医学研究通讯* 2001; 30: 19-20
- 汤伯明, 张竹梅, 王其军, 王启敏, 朱鑫, 樊巍巍, 张小燕, 边建超. 饮酒与肝癌的病例对照研究. *实用肿瘤学杂志* 2002; 16: 88-91
- 方俊, 刘伯齐, 张庆镐, 蔡英姬. 吸烟与肝癌关系的病例对照研究. *延边大学医学学报* 2003; 26: 106-108
- 黎学铭, 谭裕光, 张鸿满, 欧阳颐, 阮廷清, 许洪波. 广西华支睾吸虫病流行及危险因素分析. *应用预防医学*

## ■同行评价

肝癌发生与家属遗传性有相当的关系,本研究科学性强,研究方法正确,数据可靠,结论可信,通过采用表面增强激光解析/电离飞行时间质谱技术(SELDI-TOF-MS)检测肝癌易发家系患者和无癌家系患者血清蛋白生物标志物,是目前研究的热点,从蛋白组学方面寻找肝癌发生相关蛋白对临床和基础研究都起重要作用。

- 2006; 12: 334-337
- 9 肖开银, 黎乐群, 彭民浩, 梁水庭, 覃晓, 陈希刚, 郭雅, 覃忠, 彭涛, 陈滨, 苏智雄, 尚丽明. 家族聚集性肝癌101例家族史和临床分析. 广西医科大学学报 2005; 22: 224-226
- 10 靳磊, 袁晨光. 肝癌相关新基因的研究进展. 临床医学工程 2013; 20: 380-382
- 11 陈圆圆, 丁飞, 谢裕安. 广西扶绥县肝癌高发家系谷胱甘肽转硫酶GSTM1和GSTT1基因多态性的研究. 中国癌症防治杂志 2012; 4: 140-144
- 12 肖开银, 黎乐群, 彭民浩, 覃晓, 彭涛, 郭雅, 陈滨, 卢景宁, 秦权林, 桂文波. GSTM1、GSTT1基因多态性与家族聚集性肝癌的遗传易感性研究. 中国癌症防治杂志 2011; 3: 287-290
- 13 颜见, 姚志成, 钟跃思, 李明亮, 陈骋, 许瑞云, 邓美海. 第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的基因在家族聚集性肝癌组织中的表达及临床意义. 中华实验外科杂志 2012; 29: 1892-1895
- 14 林源, 莫显伟. 家族聚集性肝癌组织p53、p21、C-erbB-2基因表达分析. 广西医科大学学报 2006; 23: 94-95
- 15 崔美兰, 朴熙绪, 金永日, 李成浩, 金爱花. 延边地区朝鲜族及汉族男性乙醛脱氢酶2基因多态性与酒精性肝病的关系. 延边大学医报 2011; 34: 51-54

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版)

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

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

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

# INPP4B和PTEN蛋白在肝细胞癌中的表达及其意义

张洋洋, 李建生, 贺德志, 蒋冬

张洋洋, 李建生, 贺德志, 蒋冬, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室 河南省郑州市 450052

张洋洋, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

河南省教育厅科学技术研究重点基金资助项目, No.14A320040

作者贡献分布: 此课题由李建生、贺德志及张洋洋设计; 研究过程由张洋洋与蒋冬操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由李建生与贺德志提供; 数据分析由张洋洋与蒋冬完成; 本论文写作由张洋洋完成; 李建生审核。

通讯作者: 李建生, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市二七区建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

lijiansheng@medmail.com.cn

电话: 0371-66862052

收稿日期: 2013-11-28 修回日期: 2013-12-14

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## Significance of expression of INPP4B and PTEN in hepatocellular carcinoma

Yang-Yang Zhang, Jian-Sheng Li, De-Zhi He, Dong Jiang

Yang-Yang Zhang, Jian-Sheng Li, De-Zhi He, Dong Jiang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Supported by: the Scientific Research Key Project Fund of Education Department of Henan Province, No. 14A320040

Correspondence to: Jian-Sheng Li, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. lijiansheng@medmail.com.cn

Received: 2013-11-28 Revised: 2013-12-14

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of INPP4B and PTEN in hepatocellular carcinoma (HCC) and to analyze their correlation with clinicopathological parameters of HCC patients.

**METHODS:** By immunohistochemistry, the expression of INPP4B and PTEN was detected in 74 HCC tissue, 74 matched tumor-adjacent atypical hyperplasia tissues and 30 normal tissues. Correlations between INPP4B and PTEN expression and clinicopathological parameters were analyzed by statistical analysis.

**RESULTS:** The levels of INPP4B and PTEN ex-

pression in HCC were significantly lower than those in histologically normal hepatic tissues (both  $P < 0.05$ ). INPP4B and PTEN protein expression in HCC was not statistically correlated with age, sex, or cirrhosis background, but was significantly correlated with degree of differentiation and presence of tumor capsule. INPP4B protein expression, not PTEN protein expression, was correlated with tumor size. There was a positive correlation between INPP4B protein expression and PTEN protein expression in HCC ( $r = 0.561$ ,  $P = 0.000$ ).

**CONCLUSION:** The low expressions of INPP4B and PTEN proteins in HCC and their positive correlation suggest that they are possibly involved in the occurrence and development of HCC.

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

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; INPP4B; PTEN; Immunohistochemistry

Zhang YY, Li JS, He DZ, Jiang D. Significance of expression of INPP4B and PTEN in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 695-699 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.695>

## 摘要

**目的:** 通过检测肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者肝癌、癌旁组织及正常肝组织中Ⅱ型多磷酸肌醇4-磷酸酶(inositol polyphosphate 4-phosphatase type II, INPP4B)和磷酸酯酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)的表达情况, 结合HCC的临床病理特征, 探讨其在HCC发生发展中的作用及意义。

**方法:** 应用免疫组织化学方法分别检测74例肝癌组织、对应癌旁组织及30例正常肝脏组织中INPP4B和PTEN的表达情况。

**结果:** (1)肝癌组织中INPP4B和PTEN的表达水平显著低于癌旁组织和正常肝脏组织(均

## ■背景资料

Ⅱ型多磷酸肌醇4-磷酸酶(inositol polyphosphate 4-phosphatase type II, INPP4B)是一种新发现的脂质磷酸酶, 作为一个潜在的肿瘤抑制因子, 在前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、白血病等多种恶性肿瘤中表达缺失。磷酸酯酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)是一种位于10号染色体(10q23)的抑癌基因, 兼具有脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性参与细胞周期以及多种信号传导途径的负调控, 抑制细胞恶性转化。INPP4B和PTEN的缺失与肿瘤的发生发展密切相关。目前国内外文献甚少有两者在肝癌中的表达及相关性研究报道。

## ■同行评议者

李孟森, 教授, 海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室



## ■研究前沿

通过免疫组织化学法检测 INPP4B 和 PTEN 在肝癌组织、对应癌旁组织及正常肝脏组织中的表达,并结合患者临床病理资料进行分析,探讨两者的表达特点及意义。

$P < 0.05$ ); (2) INPP4B 和 PTEN 的表达与 HCC 患者的性别、年龄、肝硬化病史无关,与分化程度、包膜完整程度相关。INPP4B 的表达与肿瘤直径相关, PTEN 的表达与肿瘤直径无关; (3) 肝癌组织中 INPP4B 和 PTEN 的表达呈正相关( $r = 0.561, P = 0.000$ )。

**结论:** INPP4B 和 PTEN 在肝癌组织中的低表达及两者表达呈正相关提示两者可能共同参与了 HCC 的发生发展。

© 2014 年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝细胞癌; II 型多磷酸肌醇 4-磷酸酶; 磷酸酯酶; 免疫组织化学

**核心提示:** II 型多磷酸肌醇 4-磷酸酶(inositol polyphosphate 4-phosphatase type II, INPP4B)和磷酸酯酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten, PTEN)在肝癌组织中的表达明显减低,且两者表达呈正相关; INPP4B 和 PTEN 的表达与肿瘤分化程度、包膜完整程度相关;提示两者可能共同参与肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)的发生发展及侵袭转移。

张洋洋, 李建生, 贺德志, 蒋冬. INPP4B 和 PTEN 蛋白在肝细胞癌中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 695-699  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/695.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.695>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC), 简称肝癌, 是目前常见的恶性肿瘤之一, 在我国 HCC 年发病率位居第 4 位, 而肿瘤死亡率居第 2 位<sup>[1]</sup>. 其恶性程度高, 预后普遍较差. 虽然目前有多种治疗方法可供选择, 但疗效甚微, 即使根治性手术切除术后复发率仍然很高. 因此, 寻找新型的、有效的治疗方法十分必要. 然而, HCC 的病理生理机制不完全清楚, 环境因素和遗传因素都参与其中, 各种细胞信号传导通路的失调、DNA 修复调节基因的缺失、原癌基因的激活、抑癌基因的失活及细胞周期调控基因的失控等因素促进了 HCC 的发生发展<sup>[2]</sup>. II 型多磷酸肌醇 4-磷酸酶(inositol polyphosphate 4-phosphatase type II, INPP4B)是一种新发现的脂质磷酸酶, 作为一个潜在的肿瘤抑制因子, 在前列腺癌、乳腺癌、卵巢癌、黑色素瘤、白血病等多种恶性肿瘤中表达缺失<sup>[3]</sup>. 第 10 号染色体上缺失的与张力蛋白同源的磷酸酯酶(phosphatase and tensin

homolog deleted on chromosome ten, PTEN), 是一种位于 10 号染色体(10q23)的抑癌基因, 兼具脂质磷酸酶活性和蛋白磷酸酶活性. 参与细胞周期以及多种信号传导途径的负调控, 抑制细胞恶性转化<sup>[4]</sup>. INPP4B 和 PTEN 的缺失与肿瘤的发生发展密切相关. 本研究通过免疫组织化学方法检测肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中 INPP4B 和 PTEN 的表达, 进一步阐明 HCC 的发病机制, 探讨 INPP4B 和 PTEN 在 HCC 发生发展过程中的作用和意义, 为日后研发相应的分子靶向治疗药物提供理论支持。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择 2010-07/2013-03 郑州大学第一附属医院肝胆外科及肝移植科手术切除后经病理组织学切片 HE 染色证实为 HCC 和对应癌旁组织(距离肿瘤 2 cm)74 例, 其中女 18 例, 男 56 例; 年龄 20-75 岁. 患者术前均未接受任何抗肿瘤治疗, 具有完整的临床病理资料. 并收集因肝破裂、外伤后手术切除的肝脏标本 30 例作为对照组, 经病理组织学切片 HE 染色证实为正常肝脏组织. 所有标本手术切除后经 10% 甲醛固定石蜡包埋存档备用. 鼠抗人 PTEN/MMAC1(CT)单克隆抗体(上海瑞齐实业科技有限公司); 鼠抗人 INPP4B 单克隆抗体(Abcam 公司); DAB 试剂盒(北京中杉金桥生物技术有限公司); SP-9000 免疫组织化学试剂盒、即用型一步法(非生物素)检测试剂盒(迈新公司)。

**1.2 方法** 标本经 10% 多聚甲醛固定, 制作石蜡切片, 抗原修复选择热修复, 一抗按 1:200 稀释, 孵育选择 4℃ 过夜(14-16 h), 具体步骤应用 SP-9000 免疫组织化学试剂盒按照说明书进行, 显微镜下观察. 结果判断: 免疫组织化学: 染色的切片由两位有经验的病理医师采用双盲法读片, 结果判断兼顾阳性细胞率和染色强度, 综合两者计分称为阳性强度, 作为判断标准. 随机观察 10 个高倍镜视野, 细胞中出现明显的棕黄色颗粒为阳性细胞. 依据染色强度计分: 着色强者计 3 分, 着色中度计 2 分, 着色弱者计 1 分. 依据每个高倍镜视野下的阳性细胞率计分: 阳性细胞率 > 75% 计 4 分, 50%-75% 计 3 分, 25%-50% 计 2 分, 5%-25% 计 1 分, < 5% 计 0 分. 两种记分相加即为阳性强度. 阳性强度 0-2 分为阴性(-), 3-7 为阳性(+). 染色结果均经 3 次重复观察。

**统计学处理** 运用 SPSS17.0 统计软件进行数

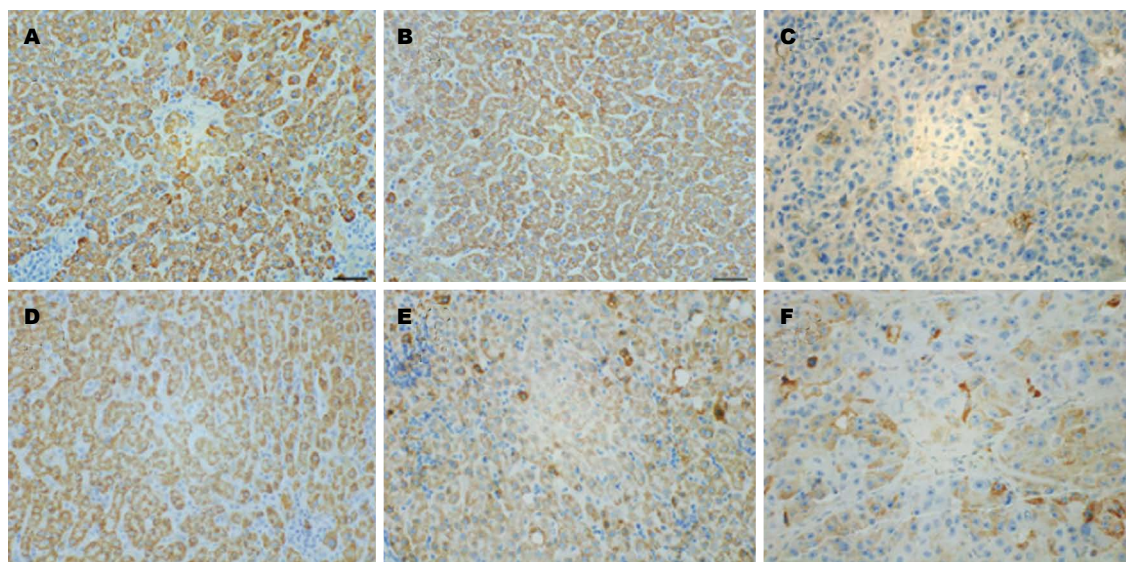


图1 不同肝脏组织中INPP4B和PTEN的表达结果(SP×400)。A: INPP4B在正常肝脏组织中的表达; B: INPP4B在肝癌组织中的表达; C: INPP4B在肝癌组织中的表达; D: PTEN在正常肝脏组织中的表达; E: PTEN在肝癌组织中的表达; F: PTEN在肝癌组织中的表达。INPP4B: II型多磷酸肌醇4-磷酸酶; PTEN: 磷酸酯酶。

#### ■相关报道

Gewinner等发现在随机抽取的乳腺癌和卵巢癌患者中, INPP4B低水平表达者往往出现较早的淋巴结转移, 且肿瘤患者的生存时间明显缩短。Hodgson等发现 INPP4B在前列腺癌组织中表达明显下降, INPP4B表达阴性肿瘤更容易复发。Horie等发现敲除PTEN相关基因的小鼠肝脏恶性肿瘤的发生率显著增高, PTEN的缺失可能导致肝脏恶性肿瘤的发生。Zhu等研究发现, PTEN的阳性表达率随着肝癌组织组织学分级的降低及侵袭性的增高而显著下降。

表1 INPP4B和PTEN在肝癌组织、癌旁组织、正常组织中的表达(n)

分组	n	INPP4B阳性	PTEN阳性
癌组织	74	26	40
癌旁组织	74	57	67
正常组织	20	18	20
$\chi^2$		35.537	34.028
P值		0.000	0.000

INPP4B: II型多磷酸肌醇4-磷酸酶; PTEN: 磷酸酯酶。

据分析, INPP4B和PTEN在HCC中的相关性采用Spearman等级相关分析。INPP4B和PTEN在肝癌组织、癌旁组织、正常组织中的表达差异以及与各临床病理类型的关系采用 $\chi^2$ 检验进行分析。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

INPP4B与PTEN在肝癌组织及癌旁组织中的表达均明显低于正常组织, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(图1, 表1)。INPP4B和PTEN的表达与HCC患者的性别、年龄、肝硬化病史无关, 与分化程度、包膜完整程度相关。INPP4B的表达与肿瘤直径相关, PTEN的表达与肿瘤直径无关(表2)。INPP4B与PTEN在肝癌组织中的表达具有相关性, 两者的表达呈正相关( $\chi^2 = 34.07$ ,  $r = 0.561$ ,  $P = 0.000$ )(表3)。

## 3 讨论

PI3K/AKT/mTOR信号通路参与细胞生长、增殖和分化, 其调节异常在肿瘤的恶性增殖、血管生成和侵袭转移中起着重要作用<sup>[5]</sup>。PI3K/AKT/mTOR信号通路的激活与HCC发生发展呈负相关, 使得其成为重要的分子治疗靶点之一<sup>[2]</sup>。在人类恶性肿瘤中, PI3K激活催化形成两个主要的磷脂池: 磷脂酰肌醇-3,4,5三磷酸[PI(3,4,5)P<sub>3</sub>]和磷脂酰肌醇-3,4二磷酸[PI(3,4)P<sub>2</sub>]。[PI(3,4,5)P<sub>3</sub>]和[PI(3,4)P<sub>2</sub>]都可与AKT和PDK1的PH结构域结合, 促使PDK1催化AKT磷酸化激活, 促进肿瘤细胞增殖、侵袭和转移<sup>[6]</sup>。INPP4B包含N-末端C2脂质结合结构域, 内部NHR 2和C-末端磷酸酶结构域。INPP4B C2域优先结合磷脂酸和PI(3,4,5)P<sub>3</sub>, 可水解PI(3,4)P<sub>2</sub>的D4位磷酸基团, 使其去磷酸化为3-磷酸磷脂酰肌醇[PI(3)P]<sup>[3]</sup>。PTEN是一种多功能蛋白质, 定位于常染色体10q23.3, 共含8个内含子和9个外显子, 全长约200 kb, 是第1个具有双特异性磷酸酶活性的抑癌基因。PTEN水解PI(3,4,5)P<sub>3</sub>的D3位磷酸基团, 使其去磷酸化形成PI(4,5)P<sub>2</sub><sup>[7]</sup>。PTEN和INPP4B的缺失可能导致各自的底物PI(3,4,5)P<sub>3</sub>和PI(3,4)P<sub>2</sub>的堆积, 两底物共同促进Akt活性最大化, 增强细胞活性, 导致肿瘤细胞锚定独立生长<sup>[6]</sup>。

INPP4B作为上皮肿瘤的抑癌基因, 参与PI3K信号通路的调节, 在人类乳腺癌中可检测

## ■创新盘点

本文通过免疫组织化学方法检测肝癌组织、癌旁组织、正常肝脏组织中INPP4B和PTEN的表达,进一步阐明肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发病机制,为HCC的治疗和预防提供新的方向。

表 2 INPP4B和PTEN在肝癌组织中的表达与临床病理特征的关系

临床特征分类	n	INPP4B				PTEN			
		+	-	$\chi^2$	P值	+	-	$\chi^2$	P值
年龄(岁)				0.350	0.554			3.731	0.053
> 35	63	23	40			37	26		
≤35	11	3	8			3	8		
性别				0.565	0.452			0.014	0.906
男	56	21	35			32	24		
女	18	5	13			8	10		
肿瘤直径(cm)				5.071	0.024			0.718	0.397
> 5	30	6	24			18	12		
≤5	44	20	24			22	22		
肝硬化病史				0.554	0.457			0.728	0.394
有	53	20	33			27	26		
无	21	6	15			13	8		
分化程度				10.687	0.001			14.255	0.000
高、中	35	19	16			27	8		
低	39	7	32			13	26		
肿块包膜				10.377	0.001			11.622	0.001
有	18	12	6			16	2		
无	56	14	42			24	32		

INPP4B: II型多磷酸肌醇4-磷酸酶; PTEN: 磷酸酯酶。

表 3 INPP4B和PTEN在肝癌组织表达的相关性分析

		INPP4B		P值	r值
PTEN		+	-		
	+	26	14	0.000	0.561
	-	0	34		

INPP4B: II型多磷酸肌醇4-磷酸酶; PTEN: 磷酸酯酶。

到INPP4B杂合性缺失(loss of heterozygosity, LOH), 并与肿瘤分级、肿瘤大小、激素受体缺失有关, 在三阴性或基底细胞样乳腺癌亚型中, INPP4B表达下降及LOH较为显著, 随访发现, 这类患者通常预后差, 肿瘤复发率高<sup>[8,9]</sup>。在随机抽取的乳腺癌和卵巢癌患者中, INPP4B低水平表达者往往出现较早的淋巴结转移, 且肿瘤患者的生存时间明显缩短<sup>[6]</sup>。有研究表明, 在卵泡颗粒细胞中INPP4B表达下降可使PI3K/Akt信号传导通路超活化, 导致卵泡形成时卵巢内环境缺陷, 促使卵巢畸胎瘤形成<sup>[10]</sup>。Hodgson等<sup>[11]</sup>通过对正常前列腺上皮和前列腺癌组织的免疫组织化学染色发现, INPP4B在前列腺癌组织中表达明显下降, INPP4B表达阴性肿瘤更容易复发。以上研究表明, INPP4B的表达水平与多种恶性肿瘤的发生呈负相关, 由此本课题就INPP4B表达

与HCC的关系进行研究, 进一步阐明HCC的发病机制。

PTEN具有双特异性磷酸酯酶活性, 不仅可以通过抑制PI3K/Akt信号传导通路, 使细胞周期停滞在G<sub>1</sub>期或促进细胞凋亡, 还能通过抑制PTEN/ERK/MARK途径, 使细胞生长分化减慢或停滞, 并促进肿瘤细胞衰老或凋亡, 从而阻碍肿瘤的发生发展<sup>[12]</sup>。Horie等<sup>[13]</sup>通过对比正常小鼠和敲除PTEN相关基因的小鼠中肝脏恶性肿瘤的发生率, 发现敲除PTEN相关基因的小鼠肝脏恶性肿瘤的发生率显著增高, 提示了PTEN的缺失可能导致肝脏恶性肿瘤的发生。Zhu等<sup>[14]</sup>研究发现, PTEN的阳性表达率随着肝癌组织组织学分级的降低及侵袭性的增高而显著下降, 提示了在HCC的发生发展中, PTEN可能与肝癌细胞的转移和浸润密切相关。以上研究表明, PTEN不仅参与了HCC的发生发展, 也可能作为一个潜在的HCC诊断和预后指标。PTEN的表达水平与HCC的发生发展呈负相关, 其作为HCC治疗的一个重要靶基因, 越来越多地被关注。

在本课题研究中, 我们通过免疫组织化学检测方法, 检测INPP4B和PTEN在肝癌组织、癌旁组织及正常肝组织的表达情况。通过显微镜下观察可见INPP4B和PTEN在肝癌组织中的表



达较癌旁组织和正常肝组织明显减低. 通过统计学分析发现, 肝癌组织中INPP4B和PTEN的表达呈正相关, 提示INPP4B和PTEN可能共同参与HCC的发生发展, 且已有研究表明在乳腺癌中存在INPP4B和PTEN共同缺失<sup>[8]</sup>. 能否通过敲除INPP4B和PTEN相关基因预防和治疗HCC还有待研究, 本课题就此进行了前期探索, 为HCC的防治提供新的突破点. 我们推测, INPP4B和PTEN表达缺失的肿瘤将为PI3K传导通路抑制因子治疗提供理想的选择. 目前, 众多I期、II期临床试验正在进行, 探讨PI3K信号通路抑制因子在治疗人类肿瘤中的作用<sup>[8]</sup>. mTOR抑制剂治疗HCC也已进入临床试验阶段<sup>[15]</sup>, 以INPP4B和PTEN基因为靶点预防和治疗HCC仍需进行大量基础及临床实验研究.

随着生活水平的提升及生活习惯的改变, HCC的发病率逐年升高, 这严重影响了人们的生活质量. 因此, 对于HCC的研究需要综合各种因素, 本文从免疫组织化学检测层面就INPP4B和PTEN在HCC的表达进行了初步研究, 为HCC的治疗和预防提供了新的方向, 但其在HCC中的作用、意义及两者的相关性仍需要大量的实验进一步证实.

#### 4 参考文献

- 赫捷, 陈万青. 2012年中国肿瘤登记年报. 北京: 军事科学医学出版社, 2012: 22-23
- Aravalli RN, Steer CJ, Cressman EN. Molecular mechanisms of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 48: 2047-2063 [PMID: 19003900 DOI: 10.1002/hep.22580]
- Agoulnik IU, Hodgson MC, Bowden WA, Ittmann MM. INPP4B: the new kid on the PI3K block. *Oncotarget* 2011; 2: 321-328 [PMID: 21487159]
- Song MS, Carracedo A, Salmena L, Song SJ, Egia A, Malumbres M, Pandolfi PP. Nuclear PTEN regulates the APC-CDH1 tumor-suppressive complex in a phosphatase-independent manner. *Cell* 2011; 144: 187-199 [PMID: 21241890 DOI: 10.1016/j.cell.2010.12.020]
- 夏曙, 于世英. PI3K/Akt信号转导通路在恶性肿瘤中的研究进展. *肿瘤* 2006; 26: 576-578
- Gewinner C, Wang ZC, Richardson A, Teruya-Feldstein J, Etemadmoghadam D, Bowtell D, Barretina J, Lin WM, Rameh L, Salmena L, Pandolfi PP, Cantley LC. Evidence that inositol polyphosphate 4-phosphatase type II is a tumor suppressor that inhibits PI3K signaling. *Cancer Cell* 2009; 16: 115-125 [PMID: 19647222 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.06.006]
- Dong-Dong L, Xi-Ran Z, Xiang-Rong C. Expression and significance of new tumor suppressor gene PTEN in primary liver cancer. *J Cell Mol Med* 2003; 7: 67-71 [PMID: 12767263]
- Fedele CG, Ooms LM, Ho M, Vieuxseux J, O'Toole SA, Millar EK, Lopez-Knowles E, Sritatana A, Gurung R, Baglietto L, Giles GG, Bailey CG, Rasko JE, Shields BJ, Price JT, Majerus PW, Sutherland RL, Tiganis T, McLean CA, Mitchell CA. Inositol polyphosphate 4-phosphatase II regulates PI3K/Akt signaling and is lost in human basal-like breast cancers. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 22231-22236 [PMID: 21127264 DOI: 10.1073/pnas.1015245107]
- Sørli T, Perou CM, Tibshirani R, Aas T, Geisler S, Johnsen H, Hastie T, Eisen MB, van de Rijn M, Jeffrey SS, Thorsen T, Quist H, Matese JC, Brown PO, Botstein D, Lønning PE, Børresen-Dale AL. Gene expression patterns of breast carcinomas distinguish tumor subclasses with clinical implications. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 10869-10874 [PMID: 11553815]
- Balakrishnan A, Chaillet JR. Role of the inositol polyphosphate-4-phosphatase type II Inpp4b in the generation of ovarian teratomas. *Dev Biol* 2013; 373: 118-129 [PMID: 23078915 DOI: 10.1016/j.ydbio.2012.10.011]
- Hodgson MC, Shao LJ, Frolov A, Li R, Peterson LE, Ayala G, Ittmann MM, Weigel NL, Agoulnik IU. Decreased expression and androgen regulation of the tumor suppressor gene INPP4B in prostate cancer. *Cancer Res* 2011; 71: 572-582 [PMID: 21224358 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2314]
- Kotelevets L, van Hengel J, Bruyneel E, Mareel M, van Roy F, Chastre E. Implication of the MAGI-1b/PTEN signalosome in stabilization of adherens junctions and suppression of invasiveness. *FASEB J* 2005; 19: 115-117 [PMID: 15629897]
- Horie Y, Suzuki A, Kataoka E, Sasaki T, Hamada K, Sasaki J, Mizuno K, Hasegawa G, Kishimoto H, Iizuka M, Naito M, Enomoto K, Watanabe S, Mak TW, Nakano T. Hepatocyte-specific Pten deficiency results in steatohepatitis and hepatocellular carcinomas. *J Clin Invest* 2004; 113: 1774-1783 [PMID: 15199412]
- Zhu X, Qin X, Fei M, Hou W, Greshock J, Bachman KE, Wooster R, Kang J, Qin CY. Combined Phosphatase and Tensin Homolog (PTEN) Loss and Fatty Acid Synthase (FAS) Overexpression Worsens the Prognosis of Chinese Patients with Hepatocellular Carcinoma. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 9980-9991 [PMID: 22949843 DOI: 10.3390/ijms13089980]
- Kudo M. mTOR inhibitor for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Dig Dis* 2011; 29: 310-315 [PMID: 21829022 DOI: 10.1159/000327565]

#### ■同行评价

本文对认识这两种蛋白分子共同参与肝癌发生、发展有一定的指导价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 腹腔镜胆囊切除术对HIV感染者细胞免疫的影响

胡明辉, 魏国, 赵勇, 范合璋, 华欣, 何永, 蔡林

## ■背景资料

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染已成为全球性重大公共卫生问题! 随着HIV感染的传播以及高效抗逆转录病毒治疗的推广, HIV感染者存活者越来越多, 这些伴有免疫缺陷的HIV感染者对医学的诸多领域提出了新的要求和挑战。

胡明辉, 魏国, 赵勇, 范合璋, 华欣, 何永, 蔡林, 成都市公共卫生临床医疗中心外科 四川省成都市 610061

胡明辉, 主治医师, 主要从事普通外科与感染外科的相关研究。

四川省卫生厅科研基金资助项目, No. 20090013

作者贡献分布: 课题设计由胡明辉与魏国完成; 材料收集由赵勇、范合璋、华欣、何永及蔡林完成; 研究过程与数据分析由胡明辉、魏国及赵勇完成; 论文写作由胡明辉与魏国完成。

通讯作者: 胡明辉, 主治医师, 610061, 四川省成都市锦江区净居寺路18号, 成都市公共卫生临床医疗中心普通外科。

hmhdoc@qq.com

收稿日期: 2013-11-28 修回日期: 2013-12-15

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## Impact of laparoscopic cholecystectomy on cellular immunity in patients with HIV infection

Ming-Hui Hu, Guo Wei, Yong Zhao, He-Zhang Fan, Xin Hua, Yong He, Lin Cai

Ming-Hui Hu, Guo Wei, Yong Zhao, He-Zhang Fan, Xin Hua, Yong He, Lin Cai, Department of Surgery, Public Health Clinic Center of Chengdu, Chengdu 610061, Sichuan Province, China

Supported by: the Research Foundation of Health Department of Sichuan Province, No. 20090013

Correspondence to: Ming-Hui Hu, Attending Physician, Department of Surgery, Public Health Clinic Center of Chengdu, 18 Jingjusi Road, Jinjiang District, Chengdu 610061, Sichuan Province, China. hmhdoc@qq.com

Received: 2013-11-28 Revised: 2013-12-15

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To observe the impact of laparoscopic cholecystectomy (LC) on cellular immunity in HIV-infected patients with different levels of immunodeficiency.

**METHODS:** Ninety-four patients who underwent LC, including 62 HIV-positive (HIV+) patients and 32 randomly selected HIV-negative (HIV-) patients, were included in the study. Peripheral venous blood samples were collected to count the number of CD4<sup>+</sup> (cell/ $\mu$ L) and CD8<sup>+</sup> (cell/ $\mu$ L) T lymphocyte subsets on preoperative day 1 (D0) and postoperative days 3 (D3) and 7 (D7). The ratios of the number of CD4<sup>+</sup> cells D3 to that on D0 [D3/D0 (%)] and D7 to D0 [D7/D0 (%)] were calculated. Patients were stratified

into three groups according to the count of CD4 on D0: I ( $\geq 500$ ), II ( $\geq 200$  but  $< 500$ ) and III ( $\geq 0$  but  $< 200$ ). The differences in the cell count between preoperation and postoperation in each group and between each group were analyzed by statistical methods.

**RESULTS:** There were no significant differences in WBC count, neutrophil percentage, lymphocyte percentage and CD8<sup>+</sup> cell count between preoperation and postoperation in each group ( $P > 0.05$  for all), but significant differences were observed in CD4<sup>+</sup> cell count between preoperation and postoperation in each group ( $P < 0.001$  for all) as well as between different groups ( $F = 203.80$ ,  $P < 0.001$ ). There was an interactive effect between time and group ( $F = 8.08$ ,  $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** LC has an impact on CD4-based cellular immunity, with a process from suppression to restoration. The more serious the immunodeficiency, the more significant the immunosuppression and the more slow the immune recovery. Attention should be paid to surgical indications and appropriate perioperative management including immune intervention in HIV-infected patients undergoing surgery.

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

**Key Words:** Human immunodeficiency virus; Laparoscopic cholecystectomy; CD4 T Lymphocyte

Hu MH, Wei G, Zhao Y, Fan HZ, Hua X, He Y, Cai L. Impact of laparoscopic cholecystectomy on cellular immunity in patients with HIV infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 700-704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.700>

## 摘要

**目的:** 观察腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)对不同免疫缺陷程度的人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者细胞免疫功能的影响。

**方法:** 62例HIV阳性(HIV+)与同期随机32例

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

HIV阴性(HIV-)共94例需LC患者,检测其术前1 d(D0)、术后第3天(D3)、术后第7天(D7)外周静脉血T淋巴细胞亚群CD4和CD8计数(单位cell/ $\mu$ L).各自计算D3、D7两次CD4计数相对于D0百分比D3/D0(%), D7/D0(%).并根据术前1 d(D0)CD4计数分层(组),  $I \geq 500 > II \geq 200 > III \geq 0$ . SPSS19.0软件包分析每组内前后差异以及各层组之间差异.

**结果:**在各组内部前后3次检测中,白细胞计数、中性粒细胞率、淋巴细胞率、CD8计数差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), CD4计数各组内部前后3次检测两两对比差异有统计学意义( $P < 0.001$ ).不同组别之间差异有统计学意义( $F = 203.80, P < 0.001$ ).时间和组别两个因素之间有交互效应( $F = 8.08, P < 0.001$ ).

**结论:**LC手术对以CD4为主的细胞免疫功能有“先抑制后恢复”的影响过程,其影响过程体现出从HIV- I组的“V”型到HIV+ III组的“L”型的渐变规律. HIV感染者免疫缺陷程度越重,其免疫抑制越明显,其免疫恢复也更缓慢.对HIV感染者施行手术需要正确把握手术适应症、重视免疫干预并且进行有针对性的围术期处理.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 人类免疫缺陷病毒; 腹腔镜胆囊切除术; CD4 T淋巴细胞

**核心提示:** 本研究基于前瞻性分层对照研究,观察到腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy)手术对人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染者细胞免疫有“先抑制后恢复”影响过程,其影响过程还体现出从“V”型到“L”型的渐变规律. HIV感染者免疫缺陷越重,其免疫抑制越明显,其免疫恢复也更缓慢.作者强调对HIV感染者施行手术要正确把握手术适应症、重视免疫干预并且有针对性地进行围术期处理.

胡明辉, 魏国, 赵勇, 范合璋, 华欣, 何永, 蔡林. 腹腔镜胆囊切除术对HIV感染者细胞免疫的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 700-704 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/700.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.700>

## 0 引言

1981年美国首次报道“获得性免疫缺陷综合征”(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)即“艾滋病”. 1983年发现了导致AIDS

的人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV). HIV通过对CD4 T淋巴细胞(CD4 T lymphocyte, CD4)亚群的破坏导致AIDS<sup>[1]</sup>. 随着HIV感染的传播以及高效抗逆转录病毒治疗(highly active antiretroviral therapy, HAART)的推广,生存HIV感染者越来越多, HIV感染者合并外科疾病并需要手术者也不断增多<sup>[2]</sup>. 我院2006年开始了对HIV感染者手术安全性及手术适应症的探索. 2009年启动了对合并HIV感染的腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)患者的前瞻性临床分层对照研究,报告如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2009-01/2013-12我院收治的所有18-65岁,具有明确LC手术适应症并且术前2 wk内未使用过糖皮质激素或免疫抑制剂的患者94例,包括合并HIV感染(HIV+)者62例及同期随机选取的未合并HIV感染(HIV-)者32例,其中男43例,女51例;年龄18-65岁,平均40.2岁 $\pm$ 14.7岁;结石合并胆囊炎40.43%(37/94),胆囊结石34.04%(32/94),急慢性胆囊炎17.02%(16/94),胆囊息肉及其他9.57%(9/94). 美国麻醉师协会(American Society of Anesthesiology, ASA)麻醉前分级I-III级. 此94例患者纳入前瞻性临床对照研究,依据LC术前1 d外周静脉血CD4计数(D0, 单位cell/ $\mu$ L)分层,  $I \geq 500 > II \geq 200 > III \geq 0$ . 结合有无HIV感染分为HIV- I、HIV+ I、HIV+ II、HIV+ III共4组.

## 1.2 方法

**1.2.1 治疗:**手术前后处理参照《临床诊疗指南-外科学分册》<sup>[3]</sup>,经必要术前准备,各组均在气管插管全身麻醉下由同一治疗小组施行LC,各组患者术后1 wk均未使用糖皮质激素或免疫抑制剂. (HIV+)者按照《艾滋病诊疗指南》进行抗病毒治疗和并发症处理<sup>[4]</sup>. 符合抗病毒治疗标准的24例(HIV+)患者术前抗病毒治疗2 wk,术后继续HAART抗病毒及治疗AIDS并发症. HIV+ III组均经过包括营养支持和并发症处理等充分的术前准备.

**1.2.2 检测指标:** HIV抗体ELISA法初筛实验阴性为(HIV-)组, HIV抗体 ELISA法初筛实验阳性且蛋白印迹法(Western blot)确证阳性为(HIV+)组,所有研究对象除诊疗指南要求项目外,于术前1 d(D0)、术后第3天(D3)、术后第7天(D7)分别抽取外周静脉血,检测血液常规和T淋巴细胞亚群,包括CD4、CD8计数(cell/ $\mu$ L)及CD4/CD8. 分别

## ■ 研发前沿

HIV感染者施行手术治疗,亟待解决以下问题:手术对HIV感染者免疫功能的影响如何?手术适应症如何把握?如何规范有效地围手术期处理?如何保证医患各方的安全?



## ■创新盘点

本研究通过较大样本含量的前瞻性分层对照,采用两因素多水平方差分析,总结出手术对不同免疫缺陷程度HIV感染者细胞免疫影响的特征和规律,为外科HIV感染者围手术期的免疫干预提供了理论依据。

表 1 各组患者LC手术前后外周静脉血主要免疫细胞指标变化 (mean ± SD)

分组	n	时间	白细胞( $10^9/L$ )	中性粒细胞率(%)	淋巴细胞率(%)	CD4( $cell/\mu L$ )	CD8( $cell/\mu L$ )
HIV- I	32	D0	7.5 ± 3.3	62.6 ± 10.8	42.4 ± 8.3	660 ± 169	530 ± 124
		D3	8.8 ± 2.4	72.6 ± 12.3	38.6 ± 12.3	613 ± 97	512 ± 108
		D7	8.1 ± 3.6	67.9 ± 7.7	46.2 ± 4.3	676 ± 104	503 ± 93
HIV+ I	14	D0	6.7 ± 3.1	60.5 ± 28.3	40.5 ± 5.8	628 ± 73	620 ± 186
		D3	7.2 ± 2.4	68.7 ± 12.6	35.6 ± 8.4	539 ± 39	668 ± 210
		D7	6.9 ± 4.2	64.2 ± 13.5	38.3 ± 6.5	592 ± 91	647 ± 164
HIV+ II	36	D0	5.6 ± 3.6	67.5 ± 8.6	35.9 ± 9.6	377 ± 85	726 ± 241
		D3	6.0 ± 2.9	72.3 ± 10.3	32.4 ± 17.3	302 ± 85	764 ± 186
		D7	5.4 ± 3.5	77.6 ± 8.6	30.8 ± 11.5	305 ± 72	670 ± 104
HIV+ III	12	D0	4.7 ± 3.4	71.8 ± 12.6	30.5 ± 16.4	144 ± 37	432 ± 210
		D3	4.4 ± 2.6	78.4 ± 14.9	25.4 ± 8.9	114 ± 38	478 ± 251
		D7	3.9 ± 3.2	76.3 ± 15.1	23.1 ± 12.5	115 ± 33	423 ± 142

LC: 腹腔镜胆囊切除术; HIV: 人免疫缺陷病毒。

表 2 各组患者LC手术前后CD4计数( $cell/\mu L$ )及其相对百分比 (mean ± SD)

分组	n	术前1 d(D0)		术后第3天(D3)		术后第7天(D7)	
		CD4	D0/D0(%)	CD4	D3/D0(%)	CD4	D7/D0 (%)
HIV- I	32	660 ± 169	100	613 ± 97	93.20 ± 5.73	676 ± 104	102.90 ± 7.48
HIV+ I	14	628 ± 73	100	539 ± 39	86.65 ± 8.81	592 ± 91	95.55 ± 18.39
HIV+ II	36	377 ± 85	100	302 ± 85	81.35 ± 21.12	305 ± 72	83.21 ± 20.35
HIV+ III	12	144 ± 37	100	114 ± 38	79.83 ± 21.35	115 ± 33	82.43 ± 20.74

LC: 腹腔镜胆囊切除术; HIV: 人免疫缺陷病毒。

计算D3、D7两次CD4计数相对于D0的百分比D3/D0(%)、D7/D0(%)。T淋巴细胞亚群检测采用Beckman Coulter Epics XL流式细胞仪。

**统计学处理** 结果以mean ± SD的形式表示,使用SPSS19.0软件包,重复测量数据采用Repeated Measures单因素(组内前后比较)或两因素(组间、组内同时比较)多水平方差分析(ANOVA)。按 $\alpha = 0.05$ 水准, $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 临床效果** 全部94例患者麻醉及LC手术顺利(其中3例因合并胆总管结石附加了经十二指肠镜胆总管取石术)。所有患者未发生麻醉及手术相关并发症,无围手术期死亡病例,胆道疾病全部一期治愈。各组手术前后检测指标如表1及表2。

**2.2 统计学结果** 各组内部,手术前后3次检测各项目均数差异中,白细胞计数、中性粒细胞率、淋巴细胞率、CD8计数无统计学意义( $P > 0.05$ ); CD4计数有统计学意义( $P < 0.001$ );进一步两两比较发现,对于CD4计数, D0 vs D3、D0

vs D7和D3 vs D7差异有统计学意义( $P < 0.0001$ ); 对于CD4计数相对百分比, D0/D0 vs D3/D0和D0/D0 vs D7/D0差异有统计学意义( $P < 0.0001$ ), D3/D0 vs D7/D0差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。不同分组之间的差异效应有统计学意义( $F = 203.80$ ,  $P < 0.001$ )。时间与分组两个因素之间有交互效应( $F = 8.08$ ,  $P < 0.001$ )。各组CD4计数的变化趋势以及时间与分组两因素的交互作用如图1, 图2。

## 3 讨论

HIV感染(包括AIDS)是全球共同面临的巨大挑战! HIV感染已经成为我国当前面临的重大公共卫生问题之一。HIV通过对CD4 T淋巴细胞亚群的破坏导致AIDS。CD4计数、病毒载量和全身营养状况是常用于评估HIV感染者病情、预后及疗效的最常用指标<sup>[5]</sup>。HIV感染者合并外科疾病并需要手术者也不断增多。关于HIV感染者外科手术安全性和适应症的研究日益受到重视。

国内外已有一些关于外科手术对HIV感染者免疫功能影响的研究。Jiang等<sup>[1]</sup>将微芯片技术

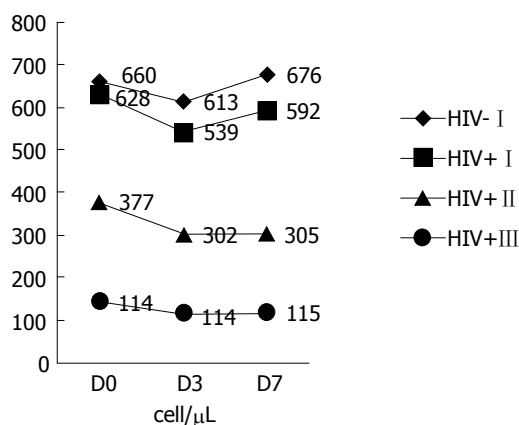


图 1 各组手术前后CD4计数(均值).

用于HIV感染者的研究, 认为HIV主要攻击人体免疫系统中的CD4 T淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞. 有研究<sup>[6-9]</sup>通过对HIV感染者腹腔镜手术前后免疫功能的对比观察认为腹腔镜手术可以短暂、轻度抑制细胞免疫, 对体液免疫无明显影响, 并认为术前检查CD4 $\geq 200$  cell/ $\mu$ L可确保手术安全性. 但这些研究大多样本量较少, 而且缺乏对照, 尤其是缺乏针对不同免疫力缺陷程度患者的分层对比研究.

我们设计了前瞻性分层对比研究. HIV感染按照WHO分级标准<sup>[10]</sup>, 根据术前1天(D0)CD4计数水平(cell/ $\mu$ L)分为3层, I $\geq 500$ >II $\geq 200$ >III $\geq 0$ , 加上阴性对照组(同期随机选择的非HIV感染者)共分为4层(组). 为减少混杂影响, 研究对象年龄控制在18-65岁, 并且剔除术前2 wk内曾使用过糖皮质激素或免疫抑制剂的患者. 由于各层组术前1d(D0)CD4计数基数不同, 为更本质地反映各组变化趋势和幅度, 我们还观察分析了各组手术前后3次CD4计数的“相对比”(与D0的相对百分比)的变化情况.

结果显示, 手术前后3次检测中, 白细胞计数、中性粒细胞率、淋巴细胞率、CD8计数差异无统计学意义, 可能LC手术相对创伤较小、对其的影响不显著. 每组组内手术前后CD4计数差异有统计学意义( $P<0.0001$ ). 进一步分析发现, 不同组别之间的差异效应有统计学意义、时间与组别有交互效应( $P<0.0001$ ). 而且各组CD4计数都有“先降后升”(先抑制后恢复)的变化过程. 这种趋势在(为矫正CD4计数基数差异的影响)将其转化为相对比后更显著(图1, 2).

本研究显示: 不同层(组)的下降和回升的速度(斜率)及幅度不同. 各组CD4计数D3下降速度及幅度排序: HIV- I < HIV+ I < HIV+ II < HIV+

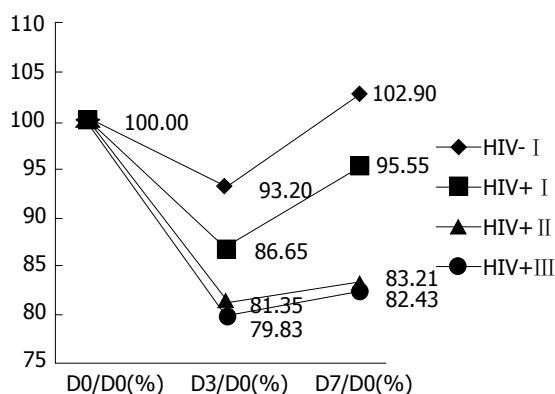


图 2 各组手术前后CD4计数相对比(均值).

III, CD4计数D7回升速度及幅度排序正好相反: HIV- I > HIV+ I > HIV+ II > HIV+ III. 其影响过程还体现出从HIV- I组的“V”型到HIV+ III组的“L”型的渐变规律. 这表明病情越重(CD4破坏越多、计数越低), 手术麻醉对其免疫抑制越明显, 其免疫恢复也更慢. 其中HIV- I组D7超过D0 ( $D7/D0 = 102.9\%$ ), 可能与其免疫系统受到刺激后产生代偿性反应性增生有关. HIV+ I组虽然也表现出代偿, 但与术前CD4计数基数相当的HIV- I组相比也体现出有统计学意义的差异, 可能与其代偿潜能已经受到一定程度的破坏有关.

创伤和应激可对机体免疫功能产生影响, 轻者可激发和增强免疫, 重者可导致免疫抑制. 其影响程度和持续时间与创伤的大小密切相关<sup>[11]</sup>. 创伤后机体T淋巴细胞总数可减少, 其中主要是属CD4 T细胞的Th细胞减少. 创伤后免疫细胞恢复速度与创伤严重程度和并发症情况有关, 一般数天至数周<sup>[5]</sup>.

以LC为代表的微创手术近年来逐步用于合并HIV感染(有不同程度免疫缺陷)的外科患者. 卢春燕、张锡贵等证实腹腔镜手术创伤应激小、疼痛轻、恢复快、免疫抑制轻, 并认为HIV感染者CD4 T淋巴细胞 $\geq 200$  cell/ $\mu$ L可以安全手术<sup>[12-16]</sup>. 本研究表明LC手术和插管全身麻醉引起了创伤和应激类似免疫抑制和恢复的过程. 本研究还提示手术产生的免疫抑制以及恢复的程度与CD4基数水平具有连续渐变的线性关系. 没有观察到明显的“分界线”, 这表明: 所有HIV感染者的免疫功能都应给予重视, 即使CD4 $\geq 500$  cell/ $\mu$ L也并非绝对安全.

通过规范、细致的围手术期处理(特别是HIV+ III组都经过包括营养支持和并发症处理等充分的术前准备; 与刘保池等<sup>[17]</sup>类似, CD4 T淋巴细胞 $< 200$  cell/ $\mu$ L者常规加用预防肺孢子虫

#### 应用要点

本研究发现了腹腔镜胆囊切除术(laparoscopic cholecystectomy, LC)手术对HIV感染者细胞免疫影响的特征和规律; 文章强调对HIV感染者施行手术要正确把握手术适应症、重视免疫干预并且进行有针对性的围术期处理. 这些规律和观点可用于启发和指导相关的科研和临床工作.

### ■同行评价

本文设计新颖科学, 统计规范明晰, 论证有理有据, 讨论深入有序. LC手术对HIV感染者细胞免疫影响的“先抑制后恢复”过程及其从“V”型到“L”型的渐变规律等创新性发现对相关科研和临床都具有较大的启发和参考价值.

和真菌感染的药物). 全部94例患者临床效果满意, 胆道疾病全部一期治愈, 无手术及麻醉相关并发症发生. 该研究表明: 通过正确把握手术适应症以及适当的围手术期处理, 对于伴HIV感染的胆道患者, 全麻下施行LC手术可以取得与非HIV感染者相似临床疗效.

总之, LC手术对CD4为主的细胞免疫功能有“先抑制后恢复”的影响过程. 其影响过程还体现出从HIV- I 组的“V”型到HIV+III组的“L”型的渐变规律. HIV感染者免疫缺陷程度越重, 其免疫抑制越明显, 其免疫恢复也更缓慢. 对HIV感染者施行手术要正确把握手术适应症、重视免疫干预并且进行有针对性的围术期处理. 对于不同程度免疫缺陷的外科HIV感染者, 其手术安全性、手术适应症以及针对性的免疫干预等多个方面, 都还需要更多更深入的研究.

### 4 参考文献

- Jiang X, Spencer MG. Electrochemical impedance biosensor with electrode pixels for precise counting of CD4+ cells: a microchip for quantitative diagnosis of HIV infection status of AIDS patients. *Biosens Bioelectron* 2010; 25: 1622-1628 [PMID: 20047827 DOI: 10.1016/j.bios.2009]
- Geocze L, Mucci S, De Marco MA, Nogueira-Martins LA, Citero Vde A. Quality of life and adherence to HAART in HIV-infected patients. *Rev Saude Publica* 2010; 44: 743-749 [PMID: 20676564 DOI: 10.1590/S0034-89102010000400019]
- 中华医学会编著. 临床诊疗指南-外科学分册. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 292-335
- 中华医学会感染病学分会艾滋病学组. 艾滋病诊疗指南. 中华传染病杂志 2006; 24: 133-144
- Ni Choileain N, MacConmara M, Zang Y, Murphy TJ, Mannick JA, Lederer JA. Enhanced regulatory T cell activity is an element of the host response to injury. *J Immunol* 2006; 176: 225-236 [PMID: 16365414]
- 邓建宁. 腹腔镜手术对HIV感染者免疫功能的影响探讨. 中外医疗 2013; 32: 70-71
- 张磊, 刘保池. 人类免疫缺陷病毒感染者手术安全问题探讨. 中国全科医学杂志 2012; 15: 62-64
- 卢焱, 沈芳. 腹腔镜手术对HIV感染者免疫功能的影响. 腹腔镜外科杂志 2007; 12: 293-296
- 魏国, 温贤敏, 范合璋, 华欣, 何永, 蔡林, 钟明, 何盛华. 腹腔镜胆囊切除术对HIV/AIDS细胞免疫功能的影响. 中国实用医药杂志 2013; 8: 4-6
- Bahebeck J, Bedimo R, Eyenga V, Kouamfack C, Kingue T, Nierenet M, Sosso M. The management of musculoskeletal infection in HIV carriers. *Acta Orthop Belg* 2004; 70: 355-360 [PMID: 15481421]
- Broder S. The development of antiretroviral therapy and its impact on the HIV-1/AIDS pandemic. *Antiviral Res* 2010; 85: 1-18 [PMID: 20018391 DOI: 10.1016/j]
- 卢春燕. 腹腔镜胆囊切除术与开腹胆囊切除术同期临床对比. 医药前沿 2013; (30): 109-110
- 张锡贵, 吴才, 倪武, 林育超, 车芳, 赖巧红. 腹腔镜与开腹结直肠癌根治术对患者免疫功能的影响比较. 微创医学 2013; 8: 140-142
- 凡兴卫. 腹腔镜与开腹手术对老年胆囊切除患者免疫功能影响的比较. 中外医疗 2012; 31: 77
- 张庆尧. 腹腔镜胆囊切除术对机体免疫球蛋白、补体及CRP的影响. 腹腔镜外科杂志 2003; 8: 148-150
- 梁永任, 黄燕金, 梁日光, 廖均平. 腹腔镜与开腹胆囊切除术对患者免疫功能的影响机制研究. 中国医药科学 2012; (6): 14-15
- 刘保池, 张磊, 苏锦松. HIV感染者胆囊切除围手术期处理. 上海医药 2013; (4): 36-39

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 导丝超选胆管插入法与乳头直接插入法对ERCP术后并发症的影响比较

毕荣欣, 薛志广, 张伟, 周亮

毕荣欣, 薛志广, 张伟, 周亮, 河北省邢台市第三医院普外科  
河北省邢台市 054000

毕荣欣, 主治医师, 主要从事微创外科的研究。

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由毕荣欣与薛志广完成; 研究过程由张伟完成; 周亮进行数据分析。

通讯作者: 毕荣欣, 主治医师, 054000, 河北省邢台市钢铁北路108号, 河北省邢台市第三医院普外科. blackfoxbrx@163.com  
电话: 0319-2123201

收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2013-12-23

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## Comparison of post-ERCP complications between patients using guidewire ultra-election duct insertion versus those using direct papillary insertion

Rong-Xin Bi, Zhi-Guang Xue, Wei Zhang, Liang Zhou

Rong-Xin Bi, Zhi-Guang Xue, Wei Zhang, Liang Zhou,  
Department of General Surgery, the Third Hospital of Xingtai City, Xingtai 054000, Hebei Province, China

Correspondence to: Rong-Xin Bi, Attending Physician, Department of General Surgery, the Third Hospital of Xingtai City, 108 Gangtie North Road, Xingtai 054000, Hebei Province, China. lackfoxbrx@163.com

Received: 2013-12-07 Revised: 2013-12-23

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To explore the impact of guidewire ultra-election duct insertion versus direct papillary insertion on post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) complications.

**METHODS:** Ninety-one patients who underwent ERCP at our hospital were involved. According to the way the guide wire was inserted, they were divided into two groups: those using the guidewire ultra-election duct insertion (44 cases) and those using direct papillary insertion (47 cases). The surgical success rate, pancreatic duct visualization rate, post-ERCP pancreatitis (PEP) incidence and postoperative changes in serum amylase were compared between the two groups.

**RESULTS:** Surgical success rate, pancreatic

duct visualization rate and PEP incidence in the direct papillary insertion group were 42.02%, 51.07% and 17.02%, respectively. The corresponding values in the by the guidewire ultra-election bile duct insertion group were 90.91%, 6.82% and 4.55%. Compared with the guidewire ultra-election insertion group, the direct papillary insertion group had significantly lower surgical success rate and PEP incidence but higher pancreatic duct visualization rate ( $P < 0.01$  for all). Serum levels of amylase at 6 and 24 h were significantly increased in all patients compared with preoperative value ( $P < 0.05$  for all). Serum amylase levels at 48 h in both groups were significantly lower than those at 24 h in all patients with successful surgery ( $P < 0.05$ ). Serum levels of amylase at 48 h in the guidewire ultra-election duct insertion group was significantly lower than that in the direct papillary insertion group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Compared with the traditional direct papillary insertion method, guidewire ultra-election bile duct insertion technique has huge advantages in terms of higher surgical success rate and lower pancreatic duct visualization rate and incidence of PEP.

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

**Key Words:** Guidewire ultra-election bile duct insertion; Papillary direct insertion; ERCP; Pancreatitis

Bi RX, Xue ZG, Zhang W, Zhou L. Comparison of post-ERCP complications between patients using guidewire ultra-election duct insertion versus those using direct papillary insertion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 705-708 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.705>

## 摘要

**目的:** 比较导丝超选胆管技术与乳头直接插入法对内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)术

## ■背景资料

内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是近十几年来新型的胰胆疾病治疗技术, 其具有创伤小、手术时间短等优点, 深受广大患者的欢迎。插管是手术成功的基础和关键。乳头直接插入法和导丝超选胆管技术均是插管的重要方法, 前者被人们发现较早, 使用广泛, 但是对于医师的经验要求较高, 其主要并发症-胰腺炎的发病率也较高; 而导丝超选胆管技术属新型的插管技术, 是利用超滑亲水导丝与结肠镜结合插入, 并借助透视镜观测的方法, 正在逐渐被人们接受。

## ■同行评议者

周国雄, 主任医师, 南通大学附属医院消化内科

## ■相关报道

有研究认为, 胰管显影的发生机制可能为胰管内造影剂过度充盈, 瞬间压力过大导致胰管细胞损伤所致。还有研究认为, 胰腺炎的发生原因是因为过多的造影剂反流入胰腺, 胰腺细胞不能正常代谢所致。

后并发症的影响。

**方法:** 选取我院需要ERCP手术的患者91例, 根据导丝插入方法不同分为导丝超选胆管插入法44例和乳头直接插入法47例, 对比两组患者的手术成功率、胰管显影率、术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis, PEP)发生率及手术前后血清淀粉酶的变化情况。

**结果:** 乳头直接插入法手术成功率为42.02%, 胰管显影率为51.07%, PEP发生率为17.02%; 导丝超选技术手术成功率为90.91%, 胰管显影率为6.82%, PEP发生率为4.55%。与导丝超选相比, 乳头直接插入法手术成率、PEP发生率明显较低, 胰管显影率较高, 差异均有统计学意义( $P<0.01$ )。与手术前比较, 所有患者术后6、24 h血清淀粉酶均升高, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。手术成功的患者中, 两种方法48 h血清淀粉酶较术后24 h降低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 导丝超选法术后48 h血清淀粉酶较乳头直接插入法降低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 导丝超选胆管技术插入法手术成功率高, 胰管显影率及PEP发生率低, 相对于传统的乳头直接插入法具有很大优势, 值得推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 导丝超选胆管技术; 乳头直接插入法; 内镜下逆行胰胆管造影术; 胰腺炎

**核心提示:** 本次研究仅从不同插管方法入手, 研究其对内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography)术后胰腺炎发生率的影响, 希望为临床治疗提供依据。

毕荣欣, 薛志广, 张伟, 周亮, 导丝超选胆管插入法与乳头直接插入法对ERCP术后并发症的影响比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 705-708 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/705.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.705>

## 0 引言

内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)是近十几年来新型的肝胆疾病治疗技术, 其具有创伤小、手术时间短等优点, 深受广大患者的欢迎<sup>[1,2]</sup>。但是, 随着该项技术的广泛使用, ERCP带来的并发症也不容忽视, 尤其是胰腺炎和高淀粉酶血症已经成为新的疾病发病人群<sup>[3]</sup>。据统计, ERCP相关胰腺炎的发病率可能已经超过10%, 并且药物控制疗效较差。我们认为可能与导管插入时造成

不必要的创伤有关<sup>[4,5]</sup>, 若能将导丝超选技术灵活运用至插管这一步骤中, 降低插管伤害及失败导致的胰腺炎发病人数, 则对于ERCP的继续发展有重要意义。本研究比较了导丝超选胆管技术与乳头直接插入法对ERCP术后胰腺炎发生率的影响, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机抽取2012-01-01/2013-05-31我院消化内科需要ERCP手术的患者91例, 其中男52例, 女39例, 最大年龄62岁, 最小年龄39岁, 平均年龄43.12岁±3.24岁。诊断性患者41例, 胆总管结石23例, 胆总管梗阻9例, 胆囊切除10例, 胆总管狭窄8例。根据导丝插入方法不同分为导丝超选胆管插入法44例和乳头直接插入法47例, 两组患者在年龄、性别、疾病类型、血压、血糖、血脂都无统计学差异( $P>0.05$ )。

### 1.2 方法

**1.2.1 乳头直接插入法:** 根据胆总管十二指肠段走行判断插管的方向, 根据乳头的大小、开口方向确定导管的插入部位, 通过调整肠镜的弯曲度和抬钳器调整角度, 将造影管通过十二指肠乳头插入胆总管。然后根据医师经验判断是否成功插入, 推入造影剂。导丝超选胆管插入法: 将超滑亲水导丝插入切开刀内, 用切开刀代替造影管, 通过调整肠镜的弯曲度、抬钳器调整角度及刀片的紧张度, 试探性插入导丝, 利用透视镜确保导丝插入并推入造影剂。

为保证试验结果的准确性, 以上所有手术操作均由同一医师进行, 并且均签署患者知情同意书。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计学软件分析, 计量资料以mean±SD表示, 并采用 $t$ 检验, 计数资料及率的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两种方法手术成率、胰管显影率、PEP发生率比较** 乳头直接插入法手术成功率为42.02%, 胰管显影率为51.07%, PEP发生率为17.02%; 导丝超选技术手术(图1)成功率为90.91%, 胰管显影率为6.82%, PEP发生率为4.55%。与导丝超选技术相比, 乳头直接插入法手术成率、PEP发生率明显较低, 胰管显影率较高, 差异有统计学意义( $P<0.01$ , 表1, 图2)。

**2.2 两种方法术前、后血清淀粉酶比较** 与手术

表 1 两种方法手术成率、胰管显影率、术后胰腺炎发生率比较  $n(\%)$

分组	$n$	手术成功	胰管显影	术后胰腺炎
乳头直接插入法	47	19(42.02)	24(51.07)	12(25.53)
导丝超选技术	44	40(90.91)	3(6.82)	2(4.55)
$\chi^2$ 值	—	23.237	19.252	6.161
$P$ 值	—	0.000	0.000	0.013

表 2 两种方法术前、后血清淀粉酶比较 (U/L)

	$n$	手术前6 h	手术后6 h	术后24 h	术后48 h
乳头直接插入法					
成功	19	51.83 ± 2.35	263.53 ± 15.53 <sup>a</sup>	216.33 ± 16.35 <sup>a</sup>	144.24 ± 5.89 <sup>e</sup>
未成功	28	56.24 ± 1.55	247.18 ± 7.29 <sup>a</sup>	205.49 ± 34.26	163.85 ± 15.32
导丝超选技术					
成功	40	52.57 ± 2.73	294.75 ± 8.38 <sup>a</sup>	222.43 ± 5.73 <sup>a</sup>	77.74 ± 24.27 <sup>ce</sup>
未成功	4	51.27 ± 4.72	245.74 ± 11.83 <sup>a</sup>	217.47 ± 13.73	135.53 ± 13.47

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 手术前6 h; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 乳头直接插入法成功组; <sup>e</sup> $P < 0.05$  vs 手术后24 h.

#### ■应用要点

新型导丝超选胆管技术插入法手术成功率高, 胰管显影率及术后胰腺炎(post-ERCP pancreatitis)发生率低, 相对于传统的乳头直接插入法具有很大优势, 也为经内镜逆行性胰胆管造影术成功奠定了基础, 对于胰胆疾病的诊疗有重要意义。

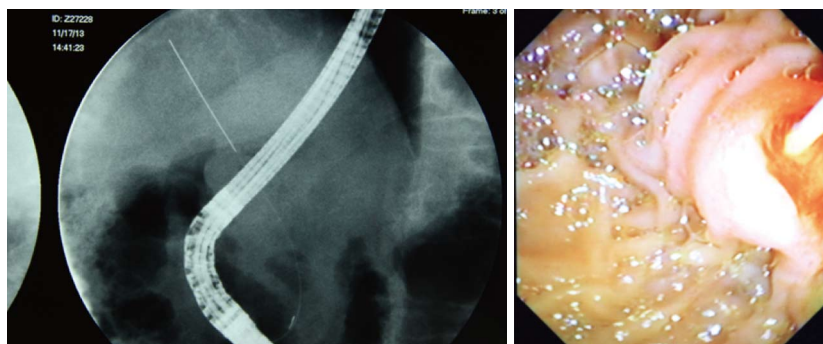


图 1 运用导丝超选胆管插入法的内镜下逆行胰胆管造影术。

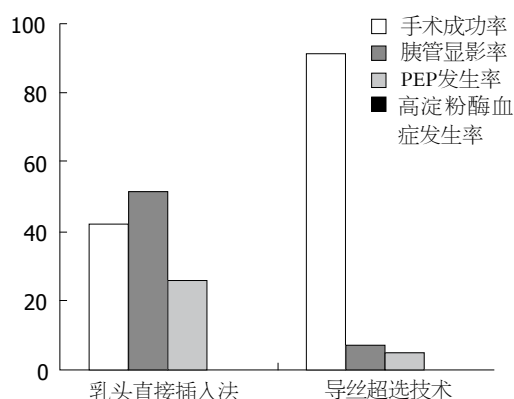


图 2 两种方法手术成率、胰管显影率、PEP发生率、高淀粉酶血症发生率比较。

前比较, 所有患者术后6、24 h血清淀粉酶均升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。手术成功的患者中, 两种方法48 h血清淀粉酶较术后24 h降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 导丝超选法术后48

h血清淀粉酶较乳头直接插入法降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表2)。

### 3 讨论

ERCP是运用十二指肠肠镜将导管插入十二指肠乳头, 进而找到胆总管, 将造影剂注入并显影的技术, 主要包括插镜、插管、造影、拍片、治疗等过程<sup>[6-8]</sup>, 其中插管是手术成功的基础和关键。乳头直接插入法和导丝超选胆管技术均是插管的重要方法, 前者被人们发现较早, 使用广泛, 但是对于医师的经验要求较高, 其主要并发症-胰腺炎的发病率也较高; 而导丝超选胆管技术属新型的插管技术, 是利用超滑亲水导丝与结肠镜结合插入, 并借助透视镜观测的方法, 正在逐渐被人们所接受<sup>[9-11]</sup>。本次研究仅从不同插管方法入手, 研究其对ERCP术后胰腺炎发生率的影响, 希望为临床治疗提供依据。



## ■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 方法实用, 对临床医师有很好的参考价值。

本次试验结果中, 乳头直接插入法手术成功率为42.02%, 胰管显影率为51.07%, PEP发生率为17.02%; 导丝超选技术手术成功率为90.91%, 胰管显影率为6.82%, PEP发生率为4.55%。与导丝超选相比, 乳头直接插入法手术成率、PEP发生率明显较低, 胰管显影率较高。表明与传统的乳头直接插入法相比, 导丝超选插入技术在提升手术成功率、降低胰管显影率和胰腺炎发病率方面具有更大的优势。我们认为, 导丝超选插入法的手术成功率与显影率密切相关, 胰管显影率降低, 手术的成功率才能提高。有研究认为<sup>[12]</sup>, 胰管显影的发生机制可能为胰管内造影剂过度充盈, 瞬间压力过大导致胰管细胞损伤所致。还有研究认为<sup>[13]</sup>, 胰腺炎的发生原因是因为过多的造影剂反流入胰腺, 胰腺细胞不能正常代谢而致。由于导丝超选技术是在透视镜下进行的, 对于造影剂剂量控制良好, 从而降低了PEP的发生。此外, 我们认为导丝超选技术插入法手术成率高的另一原因可能为新型导丝的运用, 减少了机械插入对于胰胆部位的创伤, 为进一步的治疗创造了更为优越的手术条件。研究结果中, 与手术前比较, 所有患者术后6、24 h血清淀粉酶均升高。手术成功的患者中, 两种方法48 h血清淀粉酶较术后24 h降低; 导丝超选法术后48 h血清淀粉酶较乳头直接插入法降低。说明两种插入方法均会导致血清淀粉酶的升高, 之后逐渐下降, 但是导丝超选组患者的血清淀粉酶降低所需时间较乳头直接插入法缩短, 减少了高淀粉酶血症的发生。在临床诊断中, 血清淀粉酶主要用于急性胰腺炎的判断, 急性胰腺炎发病时, 淀粉酶溢出胰腺, 迅速吸收入血, 导致血清中淀粉酶含量增高<sup>[14,15]</sup>。实验中患者在短时间内淀粉酶均高于正常值, 可能与插入时机机械损伤腺泡有关, 也可能从侧面提示ERCP术中轻度胰腺炎发生的不可避免。但是导丝插入法的患者48 h后淀粉酶开始降低, 其机制可能与升高是相似, 导丝技术的运用减小了创伤, 那么胰腺恢复的速度将会提高, 更有利于机体的恢复。

总之, 新型导丝超选胆管技术插入法手术成功率高, 胰管显影率及PEP发生率低, 相对于传

统的乳头直接插入法具有很大优势, 也为经内镜逆行性胰胆管造影术成功奠定了基础, 对于胰胆疾病的诊疗具有重要意义。

## 4 参考文献

- 1 柴宁莉, 令狐恩强, 万军, 蔡昌豪, 徐世平, 吴本俨, 胡海田, 张煜, 张智勇. 胆管超选技术降低ERCP术后胰腺炎发生率的对照研究. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 336-340
- 2 Freeman ML. Post-ERCP pancreatitis: patient and technique-related risk factors. *JOP* 2002; 3: 169-176 [PMID: 12432183]
- 3 Wang ZK, Yang YS, Cai FC, Wang YH, Shi XL, Ding C, Li W. Is prophylactic somatostatin effective to prevent post-endoscopic retrograde cholangiopancreatography pancreatitis or hyperamylasemia? A randomized, placebo-controlled pilot trial. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126: 2403-2408 [PMID: 23823808 DOI: 10.3760]
- 4 夏挺松, 刘鹏飞. 直肠非甾体类抗炎药对ERCP术后胰腺炎的预防作用. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 301-302
- 5 孙铎, 刘永刚, 杨俊清, 刘山, 朱广庆. PTCD与ERCP联合术治疗恶性梗阻性黄疸疗效分析. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 308-309
- 6 宋丽亚, 赵清喜, 孔心涓, 田字彬, 张琪. ENBD预防胆管多发结石ERCP术后急性胰腺炎及高淀粉酶血症65例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1724-1727
- 7 Baron TH, Abu Dayyeh BK, Zinsmeister AR. Rectal indomethacin to prevent post-ERCP pancreatitis. *N Engl J Med* 2012; 367: 277-278; author reply 277-278 [PMID: 22808973 DOI: 10.1056/NEJMc1205928]
- 8 周玉保, 黄慧, 潘亚敏, 王田田, 王书智, 陆蕊, 王淑萍, 时之梅, 孙志飞, 胡冰. 针状刀乳头开窗术在ERCP困难插管中的应用. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 454-457
- 9 王锋, 王琦, 李昭宇. 导丝引导下选择性胆管插管预防ERCP术后胰腺炎和高淀粉酶血症的作用. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 670-672
- 10 王蒙, 王广义, 张平, 吕国悦, 耿亚军, 冯秋实. 急性胆胰疾病的急诊内镜治疗. 中华普通外科杂志 2011; 26: 671-673
- 11 王淑萍, 高道健, 陆蕊, 时之梅, 黄慧, 周吉, 王书智. 肝门部胆管癌肝内胆管超选困难时的配合技巧探讨. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 234-235
- 12 刘玉杰, 江堤, 苏剑东, 黄友明, 李学谦, 孙贤久, 麦海珠, 杨巧玲, 廖秀敏, 龚飞跃. 急诊ERCP在急性胆源性胰腺炎治疗中的应用. 肝胆胰外科杂志 2012; 24: 278-280, 285
- 13 刘志兰, 胡金定, 袁少轩. 优质护理理念对ERCP术患者治疗配合及并发症控制情况的影响研究. 国际护理学杂志 2013; 32: 473-474, 531
- 14 梁和业, 乔秀丽, 王晓丰, 褚衍六, 高若辉, 高孝忠. ERCP后即时LC在治疗胆囊结石合并胆总管结石中的应用价值. 胃肠病学和肝病杂志 2013; 22: 704-705
- 15 赵娅敏, 刘锦涛, 余细球, 范东俊. ERCP术后并发症临床分析. 胃肠病学和肝病杂志 2013; 22: 708-710

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 内镜黏膜下剥离术治疗直肠类癌17例

王海波, 吴会超, 彭丹若, 刘黔, 庾必光

王海波, 吴会超, 彭丹若, 刘黔, 庾必光, 贵州省遵义医学院附属医院消化内科 贵州省消化内镜诊疗与治疗工程中心 贵州省遵义市 563003

王海波, 主治医师, 主要从事大肠癌的早期诊断与治疗及消化内镜下的治疗。

作者贡献分布: 王海波、吴会超及庾必光对此文所做贡献均等; 内镜诊断由王海波、吴会超及刘黔操作完成; 手术由王海波与刘黔操作完成; 资料收集及整理由王海波与彭丹若完成; 本论文写作由王海波与庾必光完成。

通讯作者: 庾必光, 教授, 563003, 贵州省遵义市汇川区大连路149号, 遵义医学院附属医院消化内科, tuobiguang@yahoo.com.cn

收稿日期: 2013-07-03 修回日期: 2013-12-23

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

## Endoscopic submucosal dissection for rectal carcinoid tumors: An analysis of 17 cases

Hai-Bo Wang, Hui-Chao Wu, Dan-Ruo Peng, Qian Liu, Bi-Guang Tuo

Hai-Bo Wang, Hui-Chao Wu, Dan-Ruo Peng, Qian Liu, Bi-Guang Tuo, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province, China

Correspondence to: Bi-Guang Tuo, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Zunyi Medical College, 149 Dalian Road, Huichuan District, Zunyi 563003, Guizhou Province, China, tuobiguang@aliyun.com.cn

Received: 2013-07-03 Revised: 2013-12-23

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To assess the clinical efficacy and safety of endoscopic submucosal dissection (ESD) for rectal carcinoid tumors.

**METHODS:** Seventeen consecutive patients with 17 carcinoid tumors were enrolled. Carcinoid tumors were diagnosed by colonoscopy and endoscopic ultrasonography, and further confirmed by histopathologic examination of resected specimens. There was no endoscopic evidence of muscularis propria invasion or evidence of lymph node or distant metastasis. Tumors were resected by ESD with the Dual Knife and IT-2 Knife. All cases were followed after operation.

**RESULTS:** Complete resection was achieved in all 17 cases (100%). The size of tumor ranged

from 0.4 to 1.2 cm (average 0.72 cm). The operative time was 7-25 min (average 9.4 min). No late hemorrhage or perforation occurred. The capsules of all resected tumors were complete. The bases of tumors and the edges within 0.2 cm from tumors had no lesions. No residual lesion or recurrence occurred during the follow-up period of 3-36 mo.

**CONCLUSION:** ESD is feasible and effective for patients with a rectal carcinoid tumor smaller than 10, but without muscularis propria invasion.

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

**Key Words:** Endoscopic submucosal dissection; Rectal carcinoid tumors

Wang HB, Wu HC, Peng DR, Liu Q, Tuo BG. Endoscopic submucosal dissection for rectal carcinoid tumors: An analysis of 17 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 709-712 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.709>

## 摘要

**目的:** 探讨内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)治疗直肠类癌的应用价值。

**方法:** 对内镜发现的直肠黏膜下肿瘤, 通过微超声探头检查, 超声内镜明确诊断17例来源于黏膜下层、没有固有肌层受累和淋巴结或远处转移的直肠类癌, 用Dual Knife和IT-2 Knife进行ESD治疗, 并进行术后随访。

**结果:** 17例成功完成ESD治疗, 完整切除率达100%。病变最大直径0.4-1.2 cm(平均0.72 cm), 手术时间7-25 min(平均9.4 min)。无1例出现迟发性出血及穿孔。所有ESD剥离肿瘤包膜完整, 基底和切缘0.2 cm以内均未见病变累及。术后随访3-36 mo, 无1例病变残留和复发。

**结论:** ESD治疗直径≤2.0 cm、未侵犯固有肌层的直肠类癌安全、有效, 可以一次性完整切除病变, 提供完整的病理学诊断资料。

## ■背景资料

直肠类癌是一种恶性程度低的神内内分泌肿瘤, 但发展缓慢, 其恶性程度的判断主要取决于肿瘤的大小、是否侵入肌层及组织学分化程度。随着内镜治疗技术的不断提高, 直肠类癌的内镜治疗已成为研究热点。

## ■同行评议者

许剑民, 教授, 上海市复旦大学附属中山医院普外科; 卢宁, 副主任医师, 中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐齐总医院肿瘤科

## ■研发前沿

内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)可以完整地切除病变,较内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)更能体现微创手术的优越性和有效性,但是需要较高的内镜治疗技术,如何掌握ESD操作技巧、减少并发症的发生,体现该技术的应用价值是研究热点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 内镜黏膜下剥离术; 直肠类癌

**核心提示:** 直肠类癌是一种生长缓慢、恶性程度低、病程较长的神经内分泌肿瘤。目前越来越多的直肠类癌能够在早期通过内镜下一体化诊断及治疗,而内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection)的应用也使类癌在内镜下治疗的完整切除率 and 安全性大大提高,复发率下降。

王海波, 吴会超, 彭丹若, 刘黔, 虞必光. 内镜黏膜下剥离术治疗直肠类癌17例. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 709-712  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/709.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.709>

## 0 引言

内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)是由内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)演变出一种新技术。由于较大较深的消化系病变在EMR治疗时,容易病变残留或复发,为了避免EMR的局限性,一次性能将较大较深的消化系病变完整地切除,并将整块病变送病理组织学检查,ESD显示出明显的优势,而且同时具备微创治疗的优越性<sup>[1]</sup>。我院消化内镜科自开展ESD新技术治疗方法3年以来,成功切除17例直肠类癌,而且术后经病理及免疫组织化学染色检查均证实为类癌,取得了较好的临床效果。现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2010-04/2013-04我院消化内镜科经肠镜检查发现的直肠黏膜下肿瘤经超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)检查,有17例符合直肠类癌超声内镜影像学改变<sup>[2]</sup>,然后患者住院后在全麻下行ESD治疗。其中男患12例,女患5例。年龄31-66岁(平均年龄为45.5岁)。我院消化内镜科采用ERBE公司VIO-200D高频电切装置和APC300氩离子凝固器。Olympus公司CF Q260电子结肠镜;KD-650L型Dual刀和KD-611L型IT-2刀;NM-4L-1注射针,FD-410LR热活检钳,FG-8U-1异物钳,HX-610-90金属止血夹。

### 1.2 方法

**1.2.1 手术:** 所有患者在术前均充分告知手术的必要性和风险性,患者及其委托人签署手术知情同意书,并经术前常规检查明确无内镜治疗禁忌症,腹部彩超、X线或CT检查常规排除有肝、肺等远处转移。手术步骤: (1)观察病变:

内镜头端附加透明帽后,充分暴露局部病变,活检钳触动病变均有黏膜下滑动; (2)标记: 应用Dual刀头端于要切除的病变边缘进行电凝标记; (3)黏膜下注射: 使用0.0005%肾上腺素生理盐水混合溶液,为了手术中分辨剥离层次,还混有少量靛胭脂,用注射针于病变标记点处进行多点黏膜下注射,观察有无抬举征; (4)预切开: 应用Dual刀沿标记点环形切开黏膜,这时可观察到一些部分肿瘤表面; (5)剥离: 根据病变大小应用Dual刀或/和IT-2刀进行黏膜下剥离,剥离过程中可反复进行黏膜下注射,保持病变与肌层分离,直至完整剥离肿瘤; (6)创面处理: 切除病变后,观察创面基底部有无残留,然后应用APC或热活检钳处理创面预防出血。对于较大创面可采用金属止血夹夹闭创面。

**1.2.2 术后处理:** 处理创面后应用异物钳将肿瘤取出,观察包膜是否完整,并放入formalin固定液中,送病理组织学检查。

**1.2.3 术后观察:** 患者有无腹痛、腹胀症状,有无肛门滴血表现。术后常规禁食、卧床休息,使用止血药和补液治疗,24 h后如无并发症,可进流质饮食。术后第3个月复查内镜,观察局部愈合情况及病变有无残留;第6、12、24、36个月分别复查内镜,了解病变有无复发。

## 2 结果

**2.1 部位、大小及时间** 17例中肿瘤位于距肛门约4-12 cm直肠处。剥离病变时证实均来源于黏膜下层,固有肌层完整。本组病例均成功完成ESD治疗,完整切除率达100%,切除病变最大直径0.4-1.2 cm,平均0.72 cm。病变部位标记至内镜下完整切除病变及处理创面时间7-25 min,平均9.4 min。

**2.2 手术成功率及病理结果** 严格按照手术步骤(标记、黏膜下注射、预切开、剥离、处理创面)进行手术。术中有少量出血,均采用APC或热活检钳止血成功,无1例出现迟发性出血及穿孔。所有ESD切除的肿瘤包膜完整(图1),病理报告基底和切缘0.2 cm以内均未见病变累及,且所有病变均得到病理及免疫组织化学染色检查证实为直肠类癌,超声内镜诊断率达100%。

**2.3 术后随访** 患者术后第2天均予进食流质,住院4-6 d,平均4.4 d。17例患者目前术后随访了3 mo的1例,随访了6 mo的2例,随访了1年的5例,随访了2年的8例,随访了3年的1例,所有患者的创面均愈合良好,无1例病变残留或复发。

## ■相关报道

Yamaguchi等指出ESD切除直径≤1 cm的直肠类癌是安全有效的。Park等报道在两组肿瘤大小无统计学差异的患者中,EMR和ESD的完整切除率分别为71.0%、90.3%,而且并发症较EMR少。



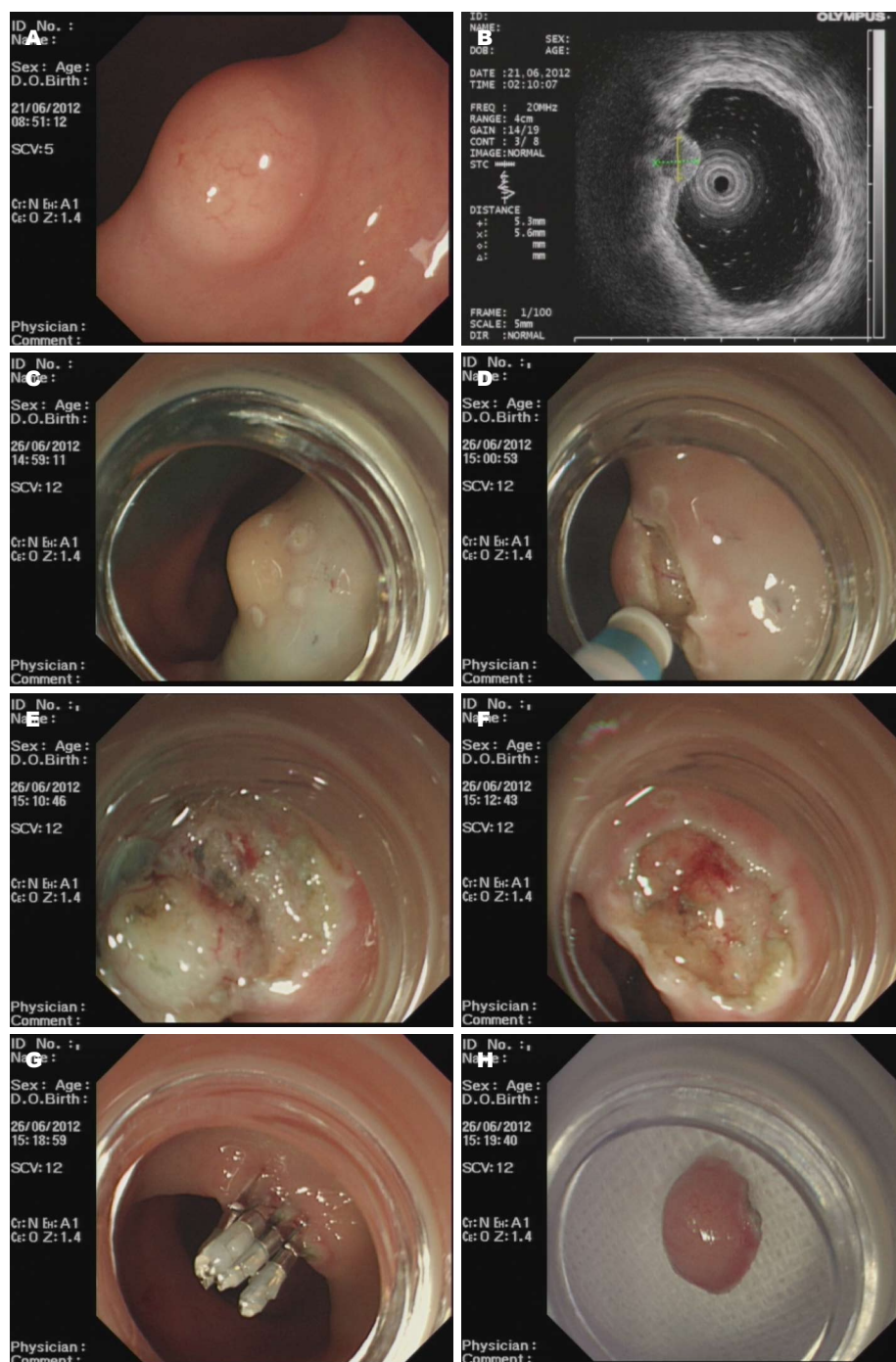


图1 直肠类癌镜下观。A: 结肠镜检查发现黏膜下肿物; B: 超声内镜证实病变部位; C: ESD术前黏膜下注射; D: ESD术中预切开; E: ESD术中黏膜剥离; F: ESD术后创面; G: ESD术后钛夹封闭创面; H: ESD切除的直肠类癌。

### 3 讨论

直肠类癌是一种生长缓慢、恶性程度低、病程较长的神经内分泌肿瘤, 其发病率已位居胃肠道类癌的首位<sup>[3]</sup>, 好发于40-60岁的中老年人群, 且男多于女, 本组17例病例平均年龄45.5岁, 男患12例, 女患5例, 均符合文献报道<sup>[4]</sup>。

直肠类癌是具有潜在恶性的肿瘤, 判断其良恶性的主要依据在于肿瘤大小及其是否侵入肌层, 目前普遍认为, 直径 $\leq 1$  cm的直肠类癌肿瘤

鲜有肌层侵犯、淋巴结受累及远处转移<sup>[5,6]</sup>, 对于此类肿瘤, 内镜下一体化诊断及治疗已逐渐受到内镜医师的重视。

如今超声内镜技术的应用可对消化系管壁黏膜下生长的肿瘤性质进行更精确的鉴别诊断, 特别是对于较小黏膜下肿瘤的诊断精确度高, 这对于直肠类癌的诊断、良恶性判断及治疗方案的选择有着重大意义。本组17例病例的术后组织经病理及免疫组织化学染色检查证实均为

### ■创新盘点

随着内镜下一体化诊断及治疗技术的不断提高, 对于直径 $\leq 2.0$  cm、未侵犯固有肌层的直肠类癌, 本文从治疗效果、有无并发症及随访情况, 认为ESD仍是首选治疗方法, 值得推广。

## ■同行评价

本文目标明确, 设计合理, 实验数据可靠, 具有一定的创新性, 研究结果有一定科学意义。

直肠类癌, 超声内镜诊断率达100%, 这与多篇文献[7,8]报道结果一致, 由此可见超声内镜诊断直肠类癌已是术前常规检查项目。

直肠类癌肿瘤直径 $\leq 1$  cm、未侵犯肌层及肿瘤表面无溃疡或凹陷是目前被大多数学者认为符合内镜下治疗的3条标准<sup>[9,10]</sup>。内镜治疗方法既往以标准的EMR为主<sup>[11]</sup>, 但近年来随着ESD新技术的开展, 使病变切除更完整、更彻底。EMR对于消化道较大的平坦病变、早期癌和黏膜下肿瘤, 只能进行分块切除, 不能获得完整的病理学诊断资料, 或者在无法确定解剖层次的情况下切除病变, 大大增加病变残留及复发的风险, 而ESD可以大块、完整地切除病变, 术后可将完整的病变组织进行全面的病理组织学检查, 提供完整的病理诊断依据, 并判断患者是否治愈及是否需要进一步治疗, 可见ESD较EMR更能体现微创手术的优越性和有效性。

而针对此类病变, Lee等<sup>[12]</sup>在两组肿瘤大小无统计学差异的患者中, EMR和ESD的完整切除率分别为89.3%、100%, 且两组的并发症发生率无统计学差异, 无1例复发。Baek等<sup>[13]</sup>报道12例直肠类癌患者经由EMR或ESD的完整切除率均达100%, 无1例出现并发症。阮荣蔚等<sup>[14]</sup>对直径 $<1.5$  cm的19例直肠类癌肿瘤行ESD治疗, 均完整切除病灶, 1例术中直肠小穿孔, 1例术后2 d出现创面边缘小动脉搏动性出血, 均随即采用金属止血夹夹闭妥善处理, 所有病例随访1-4年, 无1例复发及远处转移。另有文献[15]报道16例超声内镜诊断的直肠类癌予ESD治疗, 病灶均一次性完整切除, 手术时间25-55 min, 6例术中出血, 予电凝及金属止血夹止血成功, 随访6-24 mo, 均无复发。本组研究中, 笔者选取3年来我院消化内镜科收治的17例直肠类癌病例, 术前常规行超声内镜检查, 在排除恶性倾向的可能性后均行ESD, 手术完整切除率达100%, 无1例出现迟发性出血及穿孔, 随访3-36 mo, 无1例病变残留及复发。以上数据提示, ESD在直肠类癌的内镜治疗上取得了较好的疗效, 并随着内镜技术的发展及内镜医师操作水平的提高, ESD将成为治疗良性直肠类癌高效、安全的内镜主要手术方式, 但由于ESD的开展时间较短, 病例数相对较少, 随访时间相对较短, ESD

治疗直肠类癌的远期疗效有待进一步观察。

## 4 参考文献

- 1 刘云祥, 黄留业. 实用消化内镜治疗学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 4
- 2 金震东, 李兆申. 消化超声内镜学. 第2版. 北京: 科学出版社, 2011: 11
- 3 Kinoshita T, Kanehira E, Omura K, Tomori T, Yamada H. Transanal endoscopic microsurgery in the treatment of rectal carcinoid tumor. *Surg Endosc* 2007; 21: 970-974 [PMID: 17285371 DOI: 10.1007/s00464-006-9155-y]
- 4 程天明, 秦和平. 消化道类癌的诊治现状. 现代消化及介入诊疗 2010; 15: 184-187
- 5 Bates HR. Carcinoid tumors of the rectum: a statistical review. *Dis Colon Rectum* 1966; 9: 90 [PMID: 5908773 DOI: 10.1007/BF02617306]
- 6 Naunheim KS, Zeitels J, Kaplan EL, Sugimoto J, Shen KL, Lee CH, Straus FH. Rectal carcinoid tumors--treatment and prognosis. *Surgery* 1983; 94: 670-676 [PMID: 6623366]
- 7 Ishii N, Horiki N, Itoh T, Maruyama M, Matsuda M, Setoyama T, Suzuki S, Uchida S, Uemura M, Iizuka Y, Fukuda K, Suzuki K, Fujita Y. Endoscopic submucosal dissection and preoperative assessment with endoscopic ultrasonography for the treatment of rectal carcinoid tumors. *Surg Endosc* 2010; 24: 1413-1419 [PMID: 20033710 DOI: 10.1007/s00464-009-0791-x]
- 8 周平红, 姚礼庆, 钟芸诗, 徐美东, 高卫东, 何国杰, 张扶群, 陈魏峰, 秦新裕. 直肠类癌的内镜超声诊断和内镜黏膜下切除. 中华消化内镜杂志 2006; 23: 175-178
- 9 周平红, 姚礼庆, 秦新裕. 直肠类癌的内镜诊断和治疗. 中国临床医学 2005; 12: 756
- 10 Konishi T, Watanabe T, Kishimoto J, Kotake K, Muto T, Nagawa H. Prognosis and risk factors of metastasis in colorectal carcinoids: results of a nationwide registry over 15 years. *Gut* 2007; 56: 863-868 [PMID: 17213340 DOI: 10.1136/gut.2006.109157]
- 11 Kim YJ, Lee SK, Cheon JH, Kim TI, Lee YC, Kim WH, Chung JB, Yi SW, Park S. [Efficacy of endoscopic resection for small rectal carcinoid: a retrospective study]. *Korean J Gastroenterol* 2008; 51: 174-180 [PMID: 18451691]
- 12 Lee DS, Jeon SW, Park SY, Jung MK, Cho CM, Tak WY, Kweon YO, Kim SK. The feasibility of endoscopic submucosal dissection for rectal carcinoid tumors: comparison with endoscopic mucosal resection. *Endoscopy* 2010; 42: 647-651 [PMID: 20669076 DOI: 10.1055/s-0030-1255591]
- 13 Baek IH. Endoscopic submucosal dissection or conventional endoscopic mucosal resection is an effective and safe treatment for rectal carcinoid tumors: a retrospective study. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2010; 20: 329-331 [PMID: 20438309 DOI: 10.1089/lap.2009.0373]
- 14 阮荣蔚, 王实, 刘永军, 陶亚利, 俞江平, 朱舒文. 内镜超声和内镜黏膜下剥离诊治直肠类癌31例. 中国微创外科杂志 2012; 12: 1063-1066
- 15 焦胜, 成宏伟, 陈苏阳, 黄震, 徐丽, 谢志华. 内镜黏膜下剥离术治疗直肠类癌的临床价值. 实用临床医药杂志 2012; 16: 59-60

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 机会性结肠镜检查对结直肠肿瘤发现率的影响

兰 君, 孙方利, 吴 军, 付信娟, 滕春媛, 王燕平

兰君, 青岛大学医学院附属海慈医院 山东省青岛市 266000  
孙方利, 吴军, 付信娟, 滕春媛, 王燕平, 青岛市海慈医院消化内科 山东省青岛市 266000

兰君, 主要从事消化系肿瘤的研究。

青岛市医药卫生发展科技基金资助项目, No. 2010-WSZD039

作者贡献分布: 此课题由孙方利设计; 研究过程由孙方利、兰君、滕春媛及王燕平操作完成; 数据分析由兰君完成; 本论文的写作由兰君、孙方利、吴军及付信娟完成。

通讯作者: 孙方利, 主任医师, 266000, 山东省青岛市人民路4号, 青岛市海慈医院消化内科, sunfangli737@sina.com

收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2013-12-11

接受日期: 2013-12-15 在线出版日期: 2014-02-18

## Detection rate of colorectal neoplasms by opportunistic colonoscopy

Jun Lan, Fang-Li Sun, Jun Wu, Xin-Juan Fu, Chun-Yuan Teng, Yan-Ping Wang

Jun Lan, Affiliated Haici Medical Group of Medical College of Qingdao University, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Fang-Li Sun, Jun Wu, Xin-Juan Fu, Chun-Yuan Teng, Yan-Ping Wang, Qingdao Haici Medical Group, Qingdao 266000, Shandong Province, China

Supported by: Qingdao Municipal Science and Technology Development Fund Medical and Health Projects, No. 2010-WSZD039

Correspondence to: Fang-Li Sun, Chief Physician, Qingdao Haici Medical Group, 4 Renmin Road, Qingdao 266000, Shandong Province, China. sunfangli737@sina.com

Received: 2013-11-26 Revised: 2013-12-11

Accepted: 2013-12-15 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the detection rate of colorectal neoplasms by opportunistic colonoscopy.

**METHODS:** In total, 32694 patients who visited Department of Gastroenterology at our hospital from January 2012 to September 2013 were randomly divided into a case group and a control group. The case group was tested by opportunistic colonoscopy, while the control group was tested based on the clinical pattern. The difference in the detection rate of colorectal neoplasms was compared between the two groups.

**RESULTS:** Of 16298 patients in the trial group, 1167 underwent colonoscopy and the detection rate of colorectal neoplasms was 1.38%

(225/16298). Of 16396 patients in the control group, 855 underwent colonoscopy and the detection rate of colonoscopy was 1.07% (176/16396). The detection rate of colorectal neoplasms differed significantly between the two groups ( $\chi^2 = 6.209$ ,  $P = 0.014$ ).

**CONCLUSION:** The detection rate of colorectal neoplasms by opportunistic colonoscopy is higher than that based on the clinical pattern.

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

**Key Words:** Colorectal neoplasms; Opportunistic colonoscopy; Fecal occult blood test; Colonoscopy

Lan J, Sun FL, Wu J, Fu XJ, Teng CY, Wang YP. Detection rate of colorectal neoplasms by opportunistic colonoscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 713-717 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/713.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.713>

## 摘要

**目的:** 研究机会性结肠镜检查对结直肠肿瘤发现率的影响。

**方法:** 选择2012-01/2013-09于我院消化内科门诊就诊的患者32694例, 随机分为试验组及对照组。试验组采用机会性结肠镜检查模式, 对照组采用医师的临床经验模式, 通过 $\chi^2$ 检验比较两组结直肠肿瘤发现率有无差异。

**结果:** 试验组就诊人数共16298例, 1167例接受结肠镜检查, 发现结直肠肿瘤共225例, 结直肠肿瘤发现率为1.38%(225/16298); 对照组就诊人数共16396例, 855例接受结肠镜检查, 发现结直肠肿瘤共176例, 发现率为1.07%(176/16396); 二者差异具有统计学意义( $\chi^2 = 6.209$ ,  $P = 0.014 < 0.05$ )。

**结论:** 机会性结肠镜检查对结直肠肿瘤发现率较临床经验模式高, 采用机会性结肠镜检查方法可发现更多结直肠肿瘤。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

## ■背景资料

结直肠癌的发生率及死亡率居高不下, 通过筛查可以降低结直肠癌的发生率及死亡率。近期, 国内外对结直肠肿瘤的机会性筛查相关研究备受关注。

## ■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院



## ■ 研究前沿

结肠直肠癌的发生率逐年上升,而早期结肠直肠癌及其癌前疾病-腺瘤性息肉多无特异性临床症状。通过筛查可将结肠直肠癌在早期可治愈阶段及癌前疾病阶段切除来预防结肠直肠癌的发生及死亡,需要结肠镜结合病理组织学这一金标准。而如何提高结肠直肠肿瘤检查率是目前被普遍关注的问题。

**关键词:** 结直肠肿瘤; 机会性结肠镜; 粪便潜血试验; 结肠镜

**核心提示:** 本研究通过试验组-机会性结肠镜检查组及对照组-医师临床经验组对比,研究表明在同一时期、结肠镜检查依从性及镜检阳性率相似情况下,试验组结直肠肿瘤检出率高,直接原因在于试验组有更多患者接受结肠镜检查。

兰君, 孙方利, 吴军, 付信娟, 滕春媛, 王燕平. 机会性结肠镜检查对结直肠肿瘤发现率的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 713-717 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/713.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.713>

## 0 引言

结直肠肿瘤较为常见,其中结直肠癌给人们的生活质量造成严重下降,其发病率及死亡率都居高不下。即使被诊断为结直肠癌,早期结直肠癌较晚期术后患者生存率较高。筛查被认为是早发现、早诊断结直肠癌的最佳方式。国际上目前的筛查方式有:自然人群筛查和机会性筛查。适合我国医疗特点的机会性筛查(opportunistic screening)<sup>[1]</sup>,也称为个体筛查或个案检查,它是一种以个体为单位的临床筛查方式,可以是受筛查者主动前往医生处进行筛查,也可以由医生根据受筛查者的危险水平决定对其进行筛查。本文通过单中心前瞻性比较机会性结肠镜检查与既往临床模式检出结直肠肿瘤不同,探讨机会性结肠镜检查对结直肠肿瘤发现率的影响。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2012-01/2013-09于青岛市海慈医疗集团消化内科门诊就诊的患者资料。

### 1.2 方法

**1.2.1 分组:** 将就诊患者随机分为试验组跟对照组,各组均由3名固定副主任及主任医师接诊。试验组符合以下条件建议其行结肠镜检查:包括:(1)有消化系症状,如便血、黏液便和腹痛者等;(2)不明原因贫血/体质量下降;(3)本人有癌症史;(4)有结直肠癌癌前疾病者(如结直肠腺瘤、溃疡性结肠炎、克罗恩病、血吸虫病等);(5)结直肠癌家族史的直系亲属;(6)结直肠息肉家族史的直系亲属;(7)粪便隐血试验阳性;(8)有盆腔放疗史者;(9)符合下列6项中任意2项者,慢性腹泻、慢性便秘、黏液血便、慢性阑尾炎或阑尾切除史、慢性胆囊炎或胆囊切除史、长期精神压抑<sup>[2]</sup>。其中需剔除以下人群:拒绝接受检

查者;年龄超过85岁者;严重心肺疾病患者;患有其他严重疾病不能耐受结肠镜检查者。对照组中建议结肠镜检查者为医师依据临床经验认为需要接受结肠镜检查以明确结直肠病情或排除结直肠癌而选择的患者,不包括主动要求行结肠镜检查的患者。所有进入本研究患者检查及治疗前均先签署知情同意书,并获得医院伦理委员会批准。

**1.2.2 研究:** 试验组:对筛查对象采取机会性结肠镜检查模式,医师向其进行宣传教育,填写结直肠肿瘤问卷调查表,建议其留取粪便行粪便隐血试验及行结肠镜检查。粪便隐血试验结果以阳性、阴性计入统计。对照组建议其留取粪便行粪便隐血试验及行结肠镜检查。粪便隐血试验采用免疫法检测,结肠镜采用日本OLYMPUS CF240I、OLYMPUS CF260AI。在结肠镜检查过程中发现病变取活组织检查送病理检验。其中对于结肠息肉,镜检过程中发现直径<0.5 cm的息肉,用活检钳钳除整个息肉送病理检查;直径≥0.5 cm的息肉,采用高频电凝切除或灼除,回收息肉送病理检查;直径>2.0 cm的巨大息肉,不能一次性切除的,采用分块、分次套切送病理检查。

**统计学处理** 采用SPASS软件19.0对数据进行处理,计数资料以频数及百分数(率)表示,采用 $\chi^2$ 检验。对结直肠肿瘤影响因素的统计分析采用Logistic回归,计算各因素的OR值、95%的可置信区间及P值。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 研究对象的一般资料** 试验组总就诊人数为16298例,其中符合条件并建议其接受结肠镜检查者共1434例;最终共1167例接受结肠镜检查,其中年龄在17-85岁,中位年龄55岁,男665例,女502例。对照组就诊人数为16396例,其中依据医师临床经验建议其接受结肠镜检查者共1035例,最终共855例接受结肠镜检查,其中年龄在15-84岁,中位年龄55岁,男443例,女412例(图1)。

**2.2 结直肠肿瘤的发现率** 试验组总就诊人数为16298例,发现结直肠肿瘤225例,其中结直肠癌52例,结直肠腺瘤173例。对照组就诊人数为16396例,发现结直肠肿瘤176例,其中结直肠癌43例,结直肠腺瘤133例。两组在同一时期、门诊医师水平无明显差异、各组总门诊量相近情况下,两组结直肠肿瘤发现率的结果如表1。同一时期,试验组与对照组总就诊人数大致情况

表 1 总就诊人数中发现结直肠肿瘤的情况

分组	研究总人数	结直肠癌数n(%)	$\chi^2$	P值	结直肠腺瘤数n(%)	$\chi^2$	P值	结直肠肿瘤数n(%)	$\chi^2$	P值
试验组	16298	52(0.32)	0.910	0.356	173(1.06)	4.848	0.029	225(1.38)	6.209	0.014
对照组	16396	43(0.26)			133(0.81)			176(1.07)		

本研究中结直肠肿瘤包括结直肠癌及结直肠腺瘤。

# ■ 相关报道

韩英通过国内外结直肠癌筛查回顾与现状, 推荐“机会性筛查”模式。Boroff等研究发现远端结肠息肉发生率与腺瘤发生率不相关。许岸高等研究发现机会性筛查人群依从性高, 可以更多地检出结直肠癌和癌前疾病。

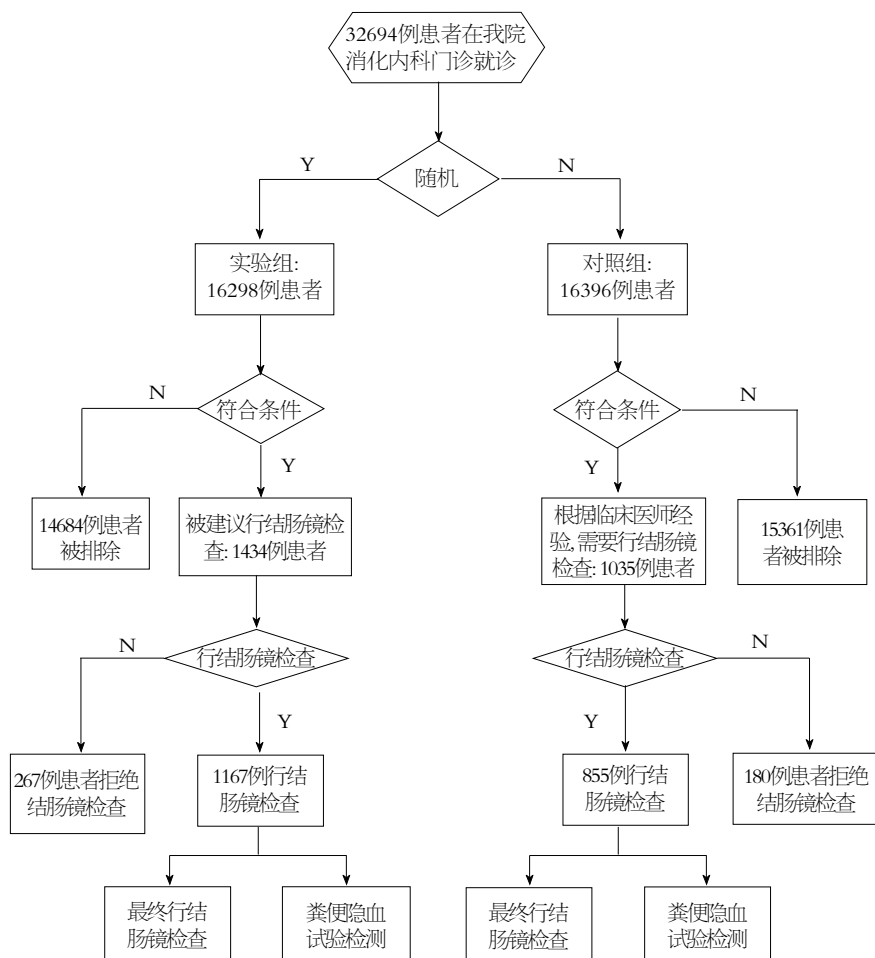


图 1 本研究各阶段试验流程及患者人数. Y: Yes; N: No.

相同, 两组对结直肠肿瘤的发现率差异具有统计学意义, 试验组比对照组可发现更多结直肠肿瘤。其中, 两组对结直肠癌的发现率无明显差异, 而试验组较对照组对结直肠肿瘤发现率的差异主要表现在结直肠腺瘤的发现率上。

**2.3 结直肠肿瘤结肠镜检出结果** 试验组共832例完成粪便隐血试验, 其中结果阳性者61例, 阳性率为7.33%(61/832); 试验组被建议结肠镜检查者共1434例, 最终1167例接受结肠镜检查, 结肠镜检查依从性为81.35%(1167/1434), 检出结直肠肿瘤225例, 结直肠肿瘤检出率为

19.28%(225/1167)其中结直肠癌52例, 结直肠腺瘤173例, 对照组共624例完成粪便隐血试验, 阳性者46例, 阳性率为7.41%(46/624); 被建议接受结肠镜检查者共1035例, 最终855例接受结肠镜检查, 结肠镜检查依从性为82.60%(855/977), 共检出结直肠肿瘤176例, 结直肠肿瘤检出率为20.58%(176/855), 其中结直肠癌43例, 结直肠腺瘤133例。两组在同一时期, 门诊医师水平大致相同、各组门诊总量及结肠镜检查依从性大致相同情况下, 两组结直肠肿瘤检出结果如表2。在同一时期, 两组中行结肠镜检查患者结直肠

### ■创新盘点

本研究采用了机会性结肠镜检查,侧重于结肠镜及其病理检查,不同于以往序贯性筛查方案,减少了粪便隐血试验阴性相关的结肠肿瘤漏诊率,并且通过对比试验来探讨了机会性结肠镜检查对结肠肿瘤检出率的影响。

表 2 接受结肠镜检查人数中发现结直肠肿瘤的情况

分组	结肠镜检出数	结直肠癌例数	$\chi^2$	P值	结直肠腺瘤例数	$\chi^2$	P值	结直肠肿瘤例数	$\chi^2$	P值
试验组	1167	52	0.362	0.595	173	0.205	0.661	225	0.255	0.651
对照组	855	43			133			176		

表 3 性别、年龄对结直肠肿瘤检出率的关系

性别	年龄	结直肠肿瘤	非结直肠肿瘤	合计
男	50岁之下	29	179	208
	50岁之上	118	309	427
女	50岁之下	9	155	164
	50岁之上	69	299	368

肿瘤(包括结直肠腺瘤、结直肠癌)的检出率无明显差异。

2.4 性别、年龄对结直肠肿瘤检出率的关系 采用Logistic回归研究年龄、性别对于结直肠肿瘤检出率,对于年龄,  $\chi^2 = 28.247$ ,  $P = 0.000 < 0.5$ ,  $OR = 2.768$ , 95%CI: 1.902-4.029. 对于性别,  $\chi^2 = 14.350$ ,  $P = 0.000 < 0.5$ ,  $OR = 1.809$ , 95%CI: 1.331-2.459. 年龄跟性别对于结直肠肿瘤的检出是有影响的. 结直肠肿瘤随着性别及年龄段变化而发生变化(表3).

### 3 讨论

结直肠肿瘤是临床常见肿瘤,分为良性、恶性,其中结直肠癌是世界范围内常见的恶性肿瘤之一. 随着国人生活水平的提高和饮食结构的变化,结直肠癌的发生率和死亡率呈上升趋势. 早期诊断结直肠癌,术后5年生存率可高达90%以上,而晚期则不足10%<sup>[3]</sup>. 目前普遍认为结直肠癌主要其癌前疾病-结直肠腺瘤性息肉转化而来,该窗口期平均可达10年左右,有文献报道通过发现和切除腺瘤性息肉可预防结直肠癌的发生及患者死亡<sup>[4]</sup>,故对结直肠肿瘤进行筛查,较早发现结直肠癌及其癌前疾病,通过干预及治疗,可降低其死亡率<sup>[5]</sup>. 目前国际上对结直肠肿瘤的筛查方式主要有系统性筛查和机会性筛查两种,而在我国目前国情及其卫生医疗条件下开展机会性筛查更为适合. 本研究通过是否采用机会性结肠镜筛查的方法分为试验组跟对照组,通过研究发现在同一时期、两组就诊人数、门诊医师水平、患者依从性相近的情况下,试验组中接受结肠镜检查者对结直肠肿瘤检出率与对照组接受结肠镜检查者结直肠肿瘤检出

率无显著差异. 而采用机会性结肠镜检查对所有就诊患者发现结直肠肿瘤比率高于根据医师临床经验模式发现结直肠肿瘤比率,该情况说明试验组就诊患者中可以发现更多的结直肠肿瘤,直接原因在于试验组的结肠镜推荐率较高,而二者的结肠镜依从性类似,检查的阳性率也类似,因此发现了更多肿瘤的直接原因在于机会筛查组有更多的患者接受了结肠镜检查. 而且试验组减少了结直肠肿瘤的漏诊率,更具有结肠镜检查的临床意义,并从而借助个体机会性筛查的平台和渠道,弥补群体普查不足.

本研究中通过机会性结肠镜检查,结直肠肿瘤检出率为19.28%,较韩英等<sup>[6]</sup>及钟选芳等<sup>[7]</sup>得出的结直肠肿瘤检出率低. 其分析原因可能为韩英等的研究中所有研究对象的年龄均在50岁之上,而本研究中研究对象的年龄在17-85岁,研究对象年龄的差异使得两个研究中得出的结直肠肿瘤检出率存在着差异,如本研究中得出年龄对结直肠肿瘤检出率有影响. 钟选芳等<sup>[7]</sup>的研究中检出的结直肠肿瘤包括了结直肠癌及结直肠息肉,而本文研究的结直肠肿瘤只包括结直肠癌及结直肠腺瘤<sup>[2]</sup>,前者对于结直肠肿瘤定义范围广,得出的结直肠肿瘤检出率较本研究高. 其他原因可能为本研究并未严格按照机会性结直肠肿瘤筛查模式进行筛查,而只是以机会性结肠镜检查作为重点筛查方法. 在研究初期预试验中,发现在临床筛查工作中存在着患者对粪便隐血试验依从性差,及对结肠镜结合病理学检查作为结直肠肿瘤检出金标准的认识,使得患者更倾向于接受结肠镜检查. 而粪便隐血试验需要排除饮食、药物等因素及其他可使其呈假阳性的原因、患者对粪便隐血试验依从性差及最终无论粪便隐血试验结果如何都要依靠结肠镜检查确诊等因素使得本研究制定了机会性结肠镜检查方案,而没有采取所谓序贯性筛查方案<sup>[8]</sup>.

结直肠肿瘤的发生是由遗传因素与环境因素综合作用的结果. 影响结直肠肿瘤发生的遗传基因较多,如*Bmi-1*基因<sup>[9]</sup>在结直肠癌组织较正常组织中高表达. 遗传因素不易干预,但环境因



素可通过干预来预防结直肠癌的发生. 有研究报道<sup>[10]</sup>, 结直肠癌和结直肠腺瘤组的幽门螺杆菌感染率高于非结直肠肿瘤组, 故可通过根除幽门螺杆菌来降低结直肠癌发生率. Ren等<sup>[11]</sup>研究表明: 糖尿病患者与结直肠癌的发病呈正相关, 通过控制血糖水平从一定程度上可来降低结肠癌发病率. 而通过结直肠肿瘤的筛查可降低结直肠癌的死亡率, 在发现并切除腺瘤性息肉后, 可通过戒烟、调整饮食结构、控制体质量、加强锻炼、摄入多种维生素及服用非甾体类药物来预防腺瘤性息肉的复发及结直肠癌的发生<sup>[12-16]</sup>.

尽管机会性筛查对于提高肿瘤检出率是肯定的, 但是相应带来的是人力成本和医疗成本的提高. 为此, 陶倩<sup>[17]</sup>对2012年天津结直肠癌筛查项目进行了成本效益分析得出筛查经济效益大于成本, 具有良好经济效益和社会效益, 值得推广. 本研究中对结直肠肿瘤的筛查采用机会性筛查模式, 在门诊即可进行, 无需特殊经费支持和额外的工作人员, 这是机会性筛查的特点之一, 较自然人群筛查节省人力、财力.

在目前国情下, 结直肠肿瘤普查不能全面覆盖, 结直肠肿瘤机会性筛查成为个体筛查的平台及渠道, 弥补了群体普查的不足. 机会性筛查对结直肠肿瘤检出的价值是肯定的, 结肠镜检查结合病理学检查是目前诊断结直肠肿瘤的金标准. 本研究直接进行机会性结肠镜检查明显提高结直肠癌前疾病-结直肠腺瘤的检出率, 对减少结直肠癌的发生、发展及患者预后具有重要意义.

#### 4 参考文献

- 1 Harnett SJ, Wong SK, Lackey GW. Opportunistic GP-based bowel cancer screening. *Med J Aust* 2003; 178: 92-93 [PMID: 12526732]
- 2 房静远. 中国大肠肿瘤筛查、早诊早治和综合预防共识意见. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 979-995
- 3 O'Connell JB, Maggard MA, Ko CY. Colon cancer survival rates with the new American Joint Committee on Cancer sixth edition staging. *J Natl Cancer Inst* 2004; 96: 1420-1425 [PMID: 15467030]
- 4 Zauber AG, Winawer SJ, O'Brien MJ, Lansdorp-Vogelaar I, van Ballegooijen M, Hankey BF, Shi W, Bond JH, Schapiro M, Panish JF, Stewart ET, Wayne JD. Colonoscopic polypectomy and long-term prevention of colorectal-cancer deaths. *N Engl J Med*

- 2012; 366: 687-696 [PMID: 22356322 DOI: 10.1056/NEJMoa1100370]
- 5 Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, Bond J, Dash C, Giardiello FM, Glick S, Johnson D, Johnson CD, Levin TR, Pickhardt PJ, Rex DK, Smith RA, Thorson A, Winawer SJ. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 2008; 134: 1570-1595 [PMID: 18384785 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.002]
- 6 韩英, 武子涛, 李世荣, 盛剑秋. 伺机性筛查2756例大肠肿瘤结果分析. *中国误诊学杂志* 2008; 8: 2130-2130
- 7 钟选芳, 许岸高, 肖丹, 甘爱华, 张晓慧, 钟旭辉, 林燕华. 大肠肿瘤机会性筛查初探. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 22: 404-406
- 8 郑树, 张苏展, 蔡善荣, 黄彦钦. 大肠癌筛查方案及其实践. *中国肿瘤* 2009; 18: 700-704
- 9 邹艳芳, 田永, 徐峰. Bmi-1和Mel-18基因在大肠癌组织中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 397-402
- 10 何敏, 陈文科, 邹兵, 赖广顺, 余光银, 吕国庆. 幽门螺杆菌感染与大肠癌的关系. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2742-2745
- 11 Ren X, Zhang X, Zhang X, Gu W, Chen K, Le Y, Lai M, Zhu Y. Type 2 diabetes mellitus associated with increased risk for colorectal cancer: evidence from an international ecological study and population-based risk analysis in China. *Public Health* 2009; 123: 540-544 [PMID: 19664792 DOI: 10.1016/j.puhe.2009.06.019]
- 12 路明亮, 黄华. 体质量指数与结直肠癌相关性的研究现状. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1957-1960
- 13 Edwards BK, Ward E, Kohler BA, Ehemann C, Zauber AG, Anderson RN, Jemal A, Schymura MJ, Lansdorp-Vogelaar I, Seeff LC, van Ballegooijen M, Goede SL, Ries LA. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2006, featuring colorectal cancer trends and impact of interventions (risk factors, screening, and treatment) to reduce future rates. *Cancer* 2010; 116: 544-573 [PMID: 19998273 DOI: 10.1002/cncr.24760]
- 14 Chan AT, Giovannucci EL, Meyerhardt JA, Scherhammer ES, Wu K, Fuchs CS. Aspirin dose and duration of use and risk of colorectal cancer in men. *Gastroenterology* 2008; 134: 21-28 [PMID: 18005960]
- 15 Rothwell PM, Wilson M, Elwin CE, Norrving B, Algra A, Warlow CP, Meade TW. Long-term effect of aspirin on colorectal cancer incidence and mortality: 20-year follow-up of five randomised trials. *Lancet* 2010; 376: 1741-1750 [PMID: 20970847 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61543-7]
- 16 Rothwell PM, Fowkes FG, Belch JF, Ogawa H, Warlow CP, Meade TW. Effect of daily aspirin on long-term risk of death due to cancer: analysis of individual patient data from randomised trials. *Lancet* 2011; 377: 31-41 [PMID: 21144578 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)62110-1]
- 17 陶倩. 大肠癌筛查成本效益分析. *科技致富向导* 2013; 20: 207-207

#### ■同行评价

本文设计合理, 样本量较大, 对在我国开展结肠肿瘤的普查普治具有重要意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# LETM1蛋白在结肠癌组织中的表达及临床意义

高爱花, 金永民, 孙红花, 金文彪, 崔海, 崔现, 崔玉珍, 沈雄虎, 张松男, 朴龙镇

## ■背景资料

氨基酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)是最近新发现的线粒体蛋白, 曾经在医学学术界查明了LETM1蛋白是诱发沃尔夫综合征的原因蛋白。最近研究表明, LETM1在宫颈癌中高表达, 且可激活PI3K/Akt信号传导通路, 在肿瘤的发生、发展, 且发现在多种肿瘤组织中其表达水平异常升高。

高爱花, 金永民, 孙红花, 金文彪, 崔海, 崔现, 崔玉珍, 沈雄虎, 张松男, 朴龙镇, 延边大学附属医院肿瘤科 吉林省延吉市 133000

高爱花, 在读硕士, 主要从事肿瘤分子生物学的研究。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 81060166, 81160270, 81160275

高等学校博士学科点专项科研基金资助项目, No. 20102201210003

作者贡献分布: 高爱花与金永民对此文贡献均等; 此课题由朴龙镇设计; 研究过程由高爱花与金永民共同完成; 孙红花、金文彪、崔海、崔现、崔玉珍、沈雄虎及张松男同负责临床资料的收集和试验的实施; 论文写作由朴龙镇完成。

通讯作者: 朴龙镇, 副教授, 主治医师, 133000, 吉林省延吉市局子街1327号, 延边大学附属医院肿瘤科。plz1978@126.com

电话: 0433-2660195

收稿日期: 2013-11-11 修回日期: 2013-12-16

接受日期: 2013-12-25 在线出版日期: 2014-02-18

## Clinical significance of LETM1 protein expression in colonic cancer

Ai-Hua Gao, Yong-Min Jin, Hong-Hua Sun, Wen-Biao Jin, Hai Cui, Xian Cui, Yu-Zhen Cui, Xiong-Hu Shen, Song-Nan Zhang, Long-Zhen Piao

Ai-Hua Gao, Yong-Min Jin, Hong-Hua Sun, Wen-Biao Jin, Hai Cui, Xian Cui, Yu-Zhen Cui, Xiong-Hu Shen, Song-Nan Zhang, Long-Zhen Piao, Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, Yanji 133000, Jilin Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, Nos. 81060166, 81160270, and 81160275; and the Research Fund for the Doctoral Program of Higher Education of China, No. 20102201120003

Correspondence to: Long-Zhen Piao, Associate Professor, Department of Oncology, the Affiliated Hospital of Yanbian University, 1327 Juzi Street, Yanji 133000, Jilin Province, China. plz1978@126.com

Received: 2013-11-11 Revised: 2013-12-16

Accepted: 2013-12-25 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To observe the expression of leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1 (LETM1) protein in colonic cancer and to determine whether LETM1 can be used as a marker for this malignancy.

**METHODS:** Immunohistochemical method was used to detect the expression of LETM1 and phosphorylated Akt (protein kinase B, PKB/Akt) and glycogen synthase kinase 3 $\beta$  (GSK3 $\beta$ )

in 73 specimens of colonic carcinoma. Disease-free survival time of colonic cancer patients was analyzed by Kaplan-Meier method. Univariate analysis was performed to determine the correlation between LETM1 expression and clinicopathologic parameters of colonic cancer.

**RESULTS:** The rate of high LETM1 protein expression was 54.8% in 73 colonic cancer specimens. LETM1 protein expression was significantly correlated with degree of invasion (27.3% vs 72.7%,  $P < 0.05$ ), differentiation (38.3% vs 61.7%,  $P < 0.05$ ) and lymph node metastasis (22.7% vs 77.3%,  $P < 0.05$ ), but not with age, sex or tumor size ( $P > 0.05$  for all). High expression of LETM1 protein could activate the phosphatidylinositol 3 kinase (PI3K)/Akt signal transduction pathway. The disease-free survival time of patients with high expression of LETM1 was significantly lower than that of patients with low expression of LETM1 ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** High expression of LETM1 may play a role in the pathogenesis, metastasis and recurrence of colon cancer. LETM1 protein may be used as an indicator to determine the prognosis of colon cancer patients.

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

**Key Words:** Leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1; Colonic cancer; Akt

Gao AH, Jin YM, Sun HH, Jin WB, Cui H, Cui X, Cui YZ, Shen XH, Zhang SN, Piao LZ. Clinical significance of LETM1 protein expression in colonic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 718-723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/718.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.718>

## 摘要

**目的:** 观察亮氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)在结肠癌中的表达情况, 探讨LETM1蛋白是否能够成为判断结肠癌患者预后的新的生物学指标。

## ■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

**方法:** 利用免疫组织化学法检测73例结肠癌患者组织中LETM1蛋白的表达水平和蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)/Akt的丝氨酸473(Ser473)、苏氨酸308(Thr308)两个磷酸化位点及葡萄糖合成激酶3 $\beta$ (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ )的磷酸化水平, 并根据LETM1蛋白表达水平进行高表达和低表达分组; 采用Kaplan-Meier法分析各组无疾病生存期; 采用 $\chi^2$ 检验进行组间单因素分析。

**结果:** 在结肠癌患者中LETM1蛋白高表达率为54.8%, LETM1蛋白在结肠癌浸润深度、分化及淋巴结转移中低表达和高表达率分别为27.3%/72.7%、38.3%/61.7%和22.7%/77.3%, 其差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 而与年龄、性别、肿瘤大小未见统计学意义( $P > 0.05$ )。LETM1蛋白在结肠癌组织中可以激活磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol 3 kinase, PI-3K)/Akt信号传导通路。LETM1高表达患者无疾病生存期显著低于LETM1低表达患者( $P < 0.05$ )。

**结论:** LETM1蛋白在结肠癌中高表达, 可能参与结肠癌的发生、发展与复发。LETM1蛋白可以作为预测结肠癌患者预后的新的生物学指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 亮氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1; 结肠癌; 蛋白激酶B

**核心提示:** 亮氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)表达水平的改变, 影响线粒体功能, 导致NADH/NADPH比率改变, 从而抑制人第10号染色体缺失的磷酸酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTEN)的活性, 最终激活磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)/丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase, Akt)信号传导通路。

高爱花, 金永民, 孙红花, 金文彪, 崔海, 崔现, 崔玉珍, 沈雄虎, 张松男, 朴龙镇. LETM1蛋白在结肠癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 718-723 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/718.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.718>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer)是常见的消化系统恶性肿瘤, 发病率为全球第4位的常见恶性肿瘤之一。国际癌症研究机构(International Agency for Re-

search on Cancer, IARC)最新数据显示, 2009年全球结直肠癌新病例接近120万例, 死亡63万例, 分别比2000年增加27%和28%, 平均年增3.9%和4%<sup>[1]</sup>, 而中国的结直肠癌每年发病递增速度为世界平均数的两倍<sup>[2]</sup>。蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)又称丝/苏氨酸蛋白激酶(serine/threonine kinase, Akt)是一种60 kDa左右的蛋白激酶<sup>[3]</sup>。Akt参与的磷脂酰肌醇3激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)介导的信号传导通路, 与细胞生长、抑制凋亡、增强端粒酶活性、促进肿瘤新生血管形成以及增加肿瘤细胞侵袭力等密切相关<sup>[3,4]</sup>。越来越多的研究表明, 在结肠癌中Akt的磷酸化水平不同程度的增多<sup>[5-8]</sup>。亮氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)是最近新发现的线粒体蛋白, 曾经在医学学术界查明了LETM1蛋白质是诱发Wolf-Hirschhorn Syndrome(沃尔夫综合症)的原因蛋白质<sup>[9]</sup>。最近研究表明, LETM1在宫颈癌中高表达, 且可激活PI3K-Akt信号传导通路, 从而影响肿瘤的发生发展, 同时在结肠癌组织中发现LETM1蛋白高表达。为结合临床, 我们采用结肠癌术后存档蜡块标本进行免疫组织化学, 进一步证明在结肠癌组织中LETM1蛋白表达水平及与Akt之间的关系。本研究通过观察结肠癌组织中LETM1蛋白表达及Akt磷酸化水平, 同时分析两者之间的关系, 为判定结肠癌患者的预后提供一个新的肿瘤生物学标志物。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2006-01/2010-12在延边大学附属医院接受手术治疗及正规术后辅助化疗的II、III期患者。病例资料完整的73例结肠癌患者, 其中男性46例, 女性27例, 中位年龄为55岁。截止于2012-12-30随访结束。鼠抗人LETM1单克隆抗体(1:500稀释, Abnova公司); 磷酸化Akt(pSer473)和磷酸化Akt(pThr308)抗体(1:200稀释, Cellsignaling公司); 兔抗人多磷酸化葡萄糖合成激酶3 $\beta$ (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ )多克隆抗体(1:100稀释, Abcam公司)。SP试剂盒和二氨基联苯胺(DAB)显色试剂均购自北京中杉金桥生物技术有限公司。

**1.2 方法** 采用免疫组织化学SP法检测结肠癌组织中LETM1蛋白的表达情况, 同时测定Akt的Ser473、Thr308两个磷酸化位点及GSK3 $\beta$ 磷酸化水平。切片常规二甲苯脱蜡, 梯度乙醇水化

## ■ 研发前沿

肿瘤细胞的代谢与正常细胞不同, 能量来源主要是由胞浆内的糖酵解途径所获得, 而一些线粒体的蛋白的表达异常或基因的突变, 常常在不同肿瘤细胞中发生, 而这种线粒体代谢功能紊乱必然带来细胞的异常增生, 目前有很多线粒体蛋白研究于肿瘤的发生与发展, 且用于早期诊断、疗效评估及判断预后。



## ■相关报道

Piao等研究首次发现,在人宫颈癌细胞株HeLa细胞中过表达氨基酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)通过抑制线粒体的功能,改变细胞的NADH/NADPH的比率,激活Akt的活性,从而推测LETM1蛋白表达水平的改变可诱导肿瘤的发生。

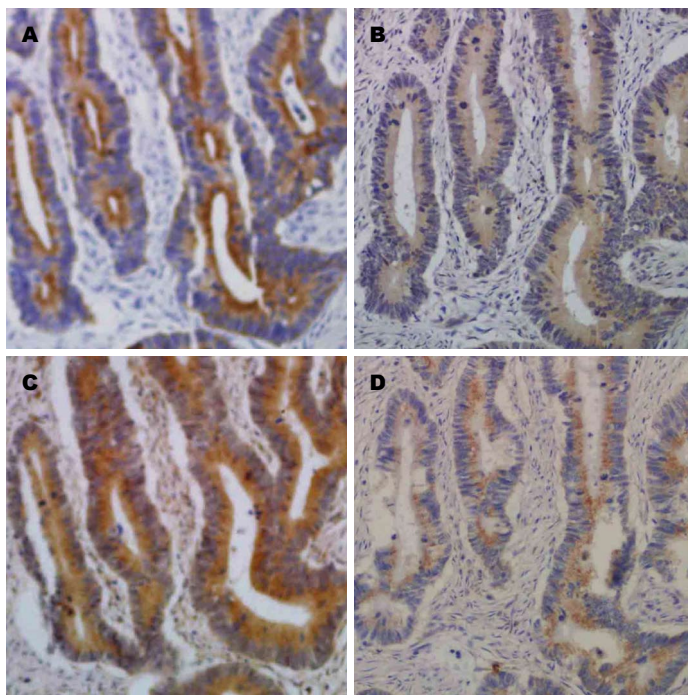


图1 在同一结肠癌患者肿瘤组织中LETM1蛋白表达、Akt的Ser473和Thr308两个位点及GSK3 $\beta$ 磷酸化情况。A: LETM1蛋白在结肠癌组织中高表达水平; B: Akt的Ser473位点磷酸化的阳性表达; C: Akt的Thr308位点的磷酸化阳性表达; D: GSK3 $\beta$ 磷酸化阳性表达。

表1 LETM1蛋白表达水平与73例结肠癌患者临床病理特征之间的关系

临床病理生理特性	n	LETM1表达				P值
		n	低表达率(%)	n	高表达率(%)	
年龄(岁)						0.711
≤60	47	22	46.8	25	53.2	
>60	26	11	42.3	15	57.7	
性别						0.173
男	46	18	39.1	28	60.9	
女	27	15	55.6	12	44.4	
肿瘤大小(cm)						0.800
≤5	41	18	43.9	23	56.1	
>5	32	15	46.9	17	53.1	
淋巴转移						0.011
阳性	22	5	22.7	17	77.3	
阴性	51	28	54.9	23	45.1	
浸润程度						0.043
T1、T2	51	27	52.9	24	47.1	
T3、T4	22	6	27.3	16	72.7	
分化程度						0.011
高、中分化	60	23	38.3	37	61.7	
低分化	13	10	76.9	3	23.1	

后微波抗原修复,滴加适量H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>阻断内源性过氧化酶,然后滴加一抗,4℃冰箱过夜(以PBS作为阴性对照)。结果判定由2名病理医师分别对LETM1蛋白、Akt及GSK3 $\beta$ 磷酸化的阳性细胞比例及染色强度进行评价。评价标准如下:根据Beesley分级法<sup>[10]</sup>,按阳性细胞所占百分比并参考着色强度确定分级,无明显阳性细胞或者浅

黄色为(-);阳性细胞数<25%,颗粒棕黄色为(+);阳性细胞数25%-50%,颗粒棕黄色为(++);阳性细胞数>50%,颗粒深棕色为(+++)。LETM1染色--纳入低表达组,LETM1染色++-+++纳入高表达组。

**统计学处理** 利用SPSS17.0统计学软件进行数据分析。采用Kaplan-Meier法分析各组无疾病生存期;采用 $\chi^2$ 检验进行组间单因素分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 LETM1蛋白在结肠癌组织中表达与临床病理因数的关系** 利用免疫组织化学检测LETM1蛋白在结肠癌组织表达情况,其结果LETM1蛋白主要表达于肿瘤细胞胞浆中,阳性细胞的胞浆呈棕褐色(图1)。LETM1蛋白在结肠癌中高表达40例(54.8%),低表达33例(45.2%)(表1,图1)。LETM1蛋白在结肠癌组织中的表达与淋巴结转移、浸润程度及分化程度具有统计学意义,呈正相关( $P<0.05$ ),与年龄、性别、肿瘤大小无统计学意义( $P>0.05$ ), (表1)。

**2.2 结肠癌组织中LETM1蛋白表达水平与Akt之间的相关性** Ser473及Thr308分别是Akt的两个磷酸化位点,而GSK3 $\beta$ 作为Akt激酶磷酸化的底物,在此实验中作为判定Akt激酶活性的参照物。在同一患者结肠癌组织中随LETM1蛋白表达水平升高,其Akt的两个磷酸化位点的磷酸化,即Ser473和Thr308位点的磷酸化水平继而也增加。

表 2 LETM1蛋白表达与Ser473磷酸化水平之间的相关性

参数	n	Ser473磷酸化		$\chi^2$	P值
		阴性	阳性		
LETM1				0.539	0.000
低表达	33	21	12		
高表达	40	6	34		

LETM1: 亮氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1.

表 3 LETM1蛋白表达与Thr308磷酸化水平之间的相关性

参数	n	Thr308磷酸化		$\chi^2$	P值
		阴性	阳性		
LETM1				0.556	0.000
低表达	33	23	10		
高表达	40	6	34		

LETM1: 亮氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1.

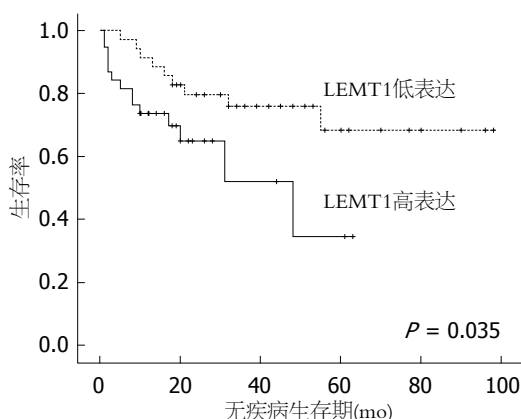


图 2 LETM1表达水平与结肠癌患者的无疾病生存期之间相关性.

采用 $\chi^2$ 检验统计学方法分析, 结果表明LETM1蛋白表达水平与Ser473、Thr308及GSK3 $\beta$ 磷酸化水平呈正相关,  $P < 0.05$ (表2, 3), 进一步Akt的两个磷酸化位点的磷酸化水平与GSK3 $\beta$ 的磷酸化也呈正相关,  $P < 0.05$ (表4, 5). 结果提示, 在结肠癌组织中随LETM1蛋白表达的异常可以改变Akt的活性, 继而影响PI3K/Akt信号传导通路的开启, 最终影响着细胞的生长、凋亡及血管的再生等生理学功能.

2.3 在结肠癌患者中LETM1蛋白表达水平和Akt磷酸化水平与其无疾病生存期之间关系 LETM1蛋白高表达组患者无疾病生存率显著低于LETM1蛋白低表达患者( $P < 0.05$ )(图2), Ser473磷酸化阳性患者无疾病生存期显著低于Ser473磷

表 4 Thr308磷酸化水平与GSK3 $\beta$ 磷酸化水平之间的相关性

参数	n	GSK3 $\beta$ 磷酸化		$\chi^2$	P值
		阴性	阳性		
Thr308磷酸化				0.542	0.000
阴性	29	21	8		
阳性	44	8	36		

GSK3 $\beta$ : 葡萄糖合成激酶 $\beta$ .表 5 Ser473磷酸化水平与GSK3 $\beta$ 磷酸化水平之间的相关性

参数	n	GSK3 $\beta$ 磷酸化		$\chi^2$	P值
		阴性	阳性		
Ser473磷酸化				0.480	0.000
阴性	27	19	8		
阳性	46	10	36		

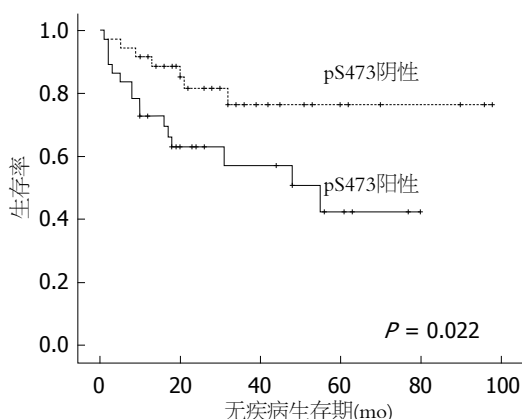
GSK3 $\beta$ : 葡萄糖合成激酶 $\beta$ .

图 3 AktSer473位点的磷酸化水平与结肠癌患者的无疾病生存期之间相关性.

酸化阴性患者( $P < 0.05$ )(图3). Thr308磷酸化阳性患者与阴性患者无疾病生存期未见明显统计学差异( $P > 0.05$ )(图4).

### 3 讨论

结肠癌的发生、发展及演进是多步骤, 多基因突变共同作用的结果, 其中涉及多个途径的分子改变, 其确切机制仍不十分明确. PI3K/Akt信号通路是细胞内信号传导的重要环节, 参与细胞代谢、生存、凋亡、分化和增殖等过程. 目前研究认为PI3K/Akt途径参与了结肠组织的恶性转化和演进过程. Piao等<sup>[11]</sup>研究发现, 在人宫颈癌细胞株HeLa细胞中过表达LETM1蛋白可激活Akt的活性, 推测LETM1蛋白的表达的改变

### ■创新盘点

氨酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)不仅可激活PI3K/Akt信号传导通路的开启, 在肿瘤的发生、发展中起着重要的作用, 且有希望成为判断结肠癌患者预后的新的肿瘤分子生物学标志物.

## ■应用要点

氨基酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand-containing transmembrane protein 1, LETM1)在结肠癌中高表达,可能参与结肠癌的发生、发展与复发。LETM1蛋白可以作为预测结肠癌患者预后的新的生物学指标。

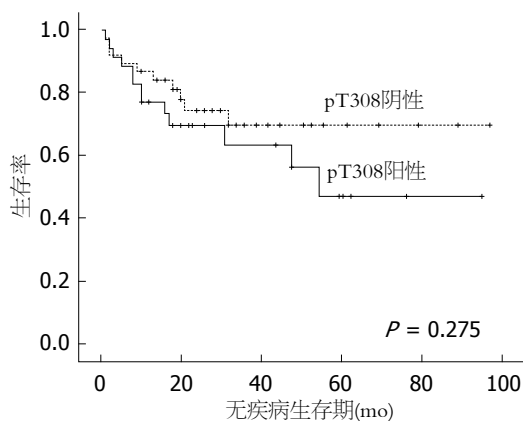


图4 AktThr308位点的磷酸化水平与结肠癌患者的无疾病生存期之间相关性。

可诱导肿瘤的发生,同时发现在结肠癌组织中LETM1蛋白高表达。

我们实验结果发现,在结肠癌组织中LETM1的高表达率为54.8%(表2),且与淋巴结转移、分化及浸润程度具有正相关(表2)。这些结果表明,LETM1蛋白表达的增多可能是结肠肿瘤复发及转移的高危因素之一,且与结肠癌的预后有密切的相关性。

为观察在结肠癌组织中Akt的两个磷酸化位点的磷酸化水平,我们免疫组织化学检测了Ser473和Thr308的磷酸化水平。结果显示,在结肠癌组织中Ser473磷酸化阳性率为63.0%,Thr308磷酸化阳性率为60.3%(表2, 3)。我们的结果表明结肠癌组织中Akt磷酸化程度在高水平状态,这与绝大多数国内外的研究结果相符合。而且我们的结果提示, Ser473磷酸化水平与浸润程度及分化程度呈正相关, Thr308磷酸化水平与淋巴结转移呈正相关, 这些结果基本与文献报道相符。这些结果提示, 在结肠癌中随Akt磷酸化水平的升高,可激活PI3K/Akt信号传导通路,促进肿瘤细胞的生长、抑制细胞凋亡及影响细胞周期,从而成为不良的预后因素之一。

本次研究为GSK3 $\beta$ 作为Akt激酶的底物<sup>[12]</sup>,我们进一步检测了两者之间的关系,发现Akt的Ser473和Thr308磷酸化水平与GSK3 $\beta$ 磷酸化呈正相关( $P<0.05$ )(表4, 5),说明当Akt活性增加时,相应的其底物的磷酸化水平也随之升高。该结果进一步证明Akt信号转导通路在结肠癌中的重要性。

此次研究结果还发现, LETM1蛋白表达分别与Ser473及Thr308磷酸化水平呈正相关(表2, 3),证明结肠癌组织中LETM1蛋白的高表达,

可激活PI3K/Akt信号传导通路,此结果与既往Piao等<sup>[11]</sup>研究宫颈癌细胞中LETM1蛋白激活PI3K/Akt信号通路一致。据此推测,在结肠癌中LETM1蛋白表达也可影响Akt的活性,在肿瘤的发生及发展过程中发挥着重要的角色。

Piao等<sup>[11]</sup>报道, LETM1蛋白高表达诱导线粒体功能障碍,导致糖酵解的增加,使乳酸分泌增多。线粒体功能障碍及通过糖酵解增加ATP,都可以调节NADH/NADPH的比值。NADPH是维持硫氧还蛋白酶活性的重要分子,当NADH/NADPH比值上升,使人第10号染色体缺失的磷酸酶(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome 10, PTEN)保持在氧化/失活状态,进一步激活PI3K/Akt信号转导通路<sup>[13]</sup>。PTEN是一种抑癌基因, PTEN抑癌作用主要是通过催化第3位磷酸发生脱磷酸,使3,4,5三磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate, PIP3)的磷酸脱磷酸形成4,5二磷酸磷脂酰肌醇(phosphatidylinositol,4,5-bisphosphate, PIP2),使之丧失信号传导功能,从而间接抑制PI3K/Akt信号传导通路,抑制细胞增殖和细胞凋亡<sup>[14,15]</sup>。结合我们研究结果及以往的结果,推测LETM1蛋白在结肠癌中随着表达水平的增加影响线粒体的功能,改变NADH/NADPH的比值,抑制PTEN的活性,使无法灭活Akt的活性,从而使细胞趋向于存活的优势,所有这些变化都可能是导致癌变的原因之一。

另外,为进一步证实LETM1蛋白在结肠癌发展过程中的作用,观察结肠癌患者无疾病生存时间。结果显示LETM1蛋白高表达组患者无疾病生存率显著低于LETM1低表达组患者(图2),且Ser473磷酸化阳性组无疾病生存期显著低于Ser473阴性组患者(图3),然而Thr308阳性组患者与阴性组患者无疾病生存期未见明显统计学差异(图4),考虑与标本数少有关。由于LETM1蛋白可激活PI3K/Akt信号传导通路,我们推测,LETM1蛋白高表达在结肠癌患者发生复发及转移过程中发挥重要作用。据此判断, LETM1蛋白是一个比Akt更理想的预示结肠癌演进和预后的重要生物学指标。

总之,我们的研究提示,在结肠癌发生、发展过程中,可能由于LETM1高表达导致PI3K/Akt所介导的信号传导通路异常激活, Akt持续活化,使细胞异常增殖进一步恶性转化,并促使肿瘤浸润及转移。因此,对结肠癌组织中LETM1蛋



白表达表达和Akt信号传导通路的相关作用的研究, 将有助于进一步了解结肠癌的发生及发展, 从而寻找新的、有价值的肿瘤分子标志物, 为肿瘤的临床诊断、治疗以及预后评估提供新的生物学指标。

#### 4 参考文献

- 1 Picelli S, Von Holst S, Wessendorf P. The continuing search for predisposing colorectal cancer variants. *Cancer Genomics Proteomics* 2009; 6: 305-316 [PMID: 20065317 DOI: 10.1007/s12307-009-0029-4]
- 2 Sung JJ, Lau JY, Goh KL, Leung WK. Increasing incidence of colorectal cancer in Asia: implications for screening. *Lancet Oncol* 2005; 6: 871-876 [PMID: 16257795 DOI: 10.1016/S1470-2045(05)70422-8]
- 3 Zou W, Li ZY, Li CL, Cui ZC. [Protein kinase B and its role in the signal transduction pathway mediated by phosphoinositide 3-kinase]. *Shengli Kexue Jinzhan* 2000; 31: 120-124 [PMID: 12545728]
- 4 Cheng GZ, Park S, Shu S, He L, Kong W, Zhang W, Yuan Z, Wang LH, Cheng JQ. Advances of AKT pathway in human oncogenesis and as a target for anti-cancer drug discovery. *Curr Cancer Drug Targets* 2008; 8: 2-6 [PMID: 18288938 DOI: 10.2174/156800908783497104]
- 5 Roy HK, Olusola BF, Clemens DL, Karolski WJ, Ratashak A, Lynch HT, Smyrk TC. AKT proto-oncogene overexpression is an early event during sporadic colon carcinogenesis. *Carcinogenesis* 2002; 23: 201-205 [PMID: 11756242]
- 6 Johnson SM, Gulhati P, Rampy BA, Han Y, Rycharhou PG, Doan HQ, Weiss HL, Evers BM. Novel expression patterns of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway components in colorectal cancer. *J Am Coll Surg* 2010; 210: 767-776, 776-778 [PMID: 20421047 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2009.12.008]
- 7 Baba Y, Noshok K, Shima K, Hayashi M, Meyerhardt JA, Chan AT, Giovannucci E, Fuchs CS, Ogino S. Phosphorylated AKT expression is associated with PIK3CA mutation, low stage, and favorable outcome in 717 colorectal cancers. *Cancer* 2011; 117: 1399-1408 [PMID: 21425139 DOI: 10.1002/cncr.25630]
- 8 Weng D, Song X, Xing H, Ma X, Xia X, Weng Y, Zhou J, Xu G, Meng L, Zhu T, Wang S, Ma D. Implication of the Akt2/survivin pathway as a critical target in paclitaxel treatment in human ovarian cancer cells. *Cancer Lett* 2009; 273: 257-265 [PMID: 18842333 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.08.027]
- 9 Schlickum S, Moghekar A, Simpson JC, Steglich C, O'Brien RJ, Winterpacht A, Ende SU. LETM1, a gene deleted in Wolf-Hirschhorn syndrome, encodes an evolutionarily conserved mitochondrial protein. *Genomics* 2004; 83: 254-261 [PMID: 14706454]
- 10 Beesley MF, McLaren KM. Cytokeratin 19 and galectin-3 immunohistochemistry in the differential diagnosis of solitary thyroid nodules. *Histopathology* 2002; 41: 236-243 [PMID: 12207785]
- 11 Piao L, Li Y, Kim SJ, Byun HS, Huang SM, Hwang SK, Yang KJ, Park KA, Won M, Hong J, Hur GM, Seok JH, Shong M, Cho MH, Brazil DP, Hemmings BA, Park J. Association of LETM1 and MRPL36 contributes to the regulation of mitochondrial ATP production and necrotic cell death. *Cancer Res* 2009; 69: 3397-3404 [PMID: 19318571 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-3235]
- 12 Quintavalle C, Incoronato M, Puca L, Acunzo M, Zanca C, Romano G, Garofalo M, Iaboni M, Croce CM, Condorelli G. c-FLIPL enhances anti-apoptotic Akt functions by modulation of Gsk3 $\beta$  activity. *Cell Death Differ* 2010; 17: 1908-1916 [PMID: 20508645 DOI: 10.1038/cdd.2010.65]
- 13 Pelicano H, Xu RH, Du M, Feng L, Sasaki R, Carew JS, Hu Y, Ramdas L, Hu L, Keating MJ, Zhang W, Plunkett W, Huang P. Mitochondrial respiration defects in cancer cells cause activation of Akt survival pathway through a redox-mediated mechanism. *J Cell Biol* 2006; 175: 913-923 [PMID: 17158952 DOI: 10.1083/jcb.200512100]
- 14 Depowski PL, Rosenthal SI, Ross JS. Loss of expression of the PTEN gene protein product is associated with poor outcome in breast cancer. *Mod Pathol* 2001; 14: 672-676 [PMID: 11454999 DOI: 10.1038/modpathol.3880371]
- 15 Koksai IT, Yasar D, Dirice E, Usta MF, Karauzum S, Luleci G, Baykara M, Sanlioglu S. Differential PTEN protein expression profiles in superficial versus invasive bladder cancers. *Urol Int* 2005; 75: 102-106 [PMID: 16123561 DOI: 10.1159/000085933]

#### 同行评价

本文结果提示氨基酸拉链EF-hand结构域跨膜蛋白1(leucine zipper/EF-hand- containing transmembrane protein 1, LETM1)在结肠癌中高表达, 可能参与结肠癌的发生、发展与复发。LETM1蛋白可以作为预测结肠癌患者预后的新的生物学指标物。本文内容客观, 观点新颖, 具有一定的科学意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# IGF- I 、IGF- I R、IGF- II 在结直肠腺瘤中的表达及意义

谭晓林, 刘祥玉, 米贤军, 谢彩虹, 赵超, 陈冬妹, 肖文, 尹泉, 施为建

## 《IGF-I、IGF-IR、IGF-II 在结直肠腺瘤中的表达及意义》

### 撤稿的申请

《世界华人消化杂志》编辑部:

谭晓林等作者发表在《世界华人消化杂志》上的文章(稿号: 1312694, 题目: IGF-I、IGF-IR、IGF-II 在结直肠腺瘤中的表达及意义), 因为该期刊 2013 年 7 月取消了国内 CN 号, 经与编辑部协商并同意, 现申请撤消此期刊上的论文, 包括期刊、电子期刊、国内外相关文摘及检索系统的收录(包括中国知网、知网空间、万方数据库等)。

### 申请人

作者姓名: 谭晓林	签名: <u>谭晓林</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 刘祥玉	签名: <u>刘祥玉</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 米贤军	签名: <u>米贤军</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 谢彩虹	签名: <u>谢彩虹</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 赵超	签名: <u>赵超</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 陈冬妹	签名: <u>陈冬妹</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 肖文	签名: <u>肖文</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 尹泉	签名: <u>尹泉</u>	日期: <u>2014.10.22</u>
作者姓名: 施为建	签名: <u>施为建</u>	日期: <u>2014.10.22</u>

2014-10-22

# 关于论文（稿号 1312694）申请撤销的单位介绍信

世界华人消化杂志

兹有我单位谭晓林同志向贵刊编辑部投稿并发表的文章（稿号：1312694，题目：IGF-I、IGF-IR、IGF-II 在结直肠腺瘤中的表达及意义，作者：谭晓林等，2014 年第 5 期），根据编辑部来函“关于世界华人消化杂志作者申请撤稿的说明”，经领导审批，同意个人和编辑部意见，同意撤销已发表论文。

特此证明。

谭晓林	刘祥云
朱贤举	谢彩虹
赵超	陈冬妹
肖文	施为建
	尹泉















# ESD术治疗上消化道疾病50例

沈睿炜, 孙聪, 郑惠虹, 孙常波, 李江波, 魏冬梅, 朱红梅, 王贤君

## ■背景资料

近年来随着消化内镜技术的发展, 内镜下治疗消化道早期肿瘤的临床应用日益广泛, 消化内镜已从单纯的检查诊断进展到消化系肿瘤的治疗时期。由剥离活检技术发展而来的内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection)、内镜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)、内镜黏膜下肿瘤挖除术(endoscopic submucosal excavation)已逐步推广, 少数医院还可开展内镜全层切除术(endoscopic full-thickness resection)。这些由内而外的内镜治疗, 提高了肿瘤的切除率, 减少病灶残存, 可达到对早期消化道肿瘤的根治性切除。

沈睿炜, 孙聪, 郑惠虹, 孙常波, 李江波, 魏冬梅, 朱红梅, 王贤君, 浙江中医药大学附属宁波中医院消化科 浙江省宁波市 315000

沈睿炜, 硕士, 主治医师, 主要从事消化科的临床研究。

作者贡献分布: 手术由沈睿炜、孙聪、郑惠虹、李江波及王贤君操作完成; 数据分析由沈睿炜、魏冬梅及朱红梅完成; 论文写作由沈睿炜与孙常波完成。

通讯作者: 沈睿炜, 主治医师, 315000, 浙江省宁波市丽园北路819号, 浙江中医药大学附属宁波中医院消化科。

shenruiwei@126.com

收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-18

## Endoscopic submucosal dissection for upper gastrointestinal lesions: Our experience with 50 cases

Rui-Wei Shen, Cong Sun, Hui-Hong Zhen, Chang-Bo Sun, Jiang-Bo Li, Dong-Mei Wei, Hong-Mei Zhu, Xian-Jun Wang

Rui-Wei Shen, Cong Sun, Hui-Hong Zhen, Chang-Bo Sun, Jiang-Bo Li, Dong-Mei Wei, Hong-Mei Zhu, Xian-Jun Wang, Department of Gastroenterology, Ningbo Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Ningbo 315000, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Rui-Wei Shen, Attending Physician, Ningbo Traditional Chinese Medicine Hospital, Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, 819 Liyuan North Road, Ningbo 315000, Zhejiang Province, China. shenruiwei@126.com

Received: 2013-12-10 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To discuss the clinical value of endoscopic submucosal dissection (ESD) for treating upper gastrointestinal lesions.

**METHODS:** A total of 52 patients who underwent ESD between May 2012 and May 2013 were retrospectively analyzed to assess the feasibility, safety and efficacy of ESD for treating upper gastrointestinal lesions.

**RESULTS:** Among 52 patients, 4 had esophageal lesions, 48 had gastric lesions. Postoperative pathology revealed that 40 were mucosal lesions, including esophageal papilloma ( $n = 2$ ),

cardiac hyperplastic polyps ( $n = 9$ ), cardiac adenoma ( $n = 3$ ), early gastric cancer ( $n = 2$ ), high grade intraepithelial neoplasia ( $n = 3$ ), low grade intraepithelial neoplasia ( $n = 5$ ), gastric antral adenomatous polyps ( $n = 9$ ), hyperplastic polyps ( $n = 5$ ), and intestinal metaplasia ( $n = 2$ ); and 12 were submucosal lesions, including esophageal leiomyoma ( $n = 1$ ), esophageal gastrointestinal stromal tumor ( $n = 1$ ), gastric heterotopic pancreas ( $n = 7$ ), gastric body gastrointestinal stromal tumor ( $n = 2$ ), and lipoma ( $n = 1$ ). All the lesions were completely resected and were confirmed by pathologic examination. No severe bleeding occurred. Perforation occurred in two cases but was safely managed by conservative treatment.

**CONCLUSION:** ESD is a safe, effective and recommendable treatment for upper gastrointestinal lesions. It can not only resect the lesions completely, but also provide accurate pathologic information.

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

**Key Words:** Esophagus; Stomach; Endoscopic submucosal dissection

Shen RW, Sun C, Zheng HH, Sun CB, Li JB, Wei DM, Zhu HM, Wang XJ. Endoscopic submucosal dissection for upper gastrointestinal lesions: Our experience with 50 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 730-734  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/730.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.730>

## 摘要

**目的:** 总结内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)在上消化道病变治疗中的应用体会。

**方法:** 回顾分析2012-05/2013-05在我院经ESD的52例患者资料, 评价ESD在上消化道病变治疗的安全性、有效性。

**结果:** 52例患者中食管病变4例、胃部病变48例, 所有病变均经病理检查表明病灶完整切

## ■同行评议者

欧希龙, 副教授, 东南大学中大医院消化科

除, 切缘及基底部无病变残留. 其中黏膜病变40例(术后病理示食管乳头状瘤2例, 贲门增生性息肉9例、腺瘤3例, 胃窦原位癌2例、高级别上皮内瘤变3例、低级别上皮内瘤变5例、腺瘤9例、增生性息肉5例、肠上皮化生2例); 黏膜下肿瘤12例(术后病理示食管平滑肌瘤1例、食管间质瘤1例、胃间质瘤2例、胃脂肪瘤1例, 胃异位胰腺7例). 无并发大出血病例; 术中穿孔2例, 均于保守治疗后治愈.

**结论:** 以ESD方法治疗上消化道病变, 不仅能完整切除病变, 同时可获得完整、准确的病理资料, 值得推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胃; 食管; 内镜下黏膜剥离术

**核心提示:** 本研究回顾分析2012-05/2013-05在我院经内镜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)的52例患者资料, 评价ESD在上消化道病变治疗的安全性、有效性, 结果显示: 对于ESD术中穿孔重在预防, 如已发生穿孔应及时使用金属夹闭合创面, 尽量做到“以镜救镜”, 以胃镜技术处理胃镜并发症. 本院自开展ESD以来, 所有患者近期效果均良好, 远期疗效还需进一步随访观察.

沈睿炜, 孙聪, 郑惠虹, 孙常波, 李江波, 魏冬梅, 朱红梅, 王贤君. ESD术治疗上消化道疾病50例. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 730-734 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/730.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.730>

## 0 引言

消化系肿瘤是临床常见病、多发病. 据报道, 我国每年胃癌发病率为男性31.2/10万, 女性15.5/10万; 食管癌的发病率为15.15/10万<sup>[1]</sup>. 大部分肿瘤患者发现时均已达到中晚期, 即使外科根治术后, 5年生存率也较低, 严重影响人们的生活质量. 提高消化系肿瘤治疗有效性的关键在于早期发现、早期治疗. 近年来随着消化内镜技术的发展, 内镜下治疗消化道早期肿瘤的临床应用日益广泛, 消化内镜已从单纯的检查诊断进展到消化系肿瘤的治疗时期. 由剥脱活检术(strip biopsy)发展而来的内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)、内镜黏膜下肿瘤挖除术(endoscopic submucosal excavation, ESE)已逐步推广, 少数医院还可开展内镜全层切除术(endoscopic full-thickness resec-

tion, EFR). 这些由内而外的内镜治疗, 提高了肿瘤的切除率, 减少病灶残存, 可达到对早期消化道肿瘤的根治性切除<sup>[2]</sup>. 目前ESD治疗技术日益推广. 现将我院经ESD治疗的52例患者资料总结如下, 并讨论ESD的适应症、并发症及操作过程中出现的问题.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-05/2013-05在我院就诊, 经胃镜发现的上消化道病变共52例, 其中男20例, 女32例; 年龄35-73岁, 平均50.3岁. 病变组织活检提示为低或高级别上皮内瘤变、早期胃癌, 黏膜下占位, 直径>2 cm的宽基底息肉病变. 对黏膜下占位均进行超声内镜检查. 排除服用抗凝药、凝血功能异常者. 术前告知可能的益处及风险, 并签署知情同意书. 采用富士能EG-250WR5、EG-590WR胃镜. 内镜超声系统为富士能SP702-EUS909型, 超声探头频率酌情采用12、15或20 MHz. Olympus NM-4L-1注射针, Olympus FD-1-1热活检钳, Olympus HX-610-135L、HX-610-135止血夹, ERBE ICC 200高频电切装置和APC 300氩离子凝固器, Olympus钩形电刀(Hook knife)、IT刀(insulation-tipped knife). ESD治疗过程中胃镜前端附加透明帽.

### 1.2 方法

**1.2.1 术前检查:** 术前了解病灶的大小、形态, 确定病灶的深度, 排除淋巴结转移. 黏膜病变采用表面喷洒0.4%靛胭脂染色观察. 对黏膜下肿瘤常规行超声内镜, 了解病变所在的层次、深度, 有无浸润特征; 较大者行上腹部CT增强, 排除腔外病变.

**1.2.2 ESD手术:** (1)标记: 用APC在病灶周围进行电凝标记. 对黏膜病灶标记点离开病灶边缘至少5 mm, 对黏膜下病变紧靠病灶边缘标记; (2)黏膜下注射: 将5 mL 0.2%靛胭脂(南京微创公司)、2 mL 1%肾上腺素和100 mL生理盐水混合配制的混合溶液, 自远端至近端, 于病灶边缘标记点外进行多点黏膜下注射, 每点至少2 mL至黏膜明显隆起; (3)切开病变外侧缘黏膜: 应用Hook刀沿病灶边缘标记点切开黏膜; (4)黏膜剥离、挖除病变: 借助透明帽, 通过反复的黏膜下注射、分离, 根据情况采用钩形电刀或IT刀将病灶从黏膜下层进行剥离, 大块、完整地切除病灶. 术中保持直视下操作, 并注意随时止血; (5)创面处理: 对创面可见的小血管应用氩离子血浆凝固术凝固治疗, 较大血管用热活检钳电凝,

## ■ 研发前沿

ESD手术操作过程复杂, 手术时间较长, 对操作者的技术要求高, 并且需助手的熟练配合.



### ■相关报道

近年来日本确定了上消化道早期肿瘤内镜切除的治疗规范。Gotoda等认为ESD治疗早期胃癌的适应症为: (1)分化型黏膜内癌、无溃疡发生、大小不限; (2)溃疡、分化型黏膜内癌, 直径 $<3$  cm; (3)sm1浸润分化癌、无溃疡发生、无淋巴及血行转移, 直径 $<3$  cm; (4)低分化型黏膜内癌、无溃疡发生, 直径 $<2$  cm。

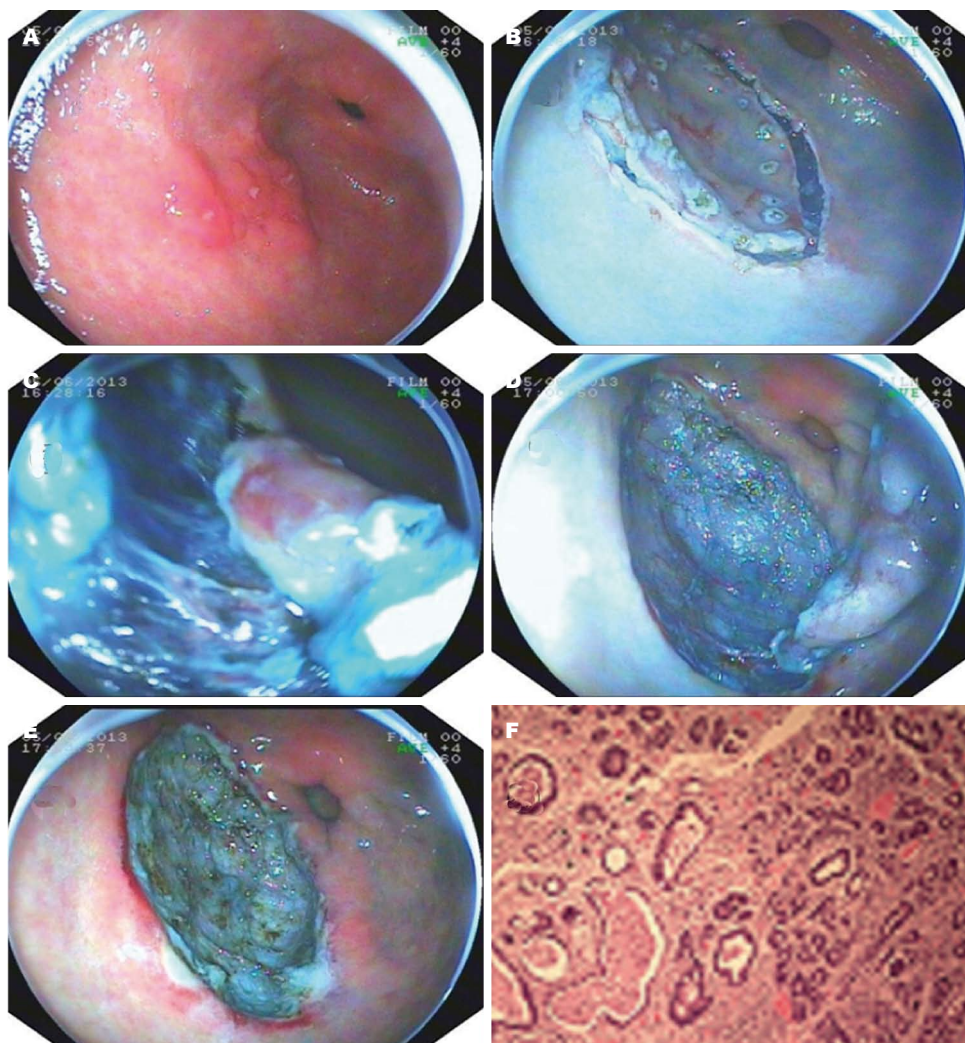


图1 ESD过程及病理。A: 病灶位于胃窦前壁偏大弯侧, 表面粗糙、糜烂, 部分呈颗粒样改变, 大小约 $3.0\text{ cm} \times 4.0\text{ cm}$ , 边界不清晰; B: 靛胭脂染色并用APC标记病灶边缘, 然后使用钩刀沿标记外缘 $0.5\text{ cm}$ 左右全周切开; C: 剥离中见黏膜下血管, 随时处理; D: 完整剥离病灶; E: 底部创面处理; F: 病理提示( $\times 40$ ): (胃窦)腺上皮高级别上皮内瘤变, 灶性癌变, 局限在固有层, 水平切缘、垂直切缘阴性。

必要时应用金属夹闭合创面或血管。

1.2.3 术后处理: 切除病灶标本应用大头针固定, 甲醛固定后送病理检查, 确定病变性质及切缘和基底部有无侵犯。患者术后常规禁食1-3 d, 并予质子泵抑制剂、黏膜保护剂等治疗; 观察腹部体征及胃管引出物颜色, 判断有无消化系出血等并发症, 必要时给予抗感染治疗。

1.2.4 术后随访: 术后1-3 mo内镜随访, 了解人工溃疡愈合情况, 并在瘢痕处活检, 了解有无复发。

## 2 结果

本组病例包括食管病变4例、胃部病变48例, 所有病变均经病理检查表明病灶完整切除, 切缘及基底部无病变残留。4例食管病变中黏膜层病变2例, 术后病理提示为乳头状瘤; 黏膜下层病变2例, 超声内镜提示起源于黏膜肌层1例、黏

膜下层1例, 术后病理分别为食管平滑肌瘤、间质瘤(低度恶性)。48例胃部病变中: (1)贲门部病变12例, 内镜下肉眼观察均为隆起性病变, 术后病理为增生性息肉9例、腺瘤3例; (2)胃体病变3例, 均为黏膜下占位, 病变直径 $2.0\text{--}3.0\text{ cm}$ , 超声内镜提示起源于黏膜肌层1例、黏膜下层1例、肌层1例; 术后病理提示间质瘤2例、脂肪瘤1例; (3)胃窦部病变33例, 其中黏膜层病变26例, 病变直径 $1.5\text{--}4.0\text{ cm}$ , 平均 $3.3\text{ cm}$ , 术后病理提示原位癌2例、高级别上皮内瘤变3例、低级别上皮内瘤变5例、腺瘤9例、增生性息肉5例、肠上皮化生2例; 另有黏膜下病变7例, 术前超声内镜提示起源于黏膜下层4例、肌层3例, 术后病理均为异位胰腺。ESD术中发生穿孔2例, 均经保守治疗后好转。未有发生大出血转外科手术的病例(图1)。

### 3 讨论

随着内镜设备的改进及技术的提高, 内镜下黏膜剥脱活检术逐步发展为黏膜切除术, 并进一步发展为内镜下黏膜剥离术、内镜黏膜下肿瘤挖除术。近年来, 随着金属夹闭合技术的发展, 部分经验丰富的内镜医生甚至由治疗过程中的被动穿孔发展为主动穿孔, 可以行内镜下全层切除术。经过金属夹闭合创面及抑酸、抗感染等治疗, 内镜下治疗一般不会产生严重的并发症。目前应用ESD治疗上消化道早期肿瘤及癌前病变日益增多, ESD属于微创治疗, 患者无需开腹手术, 痛苦小、住院天数少、术后不留体表瘢痕, 尤其是可以一次性完整切除病灶, 不仅利于对所切除标本的病理观察, 而且可以减少局部复发几率。但ESD手术操作过程复杂, 手术时间较长, 对操作者的技术要求高, 并且需助手的熟练配合。

近年来日本确定了上消化道早期肿瘤内镜切除的治疗规范。Gotoda等<sup>[3]</sup>认为ESD治疗早期胃癌的适应症为: (1)分化型黏膜内癌、无溃疡发生、大小不限定; (2)溃疡、分化型黏膜内癌, 直径<3 cm; (3)sm1浸润分化癌、无溃疡发生、无淋巴及血行转移, 直径<3 cm; (4)低分化型黏膜内癌、无溃疡发生, 直径<2 cm。2007年, Fujishiro等<sup>[4]</sup>提出ESD治疗食管病变的适应症为食管重度异型增生、原位癌、黏膜内癌。我们体会, 术前必须严格掌握ESD的临床适应症, 这是保证内镜下安全、有效治疗的首要关键。

对于ESD操作, 我们有如下体会。 (1)要重视黏膜染色剂靛胭脂的作用, 在部分病例, 只有使用了靛胭脂染色后其病变范围才能充分显现, 才可保证切除范围的充分性; (2)病灶边缘标记要清晰, 做病灶全周切开时要将全部标记点包含在内, 这是保证切除范围充分性的另一个要点; (3)黏膜下注射时要使黏膜层充分隆起, 并于手术过程中反复多次追加注射, 使切割操作易于进行, 并减少电刀对消化道肌层的损害; (4)黏膜下注射后抬举不良的病变, 即黏膜下注射后黏膜层不能充分隆起者, 多由溃疡瘢痕、反复活检后瘢痕黏连甚至肿瘤浸润所导致, 通常不宜进行ESD治疗, 因为此时发生穿孔的可能性较大。我们体会, 若黏膜层与黏膜下层黏连不严重, 充分利用透明帽的推举作用, 谨慎操作, 胆大心细地循层剥离也可成功进行ESD。本组有1例EMR术后8 mo局部复发的胃窦黏膜隆起性病变患者, 再次行ESD时抬举不良征阳性, 术中黏

连明显, 与患者及家属充分沟通后, 于黏膜下多次、足量注射含肾上腺素、靛胭脂的生理盐水, 使黏膜下层与肌层尽可能分离, 在保证视野、保持直视下操作的前提下, 沿肌层上缘谨慎、仔细地进行切割, 最终ESD顺利完成; (5)对于黏膜下占位的剥离, 去除黏膜下占位的顶端黏膜, 充分暴露瘤体, 可沿占位边缘一次性完整大块剥离; 如占位有包膜, 应尽量不破坏包膜的完整性, 这样可减少占位的残存, 防止肿瘤的种植转移, 减少肿瘤的局部复发<sup>[5]</sup>。

出血和穿孔是ESD治疗过程的两种主要并发症。 (1)关于出血的预防及处理。Fujishiro<sup>[6]</sup>报道应用ESD治疗382例胃部肿瘤患者, 术中出血13例(3.4%), 术后再出血8例(2.1%)。ESD术中出血一旦发生, 会严重影响内镜视野, 而盲目止血容易发生穿孔, 所以对术中所见血管的预处理极其重要, 对于可能出血的血管要及时电凝, 对于黏膜下层较细小的血管, 可以用Hook刀头端或IT刀直接电凝; 对于较粗的血管, 则使用热活检钳夹闭后电凝血管。如发生术中出血需及时、准确止血, 不可盲目操作。术中出血较少时, 可用含去甲肾上腺素的冰盐水进行冲洗, 明确出血位置后选择相应措施止血。如出血量较大, 术中不能止血, 有时不得不中止手术, 转外科手术治疗。病灶完整剥离后, 应用APC烧灼创面上所有裸露的小血管, 必要时应用金属夹缝合创面, 可达到预防术后迟发出血的目的。术中出血较多或术中穿孔者, 术后应常规放置胃管引流, 观察胃管内引流物颜色、数量, 如有数十分钟内引出约100 mL以上血性液体者, 需行急诊胃镜检查, 对动脉出血可金属夹闭合血管, 静脉渗血可用热活检钳电凝止血。本组术者术中止血充分, 本组未发生因术中出血影响视野而中止ESD转外科手术的病例, 也无术后出血病例; (2)关于穿孔的预防及处理。临床文献报道ESD穿孔的发生率为0%-8%<sup>[7-10]</sup>。Fujishiro等<sup>[11]</sup>认为避免术中发生消化系穿孔最重要的要点是在ESD术中始终保持操作视野清晰。ESD术中穿孔一般较小, 术中基本上都能及时发现。操作者术中应间断进行腹部触诊检查, 腹胀明显时要及时抽吸出胃腔内气体, 保持胃腔适度充气即可, 若可保持良好视野则应尽量少充气。发生消化系穿孔时可及时用金属夹缝合, 一般不必终止治疗。气腹明显时可用20 mL注射器, 在右上腹进行腹腔穿刺排气。因胃镜治疗前患者处于禁食状态, 术中胃腔内液体较少, 穿孔所致的腹膜炎体征往

#### ■同行评价

本研究设计合理, 结果可靠, 讨论丰富, 有较好的参考价值。



往较轻,金属夹闭合后气腹往往能得到控制。若穿孔较大,可在内镜下将大网膜吸引入胃腔,应用金属夹固定大网膜封堵穿孔<sup>[12]</sup>。对于穿孔病例,术中夹闭结合术后禁食、胃肠减压、选择合理体位、静脉使用抗生素等,保守治疗一般能成功。本组出现2例穿孔,均为黏膜下占位,超声内镜提示起源于肌层、黏膜下层各1例,2例均术中黏膜下注射生理盐水、靛胭脂、肾上腺素混合液后抬举不良,分离瘤体过程中出血较多影响视野,同时钩刀分离过程中,钩刀勾端无意中倾向于腔外,结果造成术中点状穿孔。穿孔发生后,我们在穿孔部位使用金属夹闭合创面,后继续完整切除病灶,术后观察无严重腹膜炎。我们体会:ESD术中要充分黏膜下注射,同时利用胃镜前端透明帽的推举作用,使瘤体与其下层分离;使用钩刀时,要使勾端倾向于腔内,在直视下完成切割,可防止勾端造成的穿孔。

总之,对于ESD术中穿孔重在预防,如已发生穿孔应及时使用金属夹闭合创面,尽量做到“以镜救镜”,以胃镜技术处理胃镜并发症。本院自开展ESD以来,所有患者近期效果均良好,远期疗效还需进一步随访观察。

#### 4 参考文献

- 詹文华. 提高我国胃癌诊治及学术水平之我见. 中华胃肠外科杂志 2006; 1: 5-7
- Mochizuki Y, Saito Y, Tanaka T, Nitta N, Yamada H, Tsujikawa T, Murata K, Fujiyama Y, Andoh A. Endoscopic submucosal dissection combined with the placement of biodegradable stents for recurrent esophageal cancer after chemoradiotherapy. *J Gastrointest Cancer* 2012; 43: 324-328 [PMID: 21538215 DOI: 10.1007/s12029-011-9283-z]
- Gotoda T, Iwasaki M, Kusano C, Seewald S, Oda I. Endoscopic resection of early gastric cancer treated by guideline and expanded National Cancer Centre criteria. *Br J Surg* 2010; 97: 868-871 [PMID: 20301163 DOI: 10.1002/bjs.7033]
- Fujishiro M. Perspective on the practical indications of endoscopic submucosal dissection of gastrointestinal neoplasms. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 4289-4295 [PMID: 18666315 DOI: 10.3748/wjg.14.4289]
- 周平红, 徐美东, 陈巍峰, 钟芸诗, 张轶群, 王萍, 王红美, 姚礼庆, 秦新裕. 内镜粘膜下剥离术治疗直肠病变. 中华消化内镜杂志 2007; 24: 4-7
- Fujishiro M. Endoscopic submucosal dissection for stomach neoplasms. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5108-5112 [PMID: 16937520 DOI: 10.3748/wjg.v12.i32.5108]
- Tanaka S, Oka S, Kaneko I, Hirata M, Mouri R, Kanao H, Yoshida S, Chayama K. Endoscopic submucosal dissection for colorectal neoplasia: possibility of standardization. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 100-107 [PMID: 17591481 DOI: 10.1016/j.gie.2007.02.032]
- Miyamoto S, Muto M, Hamamoto Y, Boku N, Ohtsu A, Baba S, Yoshida M, Ohkuwa M, Hosokawa K, Tajiri H, Yoshida S. A new technique for endoscopic mucosal resection with an insulated-tip electrosurgical knife improves the completeness of resection of intramucosal gastric neoplasms. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 576-581 [PMID: 11923778 DOI: 10.1067/mge.2002.122579]
- Yamamoto H, Kawata H, Sunada K, Satoh K, Kaneko Y, Ido K, Sugano K. Success rate of curative endoscopic mucosal resection with circumferential mucosal incision assisted by submucosal injection of sodium hyaluronate. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 507-512 [PMID: 12297765 DOI: 10.1067/mge.2002.128108]
- 丁岩冰, 孙建宏, 陈姚生, 邓彬, 眭伟, 陈海燕, 赵焯. 手术室内行内镜粘膜下剥离术治疗胃肠道病变102例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3267-3270
- Fujishiro M, Yahagi N, Kakushima N, Kodashima S, Muraki Y, Ono S, Kobayashi K, Hashimoto T, Yamamichi N, Tateishi A, Shimizu Y, Oka M, Ogura K, Kawabe T, Ichinose M, Omata M. Successful nonsurgical management of perforation complicating endoscopic submucosal dissection of gastrointestinal epithelial neoplasms. *Endoscopy* 2006; 38: 1001-1006 [PMID: 17058165 DOI: 10.1055/s-2006-944775]
- 周平红, 姚礼庆, 秦新裕, 徐美东, 钟芸诗, 马丽黎, 张轶群, 陈巍峰, 秦文政, 胡健卫, 蔡明琰, 刘靖正, 王萍. 无腹腔镜辅助的内镜全层切除术治疗胃黏膜下肿瘤. 中华消化内镜杂志 2009; 6: 617-621
- 张春霞, 官爱霞, 孙颖, 刘艳洁, 夏楠, 冷敬, 葛林梅. 内镜黏膜下剥离术在胃肠黏膜病变治疗中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1866-1870
- 冯倩, 戈之铮. 内镜黏膜下剥离术在早期胃癌治疗中的应用进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 2031-2035
- 于衍会, 高善玲. 内镜超声诊断胃肠道黏膜及黏膜下隆起性病变432例. 世界华人消化杂志 2011; 19: 1745-1748

编辑 田滢 电编 鲁亚静





## 医用胶经导管行消化系出血血管栓塞的疗效

程斌, 许敏, 蒋天鹏, 宋杰, 安天志, 周石

程斌, 贵州省人民医院介入放射科 贵州省贵阳市 550004  
许敏, 蒋天鹏, 宋杰, 安天志, 周石, 贵阳医学院附属医院介入科 贵州省贵阳市 550004

程斌, 住院医师, 临床医学专业硕士, 主要从事外周介入的治疗与临床研究。

作者贡献分布: 程斌与许敏对此文所做贡献均等; 此课题由许敏、程斌及周石设计; 研究过程由程斌、许敏、蒋天鹏、宋杰及安天志操作完成; 数据分析由许敏完成; 本文写作由程斌与许敏完成。

通讯作者: 周石, 教授, 主任医师, 550004, 贵州省贵阳市云岩区北京路, 贵阳医学院附属医院. huaiqiaogood@126.com

收稿日期: 2013-10-09 修回日期: 2013-11-11

修回日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-18

### Transcatheter arterial embolization with medical adhesive for nonvariceal gastrointestinal bleeding

Bin Cheng, Min Xu, Tian-Peng Jiang, Jie Song, Tian-Zhi An, Shi Zhou

Bin Cheng, Department of Radiology, Guizhou Provincial People's Hospital, Guiyang 550004, Guizhou Province, China  
Min Xu, Tian-Peng Jiang, Jie Song, Tian-Min Xu, Tian-Peng Jiang, Jie Song, Tian-Zhi An, Shi Zhou, Department of Radiology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyang 550004, Guizhou Province, China  
Correspondence to: Shi Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Radiology, the Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Beijing Road, Yunyan District, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. huaiqiaogood@126.com

Received: 2013-10-09 Revised: 2013-11-11

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-18

### Abstract

**AIM:** To assess the clinical utility and safety of transcatheter arterial embolization with Fuaile medical adhesive (FAL) for control of arterial bleeding in the upper or lower gastrointestinal tract.

**METHODS:** Thirty-five patients with arterial bleeding of the gastrointestinal tract who underwent therapeutic transcatheter embolization using FAL during the period between October 2010 and June 2013 were retrospectively analyzed. Among the patients with upper gastrointestinal bleeding ( $n = 26$ ), 5 had gastric ulcer, 7 had duodenal ulcer, 1 had pancreatic cancer, 4

had gastric cancer, 2 previously underwent suturing to stop bleeding gastric ulcer, 1 previously underwent surgery for duodenal ulcer, and 6 previously underwent gastrectomy. Among the patients with lower gastrointestinal bleeding ( $n = 9$ ), 2 had jejunal cancer, 1 had ileal cancer, 2 had recurrent rectal cancer, 2 had recurrent colon cancer, and 2 had colorectal polyps. Super-selective transcatheter arterial embolization with mixtures of FAL and iodized oil (1:1) was performed when the signs of bleeding was observed by radiography. Patient's blood pressure, heart rate, and hemoglobin level were assessed during 24 h before and after embolization. All the patients were followed for 1 year, and clinical effectiveness was evaluated and complications were analyzed.

**RESULTS:** Of 35 patients included, 33 were treated with FAL solely and 2 by FAL with microcoil. The rate of successful hemostasis was 100% (35/35). Four patients experienced rebleeding, of whom one had multiple ulcers and was retreated with coil and FAL successfully 6 days after the procedure, one who underwent gastrointestinal anastomosis was recurred with FAL perfectly, and the other two died, one for pancreatic cancer three months after the embolization and one for massive rebleeding caused by pancreatic cancer and failed emergency surgery. Abdominal pain occurred in 5 patients, of whom 4 spontaneously relieved and 1 was referred to surgery for increased abdominal pain. Five patients died for cancer after the embolization during the follow-up and no rebleeding occurred.

**CONCLUSION:** The results suggest that FAL can be a useful alternative embolic agent for the treatment of gastrointestinal bleeding, with a low rebleeding rate and incidence of complications if used properly.

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

**Key Words:** Gastrointestinal hemorrhage; Fuaile medical adhesive; Embolization; Therapeutic; Complication

### ■背景资料

消化系出血是内科常见急症之一, 严重威胁患者生命安全。当内、外科治疗无效时, 经导管选择性出血动脉栓塞成为可供选择的有止血方法。如何选择一种安全、快速、有效、价廉的血管内栓塞材料成为关键点。本研究拟评估福爱乐医用胶用于血管内栓塞治疗消化系出血的疗效及并发症。

### ■同行评议者

陈贻胜, 教授, 福建省立医院

## ■研究前沿

本文研究的主要热点、重点问题是:福爱乐医用胶配合超选择插管栓塞消化系出血的止血效果;如何尽可能降低术后并发症的发生率,尤其是肠坏死。精确计算医用胶的用量及术中注射医用胶速度的控制。亟待解决的问题是:需要大样本的研究及术后长期随访问题。

Chen B, Xu M, Jiang TP, Song J, An TZ, Zhou S. Transcatheter arterial embolization with medical adhesive for nonvariceal gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 735-741 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/735.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.735>

## 摘要

**目的:**探讨使用福爱乐医用胶配合超选择插管行血管内栓塞术治疗消化系出血的临床安全性、有效性。

**方法:**回顾性分析2010-10/2013-01内科治疗无效,血管造影明确为消化系血管出血并运用福爱乐医用胶栓塞出血血管的35例患者。其中上消化道出血26例:胃溃疡5例,十二指肠溃疡7例,胃癌4例,胰腺癌1例,胃溃疡缝扎止血术后2例,十二指肠溃疡术后1例,胃大部切除、胃肠吻合术后6例。下消化道出血9例:空肠恶性肿瘤2例,回肠恶性肿瘤1例,直肠癌术后复发2例,结肠癌术后复发2例,大肠息肉2例。所有病例均经微导管超选择插管至出血动脉,在透视监视下经微导管向出血动脉内注入福爱乐医用胶+碘化油混合液(比例为1:1)。比较经导管栓塞治疗前及治疗后24 h患者的血压、心率、血红蛋白。患者术后随访1年,观察栓塞疗效及术后并发症。

**结果:**35例消化系出血的患者中,33例单用福爱乐医用胶栓塞,2例用福爱乐医用胶+弹簧圈栓塞。35例患者术中均成功止血,止血成功率100%。4例患者栓塞术后再发出血,其中1例为胰腺癌患者,术后第1天再发消化系大出血,急性失血性休克抢救无效死亡;1例为胃癌患者14 d后再发出血转外科手术治疗,3 mo后死于多器官功能衰竭;1例为胃多发溃疡患者6 d后再发出血成功予以福爱乐胶+弹簧圈栓塞;1例为胃肠吻合术后患者于栓塞术后26 d再发出血,再次予以福爱乐胶栓塞成功。术后5例患者出现腹痛症状,4例患者自行缓解,1例腹痛进行性加重,转外科治疗。随访期间另有5例恶性肿瘤患者因原发疾病在随访期内死亡但并无再出血情况发生。

**结论:**福爱乐医用胶配合超选择插管栓塞消化道出血血管成功率高,术后再出血并发症发生率,疗效确切。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**消化系出血;福爱乐医用胶;栓塞;治疗性;并发症

**核心提示:**在充分掌握医用胶的基础上,运用医用胶对上消化道出血进行栓塞非常有效并且安全,尤其是在固体栓塞剂很难到达病变出血点或者患者有凝血功能障碍时。福爱乐胶作为国产医用胶,与 $\alpha$ -氰基丙烯酸正丁酯(N-butyl 2-cyanoacrylate)胶比较,性能形似,同样安全、有效,性价比更高。

程斌, 许敏, 蒋天鹏, 宋杰, 安天志, 周石. 医用胶经导管行消化系出血血管栓塞的疗效. *世界华人消化杂志* 2014; 22(5): 735-741 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/735.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.735>

## 0 引言

消化系出血(gastrointestinal hemorrhage, GIH)是内科常见急症之一,严重威胁患者生命安全,其分为上消化道与下消化道出血。研究显示,上消化道出血的年发病率为40/10-150/10万<sup>[1]</sup>,年死亡率为10%-35%<sup>[2]</sup>,临床主要表现为不同程度的黑便、便血甚至呕血,同时可伴有血容量的减少引发的一系列临床症状及体征。内、外科治疗是消化系出血的常见处理方法,但由于大多数消化系出血量较大时,患者生命征往往不稳定,手术风险高,术后并发症多、死亡率较高,尤其是对于手术后的消化系再次出血,病情更加凶险。由于介入的广泛开展及其对血管性疾病诊断的优势<sup>[3]</sup>,其可通过血管造影精确确定病变部位及供血来源并微导管超选择插管至出血血管进行精确定位栓塞<sup>[4]</sup>。其以较高的成功率和较低的手术死亡率,近年来已逐渐被内、外科医师所接受。但目前栓塞剂种类繁多:如明胶海绵、弹簧圈、PVA颗粒等。然而在侧枝血管较多,血管非常迂曲,血管痉挛或凝血功能障碍<sup>[5]</sup>情况下固体栓塞剂止血效果可能欠佳,而使用液体栓塞剂是一种较好的选择<sup>[6,7]</sup>。福爱乐医用胶属液体栓塞剂,具有固化时间延长,聚合速度适当,在阴离子(体液、血液)作用下扩散性能好、聚合热低、对血管的损伤小且费用低等优点<sup>[8]</sup>。本课题回顾性分析了从2010-10/2013-01 35例消化系出血经福爱乐医用胶混合适量碘油进行血管内栓塞治疗患者的临床资料,初步探讨福爱乐医用胶用于血管内栓塞治疗消化系出血的疗效及并发症。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-10/2013-01我院消化系出血患者的信息(表1),其中35例行福爱乐医用胶血

表 1 患者医疗信息

序号	性别/年龄	出血原因	栓塞血管	栓塞材料	再出血	随访结果
1	F/74	GU	GDA	FAL	无	10 d后出院
2	F/73	DU	GDA	FAL	无	15 d后出院
3	M/62	胃癌	LGA	FAL	无	8 mo后死亡
4	M/55	胰腺癌	PD-arcade	FAL	1 d后	1 d后死亡
5	M/69	胃肠吻合术后	RGA	FAL	无	28 d后出院
6	M/26	十二指肠缝合术后	GDA	FAL	无	22 d后出院
7	M/62	DU	GDA	FAL+Coil	无	7 d后出院
8	M/77	空肠恶性肿瘤	SMA	FAL	无	6 mo后死亡
9	M/41	GU	GDA	FAL	6 d后	予FAL+Coil栓塞, 4 d后出院
10	M/37	DU	GDA	FAL	无	5 d后出院
11	F/75	直肠癌术后	IMA	FAL	无	25 d后出院
12	M/42	GU	GDA	FAL	无	8 d后出院
13	M/68	胃肠吻合术后	SMA	FAL	无	17 d后出院
14	F/35	DU	GDA	FAL	无	5 d后出院
15	F/78	胃癌	GDA	FAL	无	7 mo后死亡
16	M/59	结肠癌术后	IMA	FAL	无	20 d后出院
17	F/76	胃肠吻合术后	RGA	FAL	无	25 d后出院
18	M/53	DU	GDA	FAL	无	11 d后出院
19	M/69	胃癌	GEA	FAL	14 d后	3 mo后死亡
20	F/58	直肠癌术后	IMA	FAL+Coil	无	12 mo后死亡
21	M/59	胃肠吻合术后	LGA	FAL	无	18 d后出院
22	M/69	空肠恶性肿瘤	SMA	FAL	无	20 d后出院
23	F/73	胃肠吻合术后	RGA	FAL	26 d后	10 d后出院
24	M/34	大肠息肉	IMA	FAL	无	11 d后出院
25	F/50	DU	GDA	FAL	无	6 d后出院
26	M/68	胃癌	LGA	FAL	无	15 d后出院
27	M/45	回肠恶性肿瘤	SMA	FAL	无	8 mo后死亡
28	F/48	DU	GDA	FAL	无	3 d后出院
29	M/58	胃溃疡缝扎术后	GEA	FAL	无	13 d后出院
30	M/26	GU	GDA	FAL	无	4 d后出院
31	F/49	胃肠吻合术后	LGA	FAL	无	7 d后出院
32	M/68	大肠息肉	IMA	FAL	无	3 d后出院
33	M/75	胃溃疡缝扎术后	LGA	FAL	无	12 d后出院
34	F/39	GU	GDA	FAL	无	5 d后出院

GU: 胃溃疡; DU: 十二指肠溃疡; RGA: 胃右动脉; GDA: 胃十二指肠动脉; LGA: 胃左动脉; GEA: 胃网膜动脉; IMA: 肠系膜下动脉; SMA: 肠系膜上动脉; PD arcade: 胰十二指肠动脉分支; FAL: 福爱乐医用胶; F: 女性; M: 男性。

管内栓塞止血。其中男性23例, 女性12例, 年龄26-78岁, 中位年龄67岁。35例中, 上消化道出血26例, 其中胃溃疡5例, 十二指肠溃疡7例, 胃癌4例, 胰腺癌1例, 胃溃疡缝扎止血术后2例, 十二指肠溃疡术后1例, 胃大部切除、胃肠吻合术后6例。下消化道出血9例, 空肠恶性肿瘤2例, 回肠恶性肿瘤1例, 直肠癌术后复发2例, 结肠癌术后复发2例, 大肠息肉2例。在造影过程中表现为造影剂外溢25例, 假性动脉瘤10例。术前失血程度(依据外科学第7版失血性休克诊断标准<sup>[9]</sup>)为: 轻度17例, 中度15例, 重度3例。胃肠道手术史13例,

恶性肿瘤8例。纳入标准: (1)因急性消化系大出血无法行内镜诊断或内镜诊断未明确出血部位的患者; (2)各种原因的消化系出血经内科保守治疗无效或内镜难以止血; (3)因急性消化系大出血, 外科手术分险大, 患者不能耐受或家属拒绝手术的患者。排除标准: (1)门脉高压引起的食管胃底静脉曲张破裂所致出血; (2)出现严重肝肾功能衰竭, 严重凝血功能异常等无法行DSA造影及介入栓塞的患者; (3)患者因各种基础疾病无法配合DSA检查及介入治疗; (4)DSA造影结果阴性。临床评价指标定义<sup>[10]</sup>: (1)技术成功

#### ■ 相关报道

目前国外已有多篇文章对以 $\alpha$ -氰基丙烯酸正丁酯(N-butyl 2-cyanoacrylate, NBCA)胶作为栓塞剂治疗消化系出血进行了报道, 其中在NBCA胶行消化系非静脉性出血血管栓塞方面Jae等报道技术成功率100%, 再出血发生率19%, 其32例非静脉曲张上消化道出血的患者栓塞后无肠坏死发生。Lee等报道技术成功率88%, 再出血发生率17%。可见NBCA止血成功率高, 再出血发生率低。



## ■创新盘点

所有病例均经微导管超选择插管至出血动脉,在透视监视下经微导管向出血动脉内注入福爱乐医用胶+碘化油混合液(比例为1:1),比较经导管栓塞治疗前及治疗后24 h患者的血压、心率、血红蛋白变化。栓塞原理与NBCA近似,但与NBCA胶相比,其聚合热更低,聚合时间约为3 s,价格仅为其1/5。

表 2 35例消化系出血患者福爱乐胶栓塞前后血压、心率、血红蛋白变化

分组	观察指标			
	SBP(mmHg)	DBP(mmHg)	HR(s)	HGB(g/L)
栓塞前	75 ± 13	62 ± 15	116 ± 12	52 ± 10
栓塞后24 h	108 ± 9	78 ± 6	83 ± 11	70 ± 9
<i>t</i> 值	12.17	5.78	11.82	7.80
<i>P</i> 值	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

SBP: 收缩压; DBP: 舒张压; HR: 心率; HGB: 血红蛋白。

率:是指一次介入栓塞术后消化系出血停止,无介入相关主要并发症发生,再发出血需要栓塞的患者被排除;(2)临床成功率:是指介入栓塞术后消化道出血停止,30 d内无介入相关主要并发症发生;(3)主要并发症:是指需要有创治疗或单靠介入治疗无法解决的并发症(例如:肠缺血坏死、血管穿孔和急性肾功能衰竭)。

## 1.2 方法

1.2.1 治疗:所有患者以Seldinger法穿刺股动脉成功后均植入5F血管鞘,由血管鞘引入5F-Yashiro导管,依次钩挂腹腔干,肠系膜上动脉,肠系膜下动脉成功后接高压注射器减影(条件:非离子造影剂碘佛醇,总量50-70 mL,速率6-8 mL/s,压力300 Pa,每次减影曝光时间20-30 s),明确出血部位后,选用微导管超选择插管至靶血管,再次造影证实,后以5%葡萄糖水反复冲洗微导管使导管内充满糖水,再以适当比例配置(一般是1:1)的福爱乐医用胶与超液化碘油混合剂在减影条件下以恒定速度经微导管注入,栓塞速度不宜过快以防栓塞剂返流导致异位栓塞肠坏死。栓塞结束后立即退出微导管并反复以5%葡萄糖水冲洗微导管。后以注射器连接5F-Yashiro导管,负压回抽,若回血良好,以盐水冲管后再经导管减影明确栓塞效果,若回血不良或回抽血液中含絮状物,考虑为5F导管内存留有福爱乐医用胶聚合物,此时拔出5F导管并反复以5%葡萄糖水冲洗,清理干净后再钩挂相应血管进行造影明确栓塞效果。栓塞成功标准为栓塞后即刻复查造影显示出血动脉闭塞,无造影剂外溢。

1.2.2 随访:术后1 d动态监测并记录患者血压、心率,常规术后1 d复查血常规及凝血功能。病情稳定,未再次出现消化系出血患者术后7-10 d复查血常规,凝血功能,患者出现消化系出血情况,及时复查。对患者进行术后1 mo,术后6 mo及以后每6 mo一次随访,明确有无再次消化系出血情况。本研究的终点为患者死亡或至研究截止

时间。

**统计学处理** 本研究数据使用SPSS13.0统计软件,患者手术前后的血压、心率及血红蛋白变化,采用mean±SD表示,使用配对*t*检验进行计量资料间的比较,*P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 栓塞 所有患者术中经微导管超选择插管至出血动脉后均成功栓塞,技术成功率100%(35/35)。栓塞出血动脉情况如下:胃十二指肠动脉14例,胃左动脉5例,胃右动脉3例,胃网膜动脉2例,胰十二指肠动脉分支1例。肠系膜上动脉分支动脉组:空肠动脉2例,回结肠动脉1例,右结肠动脉1例。肠系膜下动脉组:乙状结肠动脉3例,直肠上动脉2例。4例患者术后1 mo内再次出现消化系出血,临床成功率88.57%(31/35)。具体情况为:1例为胰腺癌(患者4),术后1 d出现呕血及黑便,并发失血性休克经抢救无效死亡;1例为胃多发溃疡(患者9),术后第6天再发出血,经再次造影证实为原出血部位侧枝血管形成至再发出血,予以福爱乐胶+弹簧圈栓塞后出血停止并未再复发出血;1例为胃癌(患者19),术后第14天出现呕血及黑便,但患者及家属拒绝再次介入治疗转胃肠外科手术手术治疗,术后未再出血,但于3 mo后因肿瘤进展死亡。1例为胃结肠吻合术后(患者23),术后第26天再发消化系出血,急诊介入造影证实为新发的出血灶,原出血部位栓塞良好并未见出血征象,新发出血灶经福爱乐胶栓塞止血成功(图1, 2)。

33例患者单用福爱乐胶栓塞,2例患者使用福爱乐胶+弹簧圈栓塞,其中1例为直肠癌术后直肠上动脉分支血管破裂出血,另1例为十二指肠溃疡致胃十二指肠分支动脉破裂出血。栓塞后24 h患者血压、心率及血红蛋白情况较栓塞术前明显改善,经统计学分析(*P*<0.05),差别具有统计学意义(表2)。5例患者术后出现栓塞后栓塞

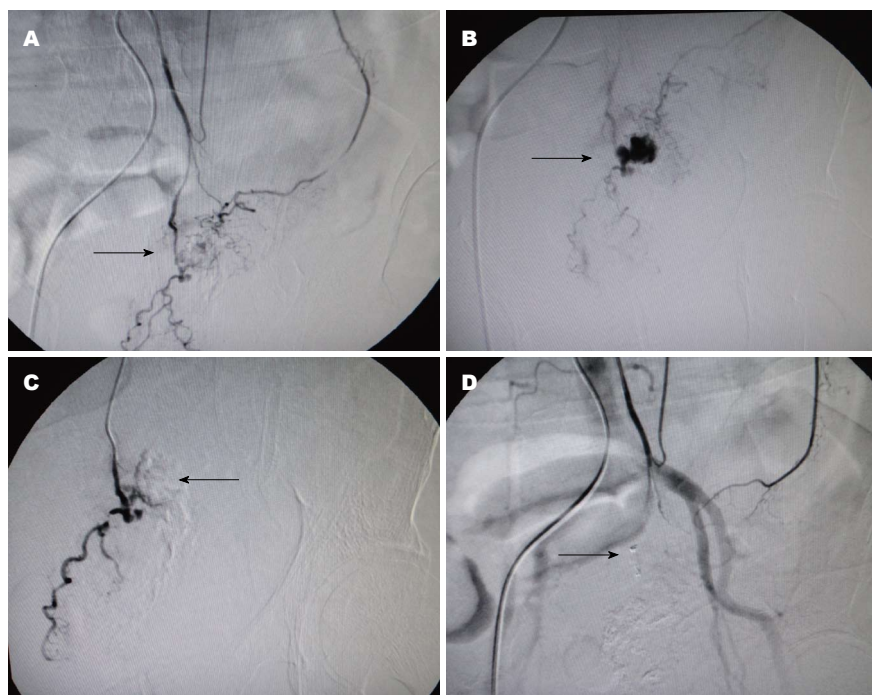


图 1 58岁直肠癌术后便血患者, 行肠系膜下动脉造影. A: 5 F导管插管至肠系膜下动脉开口手推减影示直肠下动脉造影剂外溢(箭头所示); B: 微导管超选择插管至出血部位(箭头所示); C: 福爱乐医用胶栓塞后减影见出血点被胶所填充(箭头所示); D: 予以弹簧圈补充栓塞后再次经5F导管减影未见出血血管显影(箭头所示).

#### ■应用要点

福爱乐医用胶配合超选择插管栓塞消化系出血目前国内外尚无报道. 本文通过总结35例使用福爱乐医用胶经血管内栓塞消化系出血疗效及并发症分析, 认为其安全、有效, 性价比更高, 应用前景广阔.



图 2 69岁胃癌出血患者, 行腹腔动脉造影. A: 经5F导管插管至腹腔干动脉高压减影见胃网膜右动脉造影剂外溢(箭头所示); B: 微导管超选择插管造影可见胃网膜右动脉假性动脉瘤形成(箭头所示); C: 福爱乐胶栓塞后减影可见栓塞成功, 远端血管铸型(箭头所示).

出血血管供血区域腹部疼痛情况, 4例患者予以对症处理后症状消失并出院, 1例患者症状持续存在无缓解, 经复查血管造影证实栓塞区域肠道缺血, 后转外科手术治疗. 1例患者术后出血明显减少, 间断有黑便情况, 未再次介入治疗, 予以内科止血治疗后2 wk大便转黄. 2例患者出现腹股沟区血肿, 巩固加压包扎、穿刺肢体绝对制动及改善凝血功能后血肿消散. 随访期内, 6例患者因肿瘤进展死亡.

### 3 讨论

消化系出血常可造成严重的失血性休克, 如救

治不及时可危及患者生命. 对于消化系出血的治疗有3大类, 即: 内科治疗、外科手术及血管内栓塞治疗. 自从1972年Rosch等为了治疗上消化道出血而使用了经导管栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE), TAE已经被广泛的接受为内镜治疗无效的非静脉性出血的首选治疗方法, 尤其是在高危患者中, TAE要比外科治疗更有优势<sup>[11-14]</sup>. 随着微导管技术以及新的栓塞材料的使用, 国内外介入医师成功进行导管选择性出血动脉栓塞的报导逐年增多<sup>[15]</sup>.

目前介入治疗领域, 栓塞材料种类繁多, 不同疾病、不同部位所需的栓塞材料也不尽相同.

### ■同行评价

本文通过探讨35例福爱乐医用胶经血管途径治疗消化道出血的临床安全性,有效性,为临床处理消化系出血提供一种较好的选择方法。实验设计合理,数据处理真实、可靠,具有一定的创新性,较好的实用性,本文成果具有一定的社会效益和经济效益。

目前一系列固体栓塞材料,如:明胶海绵颗粒、微弹簧圈、聚乙烯醇颗粒以及自体血凝块已经用于消化系出血的栓塞治疗。有些作者已经报道了运用液体粘合剂栓塞消化系出血<sup>[5,16-18]</sup>。大多数介入临床医师对于固体栓塞材料运用熟练,性能掌握较佳,习惯用于消化系出血靶血管的栓塞。其中尤其以弹簧圈与明胶海绵颗粒或PVA最为常用。弹簧圈通常为假性动脉瘤栓塞的首选<sup>[19]</sup>,对于消化系出血血管的栓塞,首先必须进行超选择插管并且在栓塞过程中稳定导管位置,否则弹簧圈即可出现移位,出现靶血管以外血管的栓塞。然而,往往消化系出血血管分支细小,位置较深,有时候超选择插管于远端细小、迂曲的血管非常困难,同时在弹簧圈释放过程中导管位置的稳定亦有一定困难<sup>[20]</sup>。对于明胶海绵或PVA颗粒,作为消化系出血血管的栓塞剂,面临的主要问题与弹簧圈相似。其一:栓塞血管主要为出血血管的供血血管,有时栓塞后再次造影见侧枝血管形成并导致止血不佳,进一步超选择插管至这些侧枝血管非常耗时并且可能会插管失败或栓塞失败<sup>[21]</sup>。其二:栓塞效果受凝血功能影响明显。Encarnacion等<sup>[12]</sup>报道在凝血功能障碍的病例组中,栓塞失败高出2.9倍,栓塞后出血死亡率为9.6倍。Schenker等<sup>[22]</sup>报道,介入治疗时有凝血功能障碍时栓塞失败高出2.8倍,死亡的可能性要高出3.4倍。与之相比,医用胶栓塞剂具有能进入比较细小的血管,弥散性好、栓塞完整、较少形成侧枝循环、不进入微循环系统以及不受凝血功能影响等优点。但液体粘合剂或者医用胶作为栓塞剂使用已有30年,国内介入临床医师并不太愿意使用液体栓塞剂作为栓塞材料进行消化系出血血管栓塞,原因可能担心栓塞时对液体粘合剂控制不佳而导致缺血性事件的产生。目前国外已有多篇文章对以 $\alpha$ -氰基丙烯酸正丁酯(N-butyl 2-cyanoacrylate, NBCA)胶作为栓塞剂治疗消化系出血进行了报道。栓塞能完全止血的成功率文献报道的比例从52%-90%不等,大部分文献报道成功率在70%-80%<sup>[23-25]</sup>。其中在NBCA胶行消化系非静脉性出血血管栓塞方面Jae等<sup>[26]</sup>报道技术成功率100%,再出血发生率19%,其32例非静脉曲张上消化道出血的患者栓塞后无肠坏死发生。Lee等<sup>[27]</sup>报道88%技术成功率,17%再出血发生率。然而,NBCA价格昂贵,严重阻碍了其在国内的推广、应用。对此,我们选用了性价比更优的国产医用胶栓塞剂-福爱乐作为栓塞材料,并累及了

约10年的临床应用经验。其主要成分为 $\alpha$ -氰基丙烯酸正辛酯(N-octyl- $\alpha$ -Cyanoacrylate, NOCA)、NBCA,其栓塞原理与NBCA近似,但与NBCA胶相比,其聚合热更低,价格仅为其1/5。在本组35例患者中,使用福爱乐胶栓塞技术成功率100%,术中完全止血率为100%,与术前比较术后24 h内患者血压、血红蛋白明显回升,心率稳定回落,差异具有统计学意义( $P<0.001$ )。随访期内复发出血4例,止血有效率85.58%(31/35),其中2例患者再次行介入补充栓塞治疗后出血停止,与国外文献比较,福爱乐胶栓塞效果并不比NBCA差。在并发症上,35例患者中引起严重并发症的只有1例:因栓塞剂返流导致异位栓塞,最终肠道发生坏死并需外科手术处理。余并发症并没有对手术患者造成严重影响,表明以福爱乐胶行肠道动脉性出血血管栓塞安全、有效。

在福爱乐医用胶栓塞肠道出血血管时,我们总结了以下几点经验可能对降低手术相关并发症有所帮助:(1)精确计算医用胶用量,主要通过导管容积,注射入病灶内的量以及注射器内剩余量估算。具体注射量,可实现通过造影剂对病变反复造影评估;(2)注射速度的控制,应首先了解医用胶的属性,对于运用医用胶经验不足的医师,应手术前进行动物模型试验。医用胶聚合时间的由碘油与医用胶的比例决定,碘油量越多,聚合时间越长。我们运用福爱乐医用胶的经验为1:1,聚合时间约为3 s。NBCA文献报道多为1:1至1:4之间,其中1:3-1:4之间居多,聚合时间维持在7.5-11.5 s;(3)栓塞结束后立即、快速退出微导管并反复以5%葡萄糖水冲洗微导管,后退出5 F导管并反复以5%葡萄糖水冲洗,清理干净后再钩挂相应血管进行造影明确栓塞效果。

总之,在充分掌握医用胶的基础上,运用医用胶对上消化道出血进行栓塞非常有效并且安全,尤其是在固体栓塞剂很难到达病变出血点或者患者有凝血功能障碍时。福爱乐胶作为国产医用胶,与NBCA胶比较,性能形似,同样安全、有效,性价比更高。

### 4 参考文献

- 1 Langner I, Langner S, Partecke LI, Glitsch A, Kraft M, Bernstorff Wv, Hosten N. Acute upper gastrointestinal hemorrhage: is a radiological interventional approach an alternative to emergency surgery? *Emerg Radiol* 2008; 15: 413-419 [PMID: 18512090 DOI: 10.1007/s10140-008-0736-z]
- 2 Padia SA, Geisinger MA, Newman JS, Pierce G, Obuchowski NA, Sands MJ. Effectiveness of coil



- embolization in angiographically detectable versus non-detectable sources of upper gastrointestinal hemorrhage. *J Vasc Interv Radiol* 2009; 20: 461-466 [PMID: 19328425 DOI: 10.1016/j.jvir.2009.01.006]
- 3 胡道予. 消化道出血及小肠病变多排CT的临床应用. *放射学实践* 2005; 20: 84-86
- 4 Scheppach W, Wittenberg G, Hahn D, Langenfeld H, Burghardt W, Van Aerssen M, Ott G, Thiede A, Kasper H. [Massive hemorrhage from jejunal varices]. *Z Gastroenterol* 1997; 35: 195-198 [PMID: 9173688]
- 5 Kish JW, Katz MD, Marx MV, Harrell DS, Hanks SE. N-butyl cyanoacrylate embolization for control of acute arterial hemorrhage. *J Vasc Interv Radiol* 2004; 15: 689-695 [PMID: 15231881 DOI: 10.1097/01.RVI.0000133505.84588.8C]
- 6 Frodsham A, Berkmen T, Ananian C, Fung A. Initial experience using N-butyl cyanoacrylate for embolization of lower gastrointestinal hemorrhage. *J Vasc Interv Radiol* 2009; 20: 1312-1319 [PMID: 19800541 DOI: 10.1016/j.jvir.2009.06.031]
- 7 Huang CC, Lee CW, Hsiao JK, Leung PC, Liu KL, Tsang YM, Liu HM. N-butyl cyanoacrylate embolization as the primary treatment of acute hemodynamically unstable lower gastrointestinal hemorrhage. *J Vasc Interv Radiol* 2011; 22: 1594-1599 [PMID: 21875815 DOI: 10.1016/j.jvir.2011.07.018]
- 8 田霞, 卢永顺. 福爱乐医用胶及其应用. *国际外科学杂志* 2006; 33: 74-79
- 9 陈孝平. *外科学上册*. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 85-92
- 10 Vanninen RL, Manninen I. Onyx, a new liquid embolic material for peripheral interventions: preliminary experience in aneurysm, pseudoaneurysm, and pulmonary arteriovenous malformation embolization. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 196-200 [PMID: 17205359 DOI: 10.1007/s00270-006-0071-2]
- 11 Dempsey DT, Burke DR, Reilly RS, McLean GK, Rosato EF. Angiography in poor-risk patients with massive nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Am J Surg* 1990; 159: 282-286 [PMID: 2305934 DOI: 10.1016/S0002-9610(05)81218-8]
- 12 Encarnacion CE, Kadir S, Beam CA, Payne CS. Gastrointestinal bleeding: treatment with gastrointestinal arterial embolization. *Radiology* 1992; 183: 505-508 [PMID: 1561358]
- 13 Lang EV, Picus D, Marx MV, Hicks ME. Massive arterial hemorrhage from the stomach and lower esophagus: impact of embolotherapy on survival. *Radiology* 1990; 177: 249-252 [PMID: 2399325]
- 14 Lang EK. Transcatheter embolization in management of hemorrhage from duodenal ulcer: long-term results and complications. *Radiology* 1992; 182: 703-707 [PMID: 1535883]
- 15 Burgess AN, Evans PM. Lower gastrointestinal haemorrhage and superselective angiographic embolization. *ANZ J Surg* 2004; 74: 635-638 [PMID: 15315561 DOI: 10.1111/j.1445-1433.2004.03109.x]
- 16 Toyoda H, Nakano S, Kumada T, Takeda I, Sugiyama K, Osada T, Kiriya S. Estimation of usefulness of N-butyl-2-cyanoacrylate-lipiodol mixture in transcatheter arterial embolization for urgent control of life-threatening massive bleeding from gastric or duodenal ulcer. *J Gastroenterol Hepatol* 1996; 11: 252-258 [PMID: 8742922 DOI: 10.1111/j.1440-1746.1996.tb00071.x]
- 17 Slaba S, Nassar J, El Murr T, Saba M, Ghayad E. [Distal glue embolization in a patient with gastrointestinal hemorrhage]. *J Radiol* 2002; 83: 656-658 [PMID: 12063431]
- 18 Goldman ML, Freeny PC, Tallman JM, Galambos JT, Bradley EL, Salam A, Oen KT, Gordon IJ, Mennemeyer R. Transcatheter vascular occlusion therapy with isobutyl 2-cyanoacrylate (bucrylate) for control of massive upper-gastrointestinal bleeding. *Radiology* 1978; 129: 41-49 [PMID: 308668]
- 19 Loffroy RF, Abualsaud BA, Lin MD, Rao PP. Recent advances in endovascular techniques for management of acute nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *World J Gastrointest Surg* 2011; 3: 89-100 [PMID: 21860697 DOI: 10.4240/wjgs.v3.i7.89]
- 20 Yamakado K, Nakatsuka A, Tanaka N, Takano K, Matsumura K, Takeda K. Transcatheter arterial embolization of ruptured pseudoaneurysms with coils and n-butyl cyanoacrylate. *J Vasc Interv Radiol* 2000; 11: 66-72 [PMID: 10693716 DOI: 10.1016/S1051-0443(07)61284-6]
- 21 Pollak JS, White RI. The use of cyanoacrylate adhesives in peripheral embolization. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12: 907-913 [PMID: 11487670 DOI: 10.1016/S1051-0443(07)61568-1]
- 22 Schenker MP, Duszak R, Soulen MC, Smith KP, Baum RA, Cope C, Freiman DB, Roberts DA, Shlansky-Goldberg RD. Upper gastrointestinal hemorrhage and transcatheter embolotherapy: clinical and technical factors impacting success and survival. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12: 1263-1271 [PMID: 11698624 DOI: 10.1016/S1051-0443(07)61549-8]
- 23 Burke SJ, Golzarian J, Weldon D, Sun S. Nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Eur Radiol* 2007; 17: 1714-1726 [PMID: 17058080 DOI: 10.1007/s00330-006-0477-x]
- 24 Loffroy R, Guiu B, Mezzetta L, Minello A, Michiels C, Jouve JL, Cheynel N, Rat P, Cercueil JP, Krausé D. Short- and long-term results of transcatheter embolization for massive arterial hemorrhage from gastroduodenal ulcers not controlled by endoscopic hemostasis. *Can J Gastroenterol* 2009; 23: 115-120 [PMID: 19214287]
- 25 Loffroy R, Rao P, Ota S, De Lin M, Kwak BK, Geschwind JF. Embolization of acute nonvariceal upper gastrointestinal hemorrhage resistant to endoscopic treatment: results and predictors of recurrent bleeding. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2010; 33: 1088-1100 [PMID: 20232200 DOI: 10.1007/s00270-010-9829-7]
- 26 Jae HJ, Chung JW, Jung AY, Lee W, Park JH. Transcatheter arterial embolization of nonvariceal upper gastrointestinal bleeding with N-butyl cyanoacrylate. *Korean J Radiol* 2007; 8: 48-56 [PMID: 17277563 DOI: 10.3348/kjr.2007.8.1.48]
- 27 Lee CW, Liu KL, Wang HP, Chen SJ, Tsang YM, Liu HM. Transcatheter arterial embolization of acute upper gastrointestinal tract bleeding with N-butyl-2-cyanoacrylate. *J Vasc Interv Radiol* 2007; 18: 209-216 [PMID: 17327553 DOI: 10.1016/j.jvir.2006.12.003]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# IL-10、TNF- $\alpha$ 在不同菌型幽门螺杆菌感染消化性溃疡中的表达

游海梅, 胡团敏

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染一直是消化系统疾病研究的热点, 尤其是对*H. pylori*致病因素的探讨颇多, 其中以损伤胃黏膜、炎症与免疫损伤为主的CagA、VacA等致病因子更受到关注, 因而根据CagA、VacA基因的存在将*H. pylori*进行分型。故本文就血清白介素10(interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )在不同菌型*H. pylori*感染消化性溃疡中的表达进行探讨。

## ■同行评议者

黄缘, 教授, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

游海梅, 南昌大学医学院消化内科 江西省南昌市 330000  
胡团敏, 中国人民解放军第180医院消化内科 福建省泉州市 362000

游海梅, 在读硕士, 主要从事幽门螺杆菌与消化系统疾病关系的研究。

中国人民解放军南京军区科研基金资助项目. No. 12MA075  
作者贡献分布: 此课题由胡团敏与游海梅设计; 研究过程由游海梅操作完成; 数据分析及论文写作由胡团敏与游海梅共同完成。

通讯作者: 胡团敏, 教授, 主任医师, 362000, 福建省泉州市清源山下, 中国人民解放军第180医院消化内科. yihu180@163.com  
电话: 0595-28919151

收稿日期: 2013-10-17 修回日期: 2013-12-30

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-18

## Serum levels of IL-10 and TNF- $\alpha$ in patients with peptic ulcer caused by different *Helicobacter pylori* strains

Hai-Mei You, Tuan-Min Hu

Hai-Mei You, Medical College of Nanchang University, Nanchang 330000, Jiangxi Province, China

Tuan-Min Hu, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Quanzhou 362000, Fujian Province, China

Supported by: the Medical Scientific Research Fund of Nanjing Military Command of Chinese PLA, No. 12MA075

Correspondence to: Tuan-Min Hu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the 180th Hospital of Chinese PLA, Qingyuan Mountain, Quanzhou 362000, Fujian Province, China. yihu180@163.com

Received: 2013-10-17 Revised: 2013-12-30

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-18

## Abstract

**AIM:** To compare serum levels of interleukin-10 (IL-10) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) in patients with peptic ulcer (PU) caused by different strains of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*).

**METHODS:** Ninety-four patients with gastroscopically diagnosed PU were randomly selected. *H. pylori* infection status was detected by endoscopic gastric mucosa biopsy and rapid urease test. Antibodies against various *H. pylori* proteins (CagA, VacA, UreB, UreA) were detected by immunological method. The contents of serum IL-10 and TNF- $\alpha$  were determined in all subjects.

**RESULTS:** The *H. pylori* positive rate was 89.4% (84/94) in PU, 66.7% (56/84) in duodenal ulcer (DU) and 33.3% (28/84) in gastric ulcer (GU). Sixty-four cases (44 DU and 20 GU) were infected by type I *H. pylori* and 20 cases (12 DU and 8 GU) were infected by type II *H. pylori*. There was no significant difference in serum level of IL-10 between type I *H. pylori* infection group and type II *H. pylori* infection group ( $P > 0.05$ ). Serum level of IL-10 was significantly higher in type I *H. pylori* infection group than in *H. pylori* negative group ( $P < 0.05$ ), although there was no significant difference between Type II *H. pylori* infection group and *H. pylori* negative group ( $P > 0.05$ ) or between DU and GU group with either type I or type II *H. pylori* infection. Serum TNF- $\alpha$  was significantly higher in type I or II *H. pylori* infection group than in *H. pylori* negative group ( $P < 0.05$  for both), in type I *H. pylori* infection group than in type II *H. pylori* infection group, or in DU group than GU group with type I *H. pylori* infection ( $P < 0.05$ ), but showed no significant difference between DU group and GU group with type II *H. pylori* infection.

**CONCLUSION:** Type I *H. pylori* infection is a major pathogenic factor of PU. Serum IL-10 in patients with type I *H. pylori* infection was increased obviously, but showed no significant correlation with the type of *H. pylori* infection or ulcer location. Serum TNF- $\alpha$  was increased obviously in patients with types I and II *H. pylori* infection, especially the former, and was obviously higher in DU patients than in GU patients with type I *H. pylori* infection.

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

**Key Words:** Interleukin-10; Tumor necrosis factor- $\alpha$ ; *Helicobacter pylori*; Different type; Peptic ulcer

You HM, Hu TM. Serum levels of IL-10 and TNF- $\alpha$  in patients with peptic ulcer caused by different *Helicobacter pylori* strains. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 742-746 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.742>

## 摘要

**目的:** 探讨不同菌型幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染消化性溃疡(peptic ulcer, PU)患者血清白介素10(interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的表达。

**方法:** 随机选择经胃镜检查诊断为消化性溃疡的患者94例, 进行内镜下胃黏膜活检快速尿素酶试验检测*H. pylori*感染状况, *H. pylori*阳性者进一步抽血进行分型检测, 采用免疫印迹法检测血清*H. pylori* CagA、VacA、UreB、UreA等4项基因抗体; 所有受检者均予抽血检测血清IL-10、TNF- $\alpha$ 的含量。

**结果:** *H. pylori*感染状况: 94例消化性溃疡中*H. pylori*阳性病例84例, 其中十二指肠球部溃疡56例, 胃溃疡28例, *H. pylori*阴性病例10例; I型*H. pylori*感染64例(十二指肠球部溃疡44例, 胃溃疡20例); II型*H. pylori*感染20例(十二指肠球部溃疡12例, 胃溃疡8例)。血清IL-10的表达状况: I型*H. pylori*感染组检测值( $31.51 \text{ pg/mL} \pm 11.58 \text{ pg/mL}$ )略高于II型*H. pylori*感染组( $22.02 \text{ pg/mL} \pm 13.50 \text{ pg/mL}$ ), 统计学比较无明显差异( $P>0.05$ ), 但明显高于*H. pylori*阴性组检测值( $18.87 \text{ pg/mL} \pm 6.45 \text{ pg/mL}$ ), 统计学比较有显著差异( $P<0.05$ ); II型*H. pylori*感染组检测值与*H. pylori*阴性组比较无明显差异( $P>0.05$ )。I型*H. pylori*感染及II型*H. pylori*感染组中十二指肠球部溃疡组检测值( $32.25 \text{ pg/mL} \pm 19.33 \text{ pg/mL}$ 及 $18.57 \text{ pg/mL} \pm 8.46 \text{ pg/mL}$ )与胃溃疡组检测值( $29.86 \text{ pg/mL} \pm 14.80 \text{ pg/mL}$ 及 $27.20 \text{ pg/mL} \pm 8.12 \text{ pg/mL}$ )比较无明显差异。血清TNF- $\alpha$ 的表达状况: I型*H. pylori*感染组及II型感染组的检测值( $42.66 \text{ pg/mL} \pm 11.41 \text{ pg/mL}$ 及 $28.67 \text{ pg/mL} \pm 8.27 \text{ pg/mL}$ )与*H. pylori*阴性组( $11.24 \text{ pg/mL} \pm 4.31 \text{ pg/mL}$ )比较均明显增高( $P<0.05$ ); I型*H. pylori*感染组与II型感染组比较明显升高( $P<0.05$ ); I型*H. pylori*感染组中十二指肠球部溃疡组检测值( $47.13 \text{ pg/mL} \pm 10.20 \text{ pg/mL}$ )明显高于胃溃疡组检测值( $32.85 \text{ pg/mL} \pm 7.28 \text{ pg/mL}$ )( $P<0.05$ ); II型*H. pylori*感染组中十二指肠球部溃疡组检测值( $28.83 \text{ pg/mL} \pm 11.38 \text{ pg/mL}$ )与胃溃疡组检测值( $28.42 \text{ pg/mL} \pm 3.79 \text{ pg/mL}$ )比较无明显差异。

**结论:** I型*H. pylori*感染是消化性溃疡主要致病因素; 血清IL-10的表达在I型*H. pylori*感染明显增高, 但在不同菌型*H. pylori*感染及不同部位的溃疡方面均无明显差异; 血清TNF- $\alpha$ 的表达在I型及II型*H. pylori*感染均明显增高,

尤见于I型*H. pylori*感染, 且在I型*H. pylori*感染十二指肠球部溃疡明显高于胃溃疡。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 白介素-10; 肿瘤坏死因子因子- $\alpha$ ; 幽门螺杆菌; 不同菌型; 消化性溃疡

**核心提示:** I型幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是消化性溃疡主要致病因素; 血清白介素10(interleukin-10, IL-10)的表达在I型*H. pylori*感染明显增高, 血清肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的表达在I型及II型*H. pylori*感染均明显增高, 尤见于I型*H. pylori*感染。

游海梅, 胡团敏. IL-10、TNF- $\alpha$ 在不同菌型幽门螺杆菌感染消化性溃疡中的表达. 世界华人消化杂志 2014; 22(5): 742-746  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/742.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i5.742>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染一直是消化系统疾病研究的热点, 尤其是对*H. pylori*致病因素的探讨颇多, *H. pylori*的致病力在于其致病因子, 主要有与定植有关的、以直接损伤胃黏膜为主的以及与炎症及免疫损伤有关的等多种致病因子, 其中以损伤胃黏膜、炎症与免疫损伤为主的CagA、VacA等致病因子更受到关注<sup>[1]</sup>。随着研究深入发现具有CagA、VacA基因的存在将*H. pylori*进行分型, 本文旨在探讨血清白介素10(interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )在不同基因型*H. pylori*感染消化性溃疡患者中的表达。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机选择2012-01/2013-01因上腹部不适就诊于我院消化内科门诊及住院的患者, 经胃镜检查诊断为消化性溃疡(peptic ulcer, PU)94例, 年龄19-63岁, 平均年龄 $39.26 \text{ 岁} \pm 11.88 \text{ 岁}$ , 男60例, 女34例。经胃黏膜活检快速尿素酶试验检测*H. pylori*阳性的患者84例, 其中十二指肠球部溃疡(duodenal ulcer, DU)56例, 胃溃疡(gastric ulcer, GU)28例, *H. pylori*阴性者10例。所有入选者均于就诊前2 mo内未接受过任何治疗, 且通过血常规、生化、彩超等检查排除其他炎症性疾病及肿瘤; 根据*H. pylori*感染情况分为I型*H. pylori*感染消化性溃疡组、II型*H. pylori*感染消化性溃疡组及*H. pylori*阴性消化性溃疡组。

## ■ 研发前沿

*H. pylori*的致病因素是目前研究的热点之一, 特别是以损伤胃黏膜、炎症及免疫损伤为主的CagA、VacA基因。CagA、VacA基因如何通过炎症反应参与消化系统疾病的发生发展令人关注。



## ■ 相关报道

Zalewska-Ziob等研究表明CagA/VacA可引起胃黏膜CD4<sup>+</sup> T淋巴细胞升高, IL-10、TNF- $\alpha$ 分泌升高. KIDD等研究表明TH1和TH2免疫应答间通过其分泌的细胞因子交互负反馈的调节使TH1细胞和TH2细胞处于相对平衡状态. 袁建芬等研究表明H. pylori感染者存在增强的TH2免疫应答和抑制的TH1免疫应答.

## 1.2 方法

1.2.1 血清H. pylori CagA、VacA、UreB、UreA基因抗体检测: 采集H. pylori阳性患者静脉血4 mL, 经3000 r/min离心, 用免疫印迹法测定其血清中H. pylori CagA、VacA、UreB、UreA基因抗体. 测定试剂盒由深圳市伯劳特生物科技有限公司生产, 详细操作[将25 mL浓缩洗涤液用蒸馏水稀释至250 mL, 在放有印迹膜的反应槽中加入洗涤应用液1 mL和待检血清10  $\mu$ L, 置摇床上室温(20  $^{\circ}$ C-37  $^{\circ}$ C)摇动30 min, 弃去反应槽液体, 在吸水纸上拍干, 加入洗涤应用液1 mL, 反复洗涤3次, 最后在吸水纸上拍干, 在反应槽中加入洗涤应用液0.5 mL和酶联试剂10  $\mu$ L, 置摇床上摇动30 min, 弃去反应槽液体, 洗涤应用液反复洗涤3次, 在吸水纸上拍干, 在反应槽中加入显色剂0.5 mL, 摇床上摇动5 min, 显色]及结果判定(CagA、VacA区带中任意一种或两种同时出现为I型, 仅UreB和UreA区带中任意一种或两种同时出现, 而未见CagA、VacA区带为II型)按说明书进行.

1.2.2 血清IL-10、TNF- $\alpha$ 含量检测: 抽取所有受检者静脉血4 mL, 经3000 r/min离心, 应用ELISA法检测患者血清中IL-10、TNF- $\alpha$ 含量. 试剂盒由上海森雄科技实业有限公司生产, 详细操作[建立标准曲线: 设标准孔8孔, 每孔中加入样品稀释液100  $\mu$ L, 第一孔加标准品100  $\mu$ L, 混匀后用加样器吸出100  $\mu$ L, 移至第二孔, 如此反复做对数稀释至第七孔, 最后从第七孔中吸出100  $\mu$ L弃去, 第八孔为空白对照; 加样: 待测品孔中每孔各加入待测品100  $\mu$ L; 将反应板置37  $^{\circ}$ C 120 min, 洗板, 每孔中加入第一抗体工作液50  $\mu$ L, 将反应板置37  $^{\circ}$ C 60 min, 洗板, 每孔加酶标抗体工作液100  $\mu$ L, 将反应板置37  $^{\circ}$ C 60 min, 洗板, 每孔加入底物液100  $\mu$ L, 置37  $^{\circ}$ C暗处反应10 min, 每孔加入50  $\mu$ L终止液混匀, 在450 nm处测吸光值(A值)]及结果判定(所有A值减去空白值后计算, 以标准品1000、500、250、125、62.5、31.25、15.62、0 pg/mL的A值在半对数纸上作图, 浓度为X轴, A值为Y轴, 曲线为一光滑曲线, 根据样品A值在该曲线图上查出相应IL-10、TNF- $\alpha$ 含量)按说明书进行.

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件进行数据处理, 数据间比较采用t检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 H. pylori感染状况 94例消化性溃疡中H. py-

表 1 各组血清IL-10、TNF- $\alpha$ 水平比较 (mean  $\pm$  SD, pg/mL)

分组	n	IL-10	TNF- $\alpha$
H. pylori阴性	10	18.87 $\pm$ 6.45	11.24 $\pm$ 4.31
I型H. pylori	64	31.51 $\pm$ 11.58 <sup>a</sup>	42.66 $\pm$ 11.41 <sup>a</sup>
II型H. pylori	20	22.02 $\pm$ 13.50	28.67 $\pm$ 8.27 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs H. pylori阴性组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs I型H. pylori组. H. pylori: 幽门螺杆菌; IL-10: 白介素10; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ .

lori阳性的病例84例(89.4%), 其中十二指肠球部溃疡54例(66.7%), 胃溃疡28例(33.3%), H. pylori阴性病例10例(10.6%); H. pylori基因抗体表达分别为CagA 64例(76.2%)、VacA 48例(57.1%)、UreA 72例(85.7%)、UreB 80例(95.2%), 根据H. pylori分型标准, CagA、VacA基因其中一项或两项同时阳性为I型, 否则为II型; 结果表明I型H. pylori感染64例(76.2%)(十二指肠球部溃疡44例, 胃溃疡20例); II型H. pylori感染20例(23.8%)(十二指肠球部溃疡12例, 胃溃疡8例).

2.2 各组血清IL-10及TNF- $\alpha$ 的表达状况 IL-10的表达水平在I型H. pylori感染组检测值略高于II型H. pylori感染组, 统计学比较无明显差异( $P>0.05$ ), I型H. pylori感染组明显高于H. pylori阴性组, 统计学比较有显著差异( $P<0.05$ ); II型H. pylori感染组与H. pylori阴性组比较无明显差异( $P>0.05$ ). TNF- $\alpha$ 的表达水平在I型H. pylori感染组及II型感染组与H. pylori阴性组比较均明显升高( $P<0.05$ ); I型H. pylori感染组与II型感染组比较明显升高( $P<0.05$ )(表1).

2.3 H. pylori感染十二指肠球部溃疡组与胃溃疡组血清IL-10、TNF- $\alpha$ 的表达状况 IL-10的表达水平在I型H. pylori感染及II型H. pylori感染十二指肠球部溃疡组与胃溃疡组比较无明显差异. TNF- $\alpha$ 的表达水平在I型H. pylori感染十二指肠球部溃疡组明显高于胃溃疡组( $P<0.05$ ); II型H. pylori感染十二指肠球部溃疡组与胃溃疡组比较无明显差异( $P>0.05$ )(表2).

## 3 讨论

大量的研究表明炎症免疫反应是H. pylori感染黏膜损伤的重要病理生理机制, 其可导致宿主出现细胞免疫应答, 胃黏膜CD4<sup>+</sup> T细胞升高, 其亚型TH1、TH2可分泌多种细胞因子, 其中TH1分泌TNF- $\alpha$ 等促炎因子, TH2分泌IL-10等抗炎因子<sup>[2-5]</sup>; 当促炎和抗炎因子释放失衡时可导致胃黏膜炎症损伤, 参与溃疡的发生发展. 研究表明

表 2 *H. pylori*感染十二指肠球部溃疡组与胃溃疡组血清IL-10、TNF- $\alpha$ 水平比较 (mean  $\pm$  SD, pg/mL)

分组	I 型 <i>H. pylori</i> 感染		II 型 <i>H. pylori</i> 感染	
	IL-10	TNF- $\alpha$	IL-10	TNF- $\alpha$
十二指肠球部溃疡	32.25 $\pm$ 19.33	47.13 $\pm$ 10.20	18.57 $\pm$ 8.46	28.83 $\pm$ 11.38
胃溃疡	29.86 $\pm$ 14.80	32.85 $\pm$ 7.28 <sup>a</sup>	27.20 $\pm$ 8.12	28.42 $\pm$ 3.79

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 十二指肠球部溃疡组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; IL-10: 白介素10; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ .

CagA/VacA可引起胃黏膜CD4<sup>+</sup> T淋巴细胞升高, IL-10、TNF- $\alpha$ 分泌升高<sup>[6-8]</sup>.

IL-10是一种重要免疫调节细胞因子, 主要由TH2淋巴细胞分泌, 可通过自分泌或旁分泌方式发挥作用, 下调多种免疫细胞的活性, 其可抑制TH1淋巴细胞因子(TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、IL-8等)的合成及其活性<sup>[9-10]</sup>, 发挥其抗炎作用. 生理情况下, TH1和TH2免疫应答间通过其分泌的细胞因子交互负反馈的调节使TH1细胞和TH2细胞处于相对平衡状态<sup>[11]</sup>, *H. pylori*感染者存在增强的TH2免疫应答和抑制的TH1免疫应答<sup>[12]</sup>; *H. pylori*感染后可引起TH2免疫增强, 通过低调节免疫/炎症反应来抑制炎症过程, 从而减轻组织损伤, 同时TH1应答减弱, 导致*H. pylori*感染成为慢性感染, 有研究表明CagA蛋白可能参与诱导宿主免疫耐受的形成和慢性感染的迁延不愈<sup>[13]</sup>; 长期持续的*H. pylori*感染又可加重TH1细胞免疫应答, 使TNF- $\alpha$ 等促炎因子分泌增加; TNF- $\alpha$ 是一种重要的促炎因子, 可诱导血管内皮细胞表达细胞间黏附分子-1和分泌IL-1、IL-8等炎症因子, 通过上调中性粒细胞及内皮细胞上黏附分子的表达引起中性粒细胞移动, 诱导中性粒细胞黏附及白细胞穿出血管壁, 造成胃黏膜内皮细胞的损伤, 使血流减少; 因胃黏膜血流在胃黏膜屏障的防御机制中至关重要, 从而造成胃黏膜损伤<sup>[14]</sup>, TNF- $\alpha$ 亦可提高细胞单核细胞趋化因子1的分泌, 促进免疫炎症反应进展<sup>[15]</sup>.

本研究结果显示*H. pylori*感染消化性溃疡中以I型*H. pylori*感染为主, 表明I型*H. pylori*感染是消化性溃疡的主要致病因子. 血清IL-10检测值在I型与II型*H. pylori*感染消化性溃疡之间比较无明显差异, 但在I型*H. pylori*感染组明显高于*H. pylori*阴性组, 表明I型*H. pylori*感染与II型*H. pylori*感染患者机体的防御机制是一样的, 都可引起细胞免疫应答, 但I型*H. pylori*感染引起的机体免疫应答反应更强, 表现为抗炎因子IL-10的明显增高, 有利于抑制炎症反应.

血清IL-10水平在I型*H. pylori*感染的十二指肠球部溃疡与胃溃疡之间无明显差异, 表明IL-10的表达与I型*H. pylori*感染有关, 但与溃疡部位无明显相关性, 后者与王如华等<sup>[16]</sup>研究一致.

血清TNF- $\alpha$ 的表达, 在I型及II型*H. pylori*感染组的检测值均高于*H. pylori*阴性组; 且I型*H. pylori*感染组高于II型*H. pylori*感染组; I型*H. pylori*感染组中十二指肠球部溃疡者明显高于胃溃疡者( $P < 0.05$ ); II型感染组无明显差异; 其结果提示*H. pylori*感染时机体的炎症免疫反应增强, 尤其是I型*H. pylori*感染, TH1细胞免疫应答增强较II型*H. pylori*感染更为显著, 更能促进TNF- $\alpha$ 分泌增加, 引起黏膜炎症加重, 破坏了黏膜的防御和修复功能, 导致溃疡的形成. 因而我们认为I型*H. pylori*感染是引起十二指肠球部溃疡的重要攻击因子, 由于I型*H. pylori*通过促进TNF- $\alpha$ 的分泌明显增强了攻击因素, 其直接或间接作用于胃窦D、G细胞促进胃酸分泌, 同时引起十二指肠炎症, 故在十二指肠球部溃疡血清TNF- $\alpha$ 的表达水平明显高于胃溃疡, 表明TNF- $\alpha$ 的表达水平与*H. pylori*感染, 尤其是I型*H. pylori*感染密切相关, 且与溃疡部位有关.

总之, 在消化性溃疡的发生发展过程中, *H. pylori*感染, 血清IL-10、TNF- $\alpha$ 的表达, 各自扮演重要角色, *H. pylori*感染, 尤其是I型*H. pylori*感染是消化性溃疡发病的重要因素, 机体炎症免疫机制的失调, 抗炎因子IL-10与促炎因子TNF- $\alpha$ 的失衡, 是*H. pylori*感染消化性溃疡的重要发病机制, 尤其是I型*H. pylori*感染时血清IL-10及TNF- $\alpha$ 均明显增高, 后者更为明显, 尤见于十二指肠球部溃疡.

#### 4 参考文献

- 胡伏莲. 幽门螺杆菌的致病因子. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1933-1996
- Amieva MR, El-Omar EM. Host-bacterial interactions in *Helicobacter pylori* infection. *Gastroenterology* 2008; 134: 306-323 [PMID: 18166359]

#### ■创新盘点

*H. pylori*感染致炎症因子IL-10、TNF- $\alpha$ 升高已得到公认, 但关于IL-10、TNF- $\alpha$ 在*H. pylori*不同菌型感染消化性溃疡中的表达尚未见报道, 本文的创新点在于明确了IL-10、TNF- $\alpha$ 在不同菌型*H. pylori*感染消化性溃疡中的差异, 以及在不同菌型*H. pylori*感染十二指肠球部溃疡与胃溃疡中的差异.

## ■同行评价

本文选题好, 课题设计合理, 结果可信, 有一定的临床意义。

- 3 Stuller KA, Ding H, Redline RW, Czinn SJ, Blanchard TG. CD25+ T cells induce Helicobacter pylori-specific CD25- T-cell anergy but are not required to maintain persistent hyporesponsiveness. *Eur J Immunol* 2008; 38: 3426-3435 [PMID: 19003932 DOI: 10.1002/eji.00838428]
- 4 Kayhan B, Arasli M, Eren H, Aydemir S, Kayhan B, Aktas E, Tekin I. Analysis of peripheral blood lymphocyte phenotypes and Th1/Th2 cytokines profile in the systemic immune responses of Helicobacter pylori infected individuals. *Microbiol Immunol* 2008; 52: 531-538 [PMID: 19090832 DOI: 10.1111/j.1348-0421.2008.00066x]
- 5 石云, 刘晓斐, 邹全明. 幽门螺杆菌与Th细胞应答的研究进展. *细胞与分子免疫学杂志* 2010; 26: 407-409
- 6 Kido M, Watanabe N, Aoki N, Iwamoto S, Nishiura H, Maruoka R, Ikeda A, Azuma T, Chiba T. Dual roles of CagA protein in Helicobacter pylori-induced chronic gastritis in mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 412: 266-272 [PMID: 21820415]
- 7 Bodger K, Bromelow K, Wyatt JL, Heatley RV. Interleukin 10 in Helicobacter pylori associated gastritis: immunohistochemical localisation and in vitro effects on cytokine secretion. *J Clin Pathol* 2001; 54: 285-292 [PMID: 11304845 DOI: 10.1136/jcp.54.4.285]
- 8 Zalewska-Ziob M, Adamek B, Strzelczyk JK, Gawron K, Jarzab B, Gubala E, Kula D, Krakowczyk Ł, Sieroń A, Wiczowski A. TNF-alpha expression in gastric mucosa of individuals infected with different virulent Helicobacter pylori strains. *Med Sci Monit* 2009; 15: BR166-BR171 [PMID: 19478694]
- 9 王秀莲, 徐存美. 幽门螺杆菌与相关细胞因子关系的研究进展. *内蒙古医学杂志* 2009; 41: 967-969
- 10 郭佳鹤, 孙瑜, 温晓晔. IL-10与消化性溃疡患者幽门螺杆菌感染的关系. *中国实验诊断学* 2008; 12: 1381-1382
- 11 Kidd P. Th1/Th2 balance: the hypothesis, its limitations, and implications for health and disease. *Altern Med Rev* 2003; 8: 223-246 [PMID: 12946237]
- 12 袁建芬, 喻海忠, 张小洁, 洪宏, 顾庆华, 何秀萍, 刘小丽. 幽门螺杆菌感染与细胞因子的关系. *现代检验医学杂志* 2013; 28: 133-135
- 13 谢兆兰, 周立云, 王明林. CagA的表达对慢性胃炎Th细胞亚群分化的影响. *天津医药* 2013; 41: 752-755
- 14 Moorchung N, Srivastava AN, Gupta NK, Malaviya AK, Achyut BR, Mittal B. The role of mast cells and eosinophils in chronic gastritis. *Clin Exp Med* 2006; 6: 107-114 [PMID: 17061058 DOI: 10.1007/s10238-006-0104-9]
- 15 Aukrust P, Sandberg WJ, Otterdal K, Vinge LE, Gullestad L, Yndestad A, Halvorsen B, Ueland T. Tumor necrosis factor superfamily molecules in acute coronary syndromes. *Ann Med* 2011; 43: 90-103 [PMID: 21039303 DOI: 10.3109/07853890.2010.523711]
- 16 王如华, 朱金水, 邹静, 朱励, 余小虎. 消化性溃疡患者CagA-Hp感染与血清IL-8、IL-10的相关性研究. *中国临床医学* 2002; 9: 254-255

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。



# 胰胆管合流异常术后残余胆管复发结石1例

张 恺, 路军华, 张宪文

张恺, 路军华, 张宪文, 天津中医药大学第一附属医院外二科 天津市 300193

张恺, 主治医师, 主要从事中西医结合外科临床、科研及教学工作。

作者贡献分布: 收集整理资料与论文写作由张恺完成; 完善病例讨论内容由路军华与张宪文完成。

通讯作者: 张恺, 主治医师, 300193, 天津市南开区鞍山西道314号, 天津中医药大学第一附属医院外二科。

k.leo.zhang@gmail.com

电话: 022-27432478

收稿日期: 2013-11-16 修回日期: 2013-12-18

接受日期: 2013-12-25 在线出版日期: 2014-02-18

## Recurrent gallstones in residual bile ducts after surgery for pancreaticobiliary maljunction: A case report and literature review

Kai Zhang, Jun-Hua Lu, Xian-Wen Zhang

Kai Zhang, Jun-Hua Lu, Xian-Wen Zhang, Second Department of Surgery, the First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Correspondence to: Kai Zhang, Attending Surgeon, Second Department of Surgery, the First Teaching Hospital of Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, 314 Anshanxi Road, Nankai District, Tianjin 300193, China. k.leo.zhang@gmail.com

Received: 2013-11-16 Revised: 2013-12-18

Accepted: 2013-12-25 Published online: 2014-02-18

## Abstract

Pancreaticobiliary maljunction (PBM) is a type of congenital anomaly present in pancreatic duct development. Surgery is a reliable treatment for acute pancreatitis and biliary calculi induced by PBM, and can reduce the risk of carcinoma from congenital biliary dilatation. However, there have been few reports on postoperative complications. Here we report a case of recurrent gallstones in residual bile ducts after surgery for PBM. A review of the literature was also performed.

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

Key Words: Pancreaticobiliary maljunction; Residual bile duct; Recurrent gallstones

Zhang K, Lu JH, Zhang XW. Recurrent gallstones in residual bile ducts after surgery for pancreaticobiliary maljunction: A case report and literature review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(5): 747-750 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/747.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.747>

## 摘要

胰胆合流异常(pancreaticobiliary maljunction, PBM)是胰胆管发育异常的先天性畸形。手术治疗是可靠的治疗方式, 其既治疗了PBM所并发的急性胰腺炎及胆道结石, 又降低了胆总管扩张症发展为胆管癌的风险, 但对于手术并发症尚未见系统报导。作者近年诊治了PBM术后残余胆管复发结石1例, 经十二指肠镜治疗后好转, 予以报道并复习文献。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胰胆合流异常; 残余胆管; 复发结石

**核心提示:** 胰胆合流异常(pancreaticobiliary maljunction, PBM)术后残余胆管复发结石尚未见系统报导, 本文分析了PBM术后残余胆管复发结石的原因, 提出了复发结石的治疗方案。

张恺, 路军华, 张宪文. 胰胆管合流异常术后残余胆管复发结石1例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(5): 747-750 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/747.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i5.747>

## 0 引言

胰胆合流异常(pancreaticobiliary maljunction, PBM)是指在胚胎时期, 由于某些因素导致胰胆管发育异常的先天性畸形。随着影像学 and 内镜技术的进展, 该病诊断率逐渐增多, 对于伴有胆总管扩张症的PBM患者, 手术治疗是较为可靠的治疗方式, 其既治疗了PBM所并发的急性胰腺炎及胆道结石, 又降低了胆总管扩张症发展为胆管癌的风险, 但对于手术并发症尚未见系统报导。作者近年诊治了PBM术后残余胆管复发结石1例, 经十二指肠镜治疗后好转, 现报道如下。

## ■背景资料

胰胆合流异常是胰胆管发育异常的先天性畸形, 术后残余胆管复发结石尚未见系统报导。

## ■同行评议者

白雪巍, 副主任医师, 哈尔滨医科大学

## ■ 研发前沿

通过对胰胆合流异常术后残余胆管复发结石治疗这1病例及文献复习,希望能提高临床医师对此疾病的认识。

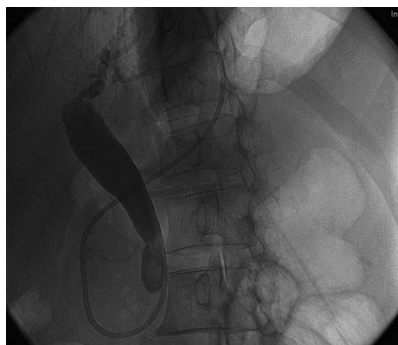


图1 术前行经内镜逆行性胰胆管造影术、经内镜鼻胆管引流术。

## 1 病例报告

患者,女,39岁,主因“上腹痛反复发作6 mo,加重1 d”于2011年住院治疗。患者入院前6 mo于当地医院诊断为急性胰腺炎,经对症治疗后好转。6 mo以来,急性胰腺炎反复发作3次,患者体质下降15 kg,体质指数(body mass index, BMI)15.9 kg/m<sup>2</sup>。入院前1 d,患者腹痛再次发作,经当地医院转诊至我院。检查提示:肝功能损害,血、尿淀粉酶均明显高于正常;腹部CT及磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)提示:胆囊增大并胆囊壁增厚、胆囊炎、肝外胆管及胆总管下段扩张、提示胆总管下端结石不排除。行经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)检查示肝外胆管明显扩张,胆总管最大直径约2.5 cm,其内可见一枚巨大结石样透亮负影,嵌顿于胆总管下端,直径约2 cm×3 cm,Oddis括约肌炎性狭窄,胰胆管合流异常(P-B型),并行内镜下十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)、经内镜鼻胆管引流术(endoscopic nasobiliary drainage, ENBD)(图1),监测胆汁淀粉酶>2000 U/L。故明确诊断为:胰胆管异常合流伴胆总管扩张症,胆总管结石,急性胰腺炎,慢性胆囊炎,经保肝治疗后在全麻下行胆囊切除、胆总管囊肿切除,肝管空肠Roux-en-Y吻合术。术后患者恢复良好,肝功能及血、尿淀粉酶恢复正常,腹痛消失,出院后每半年随访一次,患者均无不适主诉, BMI升至21.2 kg/m<sup>2</sup>。

患者术后20 mo再次无明显诱因出现上腹痛并进行性加重,即入院检查示血淀粉酶升高,MRCP提示:胆总管中下段多发结石、继发局部胆总管扩张、胆囊术后改变、胰头稍饱满、胰管扩张。ERCP检查提示残余胆管扩张伴结石,

行网篮及气囊导管取石并置胰管支架引流,术后诊断:胆总管残端胰性结石。经对症治疗后好转,1 mo后经十二指肠镜拔除胰管支架,现随访3 mo患者无不适症状,化验正常,彩超检查未见复发结石征象。

## 2 讨论

2.1 PBM PBM的概念,最早是由日本学者Kozumi于1916年经过尸检发现并首先提出的;而在1991年,日本胰胆管合流异常研究会指出PBM是指解剖上胰管与胆管在十二指肠壁外合流的畸形,功能上由于胰液与胆汁相互混合及逆流入胆管和/或胰管,由于十二指肠乳头括约肌(Oddis括约肌)的作用不能影响到合流部,导致胆道及胰腺出现各种病理变化,如:急慢性胰腺炎、胰管结石、胆道结石、胆管炎和胆管癌等<sup>[1]</sup>。目前,日本学者对该疾病研究较为深入,一般认为,成人共同通道长度≥15 mm,小儿≥5 mm,即可诊断PBM,但随着对PBM认识的逐渐深刻及检测手段的进步,临床诊断PBM的共同通道长度,应该从≥15 mm、≥12 mm、≥8 mm到≥6 mm<sup>[2]</sup>。

日本学者Komi等<sup>[3]</sup>根据影像学研究,提出新的PBM分型:I型:胆总管进入胰管后汇合在为胰管型(B-P型);II型:胰管进入胆管后汇合为胆管型(P-B型);III型:复杂型:依据胆管、胰管以及副胰管的连接分为5种亚型。根据ERCP结果,本例PBM即属于II型。

2.2 胆总管扩张症 先天性胆管扩张症(congenital biliary dilatation, CBD),临床上表现为胆道的部分呈囊性或者梭形扩张,可以发生于肝内外胆管的任何部位,因其好发于胆总管,故亦称“先天性胆总管囊肿”(congenital choledochal cyst, CCC)<sup>[4]</sup>其病因尚未明确,除遗传因素和先天性胆道发育异常两种病因外,由美国学者Babbitt<sup>[5]</sup>提出的PBM为CBD的病因这一论点,越来越得到了学者们的认可和共识。Babbitt等<sup>[6]</sup>于1969年和1973年先后报道了PBM和CBD的关系,提出了因PBM导致胰液逆流进入胆道,导致胆管炎反复发作,胆管内膜遭到破坏导致纤维变性、胆管壁变薄弱从而引起胆总管囊性扩张,这一假说已经由不同学者从影像学、病理学、流体力学、分子生物学等不同角度得到证实<sup>[7-10]</sup>,是目前CBD病因中最为学者们认同的。CBD的主要病理危险因素在于其是胆管癌的癌前病变之一<sup>[11]</sup>,研究表明,大多数胆管癌癌变病例均发生于扩

张的肝外胆道, 而其中的绝大多数则是囊肿本身的癌变<sup>[12]</sup>. 分析本例病例的胆总管扩张, 即属于梭形扩张的类型, 其主要病因就在于PBM, 并继发胆总管结石及急性胰腺炎, 且存在着发展成为胆管癌的风险.

**2.3 手术方式** 本例病例首先经ERCP明确诊断, 置ENBD引流, 达到了4个主要目的: (1)减低胆道压力促进肝功能恢复; (2)减轻胆淤, 改善胆囊炎症状; (3)监测胆汁淀粉酶变化, 既佐证了诊断, 又监测了胰液反流情况; (4)为术中通过造影找到胰管在胆总管开口位置及判断胆总管囊肿切除范围提供了依据.

手术方式选择为胆囊切除、胆总管囊肿切除、肝管空肠Roux-en-Y吻合术, 手术中注意: (1)尽可能全部切除囊肿, 因残存的囊壁仍有癌变机会; (2)合理重建胆肠通道, 既要防止肠内容物反流, 又要避免吻合口狭窄, 以达到吻合口引流通畅, 避免吻合口瘘的出现, 故空肠Y臂应该选择大于30 cm, 对于肝门部胆管扩张的患者可与空肠直接行端-侧或端-端吻合, 如胆总管扩张呈梭形, 肝门部扩张不明显, 则可以劈开左右肝管, 行肝门-空肠盆式吻合术以避免吻合口狭窄及复发结石, 如条件允许, 可以行ENBD引流以保证胆汁和/或胰液引流通畅, 必要时可以置T管引流降低吻合口瘘的几率; (3)胰胆管分流, 阻止胰液进入胆管. 遇胆管感染严重, 不能一期行根治术时, 可先行囊肿外引流, 等感染控制后再行胰胆分流的根治手术. 因本例患者为P-B分流方式, 故胰胆管共同通道不能切除, 这也成为了本例患者残余胆管复发结石的病理基础之一.

**2.4 复发结石** 本例患者术后恢复良好, 但20 mo后出现残余胆管扩张、复发结石并急性胰腺炎, 行十二指肠镜检查并取石, 结石位于原胆总管下端, 胰腺胆管开口远端, 即胰胆管合流共同通道处, 分析该结石成因, 有以下因素: (1)患者首次ERCP检查时已行EST术, 故考虑存在十二指肠食物残渣反流进入胆管, 引发感染, 导致结石复发; (2)患者急性胰腺炎反复发作, 导致胰腺组织呈慢性炎症改变可以起启动胰腺结石的形成, 加之胰胆管畸形等多种因素, 导致胰石蛋白(pancreatic stone protein, PSP)分泌减少<sup>[13]</sup>、活性降低<sup>[14]</sup>、构型改变<sup>[15]</sup>, 乳铁蛋白<sup>[16]</sup>(lactoferrin, LF)、骨桥蛋白<sup>[17]</sup>(osteopontin)等分泌增加, 引起碳酸钙、蛋白栓及其他有形物质沉积于胰管内, 形成结石, 结石造成胰管梗阻, 从而加重结石, 形恶性循环; (3)患者胰腺炎发作, 导致胰腺肿大

并主胰管狭窄<sup>[18]</sup>或胰管压力增高, 可阻塞胰管, 促进结石形成<sup>[19]</sup>; (4)患者P-B型PBM, 有胰液汇入共同通道形成湍流, 促进结石形成的可能. 我们选择在患者第二次十二指肠镜检查取石之后放置胰管支架, 这样可以消除近端主胰管的狭窄, 一定程度上改善了胰液的排空, 降低了术后再次发作结石的风险, 但鉴于患者已行EST术, 胰管支架的放置亦有增加十二指肠液通过Oddis括约肌、胰胆管共同通道反流至胰腺、导致急性胰腺炎发生的风险, 故术后1 mo, 待局部水肿消退后取出支架. 其远期效果尚需进一步对患者进行随访和研究, 目前随访3 mo, 无急性胰腺炎发作.

对于该病例, 我们还设计了患者再次发作结石的可能治疗方案: (1)如患者再次出现残余胆管复发结石, 则首选十二指肠镜下取石、ERP术; (2)如患者反复发作急性胰腺炎, 除外结石因素后, 则有EST术后十二指肠液反流之可能, 故可以在完善消化系造影检查之下行Billroth II式胃-空肠吻合术以避免十二指肠液反流; (3)如胰胆管共同通道再次出现扩张, 可选择胰肠吻合术; 如经评估属于癌变高风险状态, 则可选择行保留十二指肠的胰头切除术, 如发生癌变, 则选择胰十二指肠切除术(Whipple手术). 这些方案的设计还请各位专家同仁指正!

此外, 对患者进行合理的健康教育及营养学指导也是对本病的预防有着积极意义的, 如戒烟戒酒、合理膳食、避免高脂饮食、适量运动、定期超声检查及肿瘤标志物监测等.

### 3 参考文献

- 1 Funabiki T, Sugie K, Matsubara T, Amano H, Ochiai M. Bile acids and biliary carcinoma in pancreaticobiliary maljunction. *Keio J Med* 1991; 40: 118-122 [PMID: 1753553 DOI: 10.2302/kjm.40.118]
- 2 Kamisawa T, Amemiya K, Tu Y, Egawa N, Sakaki N, Tsuruta K, Okamoto A, Munakata A. Clinical significance of a long common channel. *Pancreatology* 2002; 2: 122-128 [PMID: 12123092 DOI: 10.1159/000055902]
- 3 Komi N, Takehara H, Kunitomo K, Miyoshi Y, Yagi T. Does the type of anomalous arrangement of pancreaticobiliary ducts influence the surgery and prognosis of choledochal cyst? *J Pediatr Surg* 1992; 27: 728-731 [PMID: 1306647 DOI: 10.1016/s0022-3468(05)80102-2]
- 4 Edil BH, Cameron JL, Reddy S, Lum Y, Lipsett PA, Nathan H, Pawlik TM, Choti MA, Wolfgang CL, Schulick RD. Choledochal cyst disease in children and adults: a 30-year single-institution experience. *J Am Coll Surg* 2008; 206: 1000-1005; discussion 1000-1005 [PMID: 18471743 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2007.12.045]

### ■创新盘点

胰胆合流异常术后残余胆管复发结石尚未见系统报导, 本文尝试提出相关治疗方案.



## ■同行评价

本文病例描述详细, 相关资料引用详实, 详细描述了此病的治疗过程及治疗方法。

- 5 Babbitt DP. [Congenital choledochal cysts: new etiological concept based on anomalous relationships of the common bile duct and pancreatic bulb]. *Ann Radiol (Paris)* 1969; 12: 231-240 [PMID: 5401505]
- 6 Babbitt DP, Starshak RJ, Clemett AR. Choledochal cyst: a concept of etiology. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med* 1973; 119: 57-62 [PMID: 4744730 DOI: 10.2214/ajr.119.1.57]
- 7 Watanabe Y, Kubota H, Honma T, Hosoya T, Yamaguchi K. [Usefulness of helical DIC-CT in pancreaticobiliary maljunction]. *Nihon Igaku Hoshasen Gakkai Zasshi* 1997; 57: 249-252 [PMID: 9164113]
- 8 Noda Y, Fujita N, Kobayashi G, Ito K, Horaguchi J, Takasawa O, Obana T, Ishida K, Senoo S, Yonechi M, Suzuki T, Hirasawa D, Sugawara T, Kobari M, Sawai T, Uzuki M, Watanabe M. Histological study of gallbladder and bile duct epithelia in patients with anomalous arrangement of the pancreaticobiliary ductal system: comparison between those with and without a dilated common bile duct. *J Gastroenterol* 2007; 42: 211-218 [PMID: 17380279 DOI: 10.1007/s00535-006-1991-y]
- 9 Seki M, Yanagisawa A, Ninomiya E, Ninomiya Y, Ohta H, Saiura A, Yamamoto J, Yamaguchi T, Aruga A, Yamada K, Takano K, Fujita R, Ikeda M, Sasaki K, Kato Y. Clinicopathology of pancreaticobiliary maljunction: relationship between alterations in background biliary epithelium and neoplastic development. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2005; 12: 254-262 [PMID: 15995816 DOI: 10.1007/s00534-004-0966-8]
- 10 Anderson MC, Hagstrom WJ. A comparison of pancreatic and biliary pressures recorded simultaneously in man. *Can J Surg* 1962; 5: 461-470 [PMID: 14012877]
- 11 Nagai M, Watanabe M, Iwase T, Yamao K, Isaji S. Clinical and genetic analysis of noncancerous and cancerous biliary epithelium in patients with pancreaticobiliary maljunction. *World J Surg* 2002; 26: 91-98 [PMID: 11898040 DOI: 10.1007/s00268-001-0187-0]
- 12 孙昀, 耿小平. 先天性胆管扩张症外科治疗进展. *肝胆外科杂志* 2005; 13: 477-480
- 13 吴孟超, 吴在德. 黄家骅. 外科学. 第七版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 1839-1843
- 14 Schiesser M, Bimmler D, Frick TW, Graf R. Conformational changes of pancreatitis-associated protein (PAP) activated by trypsin lead to insoluble protein aggregates. *Pancreas* 2001; 22: 186-192 [PMID: 11249074 DOI: 10.1097/00006676-200103000-00012]
- 15 Katsuzaki T, Tatemichi N, Takeichi C, Hayakawa S, Hayakawa T, Shibata T, Harada H, Ochi K. Enzyme immunoassay for specific analysis of pancreatic stone proteins in human pancreatic juice. *J Clin Lab Anal* 1992; 6: 375-378 [PMID: 1432363 DOI: 10.1002/jcla.1860060607]
- 16 Nakamura M, Oka M, Iizuka N, Kawauchi S, Gondo T, Ueno T, Tangoku A. Osteopontin expression in chronic pancreatitis. *Pancreas* 2002; 25: 182-187 [PMID: 12142743 DOI: 00006676-200208000-00012]
- 17 Izzedine H, Caramella C, Ratzu V, Deray G. Chronic calcifying pancreatitis and systemic lupus erythematosus. *Pancreas* 2005; 31: 289-290 [PMID: 16163063 DOI: 00006676-200510000-00014]
- 18 党小红, 赵和平, 黄会芳, 李建红. 慢性胰腺炎中结石形成危险因素的研究. *中国药物与临床* 2012; 12: 3-6
- 19 Khan KJ. Prevalence, diagnosis, and profile of autoimmune pancreatitis presenting with features of acute or chronic pancreatitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 639-640; author reply 640-641 [PMID: 20197116 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.02.010]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的



相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则<sup>c</sup> $P<0.05$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ ; 第3套为<sup>e</sup> $P<0.05$ , <sup>f</sup> $P<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。



## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授  
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白浪 副教授  
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈洪 主任医师  
东南大学附属中大医院消化科

陈进宏 副主任医师  
复旦大学附属华山医院普外科

高润平 教授  
吉林大学第一医院肝胆胰内科

高泽立 副教授  
上海交大医学院九院周浦分院

巩鹏 教授  
大连医科大学附属第一医院普外二科

郭晓钟 教授  
沈阳军区总医院消化内科

郝丽萍 副教授  
华中科技大学同济医学院公共卫生学院营养与食品卫生学系

何松 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

季国忠 教授  
南京医科大学第二附属医院消化科

姜春萌 教授  
大连医科大学附属第二医院消化科

李瑜元 教授  
广州市第一人民医院内科

刘杰民 副主任医师  
贵州省人民医院消化内镜科

刘亮明 副教授  
上海交通大学附属第一人民医院松江分院肝病科

卢晓梅 教授  
新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院

缪应雷 主任医师  
昆明医科大学第一附属医院消化内科

宁钧宇 副研究员  
北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

谭德明 教授  
中南大学湘雅医院感染病科

唐文富 副教授  
四川大学华西医院中西医结合科

王刚 副研究员  
哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)

王江滨 教授  
吉林大学中日联谊医院

王小众 教授  
福建医科大学附属协和医院消化内科

肖秀英 副主任医师  
上海市徐汇区中心医院肿瘤科

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

俞继卫 副主任医师  
上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

喻春钊 教授  
南京医科大学第二附属医院普通外科九区

张进祥 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院

张力为 副教授  
新疆医科大学第一附属医院胸外科

郑素军 副教授  
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：\_\_\_\_\_

2012年1月







Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

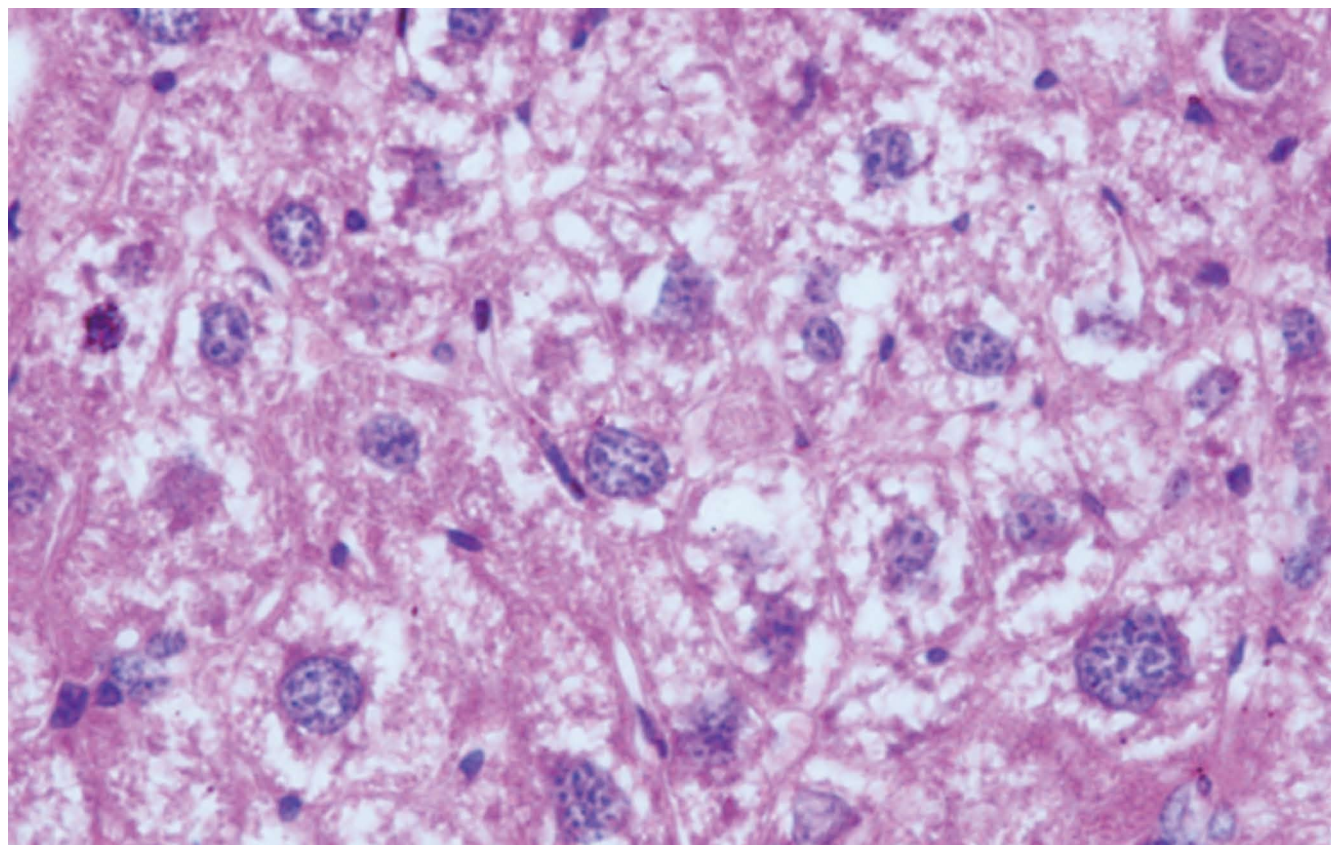


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 2 月 28 日      第 22 卷      第 6 期      (Volume 22 Number 6)**



**6/2014**

ISSN 1009-3079



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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志坚教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授



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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年2月28日 第22卷 第6期 (总第446期)

## 基础研究

- 751 Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义  
孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁
- 759 骨髓间充质干细胞移植对急性肝衰竭大鼠Caspase1和IL-18表达的影响  
袁淑芳, 姜涛, 胡兰英, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新
- 766 手术改善Goto-Kakizaki大鼠血糖中胆胰液转流的重要作用  
冯苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊

## 文献综述

- 773 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展  
田磊, 肖秀英, 叶明
- 782 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用  
周振华, 陈国栋, 杨林
- 788 胆汁酸盐输出泵转录调控及细胞内运输的分子机制  
刘彬彬, 孔静, 吴硕东, 王玉
- 795 结肠电刺激的研究进展  
郭晓娟, 姚树坤
- 801 结直肠无蒂锯齿状腺瘤内镜下诊断的进展  
邱野, 付祥胜, 彭燕
- 807 高强度聚焦超声在结直肠癌肝转移治疗中的临床应用  
刘贤伟, 周丁华

## 研究快报

- 813 RNAi沉默Sp3基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响  
李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博
- 819 六味地黄丸对NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和ITC的影响及意义  
全晓红, 叶冬梅, 唐晓光
- 825 大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌克拉霉素耐药基因的作用  
黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄千荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英

## 临床经验

- 831 超声内镜及其引导下的细针穿刺在食管结核诊断中的应用  
王锦飞, 王金林, 张平, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌
- 837 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗疗效与安全性的评估  
马超, 孔德润
- 842 奥美拉唑的不良反应  
王子娟, 张弋
- 846 胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特点及其与预后的关系  
李伟, 隋红, 周建华
- 853 L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例  
许进军, 甘宁
- 858 <sup>13</sup>C-噉噉西啶呼气试验对肝硬化储备功能的评估及治疗效果的评价  
江振宇, 苏秉忠, 苑丹丹, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫
- 862 腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响  
仇奕然, 张海燕
- 868 原发性胆汁性肝硬化肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达及血清学指标关系  
孙静, 褚燕君, 张芳宾, 郑聪
- 874 蛋白激酶C在糖基化终末产物介导结肠平滑肌细胞内钙离子浓度中的作用  
朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳
- 880 NICE分类对结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉鉴别诊断的价值  
司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋
- 885 心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响  
杜童, 韩琳, 牛洪欣
- 890 MiRNA-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的系统评价  
谢文群, 谭诗云, 王晓凡

病例报告	898 多发性骨髓瘤误诊急性胰腺炎1例 王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消息	758 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 781 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 794 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 800 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 867 《世界华人消化杂志》参考文献 897 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁. Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 751-758 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2014-02-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有



# World Chinese Journal of Digestology

## February 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 6

<b>BASIC RESEARCH</b>	<p>751 Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice <i>Kong N, Kuang ZP, Yang F, Li YQ, Wu JN</i></p> <p>759 Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on expression of Caspase1 and IL-18 in rats with acute hepatic liver failure <i>Yuan SF, Jiang T, Hu LY, Sun LH, Zheng RJ, Zhang YX</i></p> <p>766 Modified biliopancreatic diversion surgery improves glucose levels in Goto-Kakizaki rats <i>Feng S, Jia GL, Xi HL, Wang XK, Tian ZL</i></p>
<b>REVIEW</b>	<p>773 Molecular targeted therapy of gastric cancer <i>Tian L, Xiao XY, Ye M</i></p> <p>782 Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma <i>Zhou ZH, Chen GD, Yang L</i></p> <p>788 Bile acid salt export pump: Molecular mechanisms of transcription and intracellular regulation <i>Liu BB, Kong J, Wu SD, Wang Y</i></p> <p>795 Advances in research of colonic electrical stimulation <i>Guo XJ, Yao SK</i></p> <p>801 Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma <i>Qiu Y, Fu XS, Peng Y</i></p> <p>807 Application status of high intensity focused ultrasound in treatment of colorectal cancer liver metastases <i>Liu XW, Zhou DH</i></p>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	<p>813 RNAi-mediated silencing of Sp3 expression reduces invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model <i>Li J, Lu HP, Mo WJ, Li HR, Feng ZB</i></p> <p>819 Liuwei Dihuangwan protects against non-alcoholic fatty liver disease in rats <i>Quan XH, Ye DM, Tang XG</i></p> <p>825 Effects of emodin and other herbal extracts on resistance of <i>Helicobacter pylori</i> to clarithromycin <i>Huang YQ, Huang XF, Zhao LJ, Huang GR, Wei LD, Wei HY, Chen YH, Tang HY</i></p>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	<p>831 EUS and EUS-FNA for diagnosis of esophageal tuberculosis <i>Wang JF, Wang JL, Zhang P, Sun Q, Wu XL, Chen NJ, Hou W, Cheng B</i></p> <p>837 Efficacy and safety of hood-assisted endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices <i>Ma C, Kong DR</i></p> <p>842 Adverse reactions of omeprazole <i>Wang ZJ, Zhang Y</i></p> <p>846 Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: Clinicopathologic characteristics and their correlation with prognosis <i>Li W, Sui H, Zhou JH</i></p> <p>853 Efficacy of oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens for patients with advanced gastric carcinoma <i>Xu JJ, Gan N</i></p> <p>858 <sup>13</sup>C-methacetin breath test for evaluation of liver functional reserve and treatment effectiveness in patients with liver cirrhosis <i>Jiang ZY, Su BZ, Yuan DD, Chang ZH, Zhang JJ, Pang HF, Tang BF</i></p> <p>862 Laparoscopic surgery in patients with liver cirrhosis with gallbladder stones: Effect on immunity and complications <i>Qiu YR, Zhang HY</i></p> <p>868 Correlation among hepatic biopsy pathohistology, expression of LAMP2 and laboratory parameters in patients with primary biliary cirrhosis <i>Sun J, Chu YJ, Zhang FB, Zheng C</i></p> <p>874 Advanced glycation end products inhibit intracellular calcium concentration in colon smooth muscle cells in a protein kinase C-dependent manner <i>Zhu Y, Wang QE, Wang Y, Gong YY, Sun XM, Lin L</i></p> <p>880 Value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps <i>Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu KL, Lin W, Wei N, Jiang GJ, Liu H, Tai WP, Su H, Liu FX</i></p> <p>885 Effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients <i>Du T, Han L, Niu HX</i></p> <p>890 Association between miRNA-146a rs2910164 gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: A systematic review <i>Xie WQ, Tan SY, Wang XF</i></p>

<b>CASE REPORT</b>	898 Multiple myeloma misdiagnosed as acute pancreatitis: A cases report <i>Wang N, Qi R, Ding Q, Jiang HQ</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Kong N, Kuang ZP, Yang F, Li YQ, Wu JN.</i> Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(6): 751-758 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** February 28, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035

Fax: +86-10-85381893

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

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

# Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义

孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁

孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部 广西壮族自治区南宁市 530021

孔娜, 在读硕士, 主要从事肿瘤免疫与基因治疗方面的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30760278

作者贡献分布: 此课题由匡志鹏设计; 研究过程由孔娜与李韵秋操作完成; 数据分析由孔娜、杨帆及吴继宁完成; 本论文写作由孔娜完成; 匡志鹏提供实验材料, 并审阅论文、指导论文修改。

通讯作者: 匡志鹏, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路22号, 广西医科大学附属肿瘤医院实验研究部。

kgzhou@163.com

收稿日期: 2013-11-17 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice

Na Kong, Zhi-Peng Kuang, Fan Yang, Yun-Qiu Li, Ji-Ning Wu

Na Kong, Zhi-Peng Kuang, Fan Yang, Yun-Qiu Li, Ji-Ning Wu, Department of Experimental Research, the Affiliated Cancer Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30760278

Correspondence to: Zhi-Peng Kuang, Professor, Department of Experimental Research, the Affiliated Cancer Hospital of Guangxi Medical University, 22 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. kgzhou@163.com

Received: 2013-11-17 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice, and to reveal the relationship between Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and liver cancer.

**METHODS:** Ninety-five C57BL/6J mice were randomly divided into either an experimental group ( $n = 50$ ) or a control group ( $n = 45$ ). In the experimental group, primary hepatocellular carcinoma (HCC) was induced by using diethylnitrosamine (DEN), carbon tetrachloride ( $\text{CCl}_4$ ) and ethanol for twenty weeks. Five mice of each group were randomly sacrificed every two weeks to collect specimens. The expression of Wnt-1 mRNA and protein was dynamically

observed by real-time PCR, Western blot and immunohistochemistry.

**RESULTS:** Liver cancer in C57BL/6J mice was successfully induced chemically after 20 weeks. Real-time PCR showed that the expression of Wnt-1 mRNA in the experimental group significantly increased compared to the control group at various time points during the period from weeks 14 to 20, while there was no significant difference from weeks 4 to 12. In the experimental group, Wnt-1 mRNA expression increased with time from weeks 14 to 16 and 18 ( $4.192 \pm 0.322$  vs  $5.630 \pm 0.579$  vs  $8.060 \pm 0.795$ ,  $P < 0.05$ ), but there was no significant difference between weeks 18 and 20. Western blot analysis showed that Wnt-1 protein expression was weak in both groups from weeks 4 to 12, but increased with time in the experimental group, although there was also no significant difference between weeks 18 and 20. Immunohistochemistry showed that Wnt-1 was expressed weakly in both groups before week 8, but began to increase from week 16 in the experimental group, peaking at week 20.

**CONCLUSION:** Wnt-1 may be associated with the occurrence of HCC, and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway may play an important role in this process.

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

**Key Words:** Signaling pathway; Liver neoplasm; Wnt-1; Chemical carcinogenesis

Kong N, Kuang ZP, Yang F, Li YQ, Wu JN. Significance of expression of Wnt-1 in chemically induced liver carcinogenesis in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 751-758 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.751>

## 摘要

**目的:** 检测Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中Wnt-1在化学诱发小鼠肝癌过程中的表达, 揭示Wnt/ $\beta$ -catenin通路与肝癌发生之间的关系。

## ■背景资料

世界范围内肝癌在男、女癌症死亡原因中分别居第2、6位。近年来发现, 包括肝癌在内的人类多种肿瘤都存在Wnt通路的异常激活。目前, 对肝癌的研究中已有较多关于Wnt通路异常活化的报道, 但更多着眼于下游信号分子 $\beta$ -catenin/T细胞因子(T-cell factor, TCF)等关键环节。因此Wnt通路对肝癌发生的调控作用尚未明确。本文通过化学法诱导小鼠肝癌发生模型动态观察Wnt-1基因、蛋白表达水平变化, 目前相关研究报道较少。

## ■同行评议者

秦建民, 主任医师, 上海中医药大学附属普陀医院普外科



## ■ 研究前沿

Wnt是一种分泌型糖蛋白, 目前已经发现19种Wnt蛋白参与细胞的生长分化、胚胎形成和肿瘤形成. 已有研究发现在多种肿瘤中都存在一种或多种Wnt基因家族成员的异常表达, 这些基因的异常表达可能参与了Wnt通路的激活, 从而导致了肿瘤的发生与发展. 两者的关系已成为目前研究的热点.

**方法:** 95只C57BL/6J♂小鼠随机分为实验组( $n = 50$ )和对照组( $n = 45$ ). 实验组联合二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)/四氯化碳(carbon tetrachloride,  $\text{CCl}_4$ )/乙醇(ethanol)诱发小鼠肝癌. 实验组和对照组每2周各随机抽取5只小鼠定期处死并取组织标本进行病理学观察, 并通过Real-time PCR、Western blot、免疫组织化学动态监测肝组织的Wnt-1 mRNA及蛋白表达情况.

**结果:** (1)化学诱导20 wk后, 成功诱发小鼠肝癌; (2)Real-time PCR显示, Wnt-1 mRNA的表达在第4至12周实验组和同期对照组相比差异没有显著性, 第14至20周实验组较同期对照组表达升高, 且随着诱癌时间延长实验组第14、16、18周Wnt-1 mRNA表达逐渐升高( $4.192 \pm 0.322$  vs  $5.630 \pm 0.579$  vs  $8.060 \pm 0.795$ ,  $P < 0.05$ ), 第18周和第20周表达差异没有显著性( $8.060 \pm 0.795$  vs  $8.038 \pm 0.649$ ,  $P > 0.05$ ); (3)Western blot显示对照组Wnt-1蛋白微弱表达; 实验组Wnt-1蛋白第4至12周微弱表达, 第14至18周随着诱癌时间延长Wnt-1蛋白表达逐渐升高, 第18周和第20周蛋白表达差异没有显著性; (4)免疫组织化学显示, Wnt-1在实验组第8周和对照组仅见微弱表达, 实验组从16 wk开始较对照组表达增加, 至20 wk时表达最强.

**结论:** Wnt-1参与了小鼠肝癌的发生发展, Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在肝癌的发生过程中可能扮演重要角色.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 信号通路; 肝肿瘤; Wnt-1; 化学诱癌

**核心提示:** Wnt-1参与了小鼠肝癌发生发展的全过程, 可能是由于在化学诱导肝癌过程中Wnt通路被激活, 随着肝癌的形成相互作用的结果. 明确Wnt-1在肝癌发生过程中各时期的表达, 为今后寻找新的肝癌治疗靶点提供理论依据.

孔娜, 匡志鹏, 杨帆, 李韵秋, 吴继宁. Wnt-1在化学诱发肝癌过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 751-758  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/751.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.751>

## 0 引言

目前, 世界范围内男性肝癌在恶性肿瘤中发病率居第5位, 在癌症死亡原因中居第2位; 女性肝癌在恶性肿瘤中的发病率居第7位, 在癌症死亡原因中居第6位<sup>[1]</sup>. 肝癌的发生机制还不完全清

楚, 到目前为止, 考虑与多种细胞间信号传导通路紊乱有关. 在多种慢性损伤因素的作用下, 肝脏组织反复损伤修复, 导致肝纤维化肝硬化; 由于周围内环境的改变, 肝干细胞在肝脏的修复过程中不能向正常肝细胞分化, 在信号通路异常的情况下, 肝干细胞无限增殖形成肝细胞癌. 近年来发现, 包括肝癌在内的人类多种肿瘤都存在Wnt通路的异常激活<sup>[2-7]</sup>. Wnt通路现已成为研究肝癌发生机制的热点.

前期研究证实, 二乙基亚硝胺(diethylnitrosamine, DEN)/四氯化碳(carbon tetrachloride,  $\text{CCl}_4$ )/Ethanol联合可成功诱导小鼠肝癌, 该动物模型的发生具有与人肝癌发生相似的病理过程<sup>[8]</sup>, 因而对开展人肝癌的研究十分重要. 本研究基于此动物模型的构建, 通过Real-time PCR、Western blot、免疫组织化学观察Wnt通路中Wnt-1的mRNA及相应蛋白表达水平的变化, 初步明确该通路与肝癌发生发展的关系.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** DEN购自Sigma公司,  $\text{CCl}_4$ 购自天津化学试剂研究所, 乙醇和橄榄油购自北京化学试剂公司. 总RNA提取试剂TRIzol Reagent(Invitrogen), 逆转录试剂盒(Thermo), SYBR Premix Ex Taq<sup>TM</sup>(RR420A)购自TaKaRa公司. 引物由上海生工生物工程公司设计合成. Western blot检测用GAPDH的一抗购自美国Cell Signaling公司, Wnt-1一抗购自Abcam, 二抗购自Proteintech Group, 蛋白裂解液RIPA、蛋白酶抑制剂PMSF、BCA蛋白浓度测定试剂盒购自碧云天生物技术有限公司. 免疫组织化学检测用Wnt-1购自Abcam, 免疫组织化学检测试剂盒SP-9001、浓缩型DAB显色试剂盒购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

## 1.2 方法

**1.2.1 化学诱导小鼠肝癌模型的建立:** 化学诱导小鼠肝癌模型的建立参照文献<sup>[8]</sup>. C57BL/6J♂小鼠95只, 6-8周龄, 体质量20-30 g, 购自中国科学院上海实验动物中心, 符合国标GB14922-94 SPF级质量标准. 购入动物后适应环境7 d, 动物随机分为2组, 实验组50只对照组45只. 实验组小鼠首先用DEN 100 mg/kg腹腔注射, 3 d后 $\text{CCl}_4$ 和橄榄油(配制体积比20:80)灌胃(5 mL/kg), 2次/wk; 第3周再次腹腔注射DEN 1次(50 mg/kg), 同时开始给予含有90 mL/L乙醇的饮用水; 第4

表 1 PCR引物序列

基因名称	引物	产物长度(bp)
<i>β-actin</i>	F: 5'-GTGACGTTGACATCCGTAAGA-3'	148
	R: 5'-GCCGGACTCATCGTACTCC-3'	
<i>Wnt-1</i>	F: 5'-GCTGGGTTTCTACTACGTTGCT-3'	103
	R: 5'-GAGGAGGCTATGTTACGATG-3'	

周开始加大CCl<sub>4</sub>的剂量至8 mL/kg, 共给药20 wk, 实验期间同时喂以小鼠颗粒饲料. 对照组小鼠仅喂养小鼠颗粒饲料, 并自由饮用灭菌普通水. 观察两组小鼠的生长、体质量、精神食欲等情况. 在诱癌开始后第4、6、8、10、12、14、16、18、20周, 从实验组和对照组各随机抽取5只小鼠, 摘取肝脏组织做后续试验.

**1.2.2 组织病理学观察:** 取新鲜实验组和对照组部分肝组织, 用3%中性多聚甲醛固定, 常规石蜡包埋, 制成5 μm厚的切片, 苏木精-伊红(HE)染色, 光镜观察病理形态学变化.

**1.2.3 Real-time PCR检测Wnt-1 mRNA表达:** TRIzol法提取实验组和对照组肝组织的总RNA, 分光光度计测定RNA的A值以检测RNA质量. 取总RNA 3 μg定量, 按逆转录试剂盒说明书把RNA逆转录成cDNA -20 °C保存. 将样品cDNA稀释16倍后取样2 μL, 冰上配制PCR反应液. 反应体系20 μL: cDNA 2 μL, SYBR Premix Ex Taq(2×)10 μL, 10 μmol/L上、下游引物各0.4 μL, RNase-free Water 7.2 μL(PCR引物序列如表1). 于BIO-RAD Real-time PCR仪中进行PCR反应, 反应条件为: 95 °C变性30 s; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 共40个循环. PCR反应结束后, 建立溶解曲线分析. 反应结束后电脑自动分析荧光信号并将其转换Ct值, 2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算Wnt-1基因和β-actin基因之间的相对含量.

**1.2.4 Western blot检测Wnt-1蛋白:** 提取总蛋白放入-80 °C冰箱保存. BCA试剂盒测定蛋白浓度. 制备10%SDS-PAGE凝胶, 以GAPDH为内参, 根据测定的浓度计算上样量; 电泳: 80 V 30 min转至100 V 1 h; 转膜: GAPDH、Wnt-1为120 mA 1.5 h, 冰上转膜; 5%脱脂牛奶封闭1 h, TBST洗膜2次×5 min; 加一抗4 °C过夜(所有一抗稀释比例均为1:1000), TBST洗膜3次×5 min; 加二抗(稀释比例1:6000)摇床上1 h, TBST 4次×5 min, 显影定影. 每个诱癌阶段对照组和实验组各取一个标本进行实验, 重复3次以确保实验的准确性. Quantity One软件测定条带灰度值, 计算

Wnt-1/GAPDH灰度比值.

**1.2.5 免疫组织化学染色:** 采用免疫组织化学SP法, 操作步骤按SP法免疫组织化学检测试剂盒说明书进行, Wnt-1一抗工作浓度为1:100, DAB染色, 苏木精复染. 以PBS代替一抗作为阴性对照, 每次试验均设阴性对照. 以胞浆出现黄色颗粒为阳性反应, 每张切片上随机观察10个高倍视野(×200), 计数阳性细胞百分比, 阳性细胞数<5%为0分, 5%-25%为1分, 26%-50%为2分, 51%-75%为3分, 76%-100%为4分; 阳性着色强度无色为0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 棕褐色3分. 将两者计分相乘即为阳性等级: 0分为阴性(-), 1-4分为弱阳性(+), 5-8分为阳性(++), 9-12分为强阳性(+++).

**统计学处理** 使用SPSS16.0软件进行统计学分析, 计量资料以mean±SD表示, 采用完全随机设计资料的方差分析和t检验, P<0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 化学诱发小鼠肝癌对照组和实验组肝组织病理形态学改变** 在化学诱癌过程中, 50只实验组小鼠在诱癌的第8、18、20周时分别死亡2、2、1只, 死亡率为5.26%(5/95); 对照组45只无死亡. 对照组小鼠肝组织的形态学特点为肝组织结构正常, 肝细胞以中央静脉为中心排列成索状, 呈放射状排列, 肝细胞质嗜酸性, 核嗜碱性(图1A). 实验组第8周小鼠肝组织的部分肝细胞损伤, 变性水肿, 有炎细胞浸润(图1B). 实验组第12周小鼠肝组织的肝细胞变性坏死, 炎细胞浸润, 肝内广泛纤维增生, 肝板紊乱, 部分肝细胞增生(图1C). 实验组第16周的肝细胞排列紊乱, 细胞异型性增生, 肝细胞呈多边形, 胞质丰富, 核圆形深染, 大小不等, 可见核分裂像(图1D). 诱癌第20周癌细胞呈多边形, 核大深染, 大小不等, 核分裂像明显, 核质比增大, 细胞异型性明显(图1E).

**2.2 小鼠肝组织Wnt-1的mRNA表达差异** Wnt-1

## ■ 相关报道

Wei等发现Wnt-1蛋白在肝癌组织及其细胞系中高表达, Wnt-1蛋白的抗体能降低细胞系Huh7和Hep40的增生能力, 诱导肿瘤细胞凋亡, 而对正常细胞没有影响, 同时Wnt-1蛋白抗体也能降低Wnt通路靶基因*c-myc*、*cyclinD1*的表达.



## ■ 创新盘点

既往的研究多集中在人手术标本中检测Wnt通路中Wnt-1的表达情况,而没有从肝脏损害出现病变开始到完全形成肿瘤的全过程观察其动态性变化规律,而本实验试图通过对化学诱发小鼠肝癌发生全过程的不同阶段对Wnt-1进行动态跟踪和系统研究,为阐明该通路对肝癌发生发展所起的关键调控作用及相互关系打下基础。

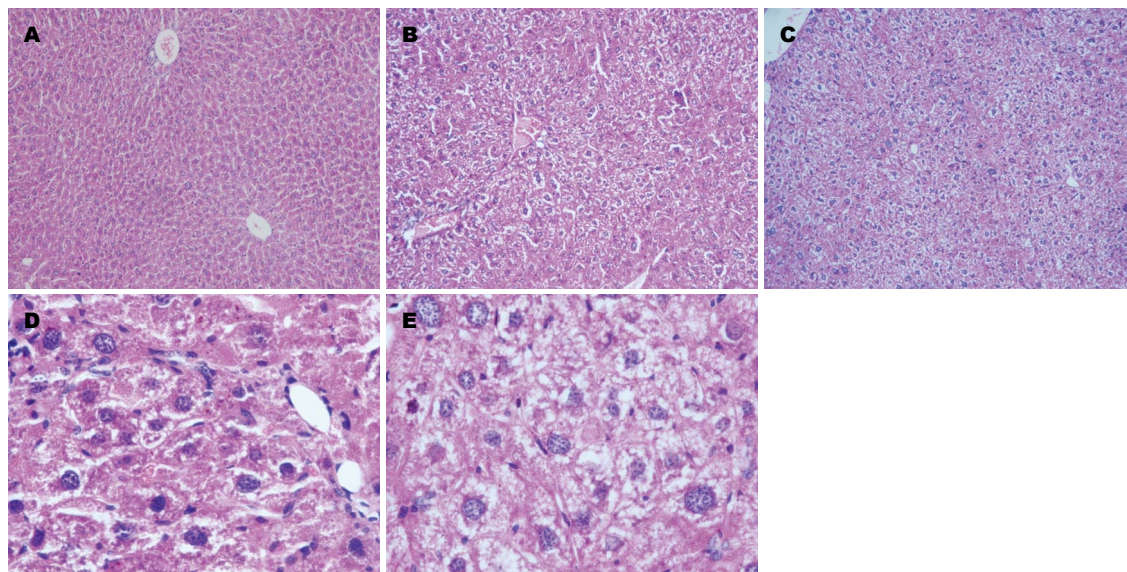


图1 对照组和实验组小鼠肝组织病理形态学改变。A: 对照组(HE × 100): 肝组织结构正常, 肝细胞以中央静脉为中心排列成索状, 呈放射状排列, 肝细胞质嗜酸性, 核嗜碱性; B: 实验组第8周(HE × 100): 部分肝细胞损伤, 变性水肿, 有炎细胞浸润; C: 实验组第12周(HE × 100): 肝细胞变性坏死, 炎细胞浸润, 肝内广泛纤维增生, 肝板紊乱, 部分肝细胞增生; D: 实验组第16周(HE × 400): 肝细胞排列紊乱, 细胞异型性增生, 肝细胞呈多边形, 胞质丰富, 核圆形深染, 大小不等, 可见核分裂像; E: 实验组第20周(HE × 400): 癌细胞呈多边形, 核大深染, 大小不等, 核分裂像明显, 核质比增大, 细胞异型性明显。

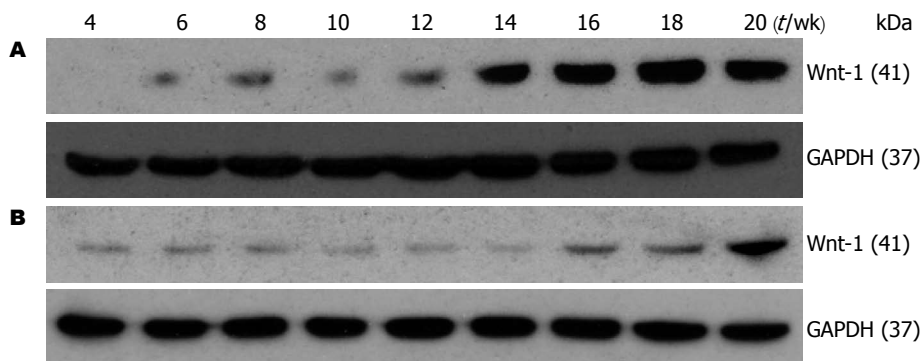


图2 不同时段小鼠肝组织Wnt-1蛋白表达的电泳图。A: 实验组; B: 对照组。

mRNA的表达在第4至12周实验组和同期对照组相比差异没有显著性, 第14至20周实验组较同期对照组表达升高, 且随着诱癌时间延长实验组第14、16、18周Wnt-1 mRNA表达逐渐升高 ( $4.192 \pm 0.322$  vs  $5.630 \pm 0.579$  vs  $8.060 \pm 0.795$ ,  $P < 0.05$ ), 第18和20周表达差异没有显著性 ( $8.060 \pm 0.795$  vs  $8.038 \pm 0.649$ ,  $P > 0.05$ )。

2.3 小鼠肝组织Wnt-1蛋白表达水平的比较 如图2, 表2所示, 对照组Wnt-1蛋白微弱表达; 实验组Wnt-1蛋白第4至12周微弱表达且差异没有统计学意义, 第14至18周随着诱癌时间延长Wnt-1蛋白表达逐渐升高, 第18和20周蛋白表达差异没有显著性。

2.4 免疫组织化学结果 实验组第8周和对照组小鼠肝组织Wnt-1仅见微弱的胞膜淡黄色表达; 实

验组第16周Wnt-1表达弱阳性3只、阳性2只, 在胞浆中呈散在或片状淡黄色表达; 实验组第20周Wnt-1均为阳性表达, 呈黄色片状或团块状表达(图3)。实验组从16 wk开始较对照组表达增加, 至20 wk时表达最强。

### 3 讨论

Wnt信号通路是一条进化上高度保守的信号转导途径, 通常与调节干细胞自我更新和肿瘤形成有关<sup>[9]</sup>, 特别是经典信号通路Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 其信号分子通过级联方式, 由细胞膜经过细胞质转导至细胞核<sup>[10]</sup>。经典Wnt信号通路与肝癌发生的过程: Wnt蛋白在低密度脂蛋白相关蛋白(LRP-5/6)的协助下与跨膜受体蛋白Frizzled结合, 将信号传递至胞内, 通过Dvl蛋白能将



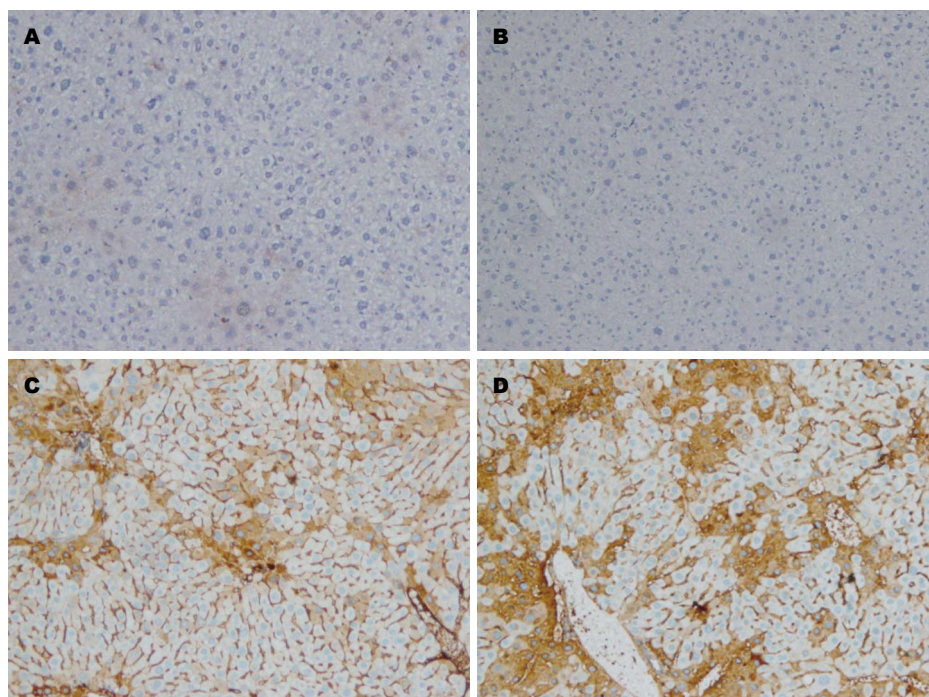


图 3 免疫组织化学检测Wnt-1蛋白表达(DAB × 100). A: 对照组: Wnt-1蛋白仅见微弱的胞膜淡黄色表达; B: 实验组第8周: Wnt-1蛋白呈微弱的胞膜淡黄色表达; C: 实验组第16周: Wnt-1蛋白在胞浆中呈散在或片状淡黄色表达. D: 实验组第20周: Wnt-1蛋白呈黄色片状或团块状表达.

#### ■应用要点

肝癌的发病机制尚不清楚, 缺乏有效的一级预防, 因此早期诊断及治疗成为重点. 分子靶向治疗是目前肿瘤治疗的研究热点之一. 本文明确Wnt-1在肝癌发生发展过程中的表达, 为今后寻找新的肝癌治疗靶点提供理论依据.

表 2 不同时段小鼠肝组织Wnt-1蛋白表达量的比较 (mean ± SD)

时间	实验组	n1	对照组	n2
第4周	0.110 ± 0.019	5	0.125 ± 0.008	5
第6周	0.116 ± 0.011	5	0.123 ± 0.017	5
第8周	0.126 ± 0.030	5	0.123 ± 0.011	5
第10周	0.119 ± 0.037	5	0.113 ± 0.026	5
第12周	0.171 ± 0.076	5	0.116 ± 0.008	5
第14周	0.518 ± 0.050 <sup>ac</sup>	5	0.115 ± 0.007	5
第16周	0.692 ± 0.063 <sup>ae</sup>	5	0.116 ± 0.010	5
第18周	0.815 ± 0.071 <sup>ag</sup>	5	0.117 ± 0.023	5
第20周	0.797 ± 0.043 <sup>a</sup>	5	0.128 ± 0.032	5

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 同期对照组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 实验组第12周; <sup>e</sup>*P* < 0.05 vs 实验组第14周; <sup>g</sup>*P* < 0.05 vs 实验组第16周.

GSK-3β磷酸化, 抑制β-catenin-Axin-APC-GSK3复合物的形成, 从而抑制β-catenin磷酸化, 稳定β-catenin, 使其在胞质中聚集最后进入胞核. 核内出现β-catenin即视为Wnt通路被激活<sup>[11]</sup>. 核内β-catenin与T细胞因子/淋巴增强因子(T-cell factor/lymphoid enhancing factor, TCF/LEF)转录因子结合形成转录复合物, 共同调控下游的靶基因而影响病理生理过程<sup>[12]</sup>. 如靶基因*c-myc*启动子上含有β-catenin/TCF/LEF复合物的结合位点,

转录复合物作用于此处, 使其活化表达导致肿瘤的发生<sup>[13]</sup>. 有研究表明肝癌干细胞标志物上皮细胞黏附分子(epithelial cell adhesion molecule, *EpCAM*)是Wnt通路的靶基因, Wnt通路的激活促进*EpCAM*的表达<sup>[14]</sup>. 另外在肝癌组织中, OV6表达阳性的细胞在成瘤能力和耐药性上均强于OV6表达阴性的细胞, 而OV6表达阳性的肿瘤细胞产生是依赖于Wnt信号通路的激活. 所以说Wnt信号通路激活与肝癌干细胞密切相关, 能促使肝细胞向肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)方向发展.

目前已经发现, Wnt信号通路主要通过激活下游的靶基因而导致肝癌的发生发展, 其中下游信号分子β-catenin在细胞内的累积被认为是Wnt信号通路激活的标志, 肿瘤组织中β-catenin的异常累积常与肿瘤细胞的增殖活性<sup>[15]</sup>、肿瘤的分化程度<sup>[16]</sup>、血管浸润及预后<sup>[15-17]</sup>密切相关. β-catenin突变在肝癌中是频发事件, 发生率可达44.1%<sup>[18]</sup>. 有研究发现20%到90%的肝癌中均有多种机制导致β-catenin的激活, 其中包括基因突变编码β-catenin及CT NNB1、Axin-1、Axin-2、Frizzled-7的上调, 并抑制GSK-3β的激活<sup>[19]</sup>. 本课题组前期研究发现随着化学诱发肝癌的演变, 细胞浆内的β-catenin蛋白有可能向细胞核

### ■同行评价

本文采用化学法诱导小鼠肝癌发生模型,动态观察了Wnt/ $\beta$ -catenin信号转导通路中信号分子Wnt-1基因、蛋白表达水平变化,提示Wnt-1参与了肝癌发生过程,具有一定理论参考价值。

内移位,致使细胞核内 $\beta$ -catenin蛋白更进一步累积,激活一系列靶基因,导致肝癌形成,表明 $\beta$ -catenin与肝癌的发生发展有密切关系<sup>[20]</sup>。所以为了更透彻的研究Wnt信号通路激活参与化学诱发肝癌的发生发展过程,本实验研究了Wnt信号通路中上游信号分子Wnt-1在化学法诱发肝癌过程的动态变化。

Wnt是一种分泌型糖蛋白,目前已经发现19种Wnt蛋白参与细胞的生长分化、胚胎形成和肿瘤形成。已有研究发现在多种肿瘤中都存在一种或多种Wnt基因家族成员的异常表达,这些基因的异常表达可能参与了Wnt通路的激活,从而导致了肿瘤的发生与发展<sup>[21-23]</sup>。Kruger等<sup>[24]</sup>在检测小鼠乳腺癌4T1细胞和小鼠神经母细胞瘤NXS2细胞的SP细胞时发现,Wnt-1表达上调。Wei等<sup>[25]</sup>发现Wnt-1蛋白在肝癌组织及其细胞系中高表达,Wnt-1蛋白的抗体能降低细胞系Huh7和Hep40的增生能力,诱导肿瘤细胞凋亡,而对正常细胞没有影响,同时Wnt-1蛋白抗体也能降低Wnt通路靶基因*c-myc*、*cyclinD1*的表达。Myung等<sup>[26]</sup>发现:Wnt/ $\beta$ -catenin通路的异常表达可激活肝星状细胞,参与肝纤维化的形成。在HBV和HCV相关的肝细胞肝癌中,Wnt-1基因过度表达,Wnt-1蛋白的表达水平可被看作肝癌术后复发的有用指标<sup>[27]</sup>。此外,在转基因小鼠*c-myc*/E2F1研究中发现,Wnt-1的高表达是Wnt通路中 $\beta$ -catenin核内累积的主要原因,因而促进了转基因小鼠肝癌的发生<sup>[28]</sup>。上述结果提示Wnt-1表达失调与肿瘤的发生有着密切的关系。

本研究检测了Wnt-1在诱发小鼠肝癌变过程中的表达情况,Real-time PCR、Western blot显示在诱癌的第4至12周实验组和同期对照组相比差异没有显著性,免疫组织化学显示实验组第8周和对照组Wnt-1也仅见微弱的胞膜淡黄色表达,此时期的病理变化主要是肝细胞变性坏死等药物性肝炎的变化和部分肝细胞增生的表现。在第14至18周实验组较同期对照组表达升高,且随着诱癌时间延长实验组第14、16、18周Wnt-1表达逐渐升高(蛋白水平:  $0.518 \pm 0.050$  vs  $0.692 \pm 0.063$  vs  $0.815 \pm 0.071$ ,  $P < 0.05$ ),而第18和20周表达差异没有显著性变化。免疫组织化学也显示第16周Wnt-1表达呈胞浆散在或片状淡黄色表达,第20周Wnt-1均为阳性表达。这段时期肝脏由轻度的肝细胞非典型增生和间质中出现纤维组织的增生的变化至第18周肝

细胞出现异型性,说明在肝癌诱发的早期阶段Wnt-1表达就发生了变化。以上结果提示Wnt-1参与了化学诱发小鼠肝癌的发生发展过程。

另外考虑到第14周开始正常肝小叶结构破坏,间质纤维组织增生提示开始有肝纤维化改变<sup>[29]</sup>,可在一定程度上说明肝纤维化Wnt/ $\beta$ -catenin通路也可能表达异常,与Myung等<sup>[26]</sup>发现一致。所以,如果能在肝纤维化阶段对Wnt/ $\beta$ -catenin通路进行干预,可以延缓肝纤维化、肝硬化向肝癌的进展,为防止肝癌的形成起到了重要作用。但Yuzugullu等<sup>[30]</sup>发现在所有肝癌细胞系中经典Wnt通路中的Wnt-1并不表达。本研究与此结果相反,猜测可能是经典与非经典Wnt通路共同作用的结果,因此需要进一步的研究。

本实验存在的不足之处只是初步探索了Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中上游信号分子Wnt-1在化学法诱发肝癌过程中的变化,其Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中上下游信号分子的相互作用及对化学法诱发肝癌发生的具体调控机制有待进一步研究。

总之,Wnt通路中的各级信号原件的结构和功能改变都可能激活Wnt通路,参与肿瘤的发生与转移。本实验采用DEN/CCl<sub>4</sub>/Ethanol联合成功诱导小鼠肝癌模型,在小鼠成癌过程中动态监测Wnt-1的表达水平,证实了Wnt-1参与了小鼠肝癌的发生发展,我们推测可能是在化学诱导肝癌过程中Wnt通路被激活,随着肝癌的形成相互作用的结果。明确Wnt-1在肝癌发生过程中的表达,为今后寻找新的肝癌治疗靶点提供理论依据。

志谢: 感谢郝帅给予的帮助。

### 4 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Lachenmayer A, Alsinet C, Savic R, Cabellos L, Toffanin S, Hoshida Y, Villanueva A, Minguez B, Newell P, Tsai HW, Barretina J, Thung S, Ward SC, Bruix J, Mazzaferro V, Schwartz M, Friedman SL, Llovet JM. Wnt-pathway activation in two molecular classes of hepatocellular carcinoma and experimental modulation by sorafenib. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 4997-5007 [PMID: 22811581 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2322]
- 3 Moravec M. [Colorectal cancer and canonical Wnt signalling pathway]. *Cas Lek Cesk* 2012; 151: 335-342 [PMID: 22913786]



- 4 Cai C, Zhu X. The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway regulates self-renewal of cancer stem-like cells in human gastric cancer. *Mol Med Rep* 2012; 5: 1191-1196 [PMID: 22367735 DOI: 10.3892/mmr.2012.802]
- 5 Zhang H, Xue Y. Wnt pathway is involved in advanced gastric carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2008; 55: 1126-1130 [PMID: 18705344]
- 6 Pan KF, Liu WG, Zhang L, You WC, Lu YY. Mutations in components of the Wnt signaling pathway in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1570-1574 [PMID: 18330950 DOI: 10.3748/wjg.14.1570]
- 7 Zhu J, Zhang S, Gu L, Di W. Epigenetic silencing of DKK2 and Wnt signal pathway components in human ovarian carcinoma. *Carcinogenesis* 2012; 33: 2334-2343 [PMID: 22964660 DOI: 10.1093/carcin/bgs278]
- 8 匡志鹏, 谢裕安, 杨帆, 梁安民, 罗小玲, 吴继宁. C57BL/6J小鼠肝癌动物模型的建立. *中国普通外科杂志* 2007; 16: 657-660
- 9 Noda T, Nagano H, Takemasa I, Yoshioka S, Murakami M, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Takeda Y, Dono K, Umeshta K, Matsuura N, Matsubara K, Doki Y, Mori M, Monden M. Activation of Wnt/ $\beta$ -catenin signalling pathway induces chemoresistance to interferon-alpha/5-fluorouracil combination therapy for hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2009; 100: 1647-1658 [PMID: 19401692 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605064]
- 10 Nejak-Bowen KN, Monga SP. Beta-catenin signaling, liver regeneration and hepatocellular cancer: sorting the good from the bad. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 44-58 [PMID: 21182948 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.12.010]
- 11 Yang W, Yan HX, Chen L, Liu Q, He YQ, Yu LX, Zhang SH, Huang DD, Tang L, Kong XN, Chen C, Liu SQ, Wu MC, Wang HY. Wnt/ $\beta$ -catenin signaling contributes to activation of normal and tumorigenic liver progenitor cells. *Cancer Res* 2008; 68: 4287-4295 [PMID: 18519688 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-6691]
- 12 Zulehner G, Mikula M, Schneller D, van Zijl F, Huber H, Sieghart W, Grasl-Kraupp B, Waldhör T, Peck-Radosavljevic M, Beug H, Mikulits W. Nuclear beta-catenin induces an early liver progenitor phenotype in hepatocellular carcinoma and promotes tumor recurrence. *Am J Pathol* 2010; 176: 472-481 [PMID: 20008139 DOI: 10.2353/ajpath.2010.090300]
- 13 He TC, Sparks AB, Rago C, Hermeking H, Zawel L, da Costa LT, Morin PJ, Vogelstein B, Kinzler KW. Identification of c-MYC as a target of the APC pathway. *Science* 1998; 281: 1509-1512 [PMID: 9727977 DOI: 10.1126/science.281.5382.1509]
- 14 Yamashita T, Budhu A, Forgues M, Wang XW. Activation of hepatic stem cell marker EpCAM by Wnt- $\beta$ -catenin signaling in hepatocellular carcinoma. *Cancer Res* 2007; 67: 10831-10839 [PMID: 18006828 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0908]
- 15 Inagawa S, Itabashi M, Adachi S, Kawamoto T, Hori M, Shimazaki J, Yoshimi F, Fukao K. Expression and prognostic roles of beta-catenin in hepatocellular carcinoma: correlation with tumor progression and postoperative survival. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 450-456 [PMID: 11839663]
- 16 Endo K, Ueda T, Ueyama J, Ohta T, Terada T. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565 [PMID: 10836294 DOI: 10.1053/hp.2000.6683]
- 17 Wong CM, Fan ST, Ng IO. beta-Catenin mutation and overexpression in hepatocellular carcinoma: clinicopathologic and prognostic significance. *Cancer* 2001; 92: 136-145 [PMID: 11443619 DOI: 10.1002/1097-0142(20010701)92:1<136::AID-CNCR1301>3.0.CO;2-R]
- 18 Oishi N, Wang XW. Novel therapeutic strategies for targeting liver cancer stem cells. *Int J Biol Sci* 2011; 7: 517-535 [PMID: 21552419 DOI: 10.7150/ijbs.7.517]
- 19 Tycko B, Li CM, Buttyan R. The Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in Wilms tumors and prostate cancers. *Curr Mol Med* 2007; 7: 479-489 [PMID: 17691963 DOI: 10.2174/156652407781387118]
- 20 唐超莉, 匡志鹏, 杨帆.  $\beta$ -catenin在小鼠化学肝癌形成过程中的动态变化. *现代肿瘤医学* 2012; 21: 1204-1208
- 21 Cheng JH, She H, Han YP, Wang J, Xiong S, Asahina K, Tsukamoto H. Wnt antagonism inhibits hepatic stellate cell activation and liver fibrosis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2008; 294: G39-G49 [PMID: 18006602]
- 22 Yan L, Della Coletta L, Powell KL, Shen J, Thames H, Aldaz CM, MacLeod MC. Activation of the canonical Wnt/ $\beta$ -catenin pathway in ATF3-induced mammary tumors. *PLoS One* 2011; 6: e16515 [PMID: 21304988 DOI: 10.1371/journal.pone.0016515]
- 23 Carmon KS, Loose DS. Development of a bioassay for detection of Wnt-binding affinities for individual frizzled receptors. *Anal Biochem* 2010; 401: 288-294 [PMID: 20227380 DOI: 10.1016/j.ab.2010.03.009]
- 24 Kruger JA, Kaplan CD, Luo Y, Zhou H, Markowitz D, Xiang R, Reisfeld RA. Characterization of stem cell-like cancer cells in immune-competent mice. *Blood* 2006; 108: 3906-3912 [PMID: 16912222 DOI: 10.1182/blood-2006-05-024687]
- 25 Wei W, Chua MS, Grepper S, So SK. Blockade of Wnt-1 signaling leads to anti-tumor effects in hepatocellular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2009; 8: 76 [PMID: 19778454 DOI: 10.1186/1476-4598-8-76]
- 26 Myung SJ, Yoon JH, Gwak GY, Kim W, Lee JH, Kim KM, Shin CS, Jang JJ, Lee SH, Lee SM, Lee HS. Wnt signaling enhances the activation and survival of human hepatic stellate cells. *FEBS Lett* 2007; 581: 2954-2958 [PMID: 17544413]
- 27 Lee HH, Uen YH, Tian YF, Sun CS, Sheu MJ, Kuo HT, Koay LB, Lin CY, Tzeng CC, Cheng CJ, Tang LY, Tsai SL, Wang AH. Wnt-1 protein as a prognostic biomarker for hepatitis B-related and hepatitis C-related hepatocellular carcinoma after surgery. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2009; 18: 1562-1569 [PMID: 19423534 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-09-0039]
- 28 Calvisi DF, Conner EA, Ladu S, Lemmer ER, Factor VM, Thorgerirsson SS. Activation of the canonical Wnt/ $\beta$ -catenin pathway confers growth advantages in c-Myc/E2F1 transgenic mouse model of liver cancer. *J Hepatol* 2005; 42: 842-849 [PMID: 15885355 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.01.029]
- 29 唐超莉, 匡志鹏, 杨帆, 吴继宁. 化学诱导小鼠肝癌模型中CD133的动态变化. *肿瘤* 2012; 32: 585-591
- 30 Yuzugullu H, Benhaj K, Ozturk N, Senturk S, Celik E, Toyulu A, Tasdemir N, Yilmaz M, Erdal E, Akcali



KC, Atabay N, Ozturk M. Canonical Wnt signaling is antagonized by noncanonical Wnt5a in hepatocel-

lular carcinoma cells. *Mol Cancer* 2009; 8: 90 [PMID: 19849855 DOI: 10.1186/1476-4598-8-90]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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

# 骨髓间充质干细胞移植对急性肝衰竭大鼠Caspase1和IL-18表达的影响

袁淑芳, 姜涛, 胡兰英, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新

袁淑芳, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新, 新疆医科大学第一附属医院感染病中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011  
姜涛, 新疆医科大学医学动物模型重点实验室 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011  
胡兰英, 新疆医科大学第五附属医院 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830011  
袁淑芳, 副主任医师, 博士研究生, 主要从事干细胞治疗肝衰竭的研究。  
新疆医科大学动物模型重点实验室开放课题基金资助项目, No. XJDX1103-2012-01  
作者贡献分布: 此课题由袁淑芳与张跃新设计; 研究过程由袁淑芳、胡兰英及孙丽华操作完成; 姜涛负责实验评估、提供分析工具; 数据分析由郑嵘灵完成; 本论文写作由袁淑芳完成。  
通讯作者: 张跃新, 教授, 主任医师, 博士生导师, 830011, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院感染病中心。zhangyx3103@163.com  
收稿日期: 2013-05-29 修回日期: 2013-08-02  
接受日期: 2013-08-13 在线出版日期: 2014-02-28

## Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on expression of Caspase1 and IL-18 in rats with acute hepatic liver failure

Shu-Fang Yuan, Tao Jiang, Lan-Ying Hu, Li-Hua Sun, Rong-Jiong Zheng, Yue-Xin Zhang

Shu-Fang Yuan, Li-Hua Sun, Rong-Jiong Zheng, Yue-Xin Zhang, Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Tao Jiang, Key Laboratory of Xinjiang Medical Animal Model Research, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Lan-Ying Hu, Fifth Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Supported by: Key Laboratory of Xinjiang Medical Animal Model Research of China, No. XJDX1103-2012-01  
Correspondence to: Yue-Xin Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830011, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zhangyx3103@163.com  
Received: 2013-05-29 Revised: 2013-08-02  
Accepted: 2013-08-13 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of bone marrow mesenchymal stem cell (BMSC) transplantation in the treatment of acute liver failure (ALF) in

rats and optimize the administration route.

**METHODS:** D-galactosamine (D-GalN)/lipopolysaccharide (LPS) were used to make a rat model of experimental ALF. Seventy-two rats were randomly divided into an ALF group, a tail vein group, and a portal vein transplantation group. At different time points (24, 72, 120, and 168 h) after BMSC transplantation, serum ALT and AST were detected. TUNEL assay was applied to detect hepatocyte apoptosis. Immunohistochemistry and Western blot were performed to detect the expression of Caspase1 and IL-18 proteins in liver tissue.

**RESULTS:** Serum levels of ALT and AST in the ALF group were gradually increased with the progression of the disease. Compared with the ALF group, significant improvement of liver function parameters and histological findings was observed in the transplantation group 120 and 168 h after transplantation ( $P < 0.05$  for both). The apoptosis indexes in the tail vein group and portal vein transplantation group (120 h:  $28.17\% \pm 17.08\%$ ,  $20.67\% \pm 12.68\%$ ; 168 h:  $19.67\% \pm 11.82\%$ ,  $13.00\% \pm 6.84\%$ ) were significantly lower than those in the ALF group ( $P < 0.01$  for all). The expression levels of Caspase1 and IL-18 proteins in the two transplantation groups were decreased significantly at 120 and 168 h compared with the ALF group ( $P < 0.05$  for both). Both administration routes had a therapeutic effect against ALF in rats, but no significant difference was observed between them.

**CONCLUSION:** BMSCs can improve the liver function, inhibit hepatic apoptosis and reduce the levels of Caspase1 and IL-18 proteins in ALF rats. Caspase1 and IL-18 play an important role in the pathogenesis of ALF and are expected to be predictors of ALF and future therapeutic targets.

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

**Key Words:** Bone mesenchymal stem cells; Acute

## ■背景资料

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是由多种病因引起的一种综合征,因其进展快、并发症多、治疗难度大、病死率高、预后差,是临床治疗中至今尚未克服的难题。ALF的发生涉及众多炎症因子和细胞因子,发病机制与肝细胞凋亡关系密切。

## ■同行评议者

庄林, 主任医师, 昆明市第三人民医院肝病科

## ■研究前沿

近年来干细胞及其“横向分化”特性的发现为ALF治疗提示了新的切入点。骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)能抑制炎症反应、细胞凋亡。Caspase1和IL-18在ALF的发病过程中起重要作用。明确ALF的发病机制,早期阻止肝细胞凋亡、促进肝再生是提高ALF患者生存率的关键。

liver failure; Cell transplantation; Caspase1; IL-18; Rat model

Yuan SF, Jiang T, Hu LY, Sun LH, Zheng RJ, Zhang YX. Effect of bone marrow mesenchymal stem cell transplantation on expression of Caspase1 and IL-18 in rats with acute hepatic liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 759-765 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.759>

## 摘要

**目的:** 探讨骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells, BMSCs)移植治疗急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)大鼠的疗效、移植途径。

**方法:** 用D-氨基半乳糖(D-galactosamine, D-GalN)/脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)诱导大鼠ALF模型。72只大鼠随机分为ALF对照组、尾静脉移植组、门静脉移植组。于BMSCs移植后24、72、120、168 h取血清和肝组织,分别检测血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST);采用TUNEL法检测肝细胞凋亡;采用免疫组织化学、Western blot方法检测肝组织中半胱氨酸蛋白酶1(cysteine-containing aspartate-specific proteases 1, Caspase1)和白介素18(interleukin-18, IL-18)蛋白的表达情况。

**结果:** ALF对照组大鼠血清ALT、AST水平随病程逐渐升高。在移植后120、168 h, BMSCs移植组的血清ALT、AST与对照组相比差别有统计学意义( $P<0.05$ );尾静脉、门静脉移植组细胞凋亡指数分别为 $28.17\% \pm 17.08\%$ 、 $20.67\% \pm 12.68\%$ 、 $19.67\% \pm 11.82\%$ 、 $13.00\% \pm 6.84\%$ ,与对照组相比差异有统计学意义( $P<0.01$ )。BMSCs移植组Caspase1、IL-18蛋白表达水平逐渐降低,在移植后120、168 h与对照组相比差异有统计学意义( $P<0.05$ );且二者的表达有明显的相关性( $P<0.01$ )。尾静脉、门静脉移植途径对ALF大鼠均有治疗作用,但二种途径相比差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**结论:** BMSCs能够改善ALF肝衰竭大鼠的肝功能,抑制肝细胞凋亡、降低Caspase1、IL-18蛋白水平。Caspase1和IL-18在肝衰竭的发病过程中起重要作用;Caspase1和IL-18可望成为急性肝衰竭的预测因子和未来的治疗靶点。

**关键词:** 骨髓间充质干细胞;急性肝衰竭;细胞移植;半胱氨酸蛋白酶1;白介素-18;大鼠模型

**核心提示:** 骨髓间充质干细胞(bone marrow mesenchymal stem cells)能够改善急性肝衰竭(acute liver failure)大鼠的肝功能,抑制肝细胞凋亡、降低半胱氨酸蛋白酶1(cysteine-containing aspartate-specific proteases 1, Caspase1)、白介素18(interleukin-18, IL-18)蛋白水平。Caspase1和IL-18在肝衰竭的发病过程中起重要作用;Caspase1和IL-18可望成为急性肝衰竭的预测因子和未来的治疗靶点。

袁淑芳, 姜涛, 胡兰英, 孙丽华, 郑嵘灵, 张跃新. 骨髓间充质干细胞移植对急性肝衰竭大鼠Caspase1和IL-18表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 759-765 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/759.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.759>

## 0 引言

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)是由多种病因引起的一种综合征,以短时间内大量肝细胞变性、坏死和炎性细胞浸润等为特征<sup>[1,2]</sup>,因其进展快、并发症多、治疗难度大、病死率高、预后差,是临床治疗中至今尚未克服的难题<sup>[3,4]</sup>。近年来干细胞及其“横向分化”特性的发现为肝衰竭的治疗提供了新的希望<sup>[5,6]</sup>。干细胞移植治疗肝衰竭具有操作简单、应用灵活、可重复进行、免疫源性弱、治疗费用低等优点得到较快发展,成为继原位肝移植后又一治疗肝功能衰竭的有效方法<sup>[7,8]</sup>。ALF的发生涉及众多炎症因子和细胞因子,其发病机制与肝细胞凋亡密切相关。感染后炎症因子介导的肝细胞凋亡,坏死是促进ALF发展的重要因素,同时机体也通过自身的调节释放抗炎因子,以及抑制免疫来调控炎症反应<sup>[9,10]</sup>。诸多报道认为肝细胞凋亡的发生受Fas/FasL、Bcl-2家族、天冬氨酸特异性半胱氨酸蛋白酶(cysteine-containing aspartate-specific proteases, Caspase)家族等因素的调控<sup>[11]</sup>。白介素18(interleukin-18, IL-18)是近年来新近发现的致炎细胞因子,其前体无生物学活性,需经Caspase1催化后,才能转化为活性分子,发挥多种致炎效应,促进各种疾病的发生。研究显示,IL-18及其诱导产生的细胞因子与肝损害密切相关<sup>[12,13]</sup>。为此我们通过构建大鼠ALF模型,观察骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)移植治疗大鼠ALF的疗效;探讨BMSCs

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。



表 1 两种途径移植治疗ALF肝功能的比较 (IU/L)

分组	24 h		120 h		168 h	
	ALT	AST	ALT	AST	ALT	AST
对照组	129.33 ± 45.99	165.17 ± 78.31	133.00 ± 64.84	174.50 ± 73.98	138.50 ± 25.32	185.67 ± 53.33
尾静脉移植组	127.00 ± 37.29	163.50 ± 36.82	94.83 ± 11.16 <sup>a</sup>	113.67 ± 11.62 <sup>c</sup>	76.00 ± 13.78 <sup>a</sup>	92.00 ± 11.85 <sup>c</sup>
门静脉移植组	125.17 ± 42.93	160.67 ± 36.99	72.83 ± 10.28 <sup>a</sup>	100.67 ± 14.72 <sup>c</sup>	49.50 ± 15.81 <sup>a</sup>	69.17 ± 20.97 <sup>c</sup>

<sup>a</sup>F=12.17, <sup>a</sup>P<0.05; <sup>c</sup>F=12.17, <sup>c</sup>P<0.05 vs 对照组. ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

移植对肝细胞凋亡、肝组织中Caspase1、IL-18蛋白表达的影响. 为临床开展骨髓MSCs移植治疗ALF、评价ALF患者的病情严重程度及预后指标应用于临床实践中, 提供实验依据.

## 1 材料和方法

1.1 材料 采用健康♂ Sprague-Dwley(SD)大鼠72只, 体质量250-300 g, SPF级(许可证号SCXK新2003-0002).

### 1.2 方法

1.2.1 MSC的培养和动物模型建立: 采用全骨髓法分离SD大鼠BMSCs, 进行体外培养. 应用流式细胞仪分析对BMSCs进行表型鉴定. 采用10%D-氨基半乳糖(D-galactosamine)1.4 g/(kg·次)、12 h一次和0.005%脂多糖(lipopolysaccharide LPS)20 μg/kg, 经腹腔注射制备大鼠ALF模型. 通过门静脉和尾静脉注射的方式移植BMSCs. 72只大鼠随机分为3组, 对照组给予等体积生理盐水腹腔注射. 尾静脉移植组给予 $1.4 \times 10^7$ 细胞/kg P3代的BMSCs进行尾静脉注射. 门静脉移植组: 大鼠麻醉, 暴露腹腔, 经门静脉注射 $1.4 \times 10^7$ 细胞/kg的P3代BMSCs进行移植. 于移植后24、72、120、168 h收集血液样本和肝组织标本. 用4%的多聚甲醛固定肝组织标本, 进行病理组织学研究. 取部分新鲜肝组织快速投入液氮冻存, 然后贮存于-80 °C供蛋白质检测.

1.2.2 生化指标的测定: 血液离心, 采用全自动生化分析仪(Unicel DXC 800; BECKMAN COULTER)测定不同时间点大鼠血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)变化.

1.2.3 苏木素-伊红(HE)与原位细胞凋亡检测(TUNEL法): 大鼠肝组织石蜡包埋后4 μm连续切片, 切取3-5张切片行HE染色, 每张切片分别随机选择5个低倍(×200)和高倍视野(×400), 光镜下观察BMSCs移植后肝组织病理变化. 用

TUNEL检测试剂盒(购自瑞士Roche Applied Science)检测细胞凋亡. 按照TUNEL检测试剂盒说明书操作步骤进行, 光镜下分析结果. 每张切片观察500个细胞, 计算每100个细胞中平均阳性细胞数, 即凋亡指数(apoptosis index, AI).

1.2.4 采用免疫组织化学方法检测肝组织Caspase1、IL-18蛋白的表达: 加Caspase1(1:100, ab17820, abcam MA, USA)或IL-18抗体(1:100, sc-6179, Santa Cruz Biotechnology), 再加生物素标记的第二抗体及链霉菌抗生物素蛋白-过氧化物酶溶液, 经DAB显色, 苏木素复染, 中性树脂封片. 在阳性标本上以磷酸盐缓冲液代替第一抗体作阴性对照. 细胞膜或胞浆染成棕黄色的为阳性细胞.

1.2.5 采用Western blot检测肝组织Caspase1、IL-18蛋白的表达: 称取不同时间点的肝组织约100 mg, 加入预冷的细胞裂解液, 冰磨匀浆3-5 min, 按1:3加入上样缓冲液, 加热变性(96 °C加热5 min). 用10%聚丙烯酰胺凝胶垂直平板电泳, 待溴酚蓝接近底线时终止电泳. 将分离后的蛋白质从SDS聚丙烯酰胺凝胶电泳转至硝酸纤维素滤膜上, 封闭液室温封闭1 h. 加入一抗Caspase1(1:200)、IL-18(1:200)、GAPDH(1:1000, sc-25778, Santa Cruz Biotechnology), 4 °C过夜. 次日, TBST洗膜后, 置于碱性磷酸酶标记的二抗中孵育, 洗后显色, 免疫反应在酶的作用底物下显影. 用Quantity One分析软件进行图像分析, 以GAPDH的测定结果相比较, 计算其比值.

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计学软件进行统计学处理. 计量资料以mean±SD表示, 组间比较采用随机区组设计的方差分析; 计数资料采用秩转换后的方差分析; 相关分析采用Pearson相关分析, P<0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 血清ALT、AST的水平变化 从表1可知经

### ■ 相关报道

Parekkadan等发现BMSCs来源的细胞因子能够防止肝细胞坏死, 提高暴发性肝衰竭的生存率. 研究发现BMSCs具有抑制肝细胞凋亡、促进肝细胞增殖作用. BMSCs能通过旁分泌作用, 分泌多种细胞因子和生长因子, 促进肝细胞再生, 抑制炎症反应及细胞凋亡.

## ■创新盘点

ALF病情凶险, 客观、及时有效地评价ALF患者的病情及预后并指导临床治疗显得尤为重要。该研究提示Caspase1、IL-18治疗过程中的变化趋势可以一定程度上反映ALF的治疗效果及预后, 因此Caspase1、IL-18可望成为ALF的预后评估和未来的治疗靶点。

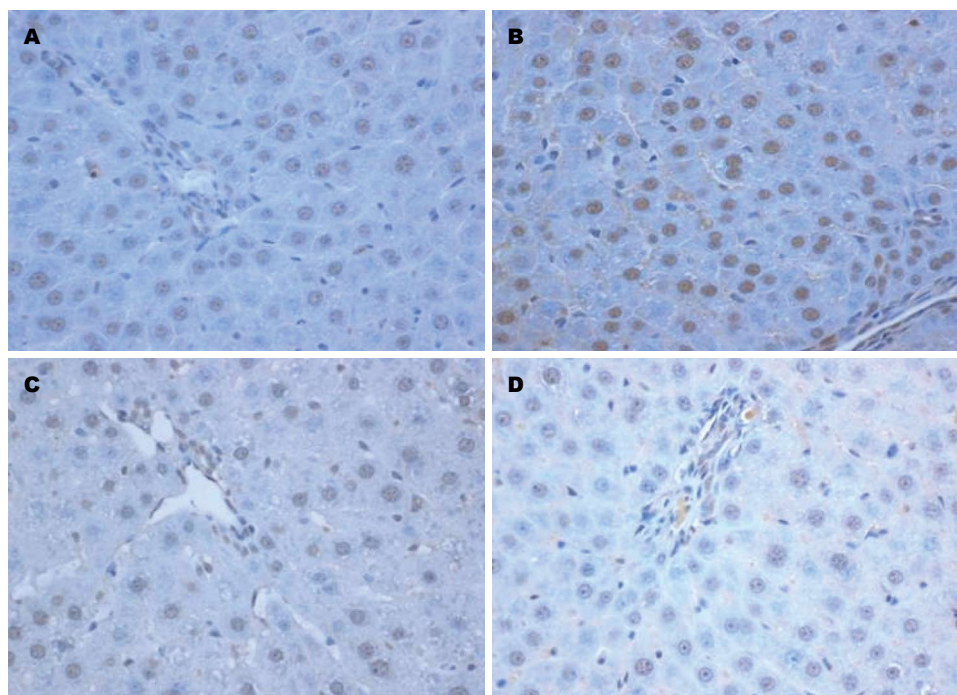


图1 肝细胞凋亡(TUNEL  $\times 400$ ). A: TUNEL对照组成模24 h; B: TUNEL对照组成模168 h; C: TUNEL尾静脉组168 h; D: TUNEL门静脉组168 h.

表2 BMSCs治疗ALF对肝细胞凋亡指数的影响(%)

分组	24 h	72 h	120 h	168 h
对照组	47.00 $\pm$ 17.64	51.17 $\pm$ 11.37	55.17 $\pm$ 10.08	57.17 $\pm$ 6.82
尾静脉移植	45.33 $\pm$ 13.05	41.67 $\pm$ 7.17	28.17 $\pm$ 17.08 <sup>a</sup>	19.67 $\pm$ 11.82 <sup>b</sup>
门静脉移植	43.83 $\pm$ 14.95	40.00 $\pm$ 15.11	20.67 $\pm$ 12.68 <sup>a</sup>	13.00 $\pm$ 6.84 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $F = 23.07$ ; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

D-GalN/LPS处理后, 对照组大鼠血清ALT、AST水平随着时间的延长逐渐升高, BMSCs移植组的大鼠血清ALT、AST逐渐下降. 移植后120、168 h BMSCs移植组的血清ALT、AST与对照组相比差别有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1). 尾静脉与门尾静脉移植组之间血ALT、AST差异无统计学意义( $P > 0.05$ ).

**2.2 BMSCs移植对肝细胞凋亡的影响** TUNEL染色可见BMSCs移植组肝细胞坏死、凋亡明显减轻. 移植后120 h尾静脉组、门静脉组细胞凋亡指数分别为28.17%  $\pm$  17.08%、20.67%  $\pm$  12.68%; 移植后168 h细胞凋亡指数分别为19.67%  $\pm$  11.82%、13.00%  $\pm$  6.84%, 与对照组相比差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). 尾静脉和门静脉移植组之间肝细胞凋亡改善情况无统计学差异( $P > 0.05$ )(图1, 表2).

**2.3 免疫组织化学检测大鼠肝组织中Caspase1、**

IL-18蛋白的表达 免疫组织化学显示: BMSCs移植组中Caspase1、IL-18蛋白的表达水平随肝功能的好转逐渐降低, 在移植后120、168 h与对照组相比有显著性差异( $P < 0.05$ , 表3). 相关分析发现Caspase1、IL-18两者呈正相关, 相关系数为0.56( $P < 0.01$ ); Caspase1、IL-18与肝细胞凋亡之间均有明显的相关性, 相关系数分别0.753、0.737( $P < 0.01$ )(图2).

**2.4 Western blot检测大鼠肝组织中Caspase1、IL-18蛋白的表达** Western blot结果显示: BMSCs移植组中Caspase1、IL-18灰度值随肝功能好转逐渐下降. 移植后120 h BMSCs移植组中Caspase1、IL-18灰度值分别为0.46  $\pm$  0.24、0.10  $\pm$  0.01; 移植后168 h, Caspase1、IL-18灰度值分别为0.38  $\pm$  0.25、0.08  $\pm$  0.02, 与对照组相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 相关分析显示Caspase1、IL-18两者呈正相关( $r = 0.719$ ,  $P < 0.01$ , 图3).



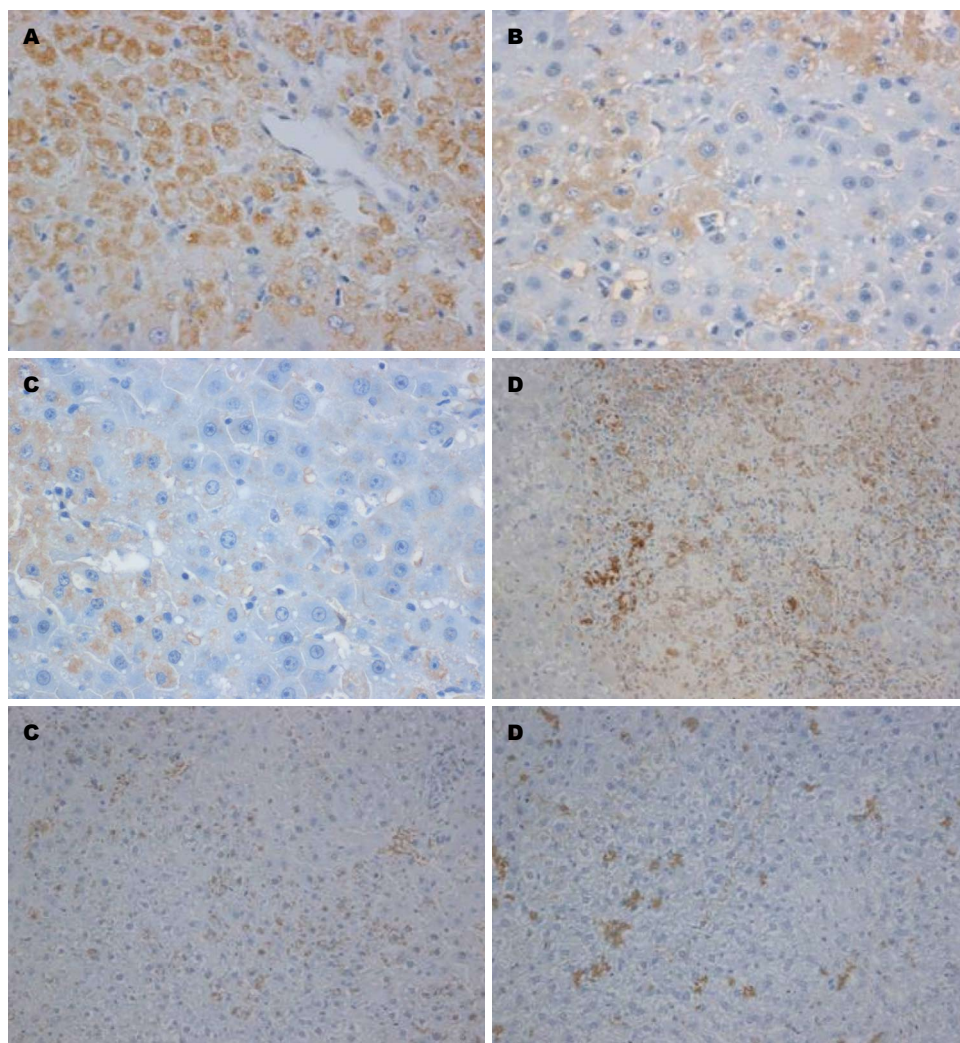


图2 免疫组织化学检测Caspase1、IL-18蛋白的表达。A: Caspase1对照组168 h( $\times 400$ ); B: Caspase1尾静脉组168 h( $\times 400$ ); C: Caspase1门静脉组168 h( $\times 400$ ); D: IL-18对照组168 h( $\times 200$ ); E: IL-18尾静脉组168 h( $\times 200$ ); F: IL-18门静脉组168 h( $\times 200$ )。Caspase1: 半胱氨酸蛋白酶1; IL-18: 白介素18。

#### 应用要点

本研究通过观察BMSCs治疗大鼠ALF的疗效,探讨BMSCs移植对肝细胞凋亡、肝组织Caspase1、IL-18蛋白表达的影响,为临床开展BMSCs移植治疗ALF、评价ALF患者的病情严重程度及预后指标应用于临床实践中提供实验依据。

### 3 讨论

肝衰竭是一种重症肝病,可由不同原因引发,但归根结底表现为肝细胞和肝脏内其他类型细胞的过度死亡<sup>[14,15]</sup>。目前认为肝脏大面积坏死的机制主要和肝细胞凋亡、微循环障碍等因素有关。其中细胞凋亡是导致肝脏二次打击的重要细胞机制<sup>[5,16]</sup>。近年来关于细胞死亡的细胞内信号转导机制研究已取得了很大进展。Parekkadan等<sup>[17]</sup>发现BMSCs来源的细胞因子能够防止肝细胞坏死,提高暴发性肝衰竭的生存率。研究发现BMSCs具有抑制肝细胞凋亡、促进肝细胞增殖作用<sup>[18,19]</sup>。BMSCs能通过旁分泌作用,分泌多种细胞因子和生长因子,促进肝细胞再生,抑制炎症反应及细胞凋亡<sup>[20,21]</sup>。明确急性肝衰竭的发病机制,在早期阻止肝细胞凋亡、促进肝再生是提高ALF患者生存率的关键<sup>[22]</sup>。目前研究显示在肝脏严重受损、肝细胞增殖受抑制时,BMSCs

具有持久生成肝细胞和胆管细胞的能力,在肝损伤后的修复过程中,参与补充因损伤而减少的肝细胞数量,参与修复因损伤破坏的肝组织结构<sup>[23]</sup>。国内外多次实验证明,将BMSCs移植入受损的肝脏组织中,通过免疫荧光标记和体内成像追踪均有BMSCs在肝脏中的定植,且对比BMSCs移植入肝损伤组和正常组后,发现BMSCs在肝损伤组中定植的数量、分布范围明显高于正常组<sup>[24]</sup>。Aurich等<sup>[25]</sup>将人BMSCs在体外用特定的生长因子向肝细胞诱导分化,BMSCs表现了肝细胞的形态和功能,将此种诱导的BMSCs移植入免疫缺陷小鼠肝脏内,BMSCs可在肝脏内定居,并且细胞开始贮存糖原、表达白蛋白、表达人肝细胞特异性抗原等,这表明移植的细胞保持了肝细胞的特性,因此BMSCs有望为肝脏疾病治疗提供新的细胞来源。

本研究采用了D-Gal/LPS诱导的大鼠AHF模



## ■同行评价

本文结果可靠, 条理分明, 实验证据较充足, 得出的科学结论有一定价值, 为今后ALF在临床方面的快速进展展示了曙光。

表 3 BMSCs治疗ALF对Caspase1、IL-18蛋白表达的影响 (mean  $\pm$  SD)

分组	24 h		120 h		168 h	
	Caspase1	IL-18	Caspase1	IL-18	Caspase1	IL-18
对照组	48.17 $\pm$ 20.52	44.75 $\pm$ 21.91	52.75 $\pm$ 12.87	43.50 $\pm$ 19.49	56.67 $\pm$ 12.14	46.75 $\pm$ 21.33
尾静脉移植组	44.92 $\pm$ 9.59	44.25 $\pm$ 13.80	22.67 $\pm$ 14.20 <sup>a</sup>	25.50 $\pm$ 20.21 <sup>c</sup>	18.08 $\pm$ 11.23 <sup>a</sup>	23.50 $\pm$ 18.22 <sup>c</sup>
门静脉移植组	40.33 $\pm$ 16.16	43.50 $\pm$ 19.49	16.00 $\pm$ 13.23 <sup>a</sup>	23.50 $\pm$ 18.22 <sup>c</sup>	13.50 $\pm$ 0.01 <sup>a</sup>	18.25 $\pm$ 6.74 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $F = 21.51$ , <sup>a</sup> $P < 0.05$ ; <sup>c</sup> $F = 4.243$ , <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组. Caspase1: 半胱氨酸蛋白酶1; IL-18: 白介素18.

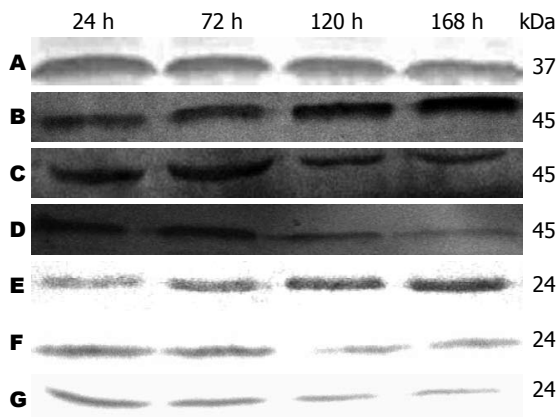


图 3 Western blot检测Caspase1、IL-18蛋白的表达. A: GAPDH; B: Caspase1对照组; C: Caspase1尾静脉组; D: Caspase1门静脉组; E: IL-18对照组; F: IL-18尾静脉组; G: IL-18门静脉组. Caspase1: 半胱氨酸蛋白酶1; IL-18: 白介素18.

型. 模型建立后, 肝衰竭对照组大鼠血清ALT、AST水平和肝细胞凋亡指数较BMSCs移植组明显升高. BMSCs移植120、168 h后大鼠肝功能逐渐恢复, 肝细胞坏死、凋亡较对照组明显减轻, 与以往报道一致. 提示BMSCs移植可抑制炎症反应及细胞程序性死亡, 从而修复缺损组织, 说明BMSCs对ALF大鼠具有一定治疗作用.

Caspases是一组天门冬氨酸特异性的半胱氨酸蛋白酶, Caspases的活化是导致凋亡的中心环节. Caspase1是Caspase家族的奠基成员, 因可催化IL-1 $\beta$ 转化为活性分子, 曾被命名为IL-1转化酶, 他不仅参与多种细胞的凋亡, 而且对致炎细胞因子IL-18、IL-1 $\beta$ 的成熟起着至关重要的作用, 是IL-18活化所必须的蛋白酶. 通过对小鼠的Caspase1基因敲除后也发现, Caspase1<sup>-/-</sup>小鼠缺乏成熟的IL-18, 提示Caspase1为发育成熟的IL-18所必须. Caspase1还可通过FasL刺激机制及其他IL-18前体切断酶来增加IL-18的产生<sup>[26,27]</sup>. IL-18是一种能强烈诱导 $\gamma$ 干扰素(interferon- $\gamma$ , INF- $\gamma$ )的新型细胞因子, 主要由活化的巨噬细胞产生, 诱导Th1、NK、NKT细胞, 同时还具有抗感染、介导炎症反应、诱导神经细胞凋亡等多种生

物学活性<sup>[28,29]</sup>. IL-18可诱导免疫细胞产生大量INF- $\gamma$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、Fas配体及穿孔素, 还能增强自然杀伤细胞及CTL活性杀伤靶细胞活性, 引起肝细胞坏死和凋亡, 在重型肝炎发病机制中起着重要的作用<sup>[30,31]</sup>.

我们通过免疫组织化学和Western blot法检测了大鼠ALF肝组织中Caspase1、IL-18表达的情况, 发现二者的表达趋势一致. 随着凋亡的加重, 其表达逐渐增高, 且Caspase1、IL-18与肝细胞凋亡之间有明显的相关性, 说明Caspase1、IL-18在肝细胞凋亡中发挥一定作用. 由于Caspase1是IL-18的活化酶, ALF时二者的同时增高提示Caspase1的表达激活并增加了IL-18的释放, 后者参与并进一步加重了组织的损伤, 促进了ALF的发生.

本研究结果发现, 随着血清中ALT、AST水平的升高, ALF大鼠肝组织Caspase1、IL-18水平显著升高, 反映了肝功能的急剧恶化和疾病严重程度, 说明Caspase1、IL-18在ALF的发病过程中起到相当重要的作用, 提示Caspase1、IL-18可作为ALF的诊断和预后观察的敏感标志蛋白. BMSCs移植治疗后, 肝组织中Caspase1、IL-18的表达水平呈下降趋势, 大鼠肝功能逐渐恢复, 提示BMSCs移植能改善ALF大鼠的免疫状况、对ALF大鼠有一定的保护作用, 可以降低Caspase1、IL-18水平, 调节促炎与抗炎因子达到新的平衡, 这可能是BMSC移植治疗ALF的作用机制之一. 肝衰竭病情凶险, 客观、及时有效地评价肝衰竭患者的病情及预后并指导临床治疗显得尤为重要. 该研究提示Caspase1、IL-18治疗过程中的变化趋势可以一定程度上反映ALF的治疗效果及预后, 因此Caspase1、IL-18可望成为ALF的预后评估和未来的治疗靶点.

## 4 参考文献

- Bernal W, Auzinger G, Dhawan A, Wendon J. Acute liver failure. *Lancet* 2010; 376: 190-201 [PMID: 20638564 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)60274-7]

- 2 Oketani M, Ido A, Tsubouchi H. Changing etiologies and outcomes of acute liver failure: A perspective from Japan. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 1: 65-71 [PMID: 21199516]
- 3 Korman JD, Vollenberg I, Balko J, Webster J, Schiodt FV, Squires RH, Fontana RJ, Lee WM, Schilsky ML. Screening for Wilson disease in acute liver failure: a comparison of currently available diagnostic tests. *Hepatology* 2008; 48: 1167-1174 [PMID: 18798336]
- 4 Stravitz RT, Kramer DJ. Management of acute liver failure. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2009; 6: 542-553 [PMID: 19652652]
- 5 Muraca M. Evolving concepts in cell therapy of liver disease and current clinical perspectives. *Dig Liver Dis* 2011; 43: 180-187 [PMID: 20869923]
- 6 Chen Y, Xiang LX, Shao JZ, Pan RL, Wang YX, Dong XJ, Zhang GR. Recruitment of endogenous bone marrow mesenchymal stem cells towards injured liver. *J Cell Mol Med* 2010; 14: 1494-1508 [PMID: 19780871 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00912.x]
- 7 Stutchfield BM, Forbes SJ, Wigmore SJ. Prospects for stem cell transplantation in the treatment of hepatic disease. *Liver Transpl* 2010; 16: 827-836 [PMID: 20583084 DOI: 10.1002/lt.22083]
- 8 Bajek A, Olkowska J, Drewna T. [Mesenchymal stem cells as a therapeutic tool in tissue and organ regeneration]. *Postepy Hig Med Dosw* (Online) 2011; 65: 124-132 [PMID: 21358000 DOI: 10.5604/17322693.933878]
- 9 Stuart WD, Kulkarni RM, Gray JK, Vasiliaskas J, Leonis MA, Waltz SE. Ron receptor regulates Kupffer cell-dependent cytokine production and hepatocyte survival following endotoxin exposure in mice. *Hepatology* 2011; 53: 1618-1628 [PMID: 21520175 DOI: 10.1002/hep.24239]
- 10 Lee WM, Squires RH, Nyberg SL, Doo E, Hoofnagle JH. Acute liver failure: Summary of a workshop. *Hepatology* 2008; 47: 1401-1415 [PMID: 18318440]
- 11 Tschoeke SK, Oberholzer A, Moldawer LL. Interleukin-18: a novel prognostic cytokine in bacteria-induced sepsis. *Crit Care Med* 2006; 34: 1225-1233 [PMID: 16540967 DOI: 10.1097/01.CCM.0000208356.05575.16]
- 12 张示渊. IL-18和caspase-1在大鼠急性肝衰竭模型中表达及其意义. 第三军医大学学报 2011; 33: 2034-2039
- 13 Yi T, Song SU. Immunomodulatory properties of mesenchymal stem cells and their therapeutic applications. *Arch Pharm Res* 2012; 35: 213-221 [PMID: 22370776]
- 14 Kisseleva T, Gigante E, Brenner DA. Recent advances in liver stem cell therapy. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 395-402 [PMID: 20495456 DOI: 10.1097/MOG.0b013e328333]
- 15 Popp FC, Renner P, Eggenhofer E, Slowik P, Geissler EK, Piso P, Schlitt HJ, Dahlke MH. Mesenchymal stem cells as immunomodulators after liver transplantation. *Liver Transpl* 2009; 15: 1192-1198 [PMID: 19790154 DOI: 10.1002/lt.21862]
- 16 Guicciardi ME, Gores GJ. Apoptosis: a mechanism of acute and chronic liver injury. *Gut* 2005; 54: 1024-1033 [PMID: 15951554 DOI: 10.1136/gut.2004.053850]
- 17 Parekkadan B, Milwid JM. Mesenchymal stem cells as therapeutics. *Annu Rev Biomed Eng* 2010; 12: 87-117 [PMID: 20415588]
- 18 Cho KA, Ju SY, Cho SJ, Jung YJ, Woo SY, Seoh JY, Han HS, Ryu KH. Mesenchymal stem cells showed the highest potential for the regeneration of injured liver tissue compared with other subpopulations of the bone marrow. *Cell Biol Int* 2009; 33: 772-777 [PMID: 19427913 DOI: 10.1016/j.cellbi.2009.04.023]
- 19 Ding DC, Shyu WC, Lin SZ. Mesenchymal stem cells. *Cell Transplant* 2011; 20: 5-14 [PMID: 21396235 DOI: 10.3727/096368910X]
- 20 Sordi V, Piemonti L. Therapeutic plasticity of stem cells and allograft tolerance. *Cytotherapy* 2011; 13: 647-660 [PMID: 21554176 DOI: 10.3109/14653249.2011.583476]
- 21 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941 [PMID: 17895982]
- 22 Peterbauer-Scherb A, van Griensven M, Meinel A, Gabriel C, Redl H, Wolbank S. Isolation of pig bone marrow mesenchymal stem cells suitable for one-step procedures in chondrogenic regeneration. *J Tissue Eng Regen Med* 2010; 4: 485-490 [PMID: 20112279 DOI: 10.1002/term.262]
- 23 Petrie Aronin CE, Tuan RS. Therapeutic potential of the immunomodulatory activities of adult mesenchymal stem cells. *Birth Defects Res C Embryo Today* 2010; 90: 67-74 [PMID: 20301222]
- 24 Ju S, Teng GJ, Lu H, et al. In vivo MR tracking of mesenchymal stem cells in rat liver after intrasplenic transplantation. *Radiology* 2007; 245: 206-215
- 25 Aurich I, Mueller LP, Aurich H, Luetzkendorf J, Tisljar K, Dollinger MM, Schormann W, Walldorf J, Hengstler JG, Fleig WE, Christ B. Functional integration of hepatocytes derived from human mesenchymal stem cells into mouse livers. *Gut* 2007; 56: 405-415 [PMID: 16928726 DOI: 10.1136/gut.2005.090050]
- 26 邓利娟, 李湛军, 罗楹, 范慧红. Caspase抑制剂F1013对急性肝衰竭大鼠肝细胞凋亡的影响. 中国临床药理学与治疗学 2010; 15: 1229-1233
- 27 Fantuzzi G, Puren AJ, Harding MW, Livingston DJ, Dinarello CA. Interleukin-18 regulation of interferon gamma production and cell proliferation as shown in interleukin-1beta-converting enzyme (caspase-1)-deficient mice. *Blood* 1998; 91: 2118-2125 [PMID: 9490698]
- 28 佟春玲, 陆涛峰, 余露露, 章嘎, 巴音吉日嘎拉, 关伟军, 马月辉. IL-18在临床疾病中的作用. 生物技术通报 2009; (Z1): 101-103
- 29 Dinarello CA. Interleukin-18 and the pathogenesis of inflammatory diseases. *Semin Nephrol* 2007; 27: 98-114 [PMID: 17336692 DOI: 10.1016/j.semnephrol.2006.09.013]
- 30 Dinarello CA. Interleukin 1 and interleukin 18 as mediators of inflammation and the aging process. *Am J Clin Nutr* 2006; 83: 447S-455S [PMID: 16470011]
- 31 党双锁, 高宁, 程延安. 实验性肝硬化大鼠细胞因子IL-18、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 的变化及意义. 西安交通大学学报(医学版) 2010; 31: 148-153

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 手术改善Goto-Kakizaki大鼠血糖中胆胰液转流的重要作用

冯 苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊

## ■背景资料

外科手术改善2型糖尿病研究已过渡到临床, 虽然已发现部分机制, 但仍有不足之处, 个别机制还存在争议, 动物研究可以很好的阐明一些机制, 并指导临床的研究. 本文通过不同术式的比较, 通过胆胰液的转流来探索相关的机制, 是外科手术改善II型糖尿病研究一个补充.

冯苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊, 徐州市中心医院(东南大学医学院附属徐州医院) 江苏省徐州市 221009

冯苏, 住院医师, 主要从事胃旁路术改善2型糖尿病的研究.

徐州市中心医院博士(硕士)创新团队科技基金资助项目, No. xzs2012057

作者贡献分布: 冯苏与贾高磊对此文所作贡献均等, 主要负责课题的设计, 具体实验的实施, 数据的采集及统计学分析, 相关文献的查找, 论文的撰写; 实验过程中数据的采集和相关试剂的购买, 得到王小凯医师的协助; 实验设计指导, 论文书写指导, 结果讨论分析得到田志龙与奚海林博士的指导.

通讯作者: 贾高磊, 高年资主治医师, 221009, 徐州市泉山区解放南路199号, 徐州市中心医院(东南大学医学院附属徐州医院) 普外科诊疗中心. 305351160@qq.com  
电话: 051683956131

收稿日期: 2013-11-13 修回日期: 2013-12-09

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Modified biliopancreatic diversion surgery improves glucose levels in Goto-Kakizaki rats

Su Feng, Zhi-Long Tian, Hai-Lin Xi, Xiao-Kai Wang, Gao-Lei Jia

Su Feng, Zhi-Long Tian, Xiao-Kai Wang, Hai-Lin Xi, Gao-Lei Jia, Department of General Surgery, Xuzhou Central Hospital, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China

Supported by: Doctoral Innovation Team Fund of Xuzhou Central Hospital, No. xzs2012057

Correspondence to: Gao-Lei Jia, Attending Physician, Department of General Surgery, Xuzhou Central Hospital, 199 Jiefang North Road, Xuzhou 221009, Jiangsu Province, China. 305351160@qq.com

Received: 2013-11-13 Revised: 2013-12-09

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To compare the effect of modified biliopancreatic diversion (MBPD) surgery versus duodenal-jejunal bypass (DJB) surgery in improving glucose levels in Goto-Kakizaki (GK) rats, and to explore the possible mechanisms.

**METHODS:** Thirty male GK rats were randomized into three groups to undergo sham operation, MBPD surgery and DJB surgery, respectively. Body mass, fasting plasma glucose and random plasma glucose were determined 1 week before and 1, 4, 8 wk after operation. Insulin, oral glucose tolerance test (OGTT), cholesterol,

triglyceride and free fatty acid were determined 1 wk before and 4 wk after operation.

**RESULTS:** One week after the surgery, body mass of MBPD- and DJB-treated rats significantly decreased ( $304.990 \text{ g} \pm 12.156 \text{ g}$  vs  $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$ ,  $P = 0.011$ ;  $308.540 \text{ g} \pm 9.637 \text{ g}$  vs  $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$ ,  $P = 0.024$ ). MBPD- and DJB-treated rats had better oral glucose tolerance ( $17.350 \text{ mmol/L} \pm 2.220 \text{ mmol/L}$  vs  $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.009$ ;  $18.238 \text{ mmol/L} \pm 1.364 \text{ mmol/L}$  vs  $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.024$ ) compared with the sham operation group. Random plasma glucose ( $9.620 \text{ mmol/L} \pm 0.794 \text{ mmol/L}$  vs  $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.001$ ;  $9.200 \text{ mmol/L} \pm 1.000 \text{ mmol/L}$  vs  $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.001$ ), insulin ( $0.476 \text{ ng/mL} \pm 0.068 \text{ ng/mL}$  vs  $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.542 \text{ ng/mL} \pm 0.055 \text{ ng/mL}$  vs  $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$ ,  $P < 0.05$ ), cholesterol ( $2.550 \text{ mmol/L} \pm 0.691 \text{ mmol/L}$  vs  $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ;  $2.450 \text{ mmol/L} \pm 0.424 \text{ mmol/L}$  vs  $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ) and free fatty acid ( $697.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 103.77 \text{ } \mu\text{Eq/L}$  vs  $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ ,  $P < 0.05$ ;  $670.333 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 129.421 \text{ } \mu\text{Eq/L}$  vs  $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ ,  $P < 0.05$ ) of MBPD- and DJB-treated rats were lower than those in the sham operation group after operation, but triglycerides ( $1.329 \text{ mmol/L} \pm 0.716 \text{ mmol/L}$  vs  $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ;  $1.569 \text{ mmol/L} \pm 0.612 \text{ mmol/L}$  vs  $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ) of MBPD- and DJB-treated rats were significantly higher.

**CONCLUSION:** Modified biliopancreatic diversion surgery is superior to bowel bypass in improving glucose levels in Goto-Kakizaki rats.

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

**Key Words:** Modified biliopancreatic diversion surgery; Duodenal-jejunal bypass surgery; Goto-Kakizaki (GK) rats; Random plasma glucose; Insulin; Cholesterol; Triglyceride; Free fatty acid

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属医院第一医院



Feng S, Tian ZL, Xi HL, Wang XK, Jia GL. Modified biliopancreatic diversion surgery improves glucose levels in Goto-Kakizaki rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 766-772 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.766>

## 摘要

**目的:** 通过比较改良胆胰转流术和十二指肠改道术对非肥胖性2型糖尿病模型鼠(Goto-Kakizaki, GK)大鼠的降糖作用, 以此探索外科手术改善糖尿病的部分机制。

**方法:** 将30只GK大鼠随机分为A、B、C组, 每组10只。分别对A组行假手术, 对B组行改良胆胰转流术(modified biliopancreatic diversion surgery, MBPD), 对C组行十二指肠改道术(duodenal-jejunal bypass surgery, DJB)。术前1 wk及术后第1、4、8周两组大鼠空腹血糖、随机血糖和体质量。术前1 wk及术后第4周糖耐量、胰岛素和血脂(胆固醇、甘油三酯、游离脂肪酸)。

**结果:** 术后1 wk B和C组体质量下降明显, 与A组比较有差异( $304.990 \text{ g} \pm 12.156 \text{ g}$  vs  $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$ ,  $P = 0.011$ ;  $308.540 \text{ g} \pm 9.637 \text{ g}$  vs  $320.568 \text{ g} \pm 10.607 \text{ g}$ ,  $P = 0.024$ )。术后4、8 wk 三组间体质量无差异性。术后B组和C组随机血糖小于A组( $9.620 \text{ mmol/L} \pm 0.794 \text{ mmol/L}$  vs  $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.001$ ;  $9.200 \text{ mmol/L} \pm 1.000 \text{ mmol/L}$  vs  $14.471 \text{ mmol/L} \pm 2.531 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.001$ ), 有统计学意义。三组空腹血糖术前、术后未见明显的差异。术后4 wk B组和C组糖耐量峰值( $17.350 \text{ mmol/L} \pm 2.220 \text{ mmol/L}$  vs  $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.009$ ;  $18.238 \text{ mmol/L} \pm 1.364 \text{ mmol/L}$  vs  $20.600 \text{ mmol/L} \pm 2.381 \text{ mmol/L}$ ,  $P = 0.024$ )、胰岛素含量( $0.476 \text{ ng/mL} \pm 0.068 \text{ ng/mL}$  vs  $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$ ,  $P < 0.05$ ;  $0.542 \text{ ng/mL} \pm 0.055 \text{ ng/mL}$  vs  $0.724 \text{ ng/mL} \pm 0.192 \text{ ng/mL}$ ,  $P < 0.05$ )明显低于A组, 有统计学意义, 术后B组和C组胆固醇( $2.550 \text{ mmol/L} \pm 0.691 \text{ mmol/L}$  vs  $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ;  $2.450 \text{ mmol/L} \pm 0.424 \text{ mmol/L}$  vs  $3.125 \text{ mmol/L} \pm 0.267 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ )、游离脂肪酸( $697.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 103.77 \text{ } \mu\text{Eq/L}$  vs  $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ ,  $P < 0.05$ ;  $670.333 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 129.421 \text{ } \mu\text{Eq/L}$  vs  $994.667 \text{ } \mu\text{Eq/L} \pm 257.817 \text{ } \mu\text{Eq/L}$ ,  $P < 0.05$ )含量小于A组, 有统计学意义, 术后B组和C组甘油三酯含量大于A组( $1.329 \text{ mmol/L} \pm 0.716 \text{ mmol/L}$  vs  $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ;  $1.569$

$\text{mmol/L} \pm 0.612 \text{ mmol/L}$  vs  $0.754 \text{ mmol/L} \pm 0.236 \text{ mmol/L}$ ,  $P < 0.05$ ), 有统计学意义。

**结论:** 十二指肠改道术改善GK大鼠血糖方面不优于改良胆胰转流术, 胆胰液的转流在2型糖尿病的改善中起到重要的作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 改良胆胰转流术; 十二指肠改道术; GK大鼠; 随机血糖; 胰岛素; 胆固醇; 甘油三酯; 游离脂肪酸

**核心提示:** 本文通过单独的胆胰液转流术和十二指肠改道术对比研究, 可以针对性地研究胆胰液的作用, 食物的消化吸收受到胆胰液的影响, 术后必然存在消化吸收的改变, 相关的变化机制有待进一步阐明, 可以更好指导临床的治疗。

冯苏, 田志龙, 奚海林, 王小凯, 贾高磊. 手术改善Goto-Kakizaki大鼠血糖中胆胰液转流的重要作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 766-772 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/766.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.766>

## 0 引言

减肥手术可以有效地改善肥胖型2型糖尿病, 其效果已得到大量的临床及基础研究证实, 对非肥胖2型糖尿病的外科治疗也有大量的研究<sup>[1]</sup>. Rubino通过(Goto-Kakizaki, GK)大鼠(非肥胖性2型糖尿病模型鼠)研究证实十二指肠改道术(duodenal-jejunal bypass, DJB)(图1)可以有效地改善血糖, 其机制可能与肠道的旷置和胆胰液的转流有关<sup>[2]</sup>. 外科手术术后, 消化系重建, 胆汁和胰液与食物混合的时间推迟, 而胆汁和胰液对食物的消化起着决定性的作用, 很可能对食物的消化造成影响. 不含肠道旷置的胆胰液转流后是否使得食物中的糖类、脂类消化吸收发生改变, 从而改善血糖呢? 改良胆胰转流手术(modify biliopancreatic diversion, MBPD)(图2)仅推迟胆汁和胰液与食物混合的时间与部位, 避开了肠道的旷置, 可以独立出胆胰液转流的因素<sup>[3]</sup>. DJB则包含肠道(十二指肠和空肠上段)的旷置和胆胰液的转流, 通过观察这两种术式的降糖效果, 探讨外科手术治疗2型糖尿病中的可能机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 12-14周龄SPF级♂GK大鼠30只, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, 实验动物证号: SCXK(沪)2007-0005, 合格证编码:

## ■研究前沿

外科手术改善2型糖尿病研究中, 胆胰液的转流和肠道的旷置共同起到的作用, 但胆胰液的转流到底起到什么样的作用, 尚不清楚, 本文通过对比研究探索胆胰液的转流所起到的作用, 来进一步探索相关机制。

## ■相关报道

最新的研究显示手术改善Ⅱ型糖尿病可以起到很好的作用,临床应用患者数也在逐年增加,患者耐受性好,但也存在部分患者效果差,原因有待进一步研究。



图1 十二指肠改道术。



图2 改良胆胰转流术。

2007000522007. 体质量280-300 g/只,饲养于实验动物中心,动物自由进饮,喂食5%脂肪的饲料,20-25 g/d,适应环境2 wk。

### 1.2 方法

1.2.1 分组及手术治疗: 30只大鼠编号,根据随机数字表,将GK大鼠随机分为A、B、C组,每组10只。对A组行假手术,对B组行改良胆胰转流术,对C组行十二指肠改道术。术前1 d大鼠禁食不禁饮,手术过程间断吸入七氟烷麻醉。DJB组:于幽门下结扎部分血管后横断十二指肠与幽门连接处,远端结扎;在距Treitz韧带10 cm处切断空肠,远端空肠与幽门做端端吻合,近端空肠与距Treitz韧带20 cm处空肠做端侧吻合(图1)。MBPD组:在胆肠汇合点处肠管的近端0.5 cm处横断十二指肠,远端封闭;胆肠汇合点远端0.5 cm处横断十二指肠,将近端十二指肠与远端十二指肠吻合,并将胆肠汇合点1 cm肠管与距Treitz韧带20 cm处肠管行端侧吻合(图2)。假手术组:在胆管上距幽门1 cm处切断十二指肠后原位缝合。

1.2.2 实验过程中各指标的检测:所有大鼠适应环境2 wk后,检测大鼠体质量、空腹血糖、随机血糖及糖耐量(oral glucose tolerance, OGTT),术前1 wk内毗静脉取血。术后第1、4、8周检测大鼠体质量、空腹血糖、随机血糖,术后4 wk检测OGTT,内毗静脉取血。各指标的检测方法: (1)体质量:禁食后电子秤称质量; (2)空腹血糖:禁食后,尾部取血。随机血糖:非禁食状态下于早上随机时间尾部取血。都使用罗氏活力型一键式微量血糖仪检测; (3)OGTT:大鼠隔夜禁食12-14 h后,检测大鼠空腹血糖,按2 g/kg予以500 mL/L葡萄糖溶液灌胃,分别在灌胃后30、60、120、180 min时,尾部取血,使用罗氏活力型一键式微量血糖仪检测; (4)内毗静脉取血:内毗静脉取血约1 mL左右,3000 r/min在4℃

离心15 min,分离后的血清保存在-20℃冰箱中待测量; (5)血脂:血清送检验科,检测血清甘油三酯、胆固醇、游离脂肪酸含量; (6)血浆胰岛素:用ELISA法检测血浆胰岛素含量。

**统计学处理** 使用SPSS17.0统计软件进行分析,数据以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。对体质量、空腹血糖、随机血糖,血脂和胰岛素数值分别采用术前术后配对 $t$ 检验,用 $F$ 检验多因素方差分析进行术前和术后多组及组间统计学处理, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 体质量变化 术前3组大鼠间体质量无统计学差异,术后1 wk, DJB、MBPD组大鼠体质量降至 $308.540 \text{ g} \pm 9.637 \text{ g}$ 、 $304.990 \text{ g} \pm 12.156 \text{ g}$ ,与术前( $322.540 \text{ g} \pm 13.123 \text{ g}$ 、 $324.640 \text{ g} \pm 16.798 \text{ g}$ )比较,差异有统计学意义( $P < 0.01$ ), DJB与假手术组比较( $P = 0.024 < 0.05$ )、MBPD与假手术组比较( $P = 0.011 < 0.05$ )有统计学意义。假手术组大鼠体质量在手术后也下降,但是术后与术前无统计学差异。术后4、8 wk, 3组间差异无统计学意义(表1)。

### 2.2 空腹血糖、随机血糖及OGTT含量的变化

2.2.1 空腹血糖:术前3组大鼠间空腹血糖无明显差异,术后1 wk, 3组大鼠血糖值均降低,与术前比较差异无统计学意义。相同周数时3组大鼠间空腹血糖差异也无统计学意义(表2)。

2.2.2 随机血糖:术前3组大鼠间随机血糖无明显差异,术后1、4、8 wk, DJB、MBPD组大鼠的随机血糖明显低于术前,差别具有统计学意义( $P < 0.01$ ),与假手术组分别比较,差异有统计学意义( $P < 0.001$ )。DJB组与MBPD组比较无统计学意义(表3)。

2.2.3 OGTT:术前3组大鼠间OGTT无明显差异,术后4 wk, DJB、MBPD组峰值为 $18.238 \text{ mmol/L}$

表 1 3组大鼠体重术前、术后变化 (g, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后1 wk	术后4 wk	术后8 wk
假手术组	326.557 $\pm$ 15.582	320.568 $\pm$ 10.607	332.271 $\pm$ 16.11	351.357 $\pm$ 18.652
MBPD	324.640 $\pm$ 16.798	304.990 $\pm$ 12.156 <sup>ac</sup>	328.380 $\pm$ 13.894	346.356 $\pm$ 17.840
DJB	322.540 $\pm$ 13.123	308.540 $\pm$ 9.637 <sup>ac</sup>	324.513 $\pm$ 15.832	341.714 $\pm$ 16.105

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 假手术组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 2 3组大鼠空腹血糖术前、术后变化 (mmol/L, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后1 wk	术后4 wk	术后8 wk
假手术组	6.443 $\pm$ 0.670	5.857 $\pm$ 0.562	6.661 $\pm$ 0.519	6.543 $\pm$ 0.656
MBPD	6.950 $\pm$ 0.474	6.180 $\pm$ 0.426	6.150 $\pm$ 0.659	6.278 $\pm$ 0.644
DJB	6.788 $\pm$ 0.577	6.175 $\pm$ 0.276	6.725 $\pm$ 0.636	6.743 $\pm$ 0.490

MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 3 3组大鼠随机血糖术前、术后变化 (mmol/L, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后1 wk	术后4 wk	术后8 wk
假手术组	16.771 $\pm$ 1.660	14.471 $\pm$ 2.531	16.714 $\pm$ 1.753	17.500 $\pm$ 1.860
MBPD	17.180 $\pm$ 3.383	9.620 $\pm$ 0.794 <sup>bd</sup>	11.090 $\pm$ 1.315 <sup>bd</sup>	12.589 $\pm$ 1.840 <sup>bd</sup>
DJB	17.088 $\pm$ 3.708	9.200 $\pm$ 1.000 <sup>bd</sup>	10.850 $\pm$ 1.848 <sup>bd</sup>	11.763 $\pm$ 1.756 <sup>bd</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 假手术组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

表 4 术后4 wk 3组大鼠糖耐量峰值术前、术后变化 (mmol/L, mean  $\pm$  SD)

时间	DJB	MBPD	假手术组
术前1 wk	20.112 $\pm$ 1.727	20.360 $\pm$ 3.501	20.114 $\pm$ 1.497
术后4 wk	18.238 $\pm$ 1.364 <sup>ab</sup>	17.350 $\pm$ 2.220 <sup>ab</sup>	20.600 $\pm$ 2.381

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 假手术组; <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 术前. MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术.

$\pm 1.364$  mmol/L、 $17.350$  mmol/L  $\pm 2.220$  mmol/L, 较术前明显改善( $P < 0.01$ ), 且明显低于假手术组. DJB组与假手术组比较( $P = 0.024 < 0.05$ )、MBPD组与假手术组比较( $P = 0.009 < 0.01$ )差异有统计学意义. DJB组和MBPD组比较无统计学意义(表4).

**2.3 空腹胆固醇含量的变化** 术前1 wk, 3组大鼠血清胆固醇值差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB、MBPD组血清胆固醇比术前下降, 差别有统计学意义. 假手术组术后均值也有下降, 但与术前相比, 差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB组与MBPD组大鼠血清胆固醇值差别有统计学意义( $P < 0.05$ , 表5).

**2.4 空腹甘油三酯含量的变化** 术前1 wk, 3组大鼠空腹血清甘油三酯差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB、MBPD组血清甘油三酯与术前及假手术组相比, 差别具有统计学意义. 假手术组术后4 wk甘油三酯均值基本不变, 差别无统计学意义(表6).

**2.5 空腹游离脂肪酸含量的变化** 术前1 wk, 3组大鼠血清游离脂肪酸差别无统计学意义. 术后4 wk, DJB、MBPD组血清游离脂肪酸与术前相比, 差别无统计学意义, 但是小于假手术组( $P < 0.05$ ). 而假手术组大鼠血清游离脂肪酸术后明显上升( $P < 0.05$ , 表7).

**2.6 血清胰岛素含量的变化** 术前1 wk, 3组大鼠

## ■创新盘点

本文通过单独的胆胰液转流术和十二指肠改道术对比研究, 可以针对性的研究胆胰液的作用, 通过研究可以更好的指导临床的治疗. 食物的消化吸收受到胆胰液的影响, 部分2型糖尿病患者通过饮食可以控制, 胆胰液的转流在食物的消化吸收方面的影响有多大, 有待进一步研究, 对指导临床的治疗有一定的意义.



## ■应用要点

本文通过比较胆胰转流术和十二指肠改道术来探索相关的机制,从胆胰液方面分析术后血糖的变化、血脂的变化、胰岛素的变化,对以后的动物研究有一定的指导意义,并扩大了相关的思路。

表 5 空腹状态各组大鼠胆固醇变化 (mmol/L, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	3.415 $\pm$ 0.291	3.125 $\pm$ 0.267
MBPD	3.200 $\pm$ 0.278	2.550 $\pm$ 0.691 <sup>ac</sup>
DJB	3.220 $\pm$ 0.185	2.450 $\pm$ 0.424 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 假手术组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 术前。MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

表 6 空腹状态各组大鼠甘油三酯变化 (mmol/L, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	0.792 $\pm$ 0.077	0.754 $\pm$ 0.236
MBPD	0.737 $\pm$ 0.200	1.329 $\pm$ 0.716 <sup>ac</sup>
DJB	0.660 $\pm$ 0.049	1.569 $\pm$ 0.612 <sup>ac</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 假手术组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 术前。MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

血浆胰岛素水平差别无统计学意义。术后4 wk, DJB、MBPD组空腹血清胰岛素浓度明显低于假手术组, 差别均有统计学意义。假手术组空腹血清胰岛素由术前0.372 ng/mL  $\pm$  0.050 ng/mL升高至0.724 ng/mL  $\pm$  0.192 ng/mL ( $P < 0.05$ , 表8)。

## 3 讨论

外科手术可以有效地改善甚至治愈2型糖尿病,但其机制仍然存在疑问。我们通过观察仅转移胆胰液基本不旷置肠管,对GK大鼠进行研究,结果表明MBPD能够改善GK大鼠血糖,胆胰液转流术和十二指肠改道术有相似的降糖效果。

本实验结果显示,术后1 wk, DJB、MBPD组体质量明显的小于假手术组,可以看出手术对GK大鼠的体质量还是有一定的影响,术后4、8 wk 3组大鼠的体质量明显的增加并大于术前水平,而且3组间无明显的差异,可以看出,外科手术在术后更长时间内并没有影响体质量的增加,其术后体质量下降可能是手术本身造成的,毕竟手术对消化吸收造成了一定的影响,随着大鼠肠道功能的代偿,体质量可以逐渐上升。

本实验的GK大鼠空腹血糖有所下降,但是并没有统计学意义。MBPD、DJB组可以明显的降低随机血糖,并在术后一直保持在较低水平,不管是手术前后对比还是与假手术组对比都有统计学意义。文献报道空腹血糖值跟糖尿病风险不成线性关系,许多的糖尿病患者需要糖耐

表 7 空腹状态各组大鼠游离脂肪酸变化 ( $\mu$ Eq/L, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	627.052 $\pm$ 371.840	994.667 $\pm$ 257.817 <sup>a</sup>
MBPD	762.167 $\pm$ 214.440	697.667 $\pm$ 103.774 <sup>c</sup>
DJB	630.000 $\pm$ 66.216	670.333 $\pm$ 129.421 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 术前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 假手术组。MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

表 8 各组大鼠血浆胰岛素变化 (ng/mL, mean  $\pm$  SD)

分组	术前1 wk	术后4 wk
假手术组	0.372 $\pm$ 0.050	0.724 $\pm$ 0.192 <sup>a</sup>
MBPD	0.375 $\pm$ 0.023	0.476 $\pm$ 0.068 <sup>c</sup>
DJB	0.372 $\pm$ 0.023	0.542 $\pm$ 0.055 <sup>c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 术前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 假手术组。MBPD: 改良胆胰转流术; DJB: 十二指肠改道术。

量的检测后才能被筛查出来<sup>[4]</sup>。可以看出空腹血糖值得变化对糖尿病的敏感性还是有限的,糖耐量的数值检测对于糖尿病的诊断要优于空腹血糖值<sup>[5]</sup>。随机血糖是在非禁食的状态下检测,符合人一天中的状态。既往对糖尿病的研究大多关注空腹血糖,而忽视了随机血糖。随机血糖值明显的大于空腹血糖值,其变化的敏感性要大于空腹血糖值。非禁食状态下高血糖的“葡萄糖毒性作用”早期可直接引起高胰岛素血症,使靶组织对胰岛素的敏感性下降。继之导致B细胞代偿耗竭而出现胰岛素分泌不足<sup>[6]</sup>。对糖尿病患者来说,非禁食状态下的高血糖不但可以加速并发症的发生而且可以加重原发的糖尿病<sup>[7]</sup>。随机血糖作为非禁食状态下的良好指标,其数值的降低更有意义。本实验证明改良胆胰转流术和十二指肠改道术可以有效地降低随机血糖,两种术式的降糖效果无统计学差异。

那么,MBPD、DJB术改善随机血糖的可能机制是什么呢?本实验结果显示,术后1 wk MBPD、DJB组大鼠体质量下降明显,但术后1 wk之后显示3组间并无差异。假手术组体质量虽有下降但是手术前后并无统计学意义。以往普遍认为外科减肥手术能够改善肥胖患者伴有的2型糖尿病和体质量的关系不大<sup>[8]</sup>,但是最近的有关文献显示体质量的丢失对于胰岛素敏感性可以起到重要的作用<sup>[9]</sup>。本实验提示术后体质量的下降可能也起到一定的作用。

此外, 胆汁和胰液是最重要的消化液, 对食物的消化起着决定性的作用, 胆胰液的转流很可能对食糜中的糖类及脂类物质的消化造成影响, 使得这些物质消化不完全. MBPD、DJB组术后与术前比较胆固醇明显的降低、甘油三酯明显上升, 但游离脂肪酸无明显的变化, 假手术组与术前比较胆固醇、甘油三酯无明显的变化, 但游离脂肪酸是明显的上升的. 可以看出MBPD、DJB组能够显著地降低胆固醇, 阻止游离脂肪酸的升高, 提高了甘油三酯.

血清胆固醇升高与胰岛素分泌减少之间存在直接相关性, 随着胆固醇水平的下降, 胰岛素分泌恢复正常<sup>[10]</sup>. 动物实验显示胆固醇的减少有利于高脂饮食引起的糖尿病的改善<sup>[11]</sup>. 游离脂肪酸过高, 胰岛素的作用会减弱, 导致血糖增加<sup>[12]</sup>. 胆固醇的降低和低水平的游离脂肪酸增强了胰岛素敏感性, 术后DJB、MBPD组胰岛素明显的小于假手术组, 可以看出可能是DJB、MBPD组术后胰岛素敏感性上升低了随机血糖.

正常饮食状态下甘油三酯分解是受限的, 空腹状态下甘油三酯大量分解, 分解产物包括游离脂肪酸<sup>[13]</sup>. 空腹状态下MBPD、DJB组术后甘油三酯的水平是高于假手术组的, 可能是由于MBPD、DJB组术后胰岛素敏感性增强, 糖利用增强, 不需要大量的脂肪动员, 所以血清甘油三酯分解减少致含量升高. 孟德尔随机研究不支持循环甘油三酯水平影响2型糖尿病风险、血糖及胰岛素抵抗<sup>[14]</sup>. 在糖尿病个体中高甘油三酯血症显示出其保护作用, 临床上做过外科减肥手术的患者显示, 手术后高甘油三酯可以预示胰岛素敏感性增强<sup>[15]</sup>. 胰岛素抑制脂肪的分解及减少肝糖原的释放、减少甘油三酯的转化与氧化, 通过增加糖的利用从而降低血糖<sup>[16]</sup>. MBPD、DJB组术后甘油三酯的升高可能是由于胰岛素敏感性的升高, 导致甘油三酯的分解减少.

MBPD、DJB组术后空腹胰岛素水平明显小于假手术组. 临床上糖尿病患者的血糖改善后, 胰岛素的使用量也相应地下降, 相应研究表明是胰岛素的敏感性增强降低了胰岛素的水平<sup>[17,18]</sup>. MBPD、DJB组术后胰岛素小于假手术组, 可能是由于胰岛素敏感性增强, 机体需要量相应的减少<sup>[19]</sup>.

本实验研究结果表明MBPD和DJB能够改善GK大鼠随机血糖, 术后血脂也呈现出明显的变化, DJB改善血糖、血脂方面尽管有肠道的旷置但并不优于MBPD, 由此也说明胆胰液的转

流在DJB中也起到重要的作用. 由于MBPD的特点是胆胰液的转流, 胆胰液在消化吸收中起到重要的作用, 提示在血糖改善方面外科手术造成的消化吸收变化起到很大的作用. 既往的实验研究重视在胃肠道重建后激素的变化对血糖的影响, 本文证明外科手术导致的胆胰液对消化吸收的影响在血糖改善方面起到重要的作用, 增加肠道旷置的作用未见明显的叠加效应.

#### 4 参考文献

- 1 Wolfe BM, Purnell JQ, Belle SH. Treating diabetes with surgery. *JAMA* 2013; 309: 2274-2275 [PMID: 23736737 DOI: 10.1001/jama.2013.4772]
- 2 Patrìti A, Facchiano E, Donini A. Effect of duodenal-jejunal exclusion in a non-obese animal model of type 2 diabetes: a new perspective for an old disease. *Ann Surg* 2004; 240: 388-389; author reply 388-389 [PMID: 15273570]
- 3 翁山耕, 冯苏, 徐常国, 石铮, 林春忠, 张斌. 改良胆胰转流术对Goto-Kakizaki大鼠血糖的影响. *中华实验外科杂志* 2012; 29: 42-44
- 4 Schulze MB, Fritsche A, Boeing H, Joost HG. Fasting plasma glucose and Type 2 diabetes risk: a non-linear relationship. *Diabet Med* 2010; 27: 473-476 [PMID: 20536521 DOI: 10.1111/j.1464-5491.2009.02919.x]
- 5 Abdul-Ghani MA, Lyssenko V, Tuomi T, DeFronzo RA, Groop L. The shape of plasma glucose concentration curve during OGTT predicts future risk of type 2 diabetes. *Diabetes Metab Res Rev* 2010; 26: 280-286 [PMID: 20503260 DOI: 10.1002/dmrr.1084]
- 6 侯文芳, 刘国强, 洪天配. 肠促胰岛素在减肥手术治疗肥胖2型糖尿病患者中的作用. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 324-328
- 7 Tanaka M. Relationship between fasting and 2-hour postprandial plasma glucose levels and vascular complications in patients with type 2 diabetes mellitus. *J Int Med Res* 2012; 40: 1295-1303 [PMID: 22971481 DOI: 10.1177/147323001204000408]
- 8 Dixon JB, Zimmet P, Alberti KG, Rubino F. Bariatric surgery: an IDF statement for obese Type 2 diabetes. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2011; 55: 367-382 [PMID: 22011853 DOI: 10.1590/S0004-27302011000600003]
- 9 Martin MJ. Comment on: Postprandial hypertriglyceridemia predicts improvement in insulin resistance in obese patients after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2013; 9: 219-220 [PMID: 22055388 DOI: 10.1016/j.soard.2011.09.017]
- 10 Hao M, Head WS, Gunawardana SC, Hasty AH, Piston DW. Direct effect of cholesterol on insulin secretion: a novel mechanism for pancreatic beta-cell dysfunction. *Diabetes* 2007; 56: 2328-2338 [PMID: 17575085 DOI: 10.2337/db07-0056]
- 11 Suzuki R, Lee K, Jing E, Biddinger SB, McDonald JG, Montine TJ, Craft S, Kahn CR. Diabetes and insulin in regulation of brain cholesterol metabolism. *Cell Metab* 2010; 12: 567-579 [PMID: 21109190 DOI: 10.1016/j.cmet.2010.11.006]
- 12 Deng YT, Chang TW, Lee MS, Lin JK. Suppression of free fatty acid-induced insulin resistance by phytopolyphenols in C2C12 mouse skeletal muscle cells. *J Agric Food Chem* 2012; 60: 1059-1066 [PMID: 22191431 DOI: 10.1021/jf204496f]
- 13 De Silva NM, Freathy RM, Palmer TM, Donnelly

#### ■同行评价

本文通过动物实验研究, 可以很好的反应实际的问题, 数据可靠, 对相关的研究有一定的借鉴.

- LA, Luan J, Gaunt T, Langenberg C, Weedon MN, Shields B, Knight BA, Ward KJ, Sandhu MS, Harbord RM, McCarthy MI, Smith GD, Ebrahim S, Hattersley AT, Wareham N, Lawlor DA, Morris AD, Palmer CN, Frayling TM. Mendelian randomization studies do not support a role for raised circulating triglyceride levels influencing type 2 diabetes, glucose levels, or insulin resistance. *Diabetes* 2011; 60: 1008-1018 [PMID: 21282362 DOI: 10.2337/db10-1317]
- 14 Vega-López S, Calle MC, Fernandez ML, Kollan-noor-Samuel G, Chhabra J, Todd M, Segura-Pérez S, D'Agostino D, Damio G, Pérez-Escamilla R. Triglyceride screening may improve cardiometabolic disease risk assessment in Latinos with poorly controlled type 2 diabetes. *J Health Care Poor Underserved* 2013; 24: 1739-1755 [PMID: 24185167 DOI: 10.1353/hpu.2013.0171]
- 15 Tinahones FJ, Queipo-Ortuño MI, Clemente-Postigo M, Fernnandez-Garcia D, Mingrone G, Cardona F. Postprandial hypertriglyceridemia predicts improvement in insulin resistance in obese patients after bariatric surgery. *Surg Obes Relat Dis* 2013; 9: 213-218 [PMID: 22153002 DOI: 10.1016/j.soard.2011.08.022]
- 16 Deguil J, Pineau L, Rowland Snyder EC, Dupont S, Beney L, Gil A, Frapper G, Ferreira T. Modulation of lipid-induced ER stress by fatty acid shape. *Traffic* 2011; 12: 349-362 [PMID: 21143717 DOI: 10.1111/j.1600-0854.2010.01150.x]
- 17 Currò G, Centorrino T, Low V, Navarra G. Plasma insulin and glucose time courses after biliary pancreatic diversion in morbidly obese patients with and without diabetes. *Am J Surg* 2012; 204: 180-186 [PMID: 22481065 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2011.09.025]
- 18 冯苏, 贾高磊, 王小凯, 田志龙. 胆胰转流术改善2型糖尿病的研究进展. *基础医学与临床* 2014; 34: 278-281
- 19 Li Z, Zhang HY, Lv LX, Li DF, Dai JX, Sha O, Li WQ, Bai Y, Yuan L. Roux-en-Y gastric bypass promotes expression of PDX-1 and regeneration of beta-cells in Goto-Kakizaki rats. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2244-2251 [PMID: 20458761 DOI: 10.3748/wjg.v16.i18.2244]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展

田磊, 肖秀英, 叶明

田磊, 肖秀英, 叶明, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科 上海市 200127

田磊, 硕士研究生, 主要从事肿瘤的同步放化疗及其靶向治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81101648

作者贡献分布: 本文综述由田磊完成; 肖秀英与叶明审核。

通讯作者: 叶明, 教授, 主任医师, 200127, 上海市浦东新区东方路1630号, 上海交通大学医学院附属仁济医院肿瘤科。

renjiyeming@163.com

电话: 021-68383459

收稿日期: 2013-12-11 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Molecular targeted therapy of gastric cancer

Lei Tian, Xiu-Ying Xiao, Ming Ye

Lei Tian, Xiu-Ying Xiao, Ming Ye, Department of Oncology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200127, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81101648

Correspondence to: Ming Ye, Professor, Chief Physician, Department of Oncology, Renji Hospital, School of Medicine, Shanghai Jiaotong University, 1630 Dongfang Road, Pudong New District, Shanghai 200127, China. renjiyeming@163.com

Received: 2013-12-11 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

Gastric cancer is one of the most frequent malignancies of the digestive system. Despite decreasing incidence and mortality rate, the incidence of gastric cancer still ranks second and the mortality rate ranks third in China. Surgical resection is the preferred treatment for gastric cancer. However, due to the lack of typical early symptoms, the majority of gastric cancer patients are diagnosed at advanced stages, and the prognosis remains poor. In the past decades, a large number of studies have found a series of genes driving the development of gastric cancer. Molecular targeted therapies based on these genes have been developed, greatly improving the efficiency of treatment of gastric cancer and playing an important role in guiding individualized treatment of this malignancy. This review summarizes the advances in the molecular targeted therapy of

gastric cancer.

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

Key Words: Gastric cancer; Targeted genes; Molecular targeted therapy

Tian L, Xiao XY, Ye M. Molecular targeted therapy of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 773-781  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/773.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.773>

## 摘要

胃癌是消化系统最常见的恶性肿瘤之一。尽管近年来世界范围内胃癌的发生率和死亡率在下降, 但我国胃癌的发病率仍居于恶性肿瘤第2位, 死亡率居第3位。手术切除是胃癌首选治疗方法, 但由于缺乏典型早期症状, 多数患者就诊时已处于中晚期, 因此效果并不理想。过去几十年, 大量研究发现一系列涉及胃癌发生的驱动基因, 以之为基础的分子靶向药物也不断出现, 很大程度上提高了胃癌治疗的有效率, 对指导胃癌的个体化治疗发挥了重要作用。本文就近年来在胃癌的分子靶向药物治疗方面的研究进展做一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃癌; 驱动基因; 分子靶向治疗

**核心提示:** 在胃癌高发病率和死亡率背景下, 低手术切除率和低化疗有效率使靶向药物在胃癌领域应用显示出重要价值。曲妥珠单抗的成功和其他大规模临床试验的失败, 再次提示在靶向药物的研究和应用中分子标志物检测的重要价值。

田磊, 肖秀英, 叶明. 胃癌分子靶向药物治疗的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 773-781 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/773.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.773>

## 0 引言

胃癌是世界范围内尤其是亚洲国家癌症死亡的主要原因之一, 其发生与环境因素和自身因素

## ■背景资料

我国是胃癌大国, 胃癌的发病率和死亡率分别居恶性肿瘤的第2位和第3位。尽管传统手术和化疗的不断发展, 胃癌5年生存率仍低于40%。过去几十年, 一系列的靶向药物问世, 尤其是曲妥珠单抗在胃癌的成功应用, 开启了胃癌靶向治疗的序幕。

## ■同行评议者

刘克辛, 教授, 大连医科大学临床药理学教研室

## ■研发前沿

在EXPAND、REAL-3、AVA-GAST等大规模的临床试验均未能取得阳性结果的背景下,基于ToGA研究的曲妥珠单抗仍是目前胃癌靶向治疗的主方向。然而,随着耐药性等问题出现,寻找新的分子标志物及靶点成为胃癌靶向药物研究的新方向和制约点。

相关。2008年全球胃癌新发病例和死亡病例估计为989600和738000例,约占癌症新发病例和死亡例的8%和10%,其中70%以上出现在发展中国家尤以东亚发病率最高<sup>[1]</sup>。手术切除是早期胃癌最有效治疗手段,但由于早期症状不明显,半数患者就诊时已有远处转移,失去了手术治疗机会。尽管近年来联合化疗和外科手术治疗不断发展,胃癌患者的生活质量和总生存有所提高,但在我国胃癌五年生存率仍低于40%<sup>[2]</sup>。过去几十年,随着肿瘤生物学的快速发展以及肿瘤分子标志物的不断发现,使众多靶向药物应运而生,如抗表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)的药物、抗血管生成药物、细胞周期抑制剂和促凋亡药物等,本文主要就上述靶向药物做一简要综述。

## 1 针对EGFR的靶向治疗

EGFR是癌基因*c-erbB1*的表达产物,属于受体酪氨酸激酶家族成员,存在于细胞表面,通过与其配体,包括表皮生长因子和转化生长结合,启动下游信号转导通路,调节正常细胞的增值,分化和生存。EGFR家族包括4个成员,人类表皮生长因子受体1(human epidermal growth factor receptor 1, HER-1)、HER-2、HER-3、HER-4。其中,EGFR-1和HER-2在胃癌中呈高表达,与临床分型和预后差相关,针对HER-2的靶向药物是目前临床中用于治疗胃癌的主要靶向药物之一<sup>[3]</sup>。

1.1 抗HER-2的单克隆抗体 癌基因*HER-2*位于染色体17q21,其产物为分子量为185 kDa的跨膜糖蛋白,包括653个氨基酸组成的膜外配体结合区,654到675个氨基酸组成的单跨膜区和675到1255个氨基酸组成的胞内酪氨酸激酶区<sup>[4]</sup>。胃癌组织中HER-2的扩增约占所有胃癌患者的10%-20%,其中胃食管交界处和贲门处胃癌HER-2的阳性率略高于胃体胃癌<sup>[5]</sup>。曲妥珠单抗是一种重组的人源化的IgG1型单克隆抗体,用于HER-2阳性的乳腺癌治疗的历史已长达十年之久。目前曲妥珠单抗用于胃癌治疗已进入临床,增加了HER-2阳性胃癌患者的疗效,其机制可能通过增加细胞周期蛋白依赖激酶抑制剂p27(KIP1)表达,降低细胞周期蛋白的表达使细胞停滞于G<sub>1</sub>期,使胃癌细胞系中S期细胞比例下降,也可以抑制HER-2磷酸化从而下调下游信号分子包括信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)、蛋白激酶B(protein kinase B, PKB)和胞外信号调节激

酶(extracellular signal-regulated kinase, ERK)<sup>[6]</sup>。提醒注意的是,单用曲妥珠单抗对HER-2不同表达水平的胃癌细胞系均未观察到明显抑制作用,只有曲妥珠单抗联合化疗药物顺铂和氟尿嘧啶才具有协同抗肿瘤作用<sup>[7,8]</sup>。临床上由24个国家、122个中心参与的III期随机对照实验-ToGA评估了曲妥珠单抗联合化疗治疗HER-2阳性胃癌的有效性和安全性<sup>[9]</sup>,通过免疫组织化学或原位荧光杂交技术筛选HER-2阳性患者594例,随机分为对照组(296例)和实验组(298例),对照组接受卡培他滨或顺铂加氟尿嘧啶,实验组在对照组基础上加用曲妥珠单抗,3 wk 1次,直到疾病进展。实验组和对照组中位随访时间分别为18.6 mo和17.1 mo,实验组和对照组中位生存期分别为13.8 mo和11.1 mo( $P = 0.0046$ ),无进展生存期分别为6.7 mo和5.5 mo( $P = 0.0002$ ),两组最常见的不良反应均为恶心、呕吐和中性粒细胞减少,并且这些不良反应两组间无明显差异。该研究证实了曲妥珠单抗治疗胃癌的安全性及有效性,因此,欧盟和美国食品药品监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)分别于2010-01和2010-10批准曲妥珠单抗联合卡培他滨或5-FU加DDP用于转移性胃癌或胃食管连接处癌的治疗。中国食品药品监督管理局(China Food and Drug Administration, CFDA)于2012-08批准曲妥珠单抗用于HER-2阳性转移性胃癌的治疗。

曲妥珠单抗-*emtansine*(trastuzumab-*emtansine*, T-DM1)是一种抗体-药物偶联物,通过稳定的硫醚键将单克隆抗体曲妥珠单抗与细胞毒抑制剂DM1连接<sup>[10]</sup>。临床前期研究中发现对曲妥珠单抗抵抗的乳腺癌细胞仍具有抑制作用,II期临床研究结果显示<sup>[11]</sup>,对HER-2阳性的局部复发的晚期或转移性乳腺癌患者,T-DM1在无进展生存期和安全性方面优于曲妥珠单抗加多西紫杉醇。用于胃癌的治疗目前尚处于临床研究阶段,期望有一个良好的结果。

与HER-2相关的另一个单抗是帕妥珠单抗,这是一种人源化的单克隆抗体,主要通过与HER-2结构域II区结合,抑制HER-2的二聚体化发挥抗肿瘤作用,也可以介导抗体依赖的细胞介导的细胞毒作用(antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity, ADCC)杀伤肿瘤细胞。与曲妥珠单抗不同,帕妥珠单抗的疗效并不严格依赖HER-2的过表达,因此在HER-2低表达的肿瘤细胞,帕妥珠单抗具有更优效果<sup>[12]</sup>。帕妥珠单

抗在胃癌中尚处于研究阶段,在HER-2阳性的人胃癌的异体移植瘤模型中,联合使用曲妥珠单抗和帕妥珠单抗可以抑制EGFR-HER-2、HER-2-HER-3信号转导,增强ADCC作用和抗血管生成作用,抗肿瘤作用明显强于单用一种单抗<sup>[13]</sup>。

靶向HER-2在胃癌治疗领域已经取得肯定疗效,然而与乳腺癌不同,HER-2阳性率与胃癌预后之间的关系仍存在争议,如Kim等<sup>[14]</sup>的研究认为,HER-2过表达的胃癌细胞通常显示较差的生物学行为,HER-2过表达可以作为胃癌复发的独立危险因素,而根据Oh等<sup>[15]</sup>的报告,HER-2突变与年龄较大、组织学高分化或中分化以及肠型胃癌成正相关,而与胃癌预后之间并不存在独立相关性。因此,HER-2能否作为胃癌预后判断标记还有待进一步研究证实。

**1.2 抗EGFR胞外区的单克隆抗体** 西妥昔单抗是一种人-鼠嵌合的单抗,可竞争性于肿瘤细胞表面EGFR相结合,阻断下游信号转导,抑制肿瘤细胞增殖,促进凋亡。希罗达联合顺铂加或不加西妥昔单抗治疗初治的晚期食管胃癌随机、开放的III期临床研究[capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer(EXPAND): a randomised, open-label phase 3 trial, EXPAND]中<sup>[16]</sup>,来自25个国家、164个中心的904例患者入组,对照组为顺铂80 mg/m<sup>2</sup> d1,卡培他滨1000 mg/m<sup>2</sup> d1-14,3 wk为1周期,实验组在此基础上加用西妥昔单抗(首次剂量400 mg/m<sup>2</sup>,以后250 mg/m<sup>2</sup>,1次/wk),主要研究终点为无进展生存期。结果显示:西妥昔单抗组和对照组无进展生存期分别为4.4 mo和5.6 mo( $P=0.32$ ),3-4级不良反应发生率分别为83%和77%,主要为腹泻、低钾血症、低镁血症、皮疹和手足综合征,血液系统不良反应对照组较高,皮疹则西妥昔单抗组较高。与西妥昔单抗在结直肠癌、头颈部癌中的结果相反,西妥昔单抗用于胃癌的治疗未取得阳性结果,推断可能与顺铂联合卡培他滨作为化疗方案有关。因此,寻找西妥昔单抗用于胃癌治疗时的最佳配伍方案可能是下一步研究方向。

帕尼单抗与西妥昔单抗不同,是一种完全人源化的作用于EGFR的单克隆抗体,在奥沙利铂(oxaliplatin)、氟尿嘧啶(flourouracil)、亚叶酸钙(leucovorin)方案(FOLFOX方案)治疗失败的结直肠癌中已显示了良好疗效,而用于胃癌治疗的研究较少。表柔比星、奥沙利铂、卡培他滨(EOX)

加或不加帕尼单抗在初治的晚期食管胃腺癌的随机开放的多中心实验[A Randomised Open-labelled Multicentre Trial of the Efficacy of Epirubicin, Oxaliplatin and Capecitabine (EOX) With or Without Panitumumab in Previously Untreated Advanced Oesophago-gastric Cancer, REAL-3]中<sup>[17]</sup>,共553例患者入组,对照组使用EOX方案(表柔比星50 mg/m<sup>2</sup> d1,奥沙利铂130 mg/m<sup>2</sup> d1,卡培他滨1250 mg/m<sup>2</sup> d1-21),实验组为mEOX+P(表柔比星50 mg/m<sup>2</sup> d1,奥沙利铂100 mg/m<sup>2</sup> d1,卡培他滨1000 mg/m<sup>2</sup> d1-21,帕尼单抗9 mg/m<sup>2</sup> d1),主要研究终点为总生存期。结果显示:mEOX+P和EOX总生存期分别为8.8 mo和11.3 mo( $P=0.013$ ),mEOX+P组腹泻、皮疹、黏膜炎和低镁血症的3-4级不良反应发生率较对照高,但血液系统副反应较低。但REAL-3未取得预期结果,帕尼单抗用于胃癌治疗尚未批准。然而,研究者认为,mEOX+P组未能获益可能与EOX方案腹泻发生率高,实验组中奥沙利铂和卡培他滨减量致药量不足、帕尼单抗与EOX方案中一种或多种药物间拮抗作用以及未经分子检测有关。

**1.3 抗EGFR胞内区的小分子的酪氨酸激酶抑制剂** 吉非替尼是一种口服的小分子的酪氨酸激酶抑制剂,在EGFR突变的非小细胞肺癌中取得较好效果<sup>[18,19]</sup>,于2003-05被FDA批准用于晚期非小细胞肺癌的治疗。然而,吉非替尼用于胃癌治疗的报道较少,疗效差,可能涉及多种机制,如报道显示吉非替尼治疗后pEGFR(EGFR的磷酸化形式)水平明显下降,但明显的增值抑制作用却见于pAkt低水平的肿瘤细胞,推测PI3K-Akt信号通路可能与吉非替尼抵抗更具相关性<sup>[20]</sup>。此外,食管胃交界处的腺癌很少出现EGFR的突变,尤其是吉非替尼相关性突变,如L858R或delE746-A750,可能是目前吉非替尼不推荐用于胃癌的原因之一<sup>[21]</sup>。但也有研究显示,在EGFR高表达的胃癌中,吉非替尼可起到放射增敏作用,能够提高胃癌放射治疗效果<sup>[22]</sup>。

厄洛替尼也是一种口服的小分子的酪氨酸激酶抑制剂,主要用于非小细胞肺癌的治疗。在一项厄洛替尼用于胃癌的研究SWOG0127中<sup>[23]</sup>,共70例不可切除的或转移的患者入组(其中食管胃交界处腺癌患者44例,胃癌组26例),两组患者均口服厄洛替尼150 mg/d。结果显示:食管胃交界和胃腺癌中位生存时间分别为6.7 mo和3.5 mo,胃癌组均未观察到客观有效率,而食管胃交界处1例完全缓解和3例部分缓解,提示厄洛

#### ■ 相关报道

几年来,发表了大量关于胃癌靶向治疗的文章,提出了许多新观点和新思路,如王李杰等撰写的《胃癌靶向治疗的研究进展》一文中,提出由于肿瘤的异质性,靶向药物的选择尽可能针对占主导作用的信号通路的观点。



## ■创新盘点

本文按照靶向药物作用的机制进行分类阐述,并列出了靶向药物针对的具体信号通路和分子,进一步强调了靶向药物的研发基于对肿瘤发生发展的分子机制的认识的深化。

替尼对食管胃交界癌可能有一定效应,而对胃腺癌初步估计无效。

1.4 HER-2和EGFR的双靶点酪氨酸激酶抑制剂拉帕替尼是一种口服的可逆的小分子酪氨酸激酶抑制剂,通过与HER-2和EGFR酪氨酸激酶区的ATP结合,阻断其磷酸化和下游信号转导,目前已用于曲妥珠单抗治疗后进展的乳腺癌的治疗。在HER-2扩增的胃癌细胞系NCI-N87和OE19中,拉帕替尼为剂量依赖性的抗增殖作用,可以下调EGFR、HER-2、AKT和ERK信号通路,同时使细胞停滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期并促进细胞凋亡<sup>[24]</sup>。根据2013年美国临床肿瘤学会(American Society of Clinical Oncology, ASCO)的报道, III期临床LOGIC研究显示,与单纯化疗相比,拉帕替尼联合卡培他滨、奥沙利铂并未给HER-2阳性不可切除的局部晚期或转移性胃癌、食管胃交界处腺癌患者带来总生存期获益,但亚组分析显示亚洲患者和<60岁的患者可能获益,HER-2高表达和IL-8低表达的人群肿瘤缓解率和总生存期获益。因此,拉帕替尼用于特殊亚组和特定生物标记人群的胃癌治疗值得进一步研究。

与拉帕替尼不同, CI-1033和EKB569属于不可逆性的酪氨酸激酶抑制剂,在胃癌中作用处于 II 期临床研究阶段。此外, AEE788和 EXEL7647/EXEL0999作为EGFR/erbB2/血管表皮生长因子受体(vascular epidermal growth factor receptor, VEGFR)三重靶点的酪氨酸激酶抑制剂,尚处于 I 期临床研究阶段。

## 2 针对血管生成和肿瘤侵袭转移

众所周知,肿瘤是一种血管依赖性的疾病,当肿瘤体积生长至2 mm<sup>3</sup>时,肿瘤细胞处于缺氧状态,能分泌多种因子包括VEGF、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMP)、转化生长因子 $\alpha$ (transforming growth factor- $\alpha$ , TGF- $\alpha$ )等,促进血管生成,使肿瘤得以继续生长和发生浸润、转移,因此,抑制肿瘤新生血管成为肿瘤治疗的主要靶点之一。

VEGF是目前发现的诱导肿瘤血管形成的最重要的细胞因子,在多种肿瘤中高表达,通过与其受体结合,促进上皮细胞的存活、分化、迁移和增加血管通透性。VEGF家族包括VEGF-A、VEGF-B、VEGF-C和VEGF-D,其受体VEGFR包括VEGFR-1、VEGFR-2和VEGFR-3。

2.1 抗VEGF的单克隆抗体 贝伐珠单抗是一种

人源化的抗VEGF的单克隆抗体,目前已应用于结直肠癌、非小细胞肺癌、乳腺癌和胶质母细胞瘤等多种肿瘤治疗中。为了评估其在晚期胃癌一线治疗中的价值,研究者们进行了随机、双盲、安慰剂对照的III期临床实验-AVAGAST研究<sup>[25]</sup>,共774例患者入组,化疗方案为顺铂80 mg/m<sup>2</sup> d1和卡培他滨1000 mg/m<sup>2</sup> d1-14,每3周为1周期,实验组和对照组分别给予贝伐珠单抗(7.5 mg/m<sup>2</sup>)和安慰剂,主要研究终点为总生存期。结果显示:实验组和对照组总生存期分别为12.1 mo和10.1 mo( $P = 0.10$ ),不过贝伐珠单抗组的中位无进展生存期(6.7 mo vs 5.3 mo,  $P = 0.0037$ )和客观反应率(46.0% vs 37.4%,  $P = 0.0315$ )均优于安慰剂组。亚组分析结果显示了区域差异的不同疗效,美洲人群获益最大,欧洲次之,亚洲获益有限。在一系列 II 期研究取得较好疗效的前提下,这一大规模的III期临床研究尽管主要观察终点未取得阳性结果,但确实改善了次要研究终点,且亚组间的差异,提示病例选择、临床实践、群体遗传学或肿瘤生物学方面的地区差异可能对贝伐珠单抗的疗效有一定影响,因此仍值得进一步研究。在AVAGAST试验后,有学者研究了可能对贝伐珠单抗效果有预测价值的血管生成标记物,发现VEGF-A的高表达可能提高贝伐珠单抗治疗的总生存期,而神经纤毛蛋白-1(neuropilin-1, NRP-1)的表达水平则与贝伐珠单抗治疗的疗效呈负相关<sup>[26]</sup>。

2.2 抗VEGFR酪氨酸激酶抑制剂 VEGFR酪氨酸激酶抑制剂,包括作用于VEGFR的药物如PTK787和同时作用于VEGFR和其他酪氨酸激酶抑制剂的药物如SU6668、AZD2171、阿西替尼、索拉菲尼和舒尼替尼等。目前临床中应用的主要药物是索拉菲尼和舒尼替尼。

索拉菲尼是一种口服的多靶点的小分子酪氨酸激酶抑制剂,通过抑制VEGFR、血小板衍生因子 $\beta$ (platelet-derived growth factor- $\beta$ , PDGF- $\beta$ )、干细胞因子受体(stem cell factor receptor, SCFR)、Fms样酪氨酸激酶3(fms like tyrosine kinase receptor 3, FLT-3)等受体的酪氨酸激酶活性和阻断有丝分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)通路抑制肿瘤细胞的增殖。目前已被美国FDA批准用于晚期肾癌的一线治疗和手术无法切除的肝癌。索拉菲尼联合多西他赛和顺铂用于转移或晚期胃或食管胃交界处腺癌的 II 期临床ECOG5203研究取得了较好的效果<sup>[27]</sup>,共入组44例患者,给

予索拉菲尼(400 mg, 口服, 2次/d, 连续21 d)、多西他赛(75 mg/m<sup>2</sup>静脉注射d1, 21 d 1次)和顺铂(75 mg/m<sup>2</sup>静脉注射d1, 21 d 1次)。结果显示: 44例中18例显示为部分缓解(partial remission, PR = 41%), 中位无进展生存期为5.8 mo, 中位总生存期为13.6 mo。索拉菲尼用于胃癌的治疗很值得进一步行大规模III期临床研究。

同索拉菲尼一样, 舒尼替尼也是一种多靶点的酪氨酸激酶抑制剂, 作用于VEGFR1、VEGFR2、VEGFR3、PDGFR、KIT、FLT、CSF-1R和RET等多个靶点。在肾癌中III期临床研究显示, 舒尼替尼较干扰素 $\alpha$ 明显提高肾癌患者的无进展生存期<sup>[28]</sup>, 因此, 2006-01被美国FDA批准用于转移性肾癌的治疗。舒尼替尼单药治疗胃癌的开放、多中心的II期临床研究<sup>[29]</sup>, 客观缓解率为3.9%, 中位无进展生存时间1.28 mo, 总生存时间为5.81 mo, 预期一年存活率为23.7%, VEGF-C阳性组较阴性组明显降低了中位无进展生存时间(1.23 mo vs 2.86 mo,  $P = 0.0119$ )。在联合化疗的随机、开放的II期临床研究中<sup>[30]</sup>, 氟尿嘧啶和铂类治疗失败的107例胃癌患者入组, 分为多西他赛单药组(60 mg/m<sup>2</sup>, 1次/3 wk)和联合舒尼替尼组(37.5 mg/d)。尽管舒尼替尼组明显提高了客观反映率(41.1% vs 14.3%,  $P = 0.002$ ), 但主要观察终点肿瘤进展时间并未显示出差异(3.9 mo vs 2.6 mo,  $P = 0.206$ )。因此, 舒尼替尼联合化疗用于胃癌的治疗还需更进一步研究。

**2.3 抗MMP的抑制剂** MMPs是由一系列蛋白溶解酶家族组成, 参与细胞外基质和基底膜的降解和破坏以及肿瘤血管的生成, 促进肿瘤转移。不同肿瘤中MMPs的表达不同, 胃癌细胞中MMP-2、MMP-9、MMP-14及MMP-21的高表达与胃癌进展和较差的预后相关<sup>[31-34]</sup>。Marimastat是一种口服的MMP的抑制剂, 在一项III期临床研究中<sup>[35]</sup>, 369例不可切除的胃或食管胃交界处腺癌患者入组, 部分患者既往接受过以氟尿嘧啶为基础的化疗, 随机分为Marimastat组和安慰剂对照组, 结果显示: Marimastat组和对照组中位生存时间分别为160 d和138 d, 2年生存率分别为9%和3%( $P = 0.024$ )。值得关注的是, 在既往接受过化疗的亚组中, Marimastat显示了更大优势, 中位生存时间分别为253 d和175 d, 2年生存率分别为18%和5%( $P = 0.006$ ), 这些患者获益可能与他们对化疗有一定反应相关。因此, Marimastat可能是一种有效的治疗胃癌的药物, 但其确切作用需要更多的临床研究证实。

### 3 针对细胞周期

**3.1 细胞周期调节剂** 肿瘤是一种细胞周期调控机制障碍性疾病<sup>[36]</sup>, 参与细胞周期调控的分子主要有3类, 即细胞周期蛋白, 周期蛋白依赖性的激酶(cyclin-dependent kinase, CDK)和周期蛋白依赖性的激酶抑制剂(cyclin-dependent kinase inhibitor, CKI)。CDK与细胞周期蛋白结合, 促使细胞跨越细胞周期各时相转换的限制点, CDK也能与CKI结合, 抑制细胞周期, 甚至诱导凋亡。因此, 靶向CDK的抑制剂可使细胞停滞于周期的某一时相。Flavopiridol是第一个应用于临床试验的CDK的抑制剂, 在Flavopiridol单药用于胃癌治疗II期临床研究中, 因较低的有效率和严重不良反应, 未能获得预期疗效<sup>[37]</sup>, 但一些Flavopiridol联合化疗的方案取得了一定效果<sup>[38,39]</sup>。因此, 寻找Flavopiridol的最佳配伍方案可能是Flavopiridol用于治疗胃癌新的研究方向。

**3.2 促使细胞凋亡** 肿瘤细胞常表现为增殖能力增强, 分化障碍和凋亡受阻, 促进细胞凋亡是肿瘤治疗领域研究的热点之一。肿瘤坏死因子相关的凋亡诱导配体TRAIL可选择性的诱导多种肿瘤细胞的凋亡, 但胃癌细胞对TRAIL诱导的凋亡通常显示出抵抗性, 多种化疗药物可以增加胃癌细胞对TRAIL的敏感性<sup>[40,41]</sup>, 因此TRAIL联合化疗用于胃癌治疗有进一步研究价值。此外, 蛋白酶体抑制剂硼替佐米可抑制核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路, 诱导细胞凋亡, 目前主要用于多发性骨髓瘤的治疗, 然而硼替佐米单药用于转移性胃腺癌的研究中并未达到期望疗效, 在蛋白酶体抑制剂的进一步研究中需考虑与其他致癌途径的靶向抑制剂相结合<sup>[42]</sup>。

### 4 胃癌治疗的其他靶点

**4.1 c-MET通路的抑制剂** c-MET是一种膜受体酪氨酸激酶, 通过与HGF结合, 引起细胞增殖、侵袭和转移。II期临床研究中<sup>[43]</sup>, c-MET抑制剂rilotumumab联合化疗在c-MET高表达的晚期胃癌患者显示了生存获益。目前, rilotumumab联合表柔比星、顺铂和卡培他滨用于MET阳性的胃癌或食管胃连接部患者的III期试验RILOMET-1正在进行中。

**4.2 以mTOR为靶点的治疗** 依维莫司是新合成的雷帕霉素的大环内酯类衍生物, 在既往接受过化疗的进展期胃癌患者的II期临床研究显示

#### ■应用要点

尽管除了ToGA外的大规模研究相继失败, 却提示只有根据特定的分子标志物筛选最优势人群才有望取得临床研究成功。此外, 针对细胞周期的靶向药物和其他的一些靶向药物显示了一定疗效, 可以开展后期大规模临床研究。

### ■同行评价

选题有应用意义, 论点明确, 重点突出, 文献引用适当, 可全文发表。

了一定疗效<sup>[44]</sup>。在多中心、双盲的III期临床研究GRANITE-1中<sup>[45]</sup>, 在656例患者分别接受依维莫司10 mg/d加最佳支持治疗和安慰剂加最佳支持治疗相比, 结果显示: 两组总生存时间无统计学差异(5.39 mo vs 4.34 mo,  $P = 0.1244$ ), 依维莫司组无进展生存期延长(1.7 mo vs 1.4 mo,  $P = 0.0001$ ), 最常见3、4级不良反应为贫血、食欲减退和乏力, 安全性与依维莫司在其他肿瘤中结果相一致。因此, 目前认为在一、二线化疗后进展的晚期胃癌, 相较于支持治疗, 依维莫司并不能改善总生存时间, 但在无进展生存期上的优势仍值得进一步研究。

**4.3 靶向PD-1的免疫治疗** 细胞程序性死亡(programmed cell death, PD)-1受体作为一种免疫抑制受体在T细胞表面高表达, 通过与其配体PD-L1的结合, 使活化的T细胞凋亡, 介导了肿瘤的免疫逃逸, 有研究显示<sup>[46]</sup>: 胃癌患者血清的T细胞表面PD-1表达高于正常人群, 胃癌组织的T细胞中PD-1表达高于正常胃组织和外周血的T细胞, 因此阻断PD-1与PD-L1的相互作用有望提高胃癌治疗的有效性。在PD-L1单抗的I期临床研究中报道<sup>[47]</sup>, 207例肿瘤患者(黑色素瘤55例、大肠癌18例、非小细胞肺癌75例、肾癌17例、卵巢癌17例、胰腺癌14例、胃癌7例、乳腺癌4例)给予抗PD-L1抗体治疗, 每2周1次。在可评估疗效的患者中6%-17%有效(52例黑色素瘤中9例, 17例肾癌中2例, 49例非小细胞肺癌中5例, 17例卵巢癌中1例), 显示了抗PD-L1抗体在肿瘤治疗中的有效性。但胃癌无1例患者有效, 可能是胃癌入组病例较少, 因此后期大规模研究正在进行, 希望取得较好结果。

此外, 热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)的高表达与胃癌的进展以及较差的预后有关<sup>[48]</sup>, 有报道显示<sup>[49]</sup>, HSP90抑制剂AUY922联合曲妥珠单抗在曲妥珠单抗抵抗的胃癌移植模型中显示了明显的抗肿瘤活性。胰岛素样生长因子受体-1的单克隆抗体Figitumumab<sup>[50]</sup>, 糖蛋白LAT1<sup>[51]</sup>等在胃癌靶向治疗中都处于临床试验阶段, 其结果值得期待。

## 5 结论

尽管近年来胃癌靶向治疗的临床研究日益增多, 然而相较于靶向药物在肠癌、肺癌、乳腺癌中的成功实践, 胃癌的靶向治疗仍处于起步阶段。靶向治疗药物在胃癌中的研究大多未取得成功, 可能涉及多种原因, 如胃癌的发生发展涉及多

种信号通路组成的网络, 针对单一靶点的药物在代偿机制形成后很快失效, 且单一药物难以针对异质性明显的胃癌的各亚克隆。ToGA研究成功开启了胃癌个体化诊疗的新纪元, 曲妥珠单抗成为第一个也是目前为止唯一一个被美国FDA批准用于HER-2阳性胃癌的靶向药物。针对胃癌患者的EXPAND、REAL-3、AVAGAST等研究均在期望中失败, 揭示只有根据特定的分子标志物筛选最优势人群才有望取得临床研究成功, 如TOGA研究, 因此寻找分子标志物仍是制约靶向药物发展的关键因素, 也是未来转化医学研究的重点。胃癌发生发展和侵袭转移的不同阶段可能涉及不同分子机制, 早期手术标本检测能否指导整个疗程治疗, 原发灶和转移灶是否涉及相同分子机制, 尚需进一步探讨。我们期望在今后的胃癌靶向药物研究中, 能取得理想结果, 进一步提高胃癌患者的总生存期和生活质量。

## 6 参考文献

- 1 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 2 Yang YM, Zhang ZW, Liu QM, Sun YF, Yu JR, Xu WX. Overexpression of CD151 predicts prognosis in patients with resected gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e58990 [PMID: 23533596 DOI: 10.1371/journal.pone.0058990]
- 3 Kim JG. Molecular targeted therapy for advanced gastric cancer. *Korean J Intern Med* 2013; 28: 149-155 [PMID: 23525404 DOI: 10.3904/kjim.2013.28.2.149]
- 4 Zhou F, Li N, Jiang W, Hua Z, Xia L, Wei Q, Wang L. Prognosis significance of HER-2/neu overexpression/amplification in Chinese patients with curatively resected gastric cancer after the ToGA clinical trial. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 274 [PMID: 23249720 DOI: 10.1186/1477-7819-10-274]
- 5 Boers JE, Meeuwissen H, Methorst N. HER2 status in gastro-oesophageal adenocarcinomas assessed by two rabbit monoclonal antibodies (SP3 and 4B5) and two in situ hybridization methods (FISH and SISH). *Histopathology* 2011; 58: 383-394 [PMID: 21323962 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2011.03760.x]
- 6 Kim SY, Kim HP, Kim YJ, Oh do Y, Im SA, Lee D, Jong HS, Kim TY, Bang YJ. Trastuzumab inhibits the growth of human gastric cancer cell lines with HER2 amplification synergistically with cisplatin. *Int J Oncol* 2008; 32: 89-95 [PMID: 18097546]
- 7 Gong SJ, Jin CJ, Rha SY, Chung HC. Growth inhibitory effects of trastuzumab and chemotherapeutic drugs in gastric cancer cell lines. *Cancer Lett* 2004; 214: 215-224 [PMID: 15363548 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.04.029]
- 8 Li XL, Yi SQ, Xu JM, Zhang Y, Yingying-Feng W, Song ST. The sequence-dependent cytotoxic effect of trastuzumab in combination with 5-Fluorouracil or cisplatin on gastric cancer cell lines. *Cancer Invest*



- 2010; 28: 1038-1047 [PMID: 20590442 DOI: 10.3109/07357907.2010.483512]
- 9 Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A, Chung HC, Shen L, Sawaki A, Lordick F, Ohtsu A, Omuro Y, Satoh T, Aprile G, Kulikov E, Hill J, Lehle M, Rüschoff J, Kang YK. Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA): a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 376: 687-697 [PMID: 20728210 DOI: 10.1016/S0140-6736(10)61121-X]
- 10 Peddi PF, Hurvitz SA. Trastuzumab emtansine: the first targeted chemotherapy for treatment of breast cancer. *Future Oncol* 2013; 9: 319-326 [PMID: 23469968 DOI: 10.2217/fon.13.7]
- 11 Hurvitz SA, Dirix L, Kocsis J, Bianchi GV, Lu J, Vinholes J, Guardino E, Song C, Tong B, Ng V, Chu YW, Perez EA. Phase II randomized study of trastuzumab emtansine versus trastuzumab plus docetaxel in patients with human epidermal growth factor receptor 2-positive metastatic breast cancer. *J Clin Oncol* 2013; 31: 1157-1163 [PMID: 23382472 DOI: 10.1200/JCO.2012.44.9694]
- 12 Sims AH, Zweemer AJ, Nagumo Y, Faratian D, Muir M, Dodds M, Um I, Kay C, Hasmann M, Harrison DJ, Langdon SP. Defining the molecular response to trastuzumab, pertuzumab and combination therapy in ovarian cancer. *Br J Cancer* 2012; 106: 1779-1789 [PMID: 22549178]
- 13 Yamashita-Kashima Y, Iijima S, Yorozu K, Furugaki K, Kurasawa M, Ohta M, Fujimoto-Ouchi K. Pertuzumab in combination with trastuzumab shows significantly enhanced antitumor activity in HER2-positive human gastric cancer xenograft models. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 5060-5070 [PMID: 21700765 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-10-2927]
- 14 Kim KC, Koh YW, Chang HM, Kim TH, Yook JH, Kim BS, Jang SJ, Park YS. Evaluation of HER2 protein expression in gastric carcinomas: comparative analysis of 1,414 cases of whole-tissue sections and 595 cases of tissue microarrays. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 2833-2840 [PMID: 21468783 DOI: 10.1245/s10434-011-1695-2]
- 15 Oh HS, Eom DW, Kang GH, Ahn YC, Lee SJ, Kim JH, Jang HJ, Kim EJ, Oh KH, Ahn HJ. Prognostic implications of EGFR and HER-2 alteration assessed by immunohistochemistry and silver in situ hybridization in gastric cancer patients following curative resection. *Gastric Cancer* 2013 Aug 17. [Epub ahead of print] [PMID: 23955257 DOI: 10.1007/s10120-013-0288-0]
- 16 Lordick F, Kang YK, Chung HC, Salman P, Oh SC, Bodoky G, Kurteva G, Volovat C, Moiseyenko VM, Gorbunova V, Park JO, Sawaki A, Celik I, Götte H, Melezínková H, Moehler M. Capecitabine and cisplatin with or without cetuximab for patients with previously untreated advanced gastric cancer (EXPAND): a randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 490-499 [PMID: 23594786 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70102-5]
- 17 Waddell T, Chau I, Cunningham D, Gonzalez D, Okines AF, Okines C, Wotherspoon A, Saffery C, Middleton G, Wadsley J, Ferry D, Mansoor W, Crosby T, Coxon F, Smith D, Waters J, Iveson T, Falk S, Slater S, Peckitt C, Barbachano Y. Epirubicin, oxaliplatin, and capecitabine with or without panitumumab for patients with previously untreated advanced oesophagogastric cancer (REAL3): a randomised, open-label phase 3 trial. *Lancet Oncol* 2013; 14: 481-489 [PMID: 23594787 DOI: 10.1016/S1470-2045(13)70096-2]
- 18 Tateishi K, Ichiyama T, Hirai K, Agatsuma T, Koyama S, Hachiya T, Morozumi N, Shiina T, Koizumi T. Clinical outcomes in elderly patients administered gefitinib as first-line treatment in epidermal growth factor receptor-mutated non-small-cell lung cancer: retrospective analysis in a Nagano Lung Cancer Research Group study. *Med Oncol* 2013; 30: 450 [PMID: 23315220 DOI: 10.1007/s12032-012-0450-2]
- 19 Takano T, Ohe Y, Sakamoto H, Tsuta K, Matsuno Y, Tateishi U, Yamamoto S, Nokihara H, Yamamoto N, Sekine I, Kunitoh H, Shibata T, Sakiyama T, Yoshida T, Tamura T. Epidermal growth factor receptor gene mutations and increased copy numbers predict gefitinib sensitivity in patients with recurrent non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6829-6837 [PMID: 15998907 DOI: 10.1200/JCO.2005.01.0793]
- 20 Becker JC, Muller-Tidow C, Serve H, Domschke W, Pohle T. Role of receptor tyrosine kinases in gastric cancer: new targets for a selective therapy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 3297-3305 [PMID: 16733844]
- 21 Wang WP, Wang KN, Gao Q, Chen LQ. Lack of EGFR mutations benefiting gefitinib treatment in adenocarcinoma of esophagogastric junction. *World J Surg Oncol* 2012; 10: 14 [PMID: 22252115 DOI: 10.1186/1477-7819-10-14]
- 22 Cao WG, Ma T, Li JF, Li H, Ji YB, Chen XH, Liu BY, Jin YN. [Effect of gefitinib on radiosensitivity of gastric cancer cell lines]. *Ai Zheng* 2007; 26: 1330-1335 [PMID: 18076795]
- 23 Dragovich T, McCoy S, Fenoglio-Preiser CM, Wang J, Benedetti JK, Baker AF, Hackett CB, Urba SG, Zaner KS, Blanke CD, Abbruzzese JL. Phase II trial of erlotinib in gastroesophageal junction and gastric adenocarcinomas: SWOG 0127. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4922-4927 [PMID: 17050876 DOI: 10.1200/JCO.2006.07.1316]
- 24 Wainberg ZA, Anghel A, Desai AJ, Ayala R, Luo T, Safran B, Fejzo MS, Hecht JR, Slamon DJ, Finn RS. Lapatinib, a dual EGFR and HER2 kinase inhibitor, selectively inhibits HER2-amplified human gastric cancer cells and is synergistic with trastuzumab in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1509-1519 [PMID: 20179222 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-1112]
- 25 Ohtsu A, Shah MA, Van Cutsem E, Rha SY, Sawaki A, Park SR, Lim HY, Yamada Y, Wu J, Langer B, Starnawski M, Kang YK. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a randomized, double-blind, placebo-controlled phase III study. *J Clin Oncol* 2011; 29: 3968-3976 [PMID: 21844504 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.2236]
- 26 Van Cutsem E, de Haas S, Kang YK, Ohtsu A, Tebbutt NC, Ming Xu J, Peng Yong W, Langer B, Delmar P, Scherer SJ, Shah MA. Bevacizumab in combination with chemotherapy as first-line therapy in advanced gastric cancer: a biomarker evaluation from the AVAGAST randomized phase III trial. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2119-2127 [PMID: 22565005 DOI: 10.1200/JCO.2011.39.9824]
- 27 Sun W, Powell M, O'Dwyer PJ, Catalano P, Ansari

- RH, Benson AB. Phase II study of sorafenib in combination with docetaxel and cisplatin in the treatment of metastatic or advanced gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma: ECOG 5203. *J Clin Oncol* 2010; 28: 2947-2951 [PMID: 20458043 DOI: 10.1200/JCO.2009.27.7988]
- 28 Reddy K. Phase III study of sunitinib malate (SU11248) versus interferon-alpha as first-line treatment in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin Genitourin Cancer* 2006; 5: 23-25 [PMID: 16859575]
  - 29 Moehler M, Mueller A, Hartmann JT, Ebert MP, Al-Batran SE, Reimer P, Weihrauch M, Lordick F, Trarbach T, Biesterfeld S, Kabisch M, Wachtlin D, Galle PR. An open-label, multicentre biomarker-oriented AIO phase II trial of sunitinib for patients with chemo-refractory advanced gastric cancer. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1511-1520 [PMID: 21561763 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.04.006]
  - 30 Yi JH, Lee J, Lee J, Park SH, Park JO, Yim DS, Park YS, Lim HY, Kang WK. Randomised phase II trial of docetaxel and sunitinib in patients with metastatic gastric cancer who were previously treated with fluoropyrimidine and platinum. *Br J Cancer* 2012; 106: 1469-1474 [PMID: 22460270 DOI: 10.1038/bjc.2012.100]
  - 31 Partyka R, Gonciarz M, Jałowiecki P, Kokocińska D, Byrczek T. VEGF and metalloproteinase 2 (MMP 2) expression in gastric cancer tissue. *Med Sci Monit* 2012; 18: BR130-BR134 [PMID: 22460086 DOI: 10.12659/MSM.882614]
  - 32 Wu T, Li Y, Lu J, Qiao Q, Bao G, Wang N, He X, Du X. Increased MMP-21 expression is associated with poor overall survival of patients with gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 323 [PMID: 23275114 DOI: 10.1007/s12032-012-0323-8]
  - 33 He L, Chu D, Li X, Zheng J, Liu S, Li J, Zhao Q, Ji G. Matrix metalloproteinase-14 is a negative prognostic marker for patients with gastric cancer. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 1264-1270 [PMID: 23314917 DOI: 10.1007/s10620-012-2513-9]
  - 34 Zhang QW, Liu L, Chen R, Wei YQ, Li P, Shi HS, Zhao YW. Matrix metalloproteinase-9 as a prognostic factor in gastric cancer: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 2903-2908 [PMID: 22938481 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.6.2903]
  - 35 Bramhall SR, Hallissey MT, Whiting J, Scholefield J, Tierney G, Stuart RC, Hawkins RE, McCulloch P, Maughan T, Brown PD, Baillet M, Fielding JW. Marimastat as maintenance therapy for patients with advanced gastric cancer: a randomised trial. *Br J Cancer* 2002; 86: 1864-1870 [PMID: 12085177 DOI: 10.1038/sj.bjc.6600310]
  - 36 Park MT, Lee SJ. Cell cycle and cancer. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 60-65 [PMID: 12542976 DOI: 10.5483/BMBRep.2003.36.1.060]
  - 37 Schwartz GK, Ilson D, Saltz L, O'Reilly E, Tong W, Maslak P, Werner J, Perkins P, Stoltz M, Kelsen D. Phase II study of the cyclin-dependent kinase inhibitor flavopiridol administered to patients with advanced gastric carcinoma. *J Clin Oncol* 2001; 19: 1985-1992 [PMID: 11283131]
  - 38 Motwani M, Rizzo C, Sirotinak F, She Y, Schwartz GK. Flavopiridol enhances the effect of docetaxel in vitro and in vivo in human gastric cancer cells. *Mol Cancer Ther* 2003; 2: 549-555 [PMID: 12813134]
  - 39 Motwani M, Delohery TM, Schwartz GK. Sequential dependent enhancement of caspase activation and apoptosis by flavopiridol on paclitaxel-treated human gastric and breast cancer cells. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 1876-1883 [PMID: 10430095]
  - 40 Xu L, Qu XJ, Liu YP, Liu J, Zhang Y, Hou KZ, Jiang YH. [Cisplatin enhances TRAIL-induced apoptosis in gastric cancer cells through clustering death receptor 4 into lipid rafts]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2011; 33: 484-488 [PMID: 22093622]
  - 41 Xu L, Qu X, Luo Y, Zhang Y, Liu J, Qu J, Zhang L, Liu Y. Epirubicin enhances TRAIL-induced apoptosis in gastric cancer cells by promoting death receptor clustering in lipid rafts. *Mol Med Rep* 2011; 4: 407-411 [PMID: 21468584 DOI: 10.3892/mmr.2011.439]
  - 42 Shah MA, Power DG, Kindler HL, Holen KD, Kemeny MM, Ilson DH, Tang L, Capanu M, Wright JJ, Kelsen DP. A multicenter, phase II study of bortezomib (PS-341) in patients with unresectable or metastatic gastric and gastroesophageal junction adenocarcinoma. *Invest New Drugs* 2011; 29: 1475-1481 [PMID: 20574790 DOI: 10.1007/s10637-010-9474-7]
  - 43 Oliner KS, Tang R, Anderson A, Lan Y, Iveson T, Donehower RC, Loh E. Evaluation of MET pathway biomarkers in a phase II study of rilotumumab (R, AMG 102) or placebo (P) in combination with epirubicin, cisplatin, and capecitabine (ECX) in patients (pts) with locally advanced or metastatic gastric (G) or esophagogastric junction (EGJ) cancer. *ASCO* 2012; 30 [Meeting Abstracts]
  - 44 Doi T, Muro K, Boku N, Yamada Y, Nishina T, Takiuchi H, Komatsu Y, Hamamoto Y, Ohno N, Fujita Y, Robson M, Ohtsu A. Multicenter phase II study of everolimus in patients with previously treated metastatic gastric cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1904-1910 [PMID: 20231677 DOI: 10.1200/JCO.2009.26.2923]
  - 45 Ohtsu A, Ajani JA, Bai YX, Bang YJ, Chung HC, Pan HM, Salmoud T, Shen L, Yeh KH, Chin K, Muro K, Kim YH, Ferry D, Tebbutt NC, Al-Batran SE, Smith H, Costantini C, Rizvi S, Lebwohl D, Van Cutsem E. Everolimus for previously treated advanced gastric cancer: results of the randomized, double-blind, phase III GRANITE-1 study. *J Clin Oncol* 2013; 31: 3935-3943 [PMID: 24043745 DOI: 10.1200/JCO.2012.48.3552]
  - 46 Saito H, Kuroda H, Matsunaga T, Osaki T, Ikeguchi M. Increased PD-1 expression on CD4+ and CD8+ T cells is involved in immune evasion in gastric cancer. *J Surg Oncol* 2013; 107: 517-522 [PMID: 23129549 DOI: 10.1002/jso.23281]
  - 47 Brahmer JR, Tykodi SS, Chow LQ, Hwu WJ, Topalian SL, Hwu P, Drake CG, Camacho LH, Kauh J, Odunsi K, Pitot HC, Hamid O, Bhatia S, Martins R, Eaton K, Chen S, Salay TM, Alaparthi S, Grosso JF, Korman AJ, Parker SM, Agrawal S, Goldberg SM, Pardoll DM, Gupta A, Wigginton JM. Safety and activity of anti-PD-L1 antibody in patients with advanced cancer. *N Engl J Med* 2012; 366: 2455-2465 [PMID: 22658128 DOI: 10.1056/NEJMoa1200694]
  - 48 Wang J, Cui S, Zhang X, Wu Y, Tang H. High expression of heat shock protein 90 is associated with tumor aggressiveness and poor prognosis in patients with advanced gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e62876 [PMID: 23638161 DOI: 10.1371/journal.pone.0062876]
  - 49 Wainberg ZA, Anghel A, Rogers AM, Desai AJ, Kalous O, Conklin D, Ayala R, O'Brien NA, Quadt C, Akimov M, Slamon DJ, Finn RS. Inhibition of

- HSP90 with AUY922 induces synergy in HER2-amplified trastuzumab-resistant breast and gastric cancer. *Mol Cancer Ther* 2013; 12: 509-519 [PMID: 23395886 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-12-0507]
- 50 Kim JG, Kang MJ, Yoon YK, Kim HP, Park J, Song SH, Han SW, Park JW, Kang GH, Kang KW, Oh do Y, Im SA, Bang YJ, Yi EC, Kim TY. Heterodimerization of glycosylated insulin-like growth factor-1 receptors and insulin receptors in cancer cells sensitive to anti-IGF1R antibody. *PLoS One* 2012; 7: e33322 [PMID: 22438913 DOI: 10.1371/journal.pone.0033322]
- 51 Ichinoe M, Mikami T, Yoshida T, Igawa I, Tsuruta T, Nakada N, Anzai N, Suzuki Y, Endou H, Okayasu I. High expression of L-type amino-acid transporter 1 (LAT1) in gastric carcinomas: comparison with non-cancerous lesions. *Pathol Int* 2011; 61: 281-289 [PMID: 21501294 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2011.02650.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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



# 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用

周振华, 陈国栋, 杨林

## ■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见的恶性肿瘤之一, 具有恶性程度高、病死率高及预后差特点。目前临床上缺乏对HCC早期诊断和治疗的有效标志物。MiRNA是真核生物中一类非编码小分子单链RNA, 广泛参与肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡等, 是近年肿瘤研究的热点领域。而血清miRNA作为一种新兴的肿瘤标志物, 在HCC临床应用中的价值逐渐受到重视。

## ■同行评议者

郭俊明, 教授, 宁波大学医学院生物化学与分子生物学研究所

周振华, 陈国栋, 杨林, 南华大学附属第一医院普通外科 湖南省衡阳市 421001

周振华, 主要从事肝癌的临床与基础研究。

作者贡献分布: 本文综述由周振华完成; 由陈国栋与杨林审校。

通讯作者: 杨林, 教授, 主任医师, 421001, 湖南省衡阳市船山路69号, 南华大学附属第一医院普通外科。

yanglinsurgeon@163.com

电话: 0734-8578566

收稿日期: 2013-12-05 修回日期: 2014-01-06

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-28

## Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma

Zhen-Hua Zhou, Guo-Dong Chen, Lin Yang

Zhen-Hua Zhou, Guo-Dong Chen, Lin Yang, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of South China, Hengyang 421001, Hunan Province, China

Correspondence to: Lin Yang, Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of University of South China, 69 Chuansan Road, Hengyang 421001, Hunan Province, China. yanglinsurgeon@163.com

Received: 2013-12-05 Revised: 2014-01-06

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-28

## Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common malignant tumors, with features of high malignancy, high mortality and poor prognosis. Most patients with HCC are diagnosed at late stages. One main reason is the lack of highly sensitive and specific molecular markers. MicroRNAs (miRNA) are a kind of small non-coding RNAs involved in posttranscriptional regulation in eukaryotes. They participate in many developmental and physiological processes, including growth, cell differentiation, proliferation and apoptosis. Since abnormal expression of miRNAs is closely related to HCC, serum miRNAs have appreciable value in early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in HCC.

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

**Key Words:** Serum miRNA; Hepatocellular carcinoma; Early diagnosis; Efficacy; Prognostic evaluation

Zhou ZH, Chen GD, Yang L. Serum miRNAs for early diagnosis, efficacy assessment and prognostic evaluation in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 782-787 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/782.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.782>

## 摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是人类最常见的恶性肿瘤之一, 具有恶性程度高、病死率高及预后差等特点。HCC确诊时多数已处于晚期, 究其原因关键是缺乏高敏感性、特异性的早期诊断分子标志物。miRNA(microRNA)是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 其对肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡等生命活动用重要的调节作用。而血清miRNA的异常表达与HCC密切相关, 其作为新兴的肿瘤分子标志物对于HCC的临床诊断、疗效监测及预后评估具有重要的应用价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 血清miRNA; 肝细胞癌; 早期诊断; 疗效监测; 预后评估

**核心提示:** 本文就目前血清miRNA在HCC临床应用中的研究进展作一综述。MiRNA是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 对肿瘤生长发育、细胞分化、增殖和凋亡具有重要的调节作用。研究证实miRNA在HCC患者血清中的异常表达, 提示其可作为一种新兴的肿瘤标志物应用于HCC早期诊断、疗效监测及预后评估。

周振华, 陈国栋, 杨林. 血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6):

782-787 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/782.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.782>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)位居世界恶性肿瘤第3位, 中国为全球肝癌发病率最高的国家, 占全球总发病率的一半<sup>[1]</sup>. HCC患者的5年生存率很低(约7%), 并且术后转移和复发比例较高<sup>[2-4]</sup>. 对于早期发现并接受肝肿瘤切除术的患者, 患者的5年生存率可提高到69%<sup>[5,6]</sup>. 因此HCC在可切除的阶段被早期发现, 是提高HCC患者生存率的最好选择. 所以有必要积极寻找更早、更有效的与HCC相关的肿瘤标志物. Lee等<sup>[7]</sup>于1993年利用遗传分析的方法在线虫中发现一个具有22个核苷酸的小分子非编码RNA, 命名为lin-4, 这种单链RNA通过碱基配对的方式结合到靶mRNA lin-14的3'末端非翻译区, 从而抑制lin-14的翻译, 但并不影响其转录. 2000年Reinhart等<sup>[8]</sup>又发现了另一个类似的具有转录后调节功能的小分子RNA, 命名为let-7, 存在于不同的生物中, 统一将这一类非编码的小分子RNA命名为microRNA(miRNA). 近年来, miRNA逐渐成为肿瘤研究的热点, 相比于传统肿瘤标志物, miRNA表达异常出现的更早, 是一种更加快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物<sup>[9-11]</sup>. Murakami等<sup>[3]</sup>首次发现HCC血清中存在miRNA异常表达, 随后大量研究表明miRNA的表达异常与HCC的发生发展相关<sup>[12-14]</sup>. 目前较多研究表明血清中的miRNA在HCC早期异常表达, 使得早期诊断HCC成为可能. 本文就目前血清miRNA在HCC临床应用中的研究进展作一综述.

## 1 MiRNA的合成及生物学功能

MiRNA(microRNA)是真核生物中一类参与基因转录后水平调控的非编码小分子单链RNA, 在RNase III Drosase酶的作用下miRNA初级转录物(pri-miRNA)被剪切成长约65-70 nt、具有茎环结构的前体miRNA(pre-miRNA)<sup>[15]</sup>. 然后pre-miRNA由另一种RNase III Dicer酶剪切成为20-25 nt的成熟miRNA(mature miRNA)<sup>[16,17]</sup>. 成熟的miRNA与靶miRNA部分互补, 尤其是与3'UTR的碱基配对, 引起靶miRNA的降解或翻译抑制, 阻止蛋白质翻译, 从而在转录后水平调控靶基因的表达<sup>[18]</sup>. 随后的研究表明, 每个miRNA可能调节数百个靶基因, 参与生命活动中众多的信

号转导途径, 在细胞个体发育、肿瘤的发生发展及血管生成等一系列过程中发挥作用<sup>[19-24]</sup>.

## 2 血清miRNA的研究现状

2.1 血清miRNA的来源 血清miRNA的来源目前仍未完全阐明, Zen等<sup>[25]</sup>认为血清miRNA有3种主要来源途径: (1)如同激素和细胞因子一样, 细胞以游离的形式将miRNA分泌到细胞外; (2)miRNA以出胞的形式选择性的排出细胞外, 形成微粒; (3)miRNA以微泡的形式从细胞胞浆中脱落排出细胞. Valadi等<sup>[26]</sup>研究发现, 成熟的miRNA通过形成外切酶体, 介导的细胞间miRNA的交换, 进入血液的外切酶体可经内吞作用, 释放出miRNA发挥生物学功能. Shen等<sup>[27]</sup>和Ji等<sup>[28]</sup>发现一些血清miRNA来源于组织. 当组织受到损伤的时候, 释放出miRNA进入血液中. Ranghino等<sup>[29]</sup>研究发现血清miRNA可能来源于肿瘤, 实验证实将人类的前列腺肿瘤移植到小鼠的体内后, 在小鼠的血液中可检测到人类的miRNA.

2.2 血清miRNA的稳定性及检测方法 由于血清中存在大量的外切酶, miRNA加入血清中后会很快降解<sup>[30]</sup>. 但是大量研究表明, 血清miRNA在不同的温度、不同pH、多次冻融后含量无明显变化<sup>[31-34]</sup>. 因此, 血清中存在稳定miRNA. 这就为血清miRNA作为生物标志物进行检测提供了可能. 目前国内外检测血清miRNA的手段主要包括: (1)克隆测序检测法: 对于发现新的miRNA分子一般采用此方法<sup>[35,36]</sup>; (2)RNA印迹杂交检测法: 主要包括Northern杂交和原位杂交<sup>[37]</sup>; (3)芯片技术检测法<sup>[38]</sup>: 目前基因芯片检测方法的重现性和准确性较差, 一般多用于初筛, 现在已经发展到第二代基因芯片技术, 即Solexa测序, 获得的结果需要采用RT-PCR进行验证<sup>[31,39]</sup>. RT-PCR检测方法主要包括基于茎-环的RT-PCR方法(stem-loop RT-PCR)、基于polyA加尾的RT-PCR方法<sup>[36,37]</sup>和实时定量或非半定量RT-PCR, 此法操作简便、快速、高效、敏感性高和特异性强, 是现在测定血清miRNA的常用方法.

## 3 HCC的早期诊断

血清甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)一直被作为HCC最常用的肿瘤标志物广泛应用于临床. 对于早期HCC, 血清AFP的敏感性: 39%-65%, 特异性: 76%-94%. 但有三分之一的早期HCC患者(肿瘤<3 cm)在血清AFP筛查中被漏诊<sup>[40]</sup>. 而

### ■研究前沿

血清miRNA在HCC早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用已是目前肝癌研究领域的前沿热点. 其作为一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物, 对于HCC患者早期诊断和提高临床治疗是一个非常有用的工具.

### ■相关报道

相关研究表明循环中存在一部分miRNA与Ago2结合形成非囊泡型复合体,以Ago2-miRNA核糖体形式存在而具有较高的稳定性,提示miRNA/Ago2络合物可能是血浆miRNA稳定的一个机制。

B超在小肝癌诊断方面也存在明显的缺陷。其他肿瘤标志物及CT等影像检查进行筛查,由于其诊断特异性及敏感性不高,费用过于昂贵等原因,未能在HCC的早期诊断中广泛应用<sup>[41]</sup>。因此迫切需要寻找新的标志物应用于HCC的早期诊断,而近年来较多研究表明,血清miRNA有可能在HCC的诊断中扮演这一重要角色。

## 4 血清miRNA与HCC的诊断

4.1 血清miRNA的单独诊断 Tomimaru等<sup>[42]</sup>通过定量RT-PCR测定126例HCC患者,30例慢性肝炎患者和50例健康志愿者的血清miRNA-21水平,发现HCC患者血清中miRNA-21水平明显高于慢性肝炎患者和健康志愿者。通过ROC曲线分析可以清楚的区分HCC患者与慢性肝炎患者(对慢性肝炎AUC-ROC 0.773;敏感性61.1%,特异性83.3%);HCC患者与健康志愿者(对健康志愿者AUC-ROC 0.953;敏感性87.3%,特异性92.0%),且两组值均优于AFP。Zhou等<sup>[43]</sup>通过定量RT-PCR测定934例患者血清miRNA,发现miRNA(miR-122、miR-21、miR-223、miR-26a、miR-27a、miR-801)均可用于区分HCC患者、健康人群、慢性乙型肝炎患者以及肝硬化患者。Li等<sup>[44]</sup>通过定量RT-PCR检测携带乙型肝炎病毒的HCC患者( $n = 86$ ),慢性肝病患者(肝炎或肝硬化患者)( $n = 30$ ),健康志愿者( $n = 45$ )的血清miRNA-18a的表达水平,发现血清miRNA-18a在携带乙型肝炎病毒的HCC患者中的表达水平明显高于慢性肝病患者与健康志愿者。通过ROC曲线分析可以清楚的区分携带乙型肝炎病毒的HCC患者与健康志愿者(对健康志愿者AUC-ROC 0.881;敏感性86.1%,特异性75.0%)。携带乙型肝炎病毒的HCC患者与慢性肝病患者(对慢性肝病患者AUC-ROC 0.775,敏感性77.2%,特异性70.0%)。Qu等<sup>[45]</sup>发现在HCC患者血清中miR-16表达显著降低,提示miR-16可作为HCC的早期诊断指标。Li等<sup>[46]</sup>发现单独应用miR-375诊断HCC,特异性达到96%,敏感度达100%。越来越多的研究表明血清miRNA可用于HCC的诊断,且单独诊断的效能优于AFP。

4.2 血清miRNA的联合诊断 血清miR-15b和miR-130b在早期HCC患者检出率为97.8%,而相同条件下血清AFP检出率仅为48.9%<sup>[47]</sup>。Li等<sup>[46]</sup>发现在早期HCC患者中应用miR-25、miR-375、let-7f进行联合诊断时的特异性96%,

敏感性100%;而血清AFP的特异性76%-94%,敏感性39%-65%。因此,较多研究提示多个血清miRNA的联合诊断优于血清AFP。Qu等<sup>[45]</sup>在血清miRNA与血清AFP、AFP-L3和血清DCP比较研究中发现:在HCC患者血清中miRNA-16和miRNA-196a表达明显低于正常人和慢性肝病患者表达。Borel等<sup>[48]</sup>研究发现,血清miRNA-16与传统肿瘤标志物血清AFP、AFP-L3和血清DCP相比,血清miRNA-16对HCC的诊断更敏感,并指出miR-16、AFP、AFP-L3和DCP的联合诊断时为最佳选择,其特异性78.5%,敏感性92.4%。另外,Luo等<sup>[49]</sup>发现联合运用血清miR-122a与AFP诊断HCC优于AFP的单独诊断。因此,血清miRNA与其他血清肿瘤标志物联合诊断时可大大提高诊断价值,其在临床应用的前景更广阔。

## 5 血清miRNA与HCC的疗效监测

最近的研究发现,血清中的某些miRNA的表达与HCC患者的疗效有潜在的相关性。Tomimaru等<sup>[42]</sup>通过定量RT-PCR测定10例HCC患者行根治性切除术后和手术前血清中的miRNA-21的表达水平,发现术后血清miRNA-21的表达水平明显降低,说明miRNA-21可能成为HCC患者疗效监测的新的生物学标志物。Liu等<sup>[47]</sup>对15个选定的HCC患者术前和术后血清样本中miRNA的测定发现,血清中miR-15b表达的平均水平从177.6下降至64.1,血清中miR-130b表达的平均水平从124.8下降至96.2,miRNA-15b和miR-130b明显降低。因此,提示血清中miRNA-15b和miR-130b可以监测HCC患者手术的疗效。

## 6 血清miRNA与HCC的预后评估

Zheng等<sup>[50]</sup>通过定量RT-PCR技术发现:在HCC患者术后血清miR-17-5p的表达较术前显著下调,在复发患者中血清miR-17-5p的表达量较未复发患者明显升高。而且,血清中miR-17-5p的表达与肿瘤的转移状况和TNM分期有着明显相关性。更重要的是,HCC患者血清中miR-17-5p的高表达与患者生存率的缩短成正相关。单变量和多变量Cox回归分析表明,血清中的miR-17-5p的表达对患者的生存率是一个独立危险因素。因此,血清中miR-17-5p可以作为一种新型HCC预后指标。Li等<sup>[51]</sup>通过定量RT-PCR技术对46例HCC患者和20例健康人血清中miR-221的表达与HCC患者的临床病理特征和预后相关性进行了评估,结果提示:血清中miR-221的高表达与



肿瘤大小、肝硬化程度和肿瘤分期成正相关。另外, Kaplan-Meier生存曲线分析显示: 血清中miR-221高表达组的生存率(27.6%), 明显低于血清中miR-221低表达组的生存率(62.3%,  $P<0.05$ )。因此, HCC血清中miR-221的上调, 能够为HCC患者的预后提供评估。Shigoka等<sup>[52]</sup>发现HCC患者血浆中miR-92a表达低于正常对照组, 但是HCC患者手术后血浆miR-92a升高, 提示其可能作为HCC新的预后分子标志物。

## 7 结论

血清miRNA在肝细胞癌早期诊断、疗效监测及预后评估中的应用已是目前肝癌研究领域的前沿热点。相对于传统的超声、AFP等检测手段, 血清miRNA是一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物。因此, 血清miRNA对于HCC患者早期诊断和提高临床治疗效果是一个非常有用的工具。但是血清miRNA在HCC的临床应用中仍然存在局限性。首先, miRNA调控HCC的精确机制仍然不明确, 以及他们的作用靶点是什么仍需进一步研究。另外, 由于不同种族血清miRNA表达谱变异较大, 对于已经验证的不同种族的血清miRNA需要进行分类。最后, 个体间血清miRNA在HCC的不同时期的表达谱也不用一样, 探寻不同时期HCC患者血清miRNA表达谱的变化规律并阐明作用机制, 是将miRNA检测应用于HCC个体化诊断的关键问题。随着对血清miRNA作用机制研究的深入, 也将会使人们加深对血清miRNA与HCC之间生理生化关系的认识, 进而明确血清miRNA在HCC发生发展中的具体作用。所以可以相信血清miRNA将会在未来的HCC临床诊断、疗效检测、预后评估中拥有更美好的应用前景。

## 8 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855]
- Whittaker S, Marais R, Zhu AX. The role of signaling pathways in the development and treatment of hepatocellular carcinoma. *Oncogene* 2010; 29: 4989-5005 [PMID: 20639898 DOI: 10.1038/onc.2010.236]
- Murakami Y, Yasuda T, Saigo K, Urashima T, Toyoda H, Okanoue T, Shimotohno K. Comprehensive analysis of microRNA expression patterns in hepatocellular carcinoma and non-tumorous tissues. *Oncogene* 2006; 25: 2537-2545 [PMID: 16331254 DOI: 10.1038/sj.onc.1209283]
- Budhu A, Jia HL, Forgues M, Liu CG, Goldstein D, Lam A, Zanetti KA, Ye QH, Qin LX, Croce CM, Tang ZY, Wang XW. Identification of metastasis-related microRNAs in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2008; 47: 897-907 [PMID: 18176954 DOI: 10.1002/hep.22160]
- Yuen MF, Cheng CC, Laufer JJ, Lam SK, Ooi CG, Lai CL. Early detection of hepatocellular carcinoma increases the chance of treatment: Hong Kong experience. *Hepatology* 2000; 31: 330-335 [PMID: 10655254]
- Fukuda S, Itamoto T, Amano H, Kohashi T, Ohdan H, Tashiro H, Asahara T. Clinicopathologic features of hepatocellular carcinoma patients with compensated cirrhosis surviving more than 10 years after curative hepatectomy. *World J Surg* 2007; 31: 345-352 [PMID: 17219274 DOI: 10.1007/s00268-006-0513-7]
- Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The C. elegans heterochronic gene lin-4 encodes small RNAs with antisense complementarity to lin-14. *Cell* 1993; 75: 843-854 [PMID: 8252621 DOI: 10.1016/0092-8674(93)90529-Y]
- Reinhart BJ, Slack FJ, Basson M, Pasquinelli AE, Bettinger JC, Rougvie AE, Horvitz HR, Ruvkun G. The 21-nucleotide let-7 RNA regulates developmental timing in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 2000; 403: 901-906 [PMID: 10706289 DOI: 10.1038/35002607]
- Hampton T. MicroRNAs linked to pancreatic cancer. *JAMA* 2007; 297: 937 [PMID: 17341695]
- Zhang L, Coukos G. MicroRNAs: a new insight into cancer genome. *Cell Cycle* 2006; 5: 2216-2219 [PMID: 17012848 DOI: 10.4161/cc.5.19.3319]
- O'Driscoll L. The emerging world of microRNAs. *Anticancer Res* 2006; 26: 4271-4278 [PMID: 17201144]
- Yao J, Liang L, Huang S, Ding J, Tan N, Zhao Y, Yan M, Ge C, Zhang Z, Chen T, Wan D, Yao M, Li J, Gu J, He X. MicroRNA-30d promotes tumor invasion and metastasis by targeting Galphai2 in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 846-856 [PMID: 20054866 DOI: 10.1002/hep.23443]
- Xiong Y, Fang JH, Yun JP, Yang J, Zhang Y, Jia WH, Zhuang SM. Effects of microRNA-29 on apoptosis, tumorigenicity, and prognosis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 51: 836-845 [PMID: 20041405 DOI: 10.1002/hep.23380]
- Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW, Chen CM, Lin CD, Liao YL, Wang JL, Chau YP, Hsu MT, Hsiao M, Huang HD, Tsou AP. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1571-1582 [PMID: 19296470 DOI: 10.1002/hep.22806]
- Lee Y, Ahn C, Han J, Choi H, Kim J, Yim J, Lee J, Provost P, Rådmark O, Kim S, Kim VN. The nuclear RNase III Drosha initiates microRNA processing. *Nature* 2003; 425: 415-419 [PMID: 14508493 DOI: 10.1038/nature01957]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- Yi R, Qin Y, Macara IG, Cullen BR. Exportin-5 mediates the nuclear export of pre-microRNAs and short hairpin RNAs. *Genes Dev* 2003; 17: 3011-3016 [PMID: 14681208 DOI: 10.1101/gad.1158803]
- Hwang HW, Mendell JT. MicroRNAs in cell proliferation, cell death, and tumorigenesis. *Br J Cancer* 2006; 94: 776-780 [PMID: 16495913 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603023]
- Bethke A, Fielenbach N, Wang Z, Mangelsdorf DJ,

## ■创新盘点

本文总结了近年来血清miRNA在HCC临床应用中的新进展。对血清miRNA在HCC的早期诊断、疗效监测及预后评估等做了客观全面的分析, 相对于传统的超声、AFP等检测手段, 血清miRNA是一种快速的、方便的、精确的、非侵入性的检测标志物, 并展望其在HCC中良好应用前景。

## ■应用要点

发现一种在HCC的早期诊断、疗效监测及预后评估中高敏感性及特异性的血清miRNA指标,对提高HCC早期诊断价值和判断预后具有重要的应用价值。

- Antebi A. Nuclear hormone receptor regulation of microRNAs controls developmental progression. *Science* 2009; 324: 95-98 [PMID: 19342589 DOI: 10.1126/science.1164899]
- 20 Suzuki HI, Yamagata K, Sugimoto K, Iwamoto T, Kato S, Miyazono K. Modulation of microRNA processing by p53. *Nature* 2009; 460: 529-533 [PMID: 19626115 DOI: 10.1038/nature08199]
- 21 Pfeffer S, Zavolan M, Grässer FA, Chien M, Russo JJ, Ju J, John B, Enright AJ, Marks D, Sander C, Tuschl T. Identification of virus-encoded microRNAs. *Science* 2004; 304: 734-736 [PMID: 15118162 DOI: 10.1126/science.1096781]
- 22 Liu X, Liu L, Xu Q, Wu P, Zuo X, Ji A. MicroRNA as a novel drug target for cancer therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2012; 12: 573-580 [PMID: 22428844 DOI: 10.1517/14712598]
- 23 Iorio MV, Croce CM. MicroRNAs in cancer: small molecules with a huge impact. *J Clin Oncol* 2009; 27: 5848-5856 [PMID: 19884536 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.0317]
- 24 Stefani G, Slack FJ. Small non-coding RNAs in animal development. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2008; 9: 219-230 [PMID: 18270516 DOI: 10.1038/nrm2347]
- 25 Zen K, Zhang CY. Circulating microRNAs: a novel class of biomarkers to diagnose and monitor human cancers. *Med Res Rev* 2012; 32: 326-348 [PMID: 22383180 DOI: 10.1002/med.20215]
- 26 Valadi H, Ekström K, Bossios A, Sjöstrand M, Lee JJ, Lötvall JO. Exosome-mediated transfer of mRNAs and microRNAs is a novel mechanism of genetic exchange between cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 654-659 [PMID: 17486113 DOI: 10.1038/ncb1596]
- 27 Shen J, Todd NW, Zhang H, Yu L, Lingxiao X, Mei Y, Guarnera M, Liao J, Chou A, Lu CL, Jiang Z, Fang H, Katz RL, Jiang F. Plasma microRNAs as potential biomarkers for non-small-cell lung cancer. *Lab Invest* 2011; 91: 579-587 [PMID: 21116241 DOI: 10.1038/labinvest.2010.194]
- 28 Ji X, Takahashi R, Hiura Y, Hirokawa G, Fukushima Y, Iwai N. Plasma miR-208 as a biomarker of myocardial injury. *Clin Chem* 2009; 55: 1944-1949 [PMID: 19696117 DOI: 10.1373/clinchem.2009.125310]
- 29 Ranghino A, Cantaluppi V, Grange C, Vitillo L, Fop F, Biancone L, Deregiibus MC, Tetta C, Segoloni GP, Camussi G. Endothelial progenitor cell-derived microvesicles improve neovascularization in a murine model of hindlimb ischemia. *Int J Immunopathol Pharmacol* 2012; 25: 75-85 [PMID: 22507320]
- 30 Mitchell PS, Parkin RK, Kroh EM, Fritz BR, Wyman SK, Pogosova-Agadjanyan EL, Peterson A, Noteboom J, O'Brian KC, Allen A, Lin DW, Urban N, Drescher CW, Knudsen BS, Stirewalt DL, Gentleman R, Vessella RL, Nelson PS, Martin DB, Tewari M. Circulating microRNAs as stable blood-based markers for cancer detection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10513-10518 [PMID: 18663219 DOI: 10.1073/pnas.0804549105]
- 31 Chen X, Ba Y, Ma L, Cai X, Yin Y, Wang K, Guo J, Zhang Y, Chen J, Guo X, Li Q, Li X, Wang W, Zhang Y, Wang J, Jiang X, Xiang Y, Xu C, Zheng P, Zhang J, Li R, Zhang H, Shang X, Gong T, Ning G, Wang J, Zen K, Zhang J, Zhang CY. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res* 2008; 18: 997-1006 [PMID: 18766170 DOI: 10.1038/cr.2008.282]
- 32 Gilad S, Meiri E, Yogev Y, Benjamin S, Lebanony D, Yerushalmi N, Benjamin H, Kushnir M, Cholak H, Melamed N, Bentwich Z, Hod M, Goren Y, Chajut A. Serum microRNAs are promising novel biomarkers. *PLoS One* 2008; 3: e3148 [PMID: 18773077 DOI: 10.1371/journal.pone.0003148]
- 33 Shih KK, Levine DA. Exosomal microRNAs step into the biomarker arena. *Gynecol Oncol* 2008; 110: 1-2 [PMID: 18589207 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.05.020]
- 34 Resnick KE, Alder H, Hagan JP, Richardson DL, Croce CM, Cohn DE. The detection of differentially expressed microRNAs from the serum of ovarian cancer patients using a novel real-time PCR platform. *Gynecol Oncol* 2009; 112: 55-59 [PMID: 18954897 DOI: 10.1016/j.ygyno.2008.08.036]
- 35 Hafner M, Landgraf P, Ludwig J, Rice A, Ojo T, Lin C, Holoch D, Lim C, Tuschl T. Identification of microRNAs and other small regulatory RNAs using cDNA library sequencing. *Methods* 2008; 44: 3-12 [PMID: 18158127 DOI: 10.1016/j.ymeth.2007.09.009]
- 36 Fu H, Tie Y, Xu C, Zhang Z, Zhu J, Shi Y, Jiang H, Sun Z, Zheng X. Identification of human fetal liver miRNAs by a novel method. *FEBS Lett* 2005; 579: 3849-3854 [PMID: 15978578 DOI: 10.1016/j.febslet.2005.05.064]
- 37 Pall GS, Hamilton AJ. Improved northern blot method for enhanced detection of small RNA. *Nat Protoc* 2008; 3: 1077-1084 [PMID: 18536652 DOI: 10.1038/nprot.2008.67]
- 38 Liu CG, Calin GA, Meloon B, Gamliel N, Sevignani C, Ferracin M, Dumitru CD, Shimizu M, Zupo S, Dono M, Alder H, Bullrich F, Negrini M, Croce CM. An oligonucleotide microchip for genome-wide microRNA profiling in human and mouse tissues. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 9740-9744 [PMID: 15210942]
- 39 Hu Z, Chen X, Zhao Y, Tian T, Jin G, Shu Y, Chen Y, Xu L, Zen K, Zhang C, Shen H. Serum microRNA signatures identified in a genome-wide serum microRNA expression profiling predict survival of non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1721-1726 [PMID: 20194856 DOI: 10.1200/JCO.2009.24.9342]
- 40 Collier J, Sherman M. Screening for hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 1998; 27: 273-278 [PMID: 9425947]
- 41 吴孟超. 原发性肝癌的诊断及治疗进展. *中国医学科学院学报* 2008; 30: 363-365.
- 42 Tomimaru Y, Eguchi H, Nagano H, Wada H, Kobayashi S, Marubashi S, Tanemura M, Tomokuni A, Takemasa I, Umeshita K, Kanto T, Doki Y, Mori M. Circulating microRNA-21 as a novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 167-175 [PMID: 21749846 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.04.026]
- 43 Zhou J, Yu L, Gao X, Hu J, Wang J, Dai Z, Wang JF, Zhang Z, Lu S, Huang X, Wang Z, Qiu S, Wang X, Yang G, Sun H, Tang Z, Wu Y, Zhu H, Fan J. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4781-4788 [PMID: 22105822 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697]
- 44 Li L, Guo Z, Wang J, Mao Y, Gao Q. Serum miR-18a: a potential marker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma screening. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 2910-2916 [PMID: 22865399 DOI: 10.1007/s10620-012-2317-y]

- 45 Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 355-360 [PMID: 21278583 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18ac2]
- 46 Li LM, Hu ZB, Zhou ZX, Chen X, Liu FY, Zhang JF, Shen HB, Zhang CY, Zen K. Serum microRNA profiles serve as novel biomarkers for HBV infection and diagnosis of HBV-positive hepatocarcinoma. *Cancer Res* 2010; 70: 9798-9807 [PMID: 21098710 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-1001]
- 47 Liu AM, Yao TJ, Wang W, Wong KF, Lee NP, Fan ST, Poon RT, Gao C, Luk JM. Circulating miR-15b and miR-130b in serum as potential markers for detecting hepatocellular carcinoma: a retrospective cohort study. *BMJ Open* 2012; 2: e000825 [PMID: 22403344 DOI: 10.1136/bmjopen-2012-000825]
- 48 Borel F, Konstantinova P, Jansen PL. Diagnostic and therapeutic potential of miRNA signatures in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 1371-1383 [PMID: 22314424 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.11.026]
- 49 Luo J, Chen M, Huang H, Yuan T, Zhang M, Zhang K, Deng S. Circulating microRNA-122a as a diagnostic marker for hepatocellular carcinoma. *Oncotargets Ther* 2013; 6: 577-583 [PMID: 23723713 DOI: 10.2147/OTT.S44215]
- 50 Zheng J, Dong P, Gao S, Wang N, Yu F. High expression of serum miR-17-5p associated with poor prognosis in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2013; 60: 549-552 [PMID: 23108086]
- 51 Li J, Wang Y, Yu W, Chen J, Luo J. Expression of serum miR-221 in human hepatocellular carcinoma and its prognostic significance. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406: 70-73 [PMID: 21295551 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.01.111]
- 52 Shigoka M, Tsuchida A, Matsudo T, Nagakawa Y, Saito H, Suzuki Y, Aoki T, Murakami Y, Toyoda H, Kumada T, Bartenschlager R, Kato N, Ikeda M, Takashina T, Tanaka M, Suzuki R, Oikawa K, Takanashi M, Kuroda M. Deregulation of miR-92a expression is implicated in hepatocellular carcinoma development. *Pathol Int* 2010; 60: 351-357 [PMID: 20518884 DOI: 10.1111/j.1440-1827.2010.02526.x]

#### 同行评价

本文就目前血清miRNA作为标志物在HCC临床应用方面作了一综述,展示了miRNA在HCC早期诊断、疗效监测及预后评估中的潜能,具有一定参考价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 胆汁酸盐输出泵转录调控及细胞内运输的分子机制

刘彬彬, 孔 静, 吴硕东, 王 玉

## ■背景资料

胆小管内胆汁分泌的输出泵主要是胆汁酸盐输出泵, 其对维持胆汁酸盐的肝肠循环等生理功能具有重要作用。这种蛋白表达异常是临床上多种胆汁淤积性疾病的根本原因。同时, 胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)是*Lith 1*最可能的候选基因, 是可能诱发胆石病重要因素。目前对BSEP的表达的调节机制已成为一项重要的课题。

刘彬彬, 孔静, 吴硕东, 王玉, 中国医科大学附属盛京医院胆道血管外科 辽宁省沈阳市 110000

刘彬彬, 硕士, 主要从事胆石成因的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81100313

辽宁省博士启动基金资助项目, No. 201111105

作者贡献分布: 本文由刘彬彬与王玉完成; 孔静与吴硕东审核。

通讯作者: 孔静, 副教授, 110000, 辽宁省沈阳市和平区三好街, 中国医科大学附属盛京医院胆道血管外科。

kongjing1998@163.com

收稿日期: 2013-10-11 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-02-28

## Bile acid salt export pump: Molecular mechanisms of transcription and intracellular regulation

Bin-Bin Liu, Jing Kong, Shuo-Dong Wu, Yu Wang

Bin-Bin Liu, Jing Kong, Shuo-Dong Wu, Yu Wang, Department of Biliary Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Shenyang 110000, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81100313; Dr Foundation-Funded Project in Liaoning Province, No. 20111105

Correspondence to: Jing Kong, Associate Professor, Department of Biliary Surgery, Shengjing Hospital, China Medical University, Sanhao Street, Heping District, Shenyang 110000, Liaoning Province, China. kongjing1998@163.com

Received: 2013-10-11 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-02-28

## Abstract

Bile salt export pump (BSEP), a member of ATP binding cassette (ABC), is responsible for transporting bile salt and is located on cholangiole lateral membrane. In humans, BSEP defects can lead to different types of cholestatic diseases, including hereditary or acquired liver diseases. In addition, BSEP is the most likely candidate gene for *Lith1* stone. The bile salt plays an important role in many physiological and pathophysiological processes, and the scientific community has attached great importance to the research on the regulatory mechanism of the expression of BSEP. This paper summarizes the research related to transcriptional regulation of BSEP, and expression or functional changes of BSEP on cholangiole lateral membrane caused by in-

tracellular transport changes, including intracellular endoplasmic reticulum and cell membrane ubiquitination-protease mediated protein degradation, short-term phosphorylation of BSEP, glycosylation, ubiquitination, and the regulatory effect of cholangiole lateral membrane-associated proteins.

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

Key Words: Bile salt export pump; Farnesoid X receptor; Caveolin-1; HAX-1; Intracellular regulation

Liu BB, Kong J, Wu SD, Wang Y. Bile acid salt export pump: Molecular mechanisms of transcription and intracellular regulation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 788-794 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/788.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.788>

## 摘要

胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)是ATP结合盒超家族蛋白(ATP binding cassette, ABC)的一员, 负责转运胆汁酸盐, 并定位于肝细胞胆小管侧膜。在人类, BSEP缺陷可导致多种不同的胆汁淤积性疾病, 包括遗传性肝病或获得性肝病。同时, BSEP也是*Lith1*致石基因的最可能的候选基因。由于胆汁酸盐在许多生理及病理生理过程中均有重要作用, 科学界对BSEP表达的调节机制的研究非常重视。本文对BSEP的转录调节及细胞内运输改变所致BSEP在胆小管侧膜的表达功能改变, 包括细胞内内质网以及细胞膜泛素化-蛋白酶介导的蛋白降解, BSEP的短期磷酸化、糖基化、泛素化及胆小管侧膜相关蛋白对BSEP的调节等相关研究进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胆汁酸盐输出泵; 法尼酯衍生物X受体; 小窝蛋白; HAX-1; 细胞内调控

核心提示: 胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP)储存于肝细胞内高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中, 其从高尔基体向胆小管侧膜之

## ■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外科

间存在一个转运过程,但相关的调节因素及机制仍有待于我们一步研究,本文章结合既往的研究,对可能参与该调控机制的相关因素(糖基化、磷酸化、泛素化、小窝蛋白及HAX-1)进行综述,阐述BSEP在细胞及膜水平可能出现调节机制,为进一步研究提供方向.

刘彬彬, 孔静, 吴硕东, 王玉. 胆汁酸盐输出泵转录调控及细胞内运输的分子机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 788-794  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/788.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.788>

## 0 引言

肝脏最重要的功能是产生及分泌胆汁,胆汁是肠道消化和吸收脂类必不可少的重要分泌物,是循环清除和分泌毒素、致癌物、药物、内源性化合物及代谢产物的重要途径<sup>[1]</sup>.负责胆小管内胆汁分泌的输出泵主要是胆汁酸盐输出泵(bile salt export pump, BSEP),他属于ATP结合盒超家族蛋白(ATP binding cassette, ABC),是组成人类基因中最大的转运蛋白家族,其对维持胆汁酸盐的肝肠循环等生理功能具有重要作用<sup>[2]</sup>.这种蛋白表达异常是临床上多种胆汁淤积性疾病的根本原因<sup>[3]</sup>.王召华等在大鼠缺血/再灌注性胆汁淤积的实验中证实,BSEP表达降低直接影响了胆汁酸的转运与分泌,改变胆汁流,导致胆汁淤积性肝病的发生<sup>[4,5]</sup>.同时,在1995年,Khanuja等报道了第1个小鼠致石基因*Lith1*,定位于小鼠2号染色体,遗传标记D2Mit44, LOD(Log odds score)值为4.6.在该基因区域和胆石病有关的可能候选基因包括Megalin(Gp330)和BSEP,由于Gp330在肝细胞不表达,无法直接参与肝脏脂质代谢调节,因此BSEP是*Lith1*最可能的候选基因<sup>[6,7]</sup>.目前BSEP的表达的调节已成为一项重要的课题.本文通过对BSEP在细胞内质网及细胞膜的泛素化-蛋白酶介导的蛋白降解,短期磷酸化、糖基化及胆小管侧膜相关蛋白对其运输调节等方面研究进行总结,进而阐述了BSEP转录及可能参与细胞内调节的分子机制,为进一步揭示相关疾病病因,改善临床治疗方法提供依据.

## 1 BSEP的发现、结构及功能

1995年Childs及其同事用多耐药基因的一个探针序列从猪的cDNA库中克隆了部分基因,为糖蛋白姐妹蛋白(sister P-glycoprotein, SPGP),其同源蛋白也称为BSEP<sup>[6]</sup>.BSEP具有底物特异

性,体外转染实验证明,BSEP具有转运胆汁酸盐的功能.用小鼠或大鼠BSEP基因转染到SF9昆虫细胞后<sup>[6]</sup>,SF9细胞介导牛磺酸转运较未转染细胞升高,且与鼠胆小管侧膜ATP依赖性的跨膜转运具有相似性<sup>[8,9]</sup>.韩天权等<sup>[7]</sup>在研究PFIC2患者时,定位并克隆人类BSEP的基因序列,其mRNA在肝细胞胆小管侧膜特异性表达.BSEP基因,也称*ABCB11*基因,位于人类第2条染色体长臂上2q24-31,其编码的蛋白叫ABCB11蛋白,也称BSEP<sup>[6]</sup>.BSEP是ABC转运蛋白超家族B族的成员之一,BSEP包含1321个氨基酸,分子量是160 kDa<sup>[10-12]</sup>.拓扑学显示其是串联复式结构,分子的一半含有6个预测的跨膜区域(transmembrane domain, TMD),一个大的胞质核苷酸结合域(nucleotide binding domain, NBD)<sup>[13]</sup>,按TMD-NBD-TMD-NBD的形式排列.第一个细胞外环是N-糖基化环<sup>[14]</sup>,有利于BSEP的稳定、运输及膜表达.连结域包括75个氨基酸,连接分为两部分存在的同源性启动蛋白(肌球蛋白II)以及细胞骨架相关蛋白(HAX-1),他们在BSEP分泌及胞吞途径中起作用<sup>[14,15]</sup>.BSEP介导一价结合胆汁酸分泌,顺序为牛磺鹅脱氧胆酸>牛磺胆酸>牛磺熊脱氧胆酸>甘氨酸胆酸<sup>[6]</sup>.结合型胆汁酸盐不仅仅作为BSEP转运的底物,并且可以激活其ATP活性.ATP活性区域的底物修饰对于ABC转运泵具有特异性.另外,为了调节BSEP的内在ATP活性,胆汁酸盐即可作为核受体的配体诱导BSEP mRNA的表达,也可作为胆汁酸受体的信号分子介导BSEP在肝细胞定位的动态调节<sup>[16-18]</sup>.

## 2 BSEP的转录调节

BSEP基因表达调节是由多因素参与,其中包括核受体、维生素A及转录因子NF-E2相关因子2(NF-E2-related factor 2)等因素,但主要是通过核受体调节,既往研究表明在人类及啮齿类动物中核受体为法尼酯衍生物X受体(farnesoid X receptor, FXR),是核受体超家族成员之一,为配体依赖的转录因子.核受体需要与相应配体结合后才能活化或抑制靶基因的表达.近年来发现他是内源性胆汁酸的感应器,生理浓度的鹅脱氧胆酸、石胆酸、脱氧胆酸均能激活FXR,其中鹅脱氧胆酸为最有力的激活体,故又称为胆汁酸受体<sup>[19-26]</sup>.FXR的生理功能是通过靶基因的调控来实现的,其功能为:(1)在胆汁酸的激活下,阻遏编码胆固醇7 $\alpha$ 羟化酶(cholesterol 7 $\alpha$  hydroxylase, CYP7A1)的基因转录,而CYP7A1是

### ■ 研发前沿

BSEP在细胞内及膜表达调控机制是由多种因素参与,初步研究表明,糖基化、磷酸化及泛素化等蛋白可能参与BSEP翻译后在细胞内调控及转运,并与小窝蛋白及HAX-1共同参与其在胆小管侧膜表达的调节.

### ■相关报道

Kipp等学者的相关研究提出了, BSEP在肝细胞内表达后存在一个储存及转运的过程, 但相关的调节因素及机制仍有待于我们进一步研究, 本文结合既往的研究, 对可能参与该调控机制的相关因素进行综述, 阐述相关疾病的在细胞及膜水平可能出现病理调节机制, 提供研究方向, 为相关疾病治疗提供新的靶点.

合成胆汁酸的限速酶, 结果使胆汁酸生成减少; (2)激活编码回肠胆汁酸结合蛋白(ideal bile acid binding protein, I-BABP)的基因, 胆汁酸结合蛋白在回肠结合胆酸, 从而抑制胆汁酸在回肠的重吸收; (3)促进有机阴离子转运多肽8(organic anion transporting polypeptide, *OATP8*)基因的表达, 增加非结合型胆盐和有机阴离子在肝窦基侧膜的摄入<sup>[27-33]</sup>. 克隆人的*BSEP*基因发现, 其启动子区含有反转重复顺序IR-1(FXR反应元件), 它具有FXR的结合位点. 许多研究证实在胆酸的激活下, 通过FXR/RXR异二聚体与*BSEP*启动子区的IR-1结合来调节基因的转录<sup>[34-36]</sup>. 用虫荧光素酶受体基因分析发现, FXR/RXR、胆盐都以浓度依赖的方式调节*BSEP*基因启动子. 这也同时说明胆汁酸即是FXR的受体, 也可以通过其自身负反馈调节来调控*BSEP*的转录. 不论是应用内源性FXR激动剂还是外源性FXR激动剂, 均可以诱导细胞系及动物模型中*BSEP*的mRNA及蛋白表达. 而在FXR<sup>-/-</sup>鼠中, *BSEP*的基础表达水平显著下降, 并且不能被胆汁酸诱导<sup>[37]</sup>. 随着相关研究不断深入, 核受体对*BSEP*调节有望成为治疗胆汁淤积、胆囊结石及高胆固醇血症等疾病靶点, 为相关疾病治疗提供了新的方向.

### 3 BSEP在细胞内调控分子机制

随着BSEP在细胞内及膜表达调控机制研究不断深入, 证明其调控机制是由多种因素参与, 但具体机制仍有待于进一步研究, 本文则对最有可能参与调控因素进行综述. 在脉冲追踪实验显示, BSEP直接从高尔基体, 向胆小管侧膜移动, 这个过程需要数小时. 在这段时间内, BSEP存在于高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中. 当需要时, 胞质内BSEP池中的BSEP可以很快的向胆小管侧膜运输, 以增加转运能力(例如: 在进餐期间对于胆道分泌胆汁酸盐的需要增加等). 肝细胞内BSEP储存库很大, 据估计是胆小管侧膜6倍<sup>[38]</sup>. 通过这个储藏库与胆小管侧膜顶端的循环, 可以维持肝脏BSEP的代谢半衰期为5 d. 早期关于鼠的肝细胞的免疫电镜术研究也发现BSEP除了定位于胆小管侧膜上, 同时在近顶点的囊泡中亦有表达, 将BSEP用黄色的荧光蛋白标记并转染到WIFB9细胞中, 可以观察到其在胆小管侧膜与Rab11蛋白阳性内含体之间循环<sup>[39,40]</sup>. 初步研究表明, 在快速的循环运输过程中, BSEP可能通过糖基化、磷酸化及泛素化等蛋白翻译后的修饰作用避免被降解, 并与小窝蛋白及HAX-1

共同参与其在细胞内转运及在胆小管侧膜表达的调节.

**3.1 糖基化的作用** 蛋白质糖基化修饰是最重要的蛋白质翻译后修饰之一, 蛋白质功能的实现多与糖基化修饰密切相关. 糖基化对于蛋白质的折叠、运输、定位起着重要作用, 并参与受体激活、信号转导等诸多重要的生物进程<sup>[41]</sup>. 在鼠的BSEP中, 第一个细胞外的环是N-糖基化环<sup>[14]</sup>, 位于4个天冬氨酸残基处. Mochizuki等<sup>[14]</sup>研究显示, 鼠的BSEP需要他的其中两个N-连接的葡聚糖来维持其蛋白的稳定性、细胞内运输以及功能活性. 在人类的BSEP中同样存在相似的天冬氨酸残基, 尽管他们的具体功能还不清楚, 但可以预测, 人的BSEP突变导致糖基化缺陷将产生变异的蛋白, 这种变异的蛋白将自限在内质网中, 并被直接转运进蛋白酶体中降解, 而不是在胆小管侧膜上发挥作用<sup>[42-44]</sup>.

**3.2 磷酸化的作用** 蛋白质磷酸化是最常见、最重要的一种蛋白质翻译后修饰方式, 他参与和调控生物体内的许多生命活动. 蛋白质氨基酸侧链加入带有强负电的磷酸基团, 发生酯化作用, 会改变蛋白质的构型、活性及与其他分子相互作用的能力. 通过蛋白质的磷酸化与去磷酸化, 可以调控信号转导、基因表达、细胞周期等诸多细胞过程<sup>[45,46]</sup>. 既往实验表明, 牛黄脱氧胆酸处理鼠的肝细胞及HepG2细胞后, 可活化丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinases, MAPKs), 促进BSEP从高尔基体到胆小管侧膜的运输<sup>[47]</sup>. 另外, 在雌二醇17 $\beta$ -D-葡萄糖苷酸(estradiol 17 $\beta$ -D-glucuronide, E217G)诱导的胆汁淤积模型中发现<sup>[48]</sup>, 肝细胞胆小管侧膜BSEP表达减少, BSEP重新分布在胞内近顶点的囊泡中, [3H]牛磺胆酸分泌显著降低, 同时伴随着PKC $\alpha$ 易位到胆小管侧膜, PKC $\alpha$ 抑制剂GÖ6976能消除这种作用. 说明小鼠的BSEP可能在PKC $\alpha$ 作用下发生磷酸化, 从而影响BSEP内在的ATP酶活性. 但PKC激动剂在细胞内的作用靶点还不清楚, 具体调控机制仍有待于进一步研究及证明<sup>[49,50]</sup>.

**3.3 泛素化的作用** 泛素-蛋白酶体途径是调节蛋白质降解与功能的重要系统, 参与来自真核细胞的内质网、细胞表面的受体、通道、以及转运泵的降解<sup>[51,52]</sup>. Hayashi等<sup>[53]</sup>研究显示, 短链泛素修饰后的BSEP在MDCK2细胞膜上停留时间缩短. 此外, 他们还发现胆小管侧膜BSEP免疫沉淀与短链泛素化有关. 这些结果表明, 泛素化参



与BSEP膜表达过程中的相关质量控制, 并介导折叠错误或短缩的BSEP蛋白的降解<sup>[54-56]</sup>. 王等研究首次发现, 特异的E3泛素连接酶参与BSEP的降解, E3泛素连接酶过表达导致BSEP发生突变并高度泛素化, 被蛋白酶很快降解, 导致其半衰期与野生型的蛋白相比明显缩短<sup>[44]</sup>, 这项研究显示, 通过抑制关键的E3泛素连接酶来稳定BSEP蛋白, 可能是一种新的治疗途径.

**3.4 细胞骨架相关蛋白** BSEP在胆小管侧膜特定的微环境中表达, 其在内含体与胆小管侧膜间定向运输被高度调节. 尽管控制BSEP回收及靶向作用的分子元件还不清楚, 但网格蛋白介导胞吞的机械装置可能参与其中. 这些网格蛋白相关的元件之一为HAX-1(HS1-associated protein X-1, HS1相关蛋白X-1), *HAX-1*基因位于1q21.3, 是一种由279个氨基酸组成的蛋白质, 分子量35 kDa<sup>[57]</sup>. 肝细胞中HAX-1主要分布于网格蛋白被膜小泡和内质网中, 仅微量出现于高尔基体及溶酶体中. Ortiz等<sup>[15]</sup>研究发现 BSEP可与HAX-1结合, 并在酵母-2-杂交试验中鉴定HAX-1为BSEP的潜在配体. Hax-1对BSEP胞吞的调节可能是通过与肌动蛋白(cortactin)结合相互作用来完成的. 同样的研究显示, MDCK2细胞中Hax-1蛋白减少将导致BSEP在胞膜上的表达增加两倍. 另外, 去除其他关键网格蛋白, 可以通过增强显性抑制结构使顶端膜BSEP表达呈现稳定状态. 这些研究显示, 网格蛋白介导胞吞作用可能参与BSEP的细胞内摄取以及顶端膜的循环中<sup>[15]</sup>.

**3.5 小窝蛋白** 小窝蛋白1(caveolin-1, Cav-1)是细胞膜内陷形成的小窝(caveolae)的重要结构蛋白. Cav-1几乎存在于所有细胞类型中, 但在脂肪细胞、内皮细胞等Caveolae丰富的细胞中有较高表达. Cav-1主要存在于细胞膜, 也存在于线粒体和脂滴等细胞器、细胞质及细胞外基质等. 从功能上看, Cav-1不仅在胞吞、细胞转运、细胞信号转导中起着重要作用, 还在细胞黏附、细胞内胆固醇运输、脂质代谢中发挥作用<sup>[58,59]</sup>. Cav-1在正常肝脏组织中很少, 在肝脏疾病状态下表达有所改变, 提示Cav-1的表达及功能变化与肝脏疾病的发生发展有一定的联系<sup>[60,61]</sup>. 最近的研究显示在鼠的肝脏胆小管侧膜中BSEP存在富含CAV-1的微域内, 但是Cav-1及Caveolae在BSEP运输及信号传导方面的作用还不十分清楚. 但相关研究发现, Cav-1有助于稳定膜蛋白, 避免胆汁酸盐对膜蛋白的侵蚀. 同时, BSEP的转

运功能依赖于小管膜的胆固醇水平, 因此Cav-1可能通过改变细胞膜的稳定性及脂质环境影响BSEP的功能<sup>[62,63]</sup>. Moren等在Cav-1对肝细胞胆小管侧膜BSEP转运功能影响的实验中发现, 将重组人Cav-1的腺病毒转染大鼠后, 大鼠肝细胞胆小管侧膜Cav-1蛋白表达增加, BSEP转运牛磺胆酸的速度明显增快, 胆汁酸分泌及其驱动的胆汁流显著增加. Cav-1缺乏可能使小管膜稳定性下降及周围脂质环境的改变, 导致BSEP作用下降, 进而造成胆汁淤积, 诱发相关疾病<sup>[62]</sup>. 以上5种调节因素的具体调控机制有待于进一步研究, 但其对BSEP翻译表达后细胞内运输及胆小管侧膜表达调节, 可为我们阐述相关疾病的在细胞及膜水平可能出现病理机制, 提供研究方向, 为相关疾病治疗提供新的靶点.

## 4 结论

从1995年开始发现BSEP是肝细胞胆小管侧膜胆汁酸盐输出泵以来, 其参与胆汁淤积性肝病及胆结石形成过程中的关键作用已经有了很多研究及发现, 逐渐打开了与其相关疾病的病理机制, 为了临床治疗及改善疾病的愈后提供帮助, 但仍需进一步研究和阐明BSEP在胆小管侧膜的表达及调节的生理机制及其在胆汁淤积疾病中的相关作用. 通过进行BSEP在自然环境中的细胞内运输对比研究, 越来越多的证据表明转运蛋白与胆小管侧膜结构之间是相互影响, 可以相互改变其的活性. 我们也理解了BSEP在转录后, 移动到细胞膜或从细胞膜离开行程中是需要元件的参与, 其元件参与的调节分子机制, 已逐渐清楚, 其运输机制的改变, 导致胆小管侧膜表面的转运泵减少, 是胆汁淤积疾病的共性. 但与其相关的分子机制还不是十分清楚, 还仍需要我们进一步研究和探讨.

## 5 参考文献

- 1 王火平, 舒明. BSEP蛋白表达及调控与胆汁淤积的关系. 医学综述 2012; 18: 967-969
- 2 Dean M, Rzhetsky A, Allikmets R. The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Genome Res* 2001; 11: 1156-1166 [PMID: 11435397]
- 3 Hofmann AF, Hagey LR. Bile acids: chemistry, pathochemistry, biology, pathobiology, and therapeutics. *Cell Mol Life Sci* 2008; 65: 2461-2483 [PMID: 18488143 DOI: 10.1007/s00018-008-7568-6]
- 4 王召华, 钱叶本. 大鼠肝脏缺血再灌注损伤后胆汁酸转运体BSEP与MRP2的表达及意义. 肝胆外科杂志 2011; 19: 136-140
- 5 王安红, 刘路, 周昆. 胆汁淤积与胆汁酸转运蛋白关系的研究进展. 医学综述 2013; 19: 16-18
- 6 冯俊, 夏先明, 李波. ABCB11基因在肝胆疾病中的研

## ■创新盘点

BSEP储存于肝细胞内高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中, 其从高尔基体向胆小管侧膜之间存在一个转运过程, 在该过程中, 可能通过糖基化, 磷酸化及泛素化等蛋白翻译后的修饰作用避免被降解, 并与小窝蛋白及HAX-1共同参与其在细胞内转运及在胆小管侧膜表达的调节.

## ■应用要点

- BSEP储存于肝细胞内高尔基体后的内含体即细胞内的循环池中,其从高尔基体向胆小管侧膜之间存在一个转运过程,但相关的调节因素及机制仍有待于我们进一步研究,本文章结合既往的研究,对可能参与该调控机制的相关因素(糖基化、磷酸化、泛素化、小窝蛋白及HAX-1)进行综述,阐述BSEP在细胞及膜水平可能出现调节机制,为进一步研究提供方向。
- 7 韩天权, 姜翀弋, 蒋兆彦, 张圣道. 对胆固醇结石病LITH基因的探索. 中国现代普通外科进展 2007; 10: 101-103
  - 8 Hagenbuch B, Adler ID, Schmid TE. Molecular cloning and functional characterization of the mouse organic-anion-transporting polypeptide 1 (Oatp1) and mapping of the gene to chromosome X. *Biochem J* 2000; 345 Pt 1: 115-120 [PMID: 10600646 DOI: 10.1042/0264-6021]
  - 9 Alonso M, Reyes G, Galera MJ, Allende L. [Hemoperitoneum caused by spontaneous rupture of hepatocarcinoma. Apropos of 8 cases]. *J Chir (Paris)* 1991; 128: 130-132 [PMID: 1647401]
  - 10 Stieger B, Meier Y, Meier PJ. The bile salt export pump. *Pflugers Arch* 2007; 453: 611-620 [PMID: 17051391 DOI: 10.1007/s00424-006-0152-8]
  - 11 Oude Elferink RP, Paulusma CC. Function and pathophysiological importance of ABCB4 (MDR3 P-glycoprotein). *Pflugers Arch* 2007; 453: 601-610 [PMID: 16622704 DOI: 10.1007/s00424-006-0062-9]
  - 12 van Kuijk MA, Kool M, Merks GF, Geurts van Kessel A, Bindels RJ, Deen PM, van Os CH. Assignment of the canalicular multispecific organic anion transporter gene (CMOAT) to human chromosome 10q24 and mouse chromosome 19D2 by fluorescent in situ hybridization. *Cytogenet Cell Genet* 1997; 77: 285-287 [PMID: 9284939 DOI: 10.1159/000134599]
  - 13 Chan W, Calderon G, Swift AL, Moseley J, Li S, Hosoya H, Arias IM, Ortiz DF. Myosin II regulatory light chain is required for trafficking of bile salt export protein to the apical membrane in Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem* 2005; 280: 23741-23747 [PMID: 15826951 DOI: 10.1074/jbc.M502767200]
  - 14 Mochizuki K, Kagawa T, Numari A, Harris MJ, Itoh J, Watanabe N, Mine T, Arias IM. Two N-linked glycans are required to maintain the transport activity of the bile salt export pump (ABCB11) in MDCK II cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G818-G828 [PMID: 17082223 DOI: 10.1152/ajpgi.00415.2006.]
  - 15 Ortiz DF, Moseley J, Calderon G, Swift AL, Li S, Arias IM. Identification of HAX-1 as a protein that binds bile salt export protein and regulates its abundance in the apical membrane of Madin-Darby canine kidney cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 32761-32770 [PMID: 15159385 DOI: 10.1074/jbc.M404337200]
  - 16 Noé J, Stieger B, Meier PJ. Functional expression of the canalicular bile salt export pump of human liver. *Gastroenterology* 2002; 123: 1659-1666 [PMID: 12404240 DOI: 10.1053/gast.2002.36587]
  - 17 Byrne JA, Strautnieks SS, Mieli-Vergani G, Higgins CF, Linton KJ, Thompson RJ. The human bile salt export pump: characterization of substrate specificity and identification of inhibitors. *Gastroenterology* 2002; 123: 1649-1658 [PMID: 12404239 DOI: 10.1053/gast.2002.36591]
  - 18 Green RM, Hoda F, Ward KL. Molecular cloning and characterization of the murine bile salt export pump. *Gene* 2000; 241: 117-123 [PMID: 10607905 DOI: 10.1016/S0378-1119(99)00460-6]
  - 19 Crawley ML. Farnesoid X receptor modulators: a patent review. *Expert Opin Ther Pat* 2010; 20: 1047-1057 [PMID: 20569093 DOI: 10.1517/13543776.2010.496777]
  - 20 Kuipers F, Stroeve JH, Caron S, Staels B. Bile acids, farnesoid X receptor, atherosclerosis and metabolic control. *Curr Opin Lipidol* 2007; 18: 289-297 [PMID: 17495603 DOI: 10.1097/MOL.0b013e3281338d08]
  - 21 Martin IV, Schmitt J, Minkenberg A, Mertens JC, Stieger B, Mullaht B, Geier A. Bile acid retention and activation of endogenous hepatic farnesoid-X-receptor in the pathogenesis of fatty liver disease in ob/ob-mice. *Biol Chem* 2010; 391: 1441-1449 [PMID: 20868235 DOI: 10.1515/bc.2010.141]
  - 22 Lefebvre P, Cariou B, Lien F, Kuipers F, Staels B. Role of bile acids and bile acid receptors in metabolic regulation. *Physiol Rev* 2009; 89: 147-191 [PMID: 19126757 DOI: 10.1152/physrev.00010.2008]
  - 23 Zheng ZH, Lv GP, Si SY, Dong YS, Zhao BH, Zhang H, He JG. A cell-based high-throughput screening assay for Farnesoid X receptor agonists. *Biomed Environ Sci* 2007; 20: 465-469 [PMID: 18348404]
  - 24 Kovacs P, Kress R, Rocha J, Kurtz U, Miquel JF, Nervi F, Méndez-Sánchez N, Uribe M, Bock HH, Schirin-Sokhan R, Stumvoll M, Mössner J, Lammert F, Wittenburg H. Variation of the gene encoding the nuclear bile salt receptor FXR and gallstone susceptibility in mice and humans. *J Hepatol* 2008; 48: 116-124 [PMID: 17931734 DOI: 10.1016/j.jhep.2007.07.027]
  - 25 Murakami T, Walczak R, Caron S, Duhem C, Vidal V, Dartel R, Staels B. The farnesoid X receptor induces fetuin-B gene expression in human hepatocytes. *Biochem J* 2007; 407: 461-469 [PMID: 17655523 DOI: 10.1042/BJ20070658]
  - 26 Chen F, Ellis E, Strom SC, Shneider BL. ATPase Class I Type 8B Member 1 and protein kinase C zeta induce the expression of the canalicular bile salt export pump in human hepatocytes. *Pediatr Res* 2010; 67: 183-187 [PMID: 19809379 DOI: 10.1203/PDR.0b013e3181c2df16]
  - 27 Wang YD, Chen WD, Huang W. FXR, a target for different diseases. *Histol Histopathol* 2008; 23: 621-627 [PMID: 18283647]
  - 28 Fiorucci S, Rizzo G, Donini A, Distrutti E, Santucci L. Targeting farnesoid X receptor for liver and metabolic disorders. *Trends Mol Med* 2007; 13: 298-309 [PMID: 17588816 DOI: 10.1016/j.molmed.2007.06.001]
  - 29 Lou G, Li Y, Chen B, Chen M, Chen J, Liao R, Zhang Y, Wang Y, Zhou D. Functional analysis on the 5'-flanking region of human FXR gene in HepG2 cells. *Gene* 2007; 396: 358-368 [PMID: 17507182 DOI: 10.1016/j.gene.2007.04.011]
  - 30 Claudel T, Staels B, Kuipers F. The Farnesoid X receptor: a molecular link between bile acid and lipid and glucose metabolism. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 2020-2030 [PMID: 16037564 DOI: 10.1161/01.ATV.0000178994.21828.a7]
  - 31 Gonzales E, Gerhardt MF, Fabre M, Setchell KD, Davit-Spraul A, Vincent I, Heubi JE, Bernard O, Jacquemin E. Oral cholic acid for hereditary defects of primary bile acid synthesis: a safe and effective long-term therapy. *Gastroenterology* 2009; 137: 1310-1320. e1-e3 [PMID: 19622360 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.07.043]
  - 32 Fischler B, Bodin K, Stjernman H, Olin M, Hansson M, Sjövall J, Björkhem I. Cholestatic liver disease in adults may be due to an inherited defect in bile acid biosynthesis. *J Intern Med* 2007; 262: 254-262 [PMID: 17645593 DOI: 10.1111/j.1365-2796.2007.01814.x]
  - 33 Mencarelli A, Renga B, Distrutti E, Fiorucci S. Antiatherosclerotic effect of farnesoid X receptor. *Am*

- J Physiol Heart Circ Physiol* 2009; 296: H272-H281 [PMID: 19028791 DOI: 10.1152/ajpheart.01075.2008]
- 34 Ananthanarayanan M, Balasubramanian N, Makishima M, Mangelsdorf DJ, Suchy FJ. Human bile salt export pump promoter is transactivated by the farnesoid X receptor/bile acid receptor. *J Biol Chem* 2001; 276: 28857-28865 [PMID: 11387316 DOI: 10.1074/jbc.M011610200]
  - 35 Kast HR, Goodwin B, Tarr PT, Jones SA, Anisfeld AM, Stoltz CM, Tontonoz P, Kliewer S, Willson TM, Edwards PA. Regulation of multidrug resistance-associated protein 2 (ABCC2) by the nuclear receptors pregnane X receptor, farnesoid X-activated receptor, and constitutive androstane receptor. *J Biol Chem* 2002; 277: 2908-2915 [PMID: 11706036 DOI: 10.1074/jbc.M109326200]
  - 36 Huang L, Zhao A, Lew JL, Zhang T, Hrywna Y, Thompson JR, de Pedro N, Royo I, Blevins RA, Peláez F, Wright SD, Cui J. Farnesoid X receptor activates transcription of the phospholipid pump MDR3. *J Biol Chem* 2003; 278: 51085-51090 [PMID: 14527955 DOI: 10.1074/jbc.M308321200]
  - 37 Sinal CJ, Tohkin M, Miyata M, Ward JM, Lambert G, Gonzalez FJ. Targeted disruption of the nuclear receptor FXR/BAR impairs bile acid and lipid homeostasis. *Cell* 2000; 102: 731-744 [PMID: 11030617]
  - 37 Kipp H, Arias IM. Newly synthesized canalicular ABC transporters are directly targeted from the Golgi to the hepatocyte apical domain in rat liver. *J Biol Chem* 2000; 275: 15917-15925 [PMID: 10748167 DOI: 10.1074/jbc.M909875199]
  - 39 Kipp H, Pichetshote N, Arias IM. Transporters on demand: intrahepatic pools of canalicular ATP binding cassette transporters in rat liver. *J Biol Chem* 2001; 276: 7218-7224 [PMID: 11113123 DOI: 10.1074/jbc.M007794200]
  - 40 Wakabayashi Y, Lippincott-Schwartz J, Arias IM. Intracellular trafficking of bile salt export pump (ABCB11) in polarized hepatic cells: constitutive cycling between the canalicular membrane and rab11-positive endosomes. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 3485-3496 [PMID: 15121884 DOI: 10.1091/mbc.E03-10-0737]
  - 41 Ohtsubo K, Marth JD. Glycosylation in cellular mechanisms of health and disease. *Cell* 2006; 126: 855-867 [PMID: 16959566 DOI: 10.1016/j.cell.2006.08.019]
  - 42 Paulson JC. Glycoproteins: what are the sugar chains for? *Trends Biochem Sci* 1989; 14: 272-276 [PMID: 2672447 DOI: 10.1016/0968-0004(89)90062-5]
  - 43 Varki A. Biological roles of oligosaccharides: all of the theories are correct. *Glycobiology* 1993; 3: 97-130 [PMID: 8490246 DOI: 10.1093/glycob/3.2.97]
  - 44 Wang L, Dong H, Soroka CJ, Wei N, Boyer JL, Hochstrasser M. Degradation of the bile salt export pump at endoplasmic reticulum in progressive familial intrahepatic cholestasis type II. *Hepatology* 2008; 48: 1558-1569 [PMID: 18798335 DOI: 10.1002/hep.22499]
  - 45 Hunter T. Signaling--2000 and beyond. *Cell* 2000; 100: 113-127 [PMID: 10647936 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81688-8]
  - 46 Kim JH, Lee J, Oh B, Kimm K, Koh I. Prediction of phosphorylation sites using SVMs. *Bioinformatics* 2004; 20: 3179-3184 [PMID: 15231530 DOI: 10.1093/bioinformatics/bth382]
  - 47 Kubitz R, Sütfels G, Köhlkamp T, Kölling R, Häussinger D. Trafficking of the bile salt export pump from the Golgi to the canalicular membrane is regulated by the p38 MAP kinase. *Gastroenterology* 2004; 126: 541-553 [PMID: 14762791 DOI: 10.1053/j.gastro.2003.11.003]
  - 48 Crocenzi FA, Sánchez Pozzi EJ, Ruiz ML, Zucchetti AE, Roma MG, Mottino AD, Vore M. Ca(2+)-dependent protein kinase C isoforms are critical to estradiol 17beta-D-glucuronide-induced cholestasis in the rat. *Hepatology* 2008; 48: 1885-1895 [PMID: 18972403 DOI: 10.1002/hep.22532]
  - 49 Sachs CW, Chambers TC, Fine RL. Differential phosphorylation of sites in the linker region of P-glycoprotein by protein kinase C isozymes alpha, betaI, betaII, gamma, delta, epsilon, eta, and zeta. *Biochem Pharmacol* 1999; 58: 1587-1592 [PMID: 10535749]
  - 50 Ahmed M, Borsch CM, Taylor SS, Vázquez-Laslop N, Neyfakh AA. A protein that activates expression of a multidrug efflux transporter upon binding the transporter substrates. *J Biol Chem* 1994; 269: 28506-28513 [PMID: 7961792]
  - 51 Melino G. Discovery of the ubiquitin proteasome system and its involvement in apoptosis. *Cell Death Differ* 2005; 12: 1155-1157 [PMID: 16094390 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401740]
  - 52 Lecker SH, Goldberg AL, Mitch WE. Protein degradation by the ubiquitin-proteasome pathway in normal and disease states. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 1807-1819 [PMID: 16738015 DOI: 10.1681/ASN.2006010083]
  - 53 Hayashi H, Sugiyama Y. Short-chain ubiquitination is associated with the degradation rate of a cell-surface-resident bile salt export pump (BSEP/ABCB11). *Mol Pharmacol* 2009; 75: 143-150 [PMID: 18829893 DOI: 10.1124/mol.108.049288]
  - 54 Ward CL, Omura S, Kopito RR. Degradation of CFTR by the ubiquitin-proteasome pathway. *Cell* 1995; 83: 121-127 [PMID: 7553863]
  - 55 Hicke L, Dunn R. Regulation of membrane protein transport by ubiquitin and ubiquitin-binding proteins. *Annu Rev Cell Dev Biol* 2003; 19: 141-172 [PMID: 14570567 DOI: 10.1146/annurev.cell-bio.19.110701.154617]
  - 56 Dupré S, Urban-Grimal D, Haguénauer-Tsapis R. Ubiquitin and endocytic internalization in yeast and animal cells. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1695: 89-111 [PMID: 15571811 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2004.09.024]
  - 57 翟志芳, 郝飞, 刘志君. 小鼠HAX-1基因重组腺病毒载体的构建表达和鉴定. *免疫学杂志* 2006; 22: 694-697
  - 58 Dolganiuc A. Role of lipid rafts in liver health and disease. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 2520-2535 [PMID: 21633657 DOI: 10.3748/wjg.v17.i20.2520]
  - 59 Fernández MA, Albor C, Ingelmo-Torres M, Nixon SJ, Ferguson C, Kurzchalia T, Tebar F, Enrich C, Parton RG, Pol A. Caveolin-1 is essential for liver regeneration. *Science* 2006; 313: 1628-1632 [PMID: 16973879 DOI: 10.1126/science.1130773]
  - 60 Lam P, Soroka CJ, Boyer JL. The bile salt export pump: clinical and experimental aspects of genetic and acquired cholestatic liver disease. *Semin Liver Dis* 2010; 30: 125-133 [PMID: 20422495 DOI: 10.1055/s-0030-1253222]
  - 61 Tse EY, Ko FC, Tung EK, Chan LK, Lee TK, Ngan ES, Man K, Wong AS, Ng IO, Yam JW. Caveolin-1 overexpression is associated with hepatocellular carcinoma tumourigenesis and metastasis. *J Pathol*

## 同行评价

本文结合既往的研究, 对可能参与BSEP在细胞内及膜表达调控机制的相关因素(糖基化, 磷酸化, 泛素化, 小窝蛋白及HAX-1)进行综述, 阐述BSEP在细胞及膜水平可能出现调节机制, 为进一步的研究提供方向。



- 2012; 226: 645-653 [PMID: 22072235 DOI: 10.1002/path.3957]
- 62 Moreno M, Molina H, Amigo L, Zanlungo S, Arrese M, Rigotti A, Miquel JF. Hepatic overexpression of caveolins increases bile salt secretion in mice. *Hepatology* 2003; 38: 1477-1488 [PMID: 14647059]
- 63 Paulusma CC, de Waart DR, Kunne C, Mok KS, Elferink RP. Activity of the bile salt export pump (ABCB11) is critically dependent on canalicular membrane cholesterol content. *J Biol Chem* 2009; 284: 9947-9954 [PMID: 19228692 DOI: 10.1074/jbc.M808667200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

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

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

# 结肠电刺激的研究进展

郭晓娟, 姚树坤

郭晓娟, 姚树坤, 中日友好医院消化内科 北京市 100029  
郭晓娟, 主要从事胃肠功能与动力障碍性疾病的研究.  
国家自然科学基金资助项目, No. 81070299  
作者贡献分布: 本文综述由郭晓娟完成; 姚树坤审校.  
通讯作者: 姚树坤, 教授, 主任医师, 100029, 北京市朝阳区樱花  
东街2号, 中日友好医院消化内科. yao\_sk@163.com  
电话: 010-84205288  
收稿日期: 2013-09-24 修回日期: 2013-12-26  
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Advances in research of colonic electrical stimulation

Xiao-Juan Guo, Shu-Kun Yao

Xiao-Juan Guo, Shu-Kun Yao, Department of Gastroen-  
terology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029,  
China

Supported by: the National Natural Science Foundation of  
China, No. 81070299

Correspondence to: Shu-Kun Yao, Professor, Department  
of Gastroenterology, China-Japan Friendship Hospital, 2  
Yinghua East Road, Chaoyang District, Beijing 100029,  
China. yao\_sk@163.com

Received: 2013-09-24 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

In recent years great attention has been paid to the study of colonic electrical stimulation. Colonic electrical stimulation is expected to become a valuable option for treatment of gastrointestinal dysfunction. This article reviews the classification, mechanisms and clinical applications of colonic electrical stimulation.

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

Key Words: Colonic electrical stimulation; Gastrointestinal dysfunction; Mechanisms

Guo XJ, Yao SK. Advances in research of colonic electrical stimulation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 795-800 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/795.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.795>

## 摘要

近年来结肠电刺激的研究引起了广泛关注, 其

在胃肠功能紊乱性疾病方面的应用前景十分可观. 本文就结肠电刺激的分类和作用机制以及临床应用的研究成果进行综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 结肠电刺激; 胃肠功能紊乱; 机制

**核心提示:** 近年来结肠电刺激的研究引起了广泛关注, 其在胃肠功能紊乱性疾病方面的应用前景十分可观. 本文就结肠电刺激的分类和作用机制以及临床应用的研究成果进行综述.

郭晓娟, 姚树坤. 结肠电刺激的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 795-800 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/795.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.795>

## 0 引言

近年来, 关于电刺激治疗消化系功能障碍性疾病的研究取得了很大进展. 已有学者在消化系的不同部位尝试了多种电刺激方法, 取得了许多可喜成果, 应用前景非常可观<sup>[1-5]</sup>. 其基本原理是在胃肠道埋置电极, 应用导线与体外或埋置在体内的脉冲发生器连接, 通过发送脉冲信号, 调节胃肠道功能. 与传统手术相比, 该方法具有不改变胃肠道正常解剖结构, 手术风险小, 术后并发症少等优点<sup>[6-8]</sup>. 目前大多数研究集中在胃电刺激<sup>[9,10]</sup>. 如正向性胃电刺激可以加速胃排空, 治疗胃轻瘫<sup>[11]</sup>; 逆行性胃电刺激可以延缓胃排空, 增加胃容受性及顺应性, 应用于肥胖的治疗<sup>[12]</sup>. 近年来, 结肠电刺激也逐渐引起学者的关注<sup>[13]</sup>. 本文就结肠电刺激的研究做一综述.

## 1 结肠电活动

结肠电活动主要由慢波和快波组成. 慢波又称起搏电位(pacesetter potentials, PPs). 快波又称动作电位(action potentials, APs). 研究认为胃肠道慢波来源于Cajal间质细胞(interstitial cell of Cajal, ICC)<sup>[14]</sup>. ICCs是介于肠神经系统和平滑肌

## ■背景资料

关于电刺激治疗胃肠功能障碍性疾病的研究取得了很大进展. 本文就近年来结肠电刺激的研究做一综述.

## ■同行评议者

曾柱, 教授, 贵阳医学院基础医学院生物技术教研室

## ■研究前沿

结肠电刺激对肠运动功能的影响及其机制是目前研究的热点。多以急性实验为主,长期应用有待继续研究。

细胞之间的一类特殊的间质细胞,广泛分布在胃肠道的肌层和神经丛。在平滑肌层, ICCs可以产生自发性起搏活动,起搏和调节结肠慢波,进而影响平滑肌的收缩运动<sup>[15]</sup>,故又被称为胃肠道的起搏细胞。ICCs产生PPs,通过电信号传播至平滑肌细胞,通过电机械耦联方式参与结肠的多种运动形式。同时ICC对肠神经信号传递到平滑肌起到重要的中介作用,被称为是神经系统调控胃肠肌活动的中介, Shafik等<sup>[16,17]</sup>将黏膜记录电极放置在回肠末端、盲肠、升结肠、横结肠、降结肠、乙状结肠部位,记录包括频率、电流、电压在内的PPs及APs电活动,通过观察波形变化来推测结肠可能存在的起搏部位。结果表明,结肠至少存在4个起搏点,并推测其部位分别在回肠盲肠交界处、盲肠结肠交界处、横结肠中点、降结肠乙状结肠交界处。随后,该课题组进一步在健康人及结肠无力患者中,选取上述4个起搏点位置各放置1对黏膜电极及2-3对记录电极,采取刺激参数为波幅5 mA、波宽200 ms、比自发PPs高15%的频率进行刺激。结果发现,健康对照组的远侧记录电极记录到自发PPs的频率、波幅及速度在刺激后均较刺激前增加。结肠无力组在接受电刺激之后,也可以诱发出PPs<sup>[18]</sup>。由此可见,外源性电流可以影响起搏点的自发性电活动,进而影响胃肠道的功能。还有学者提出<sup>[19]</sup>肠腔内容物的推进运动很大程度上依赖于近端结肠的运动功能。Aellen等<sup>[20]</sup>实验也得出相似的结论。在结肠的不同部位,对电刺激反应较理想的是盲肠电刺激。同时,结肠电活动还受神经系统和体液因素的调节。

## 2 结肠电刺激方法

根据使用电极的数目不同,结肠电刺激分为(1)单导刺激:即应用一对电极进行刺激;大鼠单导结肠电刺激可以诱发结肠移行性复合运动(colonic migrating motor complexes, CMMCs), CMMCs会以刺激部位为中心,向两边扩散<sup>[21]</sup>。实验显示<sup>[22]</sup>,一对电极刺激结肠壁只能导致局部的结肠收缩,该收缩运动不能向邻近结肠传播。但也有实验证明单导刺激可以加快结肠运动,加速结肠排空<sup>[23,24]</sup>;(2)多导刺激:应用两对或多对电极进行刺激。多导刺激可以导致结肠传输加快<sup>[25-27]</sup>,但由于需要在肠壁放置多对电极,对结肠损伤较大。

根据电极植入位置的不同分为:(1)浆膜电极<sup>[25,26]</sup>:通过手术将电极埋置在结肠浆膜面,一

般达到肌层,但不穿透黏膜层;(2)黏膜电极<sup>[16,18]</sup>:电极植于结肠黏膜表面,可以借助内镜或插管放置,无需手术,损伤较小,但电极与黏膜难以长期接触,不适于长期应用。

根据电刺激的参数不同,可以分为3类:(1)长波宽电刺激<sup>[23-25]</sup>:脉冲宽度以ms为单位,一般采用10 ms以上的波宽,10-600 ms不等,如参数为波宽200 ms,频率50 Hz,电流10 mA;(2)短波宽电刺激<sup>[26,27]</sup>:脉冲宽度1 ms以下的刺激,也有学者把5 ms以下的波宽也归为短波刺激,如参数为波宽1 ms,电流15 mA,频率120 Hz;(3)串脉冲电刺激<sup>[24,28]</sup>:由重复的短脉冲串组成,频率在5-100 Hz之间的高频短脉冲间断发放(数秒开/数秒关),如波宽4 ms,电流10 mA,频率40 Hz,2 s开、3 s关。

## 3 结肠电刺激对肠运动功能的影响

3.1 长波宽电刺激 在一个纳入24例结肠无力患者及8例健康人对照的实验中,应用放置在直肠与乙状结肠交界处的一对黏膜电极刺激肠腔,发现应用波宽200 ms、波幅5 mA,高于直肠PPs 15%频率的参数刺激后,可以增加健康人PPs的波幅、频率及速度。同时发现电刺激同样可以诱发直肠无力患者的直肠产生PPs<sup>[29]</sup>。Sanmiguel等<sup>[25]</sup>通过地芬诺酯/阿托品和阿洛司琼在9只犬建立结肠慢传输模型,在远端结肠放置四对浆膜电极,给予波宽10 ms,电压8-10 V,频率50 Hz的参数进行刺激,结果发现,电刺激可以导致持续的结肠收缩,加速肠腔内容物的排空。在9例肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)患者的结肠与乙状结肠交界处的黏膜放置一对电极,给予波宽150 ms、波幅6 mA、高于PPs 25%的频率的电刺激,每日刺激2-3次,6 mo后发现,7例患者腹痛、腹胀症状消失,排便正常<sup>[23]</sup>。但也有实验报道<sup>[24]</sup>在大鼠距盲肠结肠交界处1 cm的结肠埋置一对浆膜电极,行长波宽长时程脉冲电刺激,给予波宽200 ms,波幅10 mA,频率20 cpm的刺激参数,与非刺激组相比,在结肠传输时间上的差异无统计学意义。

3.2 短波宽电刺激 有学者报道<sup>[26]</sup>在猪降结肠植入9个浆膜电极后,固定刺激频率和刺激时间,在波宽不变的情况下,随波幅的增加(9-15 mA),可以观察到肠腔内压力及肠壁的顺应性也增加。但是,30 mA的波幅与15 mA波幅引起的肠内压相似,并没有使肠腔内压进一步增大。同样,在波幅不变的情况下,随波宽的增加(0.03-3 ms),



可见收缩的潜伏期缩短, 收缩加快, 肠腔内压力增加. 通过连续刺激相邻结肠段, 可以使近端结肠团块以1 mm/s的传播速度向远端传输. 实验得出, 推进肠腔内容物运动的理想电刺激参数组合为15 mA, 3 ms, 10 Hz. Vaucher等<sup>[27]</sup>在12只猪盲肠放置浆膜电极, 给予为期6 d波宽1 ms, 频率120 Hz, 电压10 V的慢性刺激, 通过不透X线钽条检测结肠平均传输, 结果发现, 与对照组相比, 刺激组可以明显缩短钽条排出时间.

3.3 串脉冲电刺激 Amaris等<sup>[28]</sup>等在距犬肛门口15 cm处的降结肠依次放置4对浆膜电极, 给予波宽10 ms, 电压20 V, 频率50 Hz矩形串脉冲刺激, 可以观察到连续串脉冲电刺激显著促进了麻醉状态下犬的结肠内容物的传输运动. 同样麻醉状态下<sup>[30]</sup>, 3对起搏电极植入6只猪盲肠浆膜层, 给予波宽1 ms, 电压10 V, 波幅7-15 mA, 频率120 Hz串脉冲进行盲肠收缩实验. 结果发现电刺激后盲肠壁缩短30%, 同时检测肠腔内压力增加75%. 得出电刺激可以诱导盲肠的收缩和肠内容物的运动. 李文波等<sup>[24]</sup>在大鼠距盲肠结肠交界处1 cm的结肠浆膜层埋置一对电极, 使用参数为波宽4 ms、频率40 Hz、波幅10 mA、2 s开、3 s关的串脉冲刺激90 min, 观察对大鼠结肠传输的影响, 结果发现结肠串脉冲电刺激可以促进大鼠结肠传输. Sallam等<sup>[31]</sup>在犬升结肠埋置一对浆膜电极, 给予参数为波宽6 ms、频率40 Hz、波幅6 mA、2 s开、3 s关的串脉冲刺激6 h, 也得出相似的结论.

#### 4 结肠电刺激机制探讨

结肠电刺激影响结肠运动功能的机制尚未完全阐明. 目前研究主要集中在对肠神经系统的影响方面<sup>[32-36]</sup>. 肠神经系统发放信号给环肌和纵肌, 环肌和纵肌协调的收缩和舒张是肠运动的基础. 肠神经系统含有胆碱能神经纤维, 电刺激可活化胆碱能神经纤维, 导致肠神经释放神经递质乙酰胆碱(acetylcholine, Ach), Ach可激活平滑肌上的M胆碱受体或节细胞上的N胆碱受体, 引起胃肠肌兴奋. 有学者报道<sup>[25]</sup>通过地芬诺酯/阿托品和阿洛司琼建立慢传输模型后, 在静脉注射阿托品之前和之后分别进行结肠电刺激, 结果发现电刺激导致结肠的收缩可以被阿托品阻断. 无论0.03 ms波宽, 还是0.3 ms波宽电刺激, 阿托品均可以完全拮抗电刺激导致的收缩效应, 可见波宽0.03-0.3 ms的电刺激导致的肌肉收缩是由胆碱能神经兴奋引起的. 此外阿托品还可

以部分拮抗波宽3 ms、30 ms的收缩效应<sup>[37]</sup>. 也有研究显示<sup>[29]</sup>, 波宽10 ms以下的脉冲导致的肌肉收缩都是由胆碱能神经的兴奋引起的. 还有研究表明<sup>[25]</sup>肠肌细胞的兴奋需要波宽>10 ms以上的脉冲, 而兴奋神经需要的波宽<1 ms. 相对于频率3 Hz电刺激, 频率为0.3 Hz的电刺激对Ach释放的影响较大. 随着刺激频率从1-10 Hz的增加, 乙酰胆碱的释放反而减少. 研究显示, 刺激频率的增加可能导致抑制性神经的兴奋, 进而抑制乙酰胆碱的释放和肌肉的收缩.

除了胆碱能神经支配胃肠道平滑肌, 胃肠道的运动活动还受抑制性神经释放的NO介导的传输信号调节<sup>[38,39]</sup>. 研究表明<sup>[40]</sup>, 利用阿托品和NO合酶抑制剂N-硝基-L-精氨酸对电刺激进行干预, 结果发现, 短波串脉冲结肠电刺激促进结肠传输的作用主要通过氮能神经通路而非胆碱能神经通路介导. 除了胆碱能神经及氮能神经, 其他的神经递质如 $\gamma$ -氨基丁酸、舒血管肽, 含P物质的肽能神经也参与结肠的运动<sup>[41,42]</sup>. 电刺激时这些因素是否共同参与以及如何相互作用导致结肠运动, 仍需进一步深入研究.

#### 5 结肠电刺激临床应用

结肠电刺激可以产生肠慢波, 诱导结肠收缩, 加强结肠推进, 促进结肠传输, 可用于胃肠道功能障碍性疾病如慢传输型便秘、结肠无力及假性肠梗阻等的治疗<sup>[18-20,43]</sup>. 研究表明结肠电刺激在IBS中可以纠正紊乱的肠节律, 使结肠慢波活动趋于正常化, 缓解腹痛、腹胀等症状, 应用于IBS的治疗<sup>[23]</sup>. Sallam等<sup>[44]</sup>研究表明, 结肠电刺激还可以延缓固体胃排空, 减缓小肠收缩, 减少小肠吸收, 可应用于肥胖的治疗.

#### 6 结肠电刺激安全性

早期报道显示应用波幅20-50 mA, 波宽10-50 ms电脉冲刺激肠壁可能导致电极局部组织过热或电损伤<sup>[45]</sup>. 还有学者报道应用短波高频(120 Hz、1 ms)电刺激后, 组织学检查发现电极附近组织呈现轻微慢性炎性改变, 组织损伤较小<sup>[27]</sup>. 尽管Sanmiguel等<sup>[25]</sup>证明, 电极的局部组织与正常组织比较未见明显异常. 仍需进一步观察结肠电刺激长期安全性, 为将来临床上永久植入提供更多依据.

#### 7 结论

结肠电刺激为胃肠功能障碍性疾病的治疗提供

#### ■ 相关报道

关于电刺激治疗胃肠功能障碍性疾病的研究取得了很大进展. 学者在消化系的不同部位尝试了多种电刺激方法, 取得了许多可喜成果.

## ■ 创新盘点

目前关于胃肠电刺激的研究主要集中在胃电刺激,而结肠电刺激在近年来才逐渐引起人们的关注,本文就近年来结肠电刺激的研究做一综述。

了一条有价值的新思路。治疗胃肠功能障碍,除了药物和手术,还可以选择电刺激。就目前研究而言,尽管大量动物实验已经证明结肠电刺激可以调节结肠运动,但机制尚不明确。对机制的深入研究有助于刺激方法的改进,目前除了神经电刺激器以外,大多数研究选择的参数消耗能量较大,只能由体外刺激器供电,给长期植入带来一定困难。而植入式神经电刺激器波宽较短,通常在1 ms左右,虽然短波宽可以兴奋胆碱能神经及氮能神经,加速结肠传输,但并不适用于所有结肠传输障碍性疾病,研究表明,慢传输便秘存在肠神经系统的损伤或机能障碍<sup>[46]</sup>。这种情况下,就必须选择针对肌细胞的较宽波宽的刺激参数辅助加速结肠传输。另外,随着对胃电刺激研究的深入,越来越多的实验证明由于内脏敏感性存在差异,个体对胃电刺激的反应不同。个体化参数在刺激过程中起到重要作用<sup>[47-49]</sup>。因此单纯针对于神经系统的刺激器并不是理想的植入装置。这就需要我们寻找新的刺激模式<sup>[50]</sup>,不仅降低能量消耗,保证刺激效果,同时还能减小对电极植入局部组织的损伤。随着研究的深入,低能耗的参数可以由电池供电,使永久植入成为可能。另外可以看到,目前的研究还是动物实验为主,临床实验较少。同时大多数研究以急性刺激和短期刺激为主,如果长期刺激,会不会导致结肠肌肉疲劳以及导致机体对刺激参数敏感性下降,仍需进一步研究。

## 8 参考文献

- Sun Y, Chen JD. Intestinal electric stimulation accelerates whole gut transit and promotes fat excrement in conscious rats. *Int J Obes (Lond)* 2009; 33: 817-823 [PMID: 19546870 DOI: 10.1038/ijo.2009.123]
- Lin Z, Sarosiek I, McCallum RW. Gastrointestinal electrical stimulation for treatment of gastrointestinal disorders: gastroparesis, obesity, fecal incontinence, and constipation. *Gastroenterol Clin North Am* 2007; 36: 713-734, x-xi [PMID: 17950445 DOI: 10.1016/j.gtc.2007.07.007]
- Yin J, Chen JD. Implantable gastric electrical stimulation: ready for prime time? *Gastroenterology* 2008; 134: 665-667 [PMID: 18325383 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.068]
- Xu X, Lei Y, Chen JD. Duodenum electrical stimulation delays gastric emptying, reduces food intake and accelerates small bowel transit in pigs. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 442-448 [PMID: 20948518 DOI: 10.1038/oby.2010.247]
- Li S, Maude-Griffin R, Sun Y, Starkebaum W, Chen JD. Food intake and body weight responses to intermittent vs. continuous gastric electrical stimulation in diet-induced obese rats. *Obes Surg* 2013; 23: 71-79 [PMID: 23001597 DOI: 10.1007/s11695-012-0773-2]
- Shikora SA. Implantable Gastric Stimulation - the surgical procedure: combining safety with simplicity. *Obes Surg* 2004; 14 Suppl 1: S9-13 [PMID: 15479584 DOI: 10.1381/0960892041978999]
- D'Argent J. Gastric electrical stimulation as therapy of morbid obesity: preliminary results from the French study. *Obes Surg* 2002; 12 Suppl 1: 21S-25S [PMID: 11969104 DOI: 10.1381/096089202762552638]
- Zhang J, Chen JD. Systematic review: applications and future of gastric electrical stimulation. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 991-1002 [PMID: 16984493 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03087.x]
- Soffer EE. Gastric electrical stimulation for gastroparesis. *J Neurogastroenterol Motil* 2012; 18: 131-137 [PMID: 22523722 DOI: 10.5056/jnm.2012.18.2.131]
- Mizrahi M, Ben Ya'acov A, Ilan Y. Gastric stimulation for weight loss. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2309-2319 [PMID: 22654422 DOI: 10.3748/wjg.v18.i19.2309]
- Bortolotti M. Gastric electrical stimulation for gastroparesis: a goal greatly pursued, but not yet attained. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 273-282 [PMID: 21253385 DOI: 10.3748/wjg.v17.i3.273]
- Mintchev MP. Gastric electrical stimulation for the treatment of obesity: from entrainment to bezoars-a functional review. *ISRN Gastroenterol* 2013; 2013: 434706 [PMID: 23476793 DOI: 10.1155/2013/434706]
- Sevcencu C. Electrical stimulation - an evolving concept in the treatment of colonic motor dysfunctions. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 960-970 [PMID: 17040406 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00832.x]
- Tong WD, Liu BH, Zhang LY, Zhang SB, Lei Y. Decreased interstitial cells of Cajal in the sigmoid colon of patients with slow transit constipation. *Int J Colorectal Dis* 2004; 19: 467-473 [PMID: 15045515 DOI: 10.1007/s00384-003-0577-x]
- Wedel T, Spiegler J, Soellner S, Roblick UJ, Schiedeck TH, Bruch HP, Krammer HJ. Enteric nerves and interstitial cells of Cajal are altered in patients with slow-transit constipation and megacolon. *Gastroenterology* 2002; 123: 1459-1467 [PMID: 12404220 DOI: 10.1053/gast.2002.36600]
- Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA. Electrophysiologic identification of the location of the colonic pacemakers. A human study. *Front Biosci* 2002; 7: b1-b5 [PMID: 11815299]
- Shafik A, Shafik AA, El-Sibai O, Ahmed I. Colonic pacing: a therapeutic option for the treatment of constipation due to total colonic inertia. *Arch Surg* 2004; 139: 775-779 [PMID: 15249412 DOI: 10.1001/archsurg.139.7.775]
- Shafik A, Shafik AA, el-Sibai O, Ahmed I. Colonic pacing in patients with constipation due to colonic inertia. *Med Sci Monit* 2003; 9: CR191-CR196 [PMID: 12761456]
- Dinning PG, Szczesniak MM, Cook IJ. Proximal colonic propagating pressure waves sequences and their relationship with movements of content in the proximal human colon. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 512-520 [PMID: 18194155 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.01060.x]
- Aellen S, Wiesel PH, Gardaz JP, Schlageter V, Bertschi M, Virag N, Givel JC. Electrical stimulation induces propagated colonic contractions in an experimental model. *Br J Surg* 2009; 96: 214-220 [PMID: 19160367 DOI: 10.1002/bjs.6455]
- Spencer NJ, Bywater RA. Enteric nerve stimula-

- tion evokes a premature colonic migrating motor complex in mouse. *Neurogastroenterol Motil* 2002; 14: 657-665 [PMID: 12464088 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2002.00367.x]
- 22 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Sinkjaer T. Colon emptying induced by sequential electrical stimulation in rats. *IEEE Trans Neural Syst Rehabil Eng* 2005; 13: 516-523 [PMID: 16425834 DOI: 10.1109/TNSRE.2005.859358]
  - 23 Shafik A, El-Sibai O, Shafik AA, Ahmed I. Colonic pacing in the treatment of patients with irritable bowel syndrome: technique and results. *Front Biosci* 2003; 8: b1-b5 [PMID: 12456363 DOI: 10.2741/989]
  - 24 李文波, 刘诗, 钱伟, 侯晓华. 串脉冲和长脉冲结肠电刺激对大鼠结肠传输的影响. *中华医学杂志* 2006; 86: 3370-3372
  - 25 Sanmiguel CP, Casillas S, Senagore A, Mintchev MP, Soffer EE. Neural gastrointestinal electrical stimulation enhances colonic motility in a chronic canine model of delayed colonic transit. *Neurogastroenterol Motil* 2006; 18: 647-653 [PMID: 16918729 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00783.x]
  - 26 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Gregersen H, Sinkjaer T. Propulsive activity induced by sequential electrical stimulation in the descending colon of the pig. *Neurogastroenterol Motil* 2005; 17: 376-387 [PMID: 15916625 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2004.00637.x]
  - 27 Vaucher J, Cerantola J, Gie O, Letovanec I, Virag N, Demartines N, Gardaz JP, Givel JC. Electrical colonic stimulation reduces mean transit time in a porcine model. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 88-92, e31 [PMID: 19594689 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01359.x]
  - 28 Amaris MA, Rashev PZ, Mintchev MP, Bowes KL. Microprocessor controlled movement of solid colonic content using sequential neural electrical stimulation. *Gut* 2002; 50: 475-479 [PMID: 11889065 DOI: 10.1136/gut.50.4.475]
  - 29 Shafik A, El-Sibai O. Rectal pacing: pacing parameters required for rectal evacuation of normal and constipated subjects. *J Surg Res* 2000; 88: 181-185 [PMID: 10644486 DOI: 10.1006/jsre.1999.5741]
  - 30 Bertschi M, Schlageter V, Vesin JM, Aellen S, Peloponissios N, D'Ambrogio A, Wiesel PH, Givel JC, Kucera P, Virag N. Direct electrical stimulation using a battery-operated device for induction and modulation of colonic contractions in pigs. *Ann Biomed Eng* 2010; 38: 2398-2405 [PMID: 20300849 DOI: 10.1007/s10439-010-9985-6]
  - 31 Sallam HS, Chen JD. Colonic electrical stimulation: potential use for treatment of delayed colonic transit. *Colorectal Dis* 2013; 15: e244-e249 [PMID: 23350958 DOI: 10.1111/codi.12138]
  - 32 Liu S, Xu J, Chen JD. Roles of putative neurotransmitters in the regulation of gastric and intestinal slow waves in conscious dogs. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1044-1050 [PMID: 17608850 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04916.x]
  - 33 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Gregersen H, Sinkjaer T. Electrical stimulation to induce propulsive contractions in the porcine descending colon. *Artif Organs* 2005; 29: 246-249 [PMID: 15725227 DOI: 10.1111/j.1525-1594.2005.29045.x]
  - 34 Song GQ, Lei Y, Xu X, Chen JD. Gastric electrical stimulation with long pulses in humans and animals: can data obtained in animals be replicated in humans? *Neuromodulation* 2010; 13: 87-92 [PMID: 21992779 DOI: 10.1111/j.1525-1403.2009.00241.x]
  - 35 Yin J, Chen JD. Mechanisms and potential applications of intestinal electrical stimulation. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 1208-1220 [PMID: 19629689 DOI: 10.1007/s10620-009-0884-3]
  - 36 Liu S, Lei Y, Chen JD. Inhibitory effects and mechanisms of colonic electric stimulation on gastric and rectal tone in conscious dogs. *Dis Colon Rectum* 2006; 49: 1749-1754 [PMID: 16758129 DOI: 10.1007/s10350-006-0586-2]
  - 37 Sevcencu C, Rijkhoff NJ, Sinkjaer T. Muscular vs. Neural Activation in Propulsion Induced by Electrical Stimulation in the Descending Colon of Rats. *Neuromodulation* 2005; 8: 131-140 [PMID: 22151442 DOI: 10.1111/j.1525-1403.2005.00229.x]
  - 38 Liu S, Chen JD. Colonic electrical stimulation regulates colonic transit via the nitrergic pathway in rats. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 502-505 [PMID: 16614959 DOI: 10.1007/s10620-006-3162-7]
  - 39 Chiba T, Bharucha AE, Thomforde GM, Kost LJ, Phillips SF. Model of rapid gastrointestinal transit in dogs: effects of muscarinic antagonists and a nitric oxide synthase inhibitor. *Neurogastroenterol Motil* 2002; 14: 535-541 [PMID: 12358682 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2002.00357.x]
  - 40 李文波, 刘诗, 侯晓华, Chen JD. 串脉冲结肠电刺激对大鼠结肠传输的影响及其机制. *中华医学杂志* 2007; 87: 3155-3157
  - 41 Bayer S, Jellali A, Crenner F, Aunis D, Angel F. Functional evidence for a role of GABA receptors in modulating nerve activities of circular smooth muscle from rat colon in vitro. *Life Sci* 2003; 72: 1481-1493 [PMID: 12535716 DOI: 10.1016/S0024-3205(02)02413-X]
  - 42 Grider JR. Neurotransmitters mediating the intestinal peristaltic reflex in the mouse. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307: 460-467 [PMID: 12966154 DOI: 10.1124/jpet.103.053512]
  - 43 Martellucci J, Valeri A. Colonic electrical stimulation for the treatment of slow-transit constipation: a preliminary pilot study. *Surg Endosc* 2013 Sep 19. [Epub ahead of print] [PMID: 24048815 DOI: 10.1007/s00464-013-3192-0]
  - 44 Sallam HS, Chen JD. Colon electrical stimulation: potential use for treatment of obesity. *Obesity* (Silver Spring) 2011; 19: 1761-1767 [PMID: 21660079 DOI: 10.1038/oby.2011.146]
  - 45 Hughes SF, Scott SM, Pilot MA, Williams NS. Electrically stimulated colonic reservoir for total anorectal reconstruction. *Br J Surg* 1995; 82: 1321-1326 [PMID: 7489153 DOI: 10.1002/bjs.1800821009]
  - 46 赵敬胜, 童卫东. 慢传输性便秘的病理生理研究进展. *中华胃肠外科杂志* 2012; 15: 758-760
  - 47 Yao S, Ke M, Wang Z, Xu D, Zhang Y, Chen JD. Visceral sensitivity to gastric stimulation and its correlation with alterations in gastric emptying and accommodation in humans. *Obes Surg* 2005; 15: 247-253 [PMID: 15802069 DOI: 10.1381/0960892053268363]
  - 48 Yao S, Ke M, Wang Z, Xu D, Zhang Y, Chen JD. Retrograde gastric pacing reduces food intake and delays gastric emptying in humans: a potential therapy for obesity? *Dig Dis Sci* 2005; 50: 1569-1575 [PMID: 16133953 DOI: 10.1007/s10620-005-2899-8]
  - 49 Yao SK, Ke MY, Wang ZF, Xu DB, Zhang YL. Visceral response to acute retrograde gastric electrical stimulation in healthy human. *World J Gastroenterol*

# 同行评价

本文对结肠电刺激的研究进展做了系统回顾, 该文引用文献正确, 反映了该领域的最新进展.



- 2005; 11: 4541-4546 [PMID: 16052685]  
50 Zhang J, Tang M, Chen JD. Gastric electrical stimulation for obesity: the need for a new de-

vice using wider pulses. *Obesity* (Silver Spring) 2009; 17: 474-480 [PMID: 19057530 DOI: 10.1038/oby.2008.543]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

# 结直肠无蒂锯齿状腺瘤内镜下诊断的进展

邱野, 付祥胜, 彭燕

邱野, 付祥胜, 彭燕, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000

邱野, 硕士研究生, 主要从事结肠锯齿状腺瘤的研究.

作者贡献分布: 本文综述由邱野完成; 付祥胜与彭燕审核.

通讯作者: 彭燕, 教授, 主任医师, 646000, 四川省泸州市太平街25号, 泸州医学院附属医院消化内科. 1806857826@qq.com  
电话: 0380-3165331

收稿日期: 2013-11-29 修回日期: 2013-12-30

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Endoscopic diagnosis of sessile serrated adenoma

Ye Qiu, Xiang-Sheng Fu, Yan Peng

Ye Qiu, Xiang-Sheng Fu, Yan Peng, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China

Correspondence to: Yan Peng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, 25 Taiping Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. 1806857826@qq.com

Received: 2013-11-29 Revised: 2013-12-30

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

Sessile serrated adenoma (SSA) is a special type of serrated adenoma, and recent studies have found that SSA has a malignant potential, progresses quickly and is closely related to right-sided colorectal cancer. SSA is usually located in the proximal colon, which is flat and sessile, and for this reason, SSA is difficult to find by conventional endoscopy and has a high rate of missed diagnosis. There is currently an urgent need to develop new endoscopic technologies to raise the diagnosis rate. In this paper, we will review recent progress in the diagnosis of sessile serrated adenoma using new endoscopic technologies.

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

Key Words: Serrated adenoma; Sessile serrated adenoma; Colorectal cancer; Magnifying chromoendoscopy; Narrow band imaging; Endocytoscopy; Confocal laser endomicroscopy

Qiu Y, Fu XS, Peng Y. Endoscopic diagnosis of sessile

serrated adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 801-806 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/801.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.801>

## 摘要

无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)是结直肠锯齿状病变中的特殊类型,近年来研究发现SSA具有恶变潜能,且进展快,与右半结肠癌的发生密切相关. SSA通常位于近端结肠,扁平无蒂,普通内镜下较难发现,漏诊率高. 因此,临床上迫切需要开展新的内镜检查技术,以提高SSA的诊断率. 本文就近年来内镜新技术对SSA诊断的研究进展作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 锯齿状息肉; 无蒂锯齿状腺瘤; 结直肠癌; 放大色素内镜; 窄带内镜; 细胞内镜; 共聚焦内镜

**核心提示:** 结直肠无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)是结直肠锯齿状病变中的特殊类型. 近年来研究认为SSA具有恶变潜能,且进展快,与右半结肠癌的发生密切相关,目前SSA的诊断率较低. 本文综述新的内镜检查技术对SSA的诊断进展.

邱野, 付祥胜, 彭燕. 结直肠无蒂锯齿状腺瘤内镜下诊断的进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 801-806 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/801.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.801>

## 0 引言

结直肠锯齿状息肉包括增生性息肉(hyperplastic polyp, HP)、无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)和传统锯齿状腺瘤(traditional serrated adenoma, TSA),上皮呈锯齿状结构是其共同特征<sup>[1]</sup>. 近年来发现的SSA是结直肠锯齿状病变中的特殊类型,研究发现,SSA具有恶变潜能、进展快,与右半结肠癌(colorectal cancer, CRC)的发生密切相关<sup>[2-4]</sup>. SSA的早期检出和正确处理是阻止其进展及癌变的重要途径,但SSA

## ■背景资料

结直肠无蒂锯齿状腺瘤(sessile serrated adenoma, SSA)是结直肠锯齿状病变中的特殊类型. 近年来研究认为SSA具有恶变潜能,且进展快,与右半结肠癌的发生密切相关,有关SSA的研究逐渐受到重视.

## ■同行评议者

顾国利, 副主任医师, 空军总医院普通外科

## ■ 研发前沿

根据SSA的内镜下特点,探讨新内镜技术对SSA的诊断进展,提高SSA诊疗效率。

通常位于近端结肠,扁平无蒂,普通内镜下较难发现,漏诊率高。因此,临床上迫切需要开展新的内镜检查技术,以提高SSA的诊断率。目前学术界对SSA尚缺乏统一的诊断标准和流程,SSA内镜下的早期诊断尚处于探索阶段<sup>[5-7]</sup>。

## 1 SSA早期正确诊断有十分重要的临床意义

结肠镜筛查可有效减少结直肠癌的发生率和死亡率。近年来,越来越多的研究发现这种筛查的有效性在左右半结肠中并非对等<sup>[8-13]</sup>。结肠镜筛查后的结直肠癌(colorectal cancer, CRC)大多数位于右半结肠,并且具有微卫星高不稳定性和高甲基化表型的特征,这些特征与锯齿状病变中的SSA非常类似<sup>[8,9,14-16]</sup>。SSA通常位于近端结肠,外形隐蔽,普通内镜下很难发现,因此有研究认为发生在结肠镜筛查后的CRC可能系由漏检和未处理的SSA发展而来<sup>[17,18]</sup>。大量的研究证实,SSA在右半结肠癌的发展过程中扮演着重要角色,其癌变率比普通腺瘤更高。早期正确诊断SSA,可以有效地降低其癌变率,提高患者的后期生存率,有十分重要的临床意义<sup>[1,18,19]</sup>。

## 2 SSA内镜下特征和病理学特征

SSA通常位于右半结肠,体积较大,直径通常>10 mm,检出率低,约占锯齿状病变的15%-20%,在吸烟者和有结肠癌家族史的人群中更为常见<sup>[19-30]</sup>。TSA在内镜下表现极为特别,为双层松树样或者珊瑚样的外形,因而很容易鉴别<sup>[24,31]</sup>。与TSA不同,SSA内镜下表现为扁平无蒂,柔软光滑,表面苍白,通常表面覆有黏液与HP极为相似,故极易被误诊为HP<sup>[24]</sup>。由于SSA的形态结构和分布特点,使得目前SSA的诊断率十分低,不同内镜医师对SSA的诊断差异性很大<sup>[32-34]</sup>。因为SSA的诊断较为困难,推断SSA实际的发病率可能比统计的更高。SSA有特异的组织学特点:包括锯齿状结构的隐窝;隐窝基底部扩张、分支;侧向生长,与TSA不同,SSA很少具有细胞和组织学异型性<sup>[20,22,35]</sup>。

## 3 新的内镜技术蓬勃发展给SSA内镜下早期诊断带来希望

传统的对病变组织的精确诊断主要取决于内镜下病变形态表现,以及病理活检。但是用普通内镜对结直肠黏膜表面进行观察,可能使取材的部位不准确,经常需要反复多次取材,取材错误等情况很常见,活检取材过程中可能出现出

血,穿孔等并发症,并且病理活检的一般需要2-3 d,活检结果回报后需再次准备肠道行肠镜检查或治疗<sup>[36]</sup>。一方面增加风险延误病情,另一方面给患者造成经济上和精神上的负担。使得内镜医师更加渴望在内镜检查过程中进行实时的病变分型以及病理检查,从而提高内镜检查的效率,减少病员痛苦<sup>[37]</sup>。从而发展出新兴的内镜成像技术包括高分辨率的白光显微镜(high-resolution white-light endoscopy, HR-WLE),放大色素内镜技术(magnifying chromoendoscopy)、自体荧光成像技术(auto fluorescence imaging, AFI)、窄频影像技术(narrow band imaging, NBI)、细胞内镜(endocytoscopy)和共聚焦内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)技术等,这些内镜新技术的发展给普通内镜下检出困难的SSA的早期正确诊断带来了新的希望。

3.1 高分辨率的放大显微镜以及色素内镜辅助对SSA的诊断 放大色素内镜技术是先通过普通内镜观察,根据具体情况在息肉表面喷洒特殊染料对胃肠道黏膜进行染色,增强病变与周围结构对比,再用放大内镜进行观察,这种技术可清晰的观察病变腺管开口的形状,来初步对病变进行组织学分型,这种技术目前已在国内外得到广泛应用。根据Kudo等<sup>[38]</sup>的pit分型标准, pit I型(圆形腺管开口)病变和pit II型(星芒状或乳头状腺管开口)病变被归类于非瘤性病变,即正常的腺体或增生性息肉;而pit III型、pit IV型及pit V型被归类为瘤性病变,因SSA和HP都是以上分类中的pit II型,而很难被区分。日本学者Kimura等<sup>[31]</sup>发现了一种新的pit分型(type II-O),这种新类型的腺管开口比普通的pit II更宽更圆,并通常被普通的pit II所围绕,他们发现,大部份pit II-O型病变来自右半结肠,直径多大于1 mm,且其病理诊断为SSA, pit II-O型对SSA诊断的特异性高达97.3%,并且推断这种腺管开口扩大的现象与SSA过量分泌黏蛋白有关。但另一项研究发现, pit II-O对SSA的诊断敏感性为83.7%,特异性是85.7%<sup>[39]</sup>。利用pit II-O分型对SSA的诊断有较高的特异性无疑是学术界的重大突破,对锯齿状结构的亚型的分类有重要的临床意义,但是大约1/3的SSA不具有此结构, pit分型对SSA的诊断只能作为辅助手段。并且染色内窥镜和高分辨率内窥镜在染料的喷洒量和放大内镜视野控制方面有较大难度,临床上很难得到普及。



**3.2 NBI技术对SSA的诊断价值** NBI能够更清晰地显示消化系黏膜表面的细微结构, 能达到与染色内镜类似的显示效果, 对黏膜的微血管形态显示, 更是具备独特的优势. 更重要的是, NBI内镜能够在传统内镜成像和NBI系统之间根据病情需要随意迅速地切换, 并且不用喷洒色素染料. NBI的血管强化功能可增强黏膜表面毛细血管(褐色)和腺窝开口(透明白色)的色调差异, 比普通内镜更容易观察到病变黏膜表面的细微结构(例如腺管开口等). 研究发现NBI对大肠息肉以及大肠的扁平非息肉性病变的诊断率比普通内镜更高<sup>[40-43]</sup>. 姜泊等<sup>[44]</sup>研究发现NBI对发现特异性黏膜异常征象(98.6%)要高于常规内镜(90.5%), 特别是对一些平坦型病变的发现和鉴别都优于普通白光内镜.

Nakao等<sup>[45]</sup>研究发现, 在NBI下, 80%的SSA具有圆形或类圆形扩大的腺管开口结构(II-dilatation pit, pit II-d), 94%的SSA表面存在一层淡红色的黏液层(红色帽标志), NBI对SSA的组织学类型的判断有更高的精确性. Hazewinkel等<sup>[46]</sup>发现SSA区别于HP有两个特征: 即边界不显著和云雾状的外形, 而在NBI下除前两个特征外还表现为不规则的形状和类似黑斑的腺管开口, 后两个特征只在NBI下可见. 通过对SSA的以上特征进行评分, 以组织学诊断为判断标准, 发现NBI对SSA的诊断的敏感性、特异性和总精确度分别是89%、96%和93%, 而普通的HR-WLE分别是75%、79%和77%. 可见, NBI对SSA具有重要的诊断意义.

**3.3 细胞内镜(endocytoscopy)技术成为最有挑战性的内镜新技术** 细胞内镜是在超高倍的放大内镜的基础上发展而来的. 其先采用染色剂对病变部位进行检测, 而后以头端安装有可吸引黏膜的透明帽紧贴病变黏膜, 来观察细胞的细微结构. 应用较广泛的细胞内镜是由Olympus公司生产的, 直径为3.2 mm, 其物镜的放大倍数为450倍(观察范围300  $\mu\text{m}$   $\times$  300  $\mu\text{m}$ )和1125倍(观察范围120  $\mu\text{m}$   $\times$  120  $\mu\text{m}$ )<sup>[47]</sup>. Mori等<sup>[37]</sup>报道细胞内镜和常规活检对结肠瘤性病变的诊断的精确率分别是94.1%和96%. 细胞内镜对结肠瘤性和非瘤性病变的诊断率和病理学检测几乎相同<sup>[37,48,49]</sup>. 可见细胞内镜可视化细胞形态和细胞核的程度已接近病理学诊断, 可实现最精确的病理学前评估. Kutsukawa等<sup>[50]</sup>发现, SSA的腺管在细胞内镜下表现为卵圆形( $P<0.001$ ), 其敏感性为83.3%, 特异性为97.8%; 而HP的腺管形状

在细胞内镜下表现为类似星芒形( $P<0.001$ ), 其敏感性为77.8%, 特异性为93.5%. 在细胞内镜下, SSA可通过管腔形状与HP相鉴别. 而TSA在细胞内镜下表现为具有绒毛状( $P<0.001$ )或锯齿状的( $P=0.002$ )管腔结构(敏感性为100%, 特异性为87.2%), 并且表现为梭形细胞核(敏感性为100%, 特异性为100%). 上述研究可见, 细胞内镜对锯齿状病变亚型的鉴别诊断精确性很高. 但是目前细胞内镜在结直肠锯齿状病变的研究甚少, 具有很大的临床价值和广阔的前景.

**3.4 CLE对SSA的诊断价值** CLE是将一微型共聚焦激光扫描显微镜整合于传统电子内窥镜头以获得比普通内镜放大1000倍的内镜图像, 此技术优点是在内镜检查时, 不需做活检可直接观察细胞及亚细胞结构, 对黏膜病变做出即时诊断, 可达到“光活检”或“光学切片”目的<sup>[20,51]</sup>. CLE对CRC有极高的诊断价值, 利用CLE在内镜下对特定抗原进行荧光标记, 来诊断CRC有更高的精确性<sup>[52-54]</sup>. 有研究通过对不同内镜医师用CLE对结肠病变分类进行研究, 发现其诊断的精确度最高可达95.6%<sup>[55,56]</sup>. 理论上CLE对SSA的诊断有更高的价值和广阔的研究前景, 但遗憾的是, CLE对SSA的诊断研究目前还没有文献报道.

## 4 结论

放大色素内镜能在传统内镜的基础上更加清晰的观察病变的微小特征, 并可精确的判断病变的PIT分型的种类; NBI则以一种操作简单的方法观察病变的显微特征; 细胞内镜和共聚焦内镜的出现使结肠病变的诊断与最终的病理学检测更加接近. 这些新兴的内镜下诊断技术对结肠息肉样病变特别是的传统内镜下很难区分的SSA的诊断和进一步的治疗有着十分重要的临床意义. 但是, 新兴的内镜技术都有各自的缺点和局限性, 染色内窥镜和高分辨率内窥镜在染料的喷洒量和放大内镜视野控制方面有很大难度, 这些技术在包括欧美在内的大多数地区都不常用<sup>[24,57,58]</sup>. 很多研究发现, 只有在传统内镜发现可疑病变情况下才切换至NBI模式, 单用NBI技术并不能提高息肉的总体检出率<sup>[59,60]</sup>. 而共聚焦内镜和细胞内镜, 尚处在初步研究阶段, 其诊断价值有待大量的临床研究证实. 所以, 越来越多的研究提出, 要联合多种内镜技术实现对息肉的精确诊断, 例如配合放大色素内镜和NBI成像技术, 联合色素内镜、CLE和NBI成像技术<sup>[61,62]</sup>. 虽然新兴的内镜技术要实现临床普及还有一定

## ■ 相关报道

近年来研究发现, SSA具有恶变潜能, 且进展快, 与右半结肠癌的发生密切相关, SSA的早期检出和正确处理是阻止其进展及癌变的重要途径, 但SSA在普通内镜下较难发现. 因此, 临床上迫切需要开展新的内镜检查技术以提高对SSA的诊断率.

## ■创新盘点

目前放大色素内镜技术(magnifying chromoendoscopy)、自体荧光成像技术(auto fluorescence imaging, AFI)、窄频影像技术(narrow band imaging, NBI)、细胞内镜(endocytoscopy)和共聚焦内镜(confocal laser endomicroscopy, CLE)技术等新内镜技术蓬勃发展,对结肠直肠各类病变的诊断率有很大的提高,但对SSA诊断价值的报道很少,本文对比描述各种新内镜技术对SSA的诊断的优缺点,有较强的临床适用性。

的距离,特别是在我国以及广大的发展中国家。但是相信随着科技的发展和技术的更新,各种内镜技术的成熟、分子水平的成像实现,SSA的早期诊断率也会得到极大提高,对患者的及时诊断和治疗成为可能。同时高度重视SSA的早期检出和正确诊断,熟悉并掌握SSA的内镜下特征,避免误诊漏诊,是防止其癌变的重要环节。

## 5 参考文献

- 1 Snover DC. Update on the serrated pathway to colorectal carcinoma. *Hum Pathol* 2011; 42: 1-10 [PMID: 20869746 DOI: 10.1016/j.humpath.2010.06.002]
- 2 De Jesus-Monge WE, Gonzalez-Keelan C, Cruz-Correa M. Serrated adenomas. *Curr Gastroenterol Rep* 2009; 11: 420-427 [PMID: 19765371 DOI: 10.1007/s11894-009-0063-x]
- 3 Groff RJ, Nash R, Ahnen DJ. Significance of serrated polyps of the colon. *Curr Gastroenterol Rep* 2008; 10: 490-498 [PMID: 18799125 DOI: 10.1007/s11894-008-0090-z]
- 4 Bettington M, Walker N, Clouston A, Brown I, Leggett B, Whitehall V. The serrated pathway to colorectal carcinoma: current concepts and challenges. *Histopathology* 2013; 62: 367-386 [PMID: 23339363 DOI: 10.1111/his.12055]
- 5 Boparai KS, van den Broek FJ, van Eeden S, Fockens P, Dekker E. Hyperplastic polyposis syndrome: a pilot study for the differentiation of polyps by using high-resolution endoscopy, autofluorescence imaging, and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2009; 70: 947-955 [PMID: 19595313 DOI: 10.1016/j.gie.2009.03.1172]
- 6 Kashida H, Ikehara N, Hamatani S, Kudo SE, Kudo M. Endoscopic characteristics of colorectal serrated lesions. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 1163-1167 [PMID: 21937375 DOI: 10.5754/hge10093]
- 7 Yamada A, Notohara K, Aoyama I, Miyoshi M, Miyamoto S, Fujii S, Yamamoto H. Endoscopic features of sessile serrated adenoma and other serrated colorectal polyps. *Hepatogastroenterology* 2011; 58: 45-51 [PMID: 21510285]
- 8 Singh H, Nugent Z, Demers AA, Kliewer EV, Mahmud SM, Bernstein CN. The reduction in colorectal cancer mortality after colonoscopy varies by site of the cancer. *Gastroenterology* 2010; 139: 1128-1137 [PMID: 20600026]
- 9 Brenner H, Chang-Claude J, Seiler CM, Rickert A, Hoffmeister M. Protection from colorectal cancer after colonoscopy: a population-based, case-control study. *Ann Intern Med* 2011; 154: 22-30 [PMID: 21200035]
- 10 Brenner H, Hoffmeister M, Arndt V, Stegmaier C, Altenhofen L, Haug U. Protection from right- and left-sided colorectal neoplasms after colonoscopy: population-based study. *J Natl Cancer Inst* 2010; 102: 89-95 [PMID: 20042716 DOI: 10.1093/jnci/djp436]
- 11 Singh H, Nugent Z, Mahmud SM, Demers AA, Bernstein CN. Predictors of colorectal cancer after negative colonoscopy: a population-based study. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 663-673; quiz 674 [PMID: 19904239 DOI: 10.1038/ajg.2009.650]
- 12 Atkin WS, Edwards R, Kralj-Hans I, Wooldrage K, Hart AR, Northover JM, Parkin DM, Wardle J,

Duffy SW, Cuzick J. Once-only flexible sigmoidoscopy screening in prevention of colorectal cancer: a multicentre randomised controlled trial. *Lancet* 2010; 375: 1624-1633 [PMID: 20430429]

- 13 Baxter NN, Warren JL, Barrett MJ, Stukel TA, Doria-Rose VP. Association between colonoscopy and colorectal cancer mortality in a US cohort according to site of cancer and colonoscopist specialty. *J Clin Oncol* 2012; 30: 2664-2669 [PMID: 22689809 DOI: 10.1200/JCO.2011.40.4772]
- 14 Sawhney MS, Farrar WD, Gudiseva S, Nelson DB, Lederle FA, Rector TS, Bond JH. Microsatellite instability in interval colon cancers. *Gastroenterology* 2006; 131: 1700-1705 [PMID: 17087932 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.10.022]
- 15 Arain MA, Sawhney M, Sheikh S, Anway R, Thyagarajan B, Bond JH, Shaikat A. CIMP status of interval colon cancers: another piece to the puzzle. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1189-1195 [PMID: 20010923 DOI: 10.1038/ajg.2009.699]
- 16 Vaughn CP, Wilson AR, Samowitz WS. Quantitative evaluation of CpG island methylation in hyperplastic polyps. *Mod Pathol* 2010; 23: 151-156 [PMID: 19855373 DOI: 10.1038/modpathol.2009.150]
- 17 Lieberman D. Progress and challenges in colorectal cancer screening and surveillance. *Gastroenterology* 2010; 138: 2115-2126 [PMID: 20167216 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.02.006]
- 18 Burnett-Hartman AN, Newcomb PA, Phipps AI, Passarelli MN, Grady WM, Upton MP, Zhu LC, Potter JD. Colorectal endoscopy, advanced adenomas, and sessile serrated polyps: implications for proximal colon cancer. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1213-1219 [PMID: 22688851 DOI: 10.1038/ajg.2012.167]
- 19 Huang CS, Farraye FA, Yang S, O'Brien MJ. The clinical significance of serrated polyps. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 229-240; quiz 241 [PMID: 21045813 DOI: 10.1038/ajg.2010.429]
- 20 Higuchi T, Sugihara K, Jass JR. Demographic and pathological characteristics of serrated polyps of colorectum. *Histopathology* 2005; 47: 32-40 [PMID: 15982321 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2005.02180.x]
- 21 Torlakovic E, Skovlund E, Snover DC, Torlakovic G, Nesland JM. Morphologic reappraisal of serrated colorectal polyps. *Am J Surg Pathol* 2003; 27: 65-81 [PMID: 12502929 DOI: 10.1097/0000478-200301000-00008]
- 22 Rex DK, Ahnen DJ, Baron JA, Batts KP, Burke CA, Burt RW, Goldblum JR, Guillem JG, Kahi CJ, Kalady ME, O'Brien MJ, Odze RD, Ogino S, Parry S, Snover DC, Torlakovic EE, Wise PE, Young J, Church J. Serrated lesions of the colorectum: review and recommendations from an expert panel. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 1315-1329; quiz 1314, 1330 [PMID: 22710576 DOI: 10.1038/ajg.2012.161]
- 23 Gurudu SR, Heigh RI, De Petris G, Heigh EG, Leighton JA, Pasha SF, Malagon IB, Das A. Sessile serrated adenomas: demographic, endoscopic and pathological characteristics. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3402-3405 [PMID: 20632442 DOI: 10.3748/wjg.v16.i27.3402]
- 24 Hasegawa S, Mitsuyama K, Kawano H, Arita K, Maeyama Y, Akagi Y, Watanabe Y, Okabe Y, Tsuruta O, Sata M. Endoscopic discrimination of sessile serrated adenomas from other serrated lesions. *Oncol Lett* 2011; 2: 785-789 [PMID: 22866127]

- 25 Rustagi T, Rangasamy P, Myers M, Sanders M, Vaziri H, Wu GY, Birk JW, Protiva P, Anderson JC. Sessile serrated adenomas in the proximal colon are likely to be flat, large and occur in smokers. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5271-5277 [PMID: 23983429 DOI: org/10.3748/wjg.v19.i32.5271]
- 26 Burnett-Hartman AN, Passarelli MN, Adams SV, Upton MP, Zhu LC, Potter JD, Newcomb PA. Differences in epidemiologic risk factors for colorectal adenomas and serrated polyps by lesion severity and anatomical site. *Am J Epidemiol* 2013; 177: 625-637 [PMID: 23459948 DOI: 10.1093/aje/kws282]
- 27 Hassan C, Pickhardt PJ, Marmo R, Choi JR. Impact of lifestyle factors on colorectal polyp detection in the screening setting. *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1328-1333 [PMID: 20706078 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181e10daa]
- 28 Schreiner MA, Weiss DG, Lieberman DA. Proximal and large hyperplastic and nondysplastic serrated polyps detected by colonoscopy are associated with neoplasia. *Gastroenterology* 2010; 139: 1497-1502 [PMID: 20633561 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.06.074]
- 29 Anderson JC, Rangasamy P, Rustagi T, Myers M, Sanders M, Vaziri H, Wu G, Birk JW, Protiva P. Risk factors for sessile serrated adenomas. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 694-699 [PMID: 21325950 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318207f3cf]
- 30 Kahi CJ, Li X, Eckert GJ, Rex DK. High colonoscopic prevalence of proximal colon serrated polyps in average-risk men and women. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 515-520 [PMID: 22018551 DOI: 10.1016/j.gie.2011.08.021]
- 31 Kimura T, Yamamoto E, Yamano HO, Suzuki H, Kamimae S, Nojima M, Sawada T, Ashida M, Yoshikawa K, Takagi R, Kato R, Harada T, Suzuki R, Maruyama R, Kai M, Imai K, Shinomura Y, Sugai T, Toyota M. A novel pit pattern identifies the precursor of colorectal cancer derived from sessile serrated adenoma. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 460-469 [PMID: 22233696 DOI: 10.1038/ajg.2011.457]
- 32 Kahi CJ, Hewett DG, Norton DL, Eckert GJ, Rex DK. Prevalence and variable detection of proximal colon serrated polyps during screening colonoscopy. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 42-46 [PMID: 20888435 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.09.013]
- 33 Liang J, Kalady MF, Appau K, Church J. Serrated polyp detection rate during screening colonoscopy. *Colorectal Dis* 2012; 14: 1323-1327 [PMID: 22390284 DOI: 10.1111/j.1463-1318.2012.03017.x]
- 34 de Wijkerslooth TR, Stoep EM, Bossuyt PM, Tytgat KM, Dees J, Mathus-Vliegen EM, Kuipers EJ, Fockens P, van Leerdam ME, Dekker E. Differences in proximal serrated polyp detection among endoscopists are associated with variability in withdrawal time. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 617-623 [PMID: 23321338 DOI: 10.1016/j.gie.2012.10.018]
- 35 Torlakovic EE, Gomez JD, Driman DK, Parfitt JR, Wang C, Benerjee T, Snover DC. Sessile serrated adenoma (SSA) vs. traditional serrated adenoma (TSA). *Am J Surg Pathol* 2008; 32: 21-29 [PMID: 18162766]
- 36 Minami H, Inoue H, Yokoyama A, Ikeda H, Satodate H, Hamatani S, Haji A, Kudo S. Recent advancement of observing living cells in the esophagus using CM double staining: endocytoscopic atypia classification. *Dis Esophagus* 2012; 25: 235-241 [PMID: 21895852 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01241.x]
- 37 Mori Y, Kudo S, Ikehara N, Wakamura K, Wada Y, Kutsukawa M, Misawa M, Kudo T, Kobayashi Y, Miyachi H, Yamamura F, Ohtsuka K, Inoue H, Hamatani S. Comprehensive diagnostic ability of endocytoscopy compared with biopsy for colorectal neoplasms: a prospective randomized noninferiority trial. *Endoscopy* 2013; 45: 98-105 [PMID: 23307149 DOI: 10.1055/s-0032-1325932]
- 38 Kudo S, Tamura S, Nakajima T, Yamano H, Kusaka H, Watanabe H. Diagnosis of colorectal tumorous lesions by magnifying endoscopy. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 8-14 [PMID: 8836710]
- 39 Ishigooka S, Nomoto M, Obinata N, Oishi Y, Sato Y, Nakatsu S, Suzuki M, Ikeda Y, Maehata T, Kimura T, Watanabe Y, Nakajima T, Yamano HO, Yasuda H, Itoh F. Evaluation of magnifying colonoscopy in the diagnosis of serrated polyps. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4308-4316 [PMID: 22969193 DOI: 10.3748/wjg.v18.i32.4308]
- 40 Uraoka T, Saito Y, Matsuda T, Sano Y, Ikehara H, Mashimo Y, Kikuchi T, Saito D, Saito H. Detectability of colorectal neoplastic lesions using a narrow-band imaging system: a pilot study. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1810-1815 [PMID: 19032454 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05635.x]
- 41 Ladabaum U, Fioritto A, Mitani A, Desai M, Kim JP, Rex DK, Imperiale T, Gunaratnam N. Real-time optical biopsy of colon polyps with narrow band imaging in community practice does not yet meet key thresholds for clinical decisions. *Gastroenterology* 2013; 144: 81-91 [PMID: 23041328 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.09.054]
- 42 Rex DK. Narrow-band imaging without optical magnification for histologic analysis of colorectal polyps. *Gastroenterology* 2009; 136: 1174-1181 [PMID: 19187781 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.009]
- 43 Inoue T, Murano M, Murano N, Kuramoto T, Kawakami K, Abe Y, Morita E, Toshina K, Hoshiro H, Egashira Y, Umegaki E, Higuchi K. Comparative study of conventional colonoscopy and pan-colonic narrow-band imaging system in the detection of neoplastic colonic polyps: a randomized, controlled trial. *J Gastroenterol* 2008; 43: 45-50 [PMID: 18297435 DOI: 10.1007/s00535-007-2125-x]
- 44 姜泊, 潘新颜, 张亚历, 刘思德. 内镜窄带成像与染色技术诊断大肠肿瘤的对比研究. *中华消化内镜杂志* 2006; 23: 416-420
- 45 Nakao Y, Saito S, Ohya T, Aihara H, Arihiro S, Kato T, Ikegami M, Tajiri H. Endoscopic features of colorectal serrated lesions using image-enhanced endoscopy with pathological analysis. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 981-988 [PMID: 23820237 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3283614b2b]
- 46 Hazewinkel Y, López-Cerón M, East JE, Rastogi A, Pellisé M, Nakajima T, van Eeden S, Tytgat KM, Fockens P, Dekker E. Endoscopic features of sessile serrated adenomas: validation by international experts using high-resolution white-light endoscopy and narrow-band imaging. *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 916-924 [PMID: 23433877 DOI: 10.1016/j.gie.2012.12.018]
- 47 Chak A. Endoscopy to endocytoscopy to endopathology: are we ready? *Endoscopy* 2007; 39: 540-541 [PMID: 17554651]
- 48 Rotondano G, Bianco MA, Salerno R, Meucci C, Prisco A, Garofano ML, Sansone S, Cipolletta L.

## ■应用要点

在大量的文献资料基础上, 探讨新内镜技术对SSA的诊断进展, 对比各种新的内镜技术的优缺点, 有助于提高临床医生对于SSA的认识, 可能会为SSA的临床研究及治疗提供新的认识。



## ■同行评价

本文对SSA提供了比较充足的有意义的信息,基本包括了内镜领域的新技术在诊断SSA的应用,有新颖性,具有一定的临床指导意义。

- Endocytoscopic classification of preneoplastic lesions in the colorectum. *Int J Colorectal Dis* 2010; 25: 1111-1116 [PMID: 20532533 DOI: 10.1007/s00384-010-0969-7]
- 49 Kudo SE, Wakamura K, Ikehara N, Mori Y, Inoue H, Hamatani S. Diagnosis of colorectal lesions with a novel endocytoscopic classification - a pilot study. *Endoscopy* 2011; 43: 869-875 [PMID: 21837586 DOI: 10.1055/s-0030-1256663]
- 50 Kutsukawa M, Kudo SE, Ikehara N, Ogawa Y, Wakamura K, Mori Y, Ichimasa K, Misawa M, Kudo T, Wada Y, Hayashi T, Miyachi H, Inoue H, Hamatani S. Efficiency of endocytoscopy in differentiating types of serrated polyps. *Gastrointest Endosc* 2013 Oct 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24119508 DOI: 10.1016/j.gie.2013.08.029]
- 51 Inoue H, Kudo SE, Shiokawa A. Technology insight: Laser-scanning confocal microscopy and endocytoscopy for cellular observation of the gastrointestinal tract. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2005; 2: 31-37 [PMID: 16265098]
- 52 Liu C, Li CQ, Zuo XL, Ji R, Xie XJ, Yang YS, Li YQ. Confocal laser endomicroscopy for the diagnosis of colorectal cancer in vivo. *J Dig Dis* 2013; 14: 259-265 [PMID: 23336610 DOI: 10.1111/1751-2980.12039]
- 53 Cârțână T, Săftoiu A, Gruionu LG, Gheonea DI, Pirici D, Georgescu CV, Ciocâlțeu A, Gruionu G. Confocal laser endomicroscopy for the morphometric evaluation of microvessels in human colorectal cancer using targeted anti-CD31 antibodies. *PLoS One* 2012; 7: e52815 [PMID: 23285192 DOI: 10.1371/journal.pone.0052815]
- 54 Liu J, Zuo X, Li C, Yu T, Gu X, Zhou C, Li Z, Goetz M, Kiesslich R, Li Y. In vivo molecular imaging of epidermal growth factor receptor in patients with colorectal neoplasia using confocal laser endomicroscopy. *Cancer Lett* 2013; 330: 200-207 [PMID: 23220286 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.11.044]
- 55 Kuiper T, Kiesslich R, Ponsioen C, Fockens P, Dekker E. The learning curve, accuracy, and interobserver agreement of endoscope-based confocal laser endomicroscopy for the differentiation of colorectal lesions. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 1211-1217 [PMID: 22459661 DOI: 10.1016/j.gie.2012.01.040]
- 56 Xie XJ, Li CQ, Zuo XL, Yu T, Gu XM, Li Z, Ji R, Wang Q, Li YQ. Differentiation of colonic polyps by confocal laser endomicroscopy. *Endoscopy* 2011; 43: 87-93 [PMID: 21038291 DOI: 10.1055/s-0030-1255919]
- 57 Henry ZH, Yeaton P, Shami VM, Kahaleh M, Patrie JT, Cox DG, Peura DA, Emura F, Wang AY. Meshed capillary vessels found on narrow-band imaging without optical magnification effectively identifies colorectal neoplasia: a North American validation of the Japanese experience. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 118-126 [PMID: 20381799 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.048]
- 58 Tischendorf JJ, Wasmuth HE, Koch A, Hecker H, Trautwein C, Winograd R. Value of magnifying chromoendoscopy and narrow band imaging (NBI) in classifying colorectal polyps: a prospective controlled study. *Endoscopy* 2007; 39: 1092-1096 [PMID: 18072061]
- 59 Ikematsu H, Saito Y, Tanaka S, Uraoka T, Sano Y, Horimatsu T, Matsuda T, Oka S, Higashi R, Ishikawa H, Kaneko K. The impact of narrow band imaging for colon polyp detection: a multicenter randomized controlled trial by tandem colonoscopy. *J Gastroenterol* 2012; 47: 1099-1107 [PMID: 22441532 DOI: 10.1007/s00535-012-0575-2]
- 60 Pasha SF, Leighton JA, Das A, Harrison ME, Gurudu SR, Ramirez FC, Fleischer DE, Sharma VK. Comparison of the yield and miss rate of narrow band imaging and white light endoscopy in patients undergoing screening or surveillance colonoscopy: a meta-analysis. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 363-70; quiz 371 [PMID: 22186978 DOI: 10.1038/ajg.2011.436]
- 61 Iwatate M, Ikumoto T, Hattori S, Sano W, Sano Y, Fujimori T. NBI and NBI Combined with Magnifying Colonoscopy. *Diagn Ther Endosc* 2012; 2012: 173269 [PMID: 23304065 DOI: 10.1155/2012/173269]
- 62 Ussui VM, Wallace MB. Confocal endomicroscopy of colorectal polyps. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 545679 [PMID: 22319524 DOI: 10.1155/2012/545679]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 高强度聚焦超声在结直肠癌肝转移治疗中的临床应用

刘贤伟, 周丁华

刘贤伟, 九江市第一人民医院普通外科 江西省九江市 332000  
周丁华, 中国人民解放军第二炮兵总医院肝胆外科B病区 北京市 100088

刘贤伟, 住院医师, 硕士, 主要从事普通外科肿瘤的研究.

作者贡献分布: 本文由刘贤伟综述; 周丁华审校.

通讯作者: 周丁华, 教授, 主任医师, 博士生导师, 100088, 北京市西城区新街口外大街16号, 第二炮兵总医院肝胆外科B病区. zhoudh@sina.com

电话: 010-66343003

收稿日期: 2013-10-27 修回日期: 2013-12-31

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Application status of high intensity focused ultrasound in treatment of colorectal cancer liver metastases

Xian-Wei Liu, Ding-Hua Zhou

Xian-Wei Liu, Department of General Surgery, the First People's Hospital of Jiujiang City, Jiujiang 332000, Jiangxi Province, China

Ding-Hua Zhou, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Artillery General Hospital Beijing, Beijing 100088, China

Correspondence to: Ding-Hua Zhou, Professor, Chief Physician, Doctoral Tutor, Department of Hepatobiliary Surgery, the Second Artillery General Hospital Beijing, 16 Xijiekouwai Road, Xicheng District, Beijing 100088, China. zhoudh@sina.com

Received: 2013-10-27 Revised: 2013-12-31

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

The liver is the most common and important site of metastases for colorectal cancer, and liver metastasis is one of the important factors leading to treatment failure in colorectal cancer. The traditional methods for treating liver metastases of colorectal cancer (CRLM) are not satisfactory and are often associated with a poor prognosis. High intensity focused ultrasound (HIFU) as a new technique for local ablation of solid tumors not only has advantages of less trauma, fewer complications, faster recovery and definite tumor necrosis, but also can preserve and enhance the host anti-tumor immunity. In recent years, HIFU ablation has been increasingly used for the therapy of tumors in clinical settings. This paper gives an overview of mechanisms of action and

application status of HIFU in the treatment of colorectal cancer liver metastases, and explores current challenges and future perspectives.

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

**Key Words:** High intensity focused ultrasound; Colorectal cancer; Liver metastases; Comprehensive treatment

Liu XW, Zhou DH. Application status of high intensity focused ultrasound in treatment of colorectal cancer liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 807-812 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/807.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.807>

## 摘要

肝脏是结直肠癌最常见也最重要的转移部位, 而肝转移是结直肠癌治疗失败最重要的因素之一. 传统方式治疗结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)效果不理想, 预后欠佳. 高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是近年来发展迅速的实体肿瘤局部消融新技术, 其不仅具有创伤小、并发症少、恢复快及肿瘤组织坏死确切等优点, 还能保存和提高宿主抗肿瘤免疫能力. 近年来, HIFU局部消融技术在临床肿瘤治疗中的应用逐步深入, 本文拟就其治疗结直肠癌肝转移的机制、现状作一简要综述, 并探讨目前存在的问题, 展望临床应用前景.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 高强度超声聚焦; 结直肠癌; 肝转移; 综合治疗

**核心提示:** 结直肠癌肝转移的治疗难点在于反复复发, 而高强度聚焦超声治疗的特点之一就是具有可重复性, 同时其创伤小、并发症少、恢复快及肿瘤组织坏死确切, 还能保存和提高宿主的抗肿瘤免疫能力, 若将来能找到良好的联合治疗方法, 将对控制结直肠癌肝转移的进展和预防复发具有重大临床研究意义.

## ■背景资料

结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤, 肝脏是结直肠癌最常见也最重要的转移部位, 非手术的多学科综合治疗已成为结直肠癌肝转移患者的主要治疗方法. 高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是实体肿瘤局部消融新技术, 不仅具有创伤小、并发症少、恢复快及肿瘤组织坏死确切等优点, 还能保存和提高宿主的抗肿瘤免疫能力. 总结和分析HIFU在治疗结直肠癌肝转移的疗效及目前存在的问题具有重大的临床意义.

## ■同行评议者

何向辉, 教授, 天津医科大学总医院普通外科

## ■ 研发前沿

高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)联合其他方法治疗结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)是近年研究的热点。今后的研究需要在大样本、多中心的研究基础上,尽可能多的得出HIFU与其他疗法之间共同作用的机制,同时总结分析共同作用时最好的联合方式及疗效的影响因素。

刘贤伟, 周丁华. 高强度聚焦超声在结直肠癌肝转移治疗中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 807-812 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/807.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.807>

## 0 引言

结直肠癌为常见的消化系恶性肿瘤之一, 早期虽无明显临床症状, 但就诊时已发生转移的患者达15%-30%<sup>[1]</sup>。肝脏作为结直肠癌最常见也最重要的转移部位<sup>[2]</sup>, 50%-60%的结直肠癌患者最后将发生肝转移<sup>[3,4]</sup>。传统理论认为肝切除术是结直肠癌肝转移(colorectal liver metastases, CRLM)患者唯一可获得长期生存的治疗方法<sup>[5]</sup>。然而, 在结直肠癌肝转移的患者中, 80%-85%的患者因为肿瘤大小、位置及肝内多发转移等诸多原因, 无法行肝切除术<sup>[6]</sup>; 即使能行手术切除治疗的患者, 复发率也接近65%<sup>[7]</sup>; 而对于反复行肝切除术的患者, 手术成功率也越来越低<sup>[7,8]</sup>。因而, 非手术的多学科综合治疗成为CRLM的主要治疗方法<sup>[9]</sup>。

目前, 对于CRLM的综合治疗主要包括全身治疗和局部治疗, 全身治疗又包括静脉化疗、免疫治疗和中药治疗等, 局部治疗包括手术切除、肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)、经皮无水乙醇注射(percutaneous ethanol injection, PEI)、高温、冷冻及射频消融等, 这些局部治疗方法多存在一定的局限性<sup>[10-12]</sup>。高强度聚焦超声(high intensity focused ultrasound, HIFU)是近年来快速发展的肿瘤局部消融治疗的新兴技术, 经过十多年的发展, 这种非侵入式局部消融疗法, 因其安全可靠, 疗效显著, 已广泛应用于临床。

## 1 HIFU局部消融的原理

作为近年来迅速发展的非侵入性体外肿瘤局部消融治疗技术, HIFU是医学与物理学结合的学科<sup>[13]</sup>。其局部消融肿瘤的原理是通过超声波对组织具有穿透性和能量的可聚焦性, 将体外发出的超声波在体内传播的能量聚焦至体内肿瘤病灶(临床治疗靶区), 在焦点处产生瞬间高温, 使肿瘤病灶发生不可逆性凝固性坏死, 而对焦点周围组织无明显损伤<sup>[14]</sup>。目前对其作用机制的研究仍然在不断深入, 主要认为是通过热效应<sup>[15]</sup>、空化效应<sup>[16]</sup>、机械效应、声化学效应<sup>[16]</sup>等使肿瘤局部细胞膜结构受损, 导致肿瘤细胞发生不可逆损伤, 细胞发生溶解坏死, 达到治疗局部肿瘤的目的。

同时HIFU还可以通过破坏2 mL以下的肿瘤局部滋养小血管<sup>[17,18]</sup>, 使肿瘤组织发生继发性缺血性坏死, 诱导部分细胞凋亡; 此外, HIFU也可以通过免疫效应<sup>[19,20]</sup>、对放、化疗的增敏效应<sup>[21]</sup>, 增强机体免疫功能及扩大放、化疗对肿瘤杀伤能力, 抑制肿瘤的进展。而最新研发的HIFU治疗仪, 不仅可以利用计算机控制使超声波的聚焦点沿着瘤块的三维立体结构完全覆盖并杀灭肿瘤细胞; 还具有非侵入性、无创伤性、治疗过程中能量分布均匀且能完全破坏靶区内的肿瘤组织、避免靶区周围正常组织免受损害、治疗精度较高、并发症发生率低等优点<sup>[22]</sup>。诚然, 作为新型的局部肿瘤治疗手段, HIFU还有许多问题需更深一步研究探讨。

## 2 HIFU治疗结直肠癌肝转移的现状

我国结直肠癌发病率呈逐年上升趋势, 已位于恶性肿瘤第3位; 其中约1/4患者在确诊结直肠癌时已发生肝转移, 同时, 约60%的终末期患者死于肝转移<sup>[23,24]</sup>。因此, 肝转移被认为是结直肠癌治疗失败的最主要原因<sup>[25]</sup>。2011年全球美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)指南把肝切除作为结直肠癌肝转移的首选治疗手段, 但目前大部分学者对于CRLM主张的可切除适应证, 仅20%左右的CRLM患者符合标准<sup>[25]</sup>。虽然部分患者通过新辅助化疗、分子靶向等治疗后可重新获得手术机会, 但是, 更多不能手术切除的晚期患者, 需要针对肝转移瘤进行局部的姑息性治疗以换取生存期、改善生存质量及控制局部肿瘤。我国学者先于西方国家将HIFU技术用于治疗无法行手术切除的CRLM患者, 并取得了一定的疗效成果。

**2.1 HIFU技术的发展历程** HIFU在治疗方面的探索由来已久, 早在20世纪40年代Kennedy等<sup>[26]</sup>就阐述了HIFU具有破坏局部组织的效应, 但因当时技术受限, 未能深入研究。而随着工程技术及超声热疗技术的发展, 20世纪80年代, 欧洲进行了大量的高水平基础研究, 超声热疗(pyrotherapy)和聚焦超声外科(focused ultrasound surgery)应运而生, 并形成了研发热潮<sup>[27,28]</sup>。我国于1997年由重庆医科大学医学超声研究所研发生产的第一台HIFU治疗仪开始应用于临床肿瘤研究; 2年后, 我国率先批准此类设备的商品生产及临床应用; 2006年, 国家药监局正式实施《高强度聚焦超声(HIFU)治疗系统》的行业标准(YY0592-2005), 标志着我国的HIFU应用进入



规范化时代<sup>[29,30]</sup>。之后, HIFU开始广泛应用于临床, 尤其是在治疗胰腺癌<sup>[31]</sup>和子宫肌瘤<sup>[32]</sup>方面取得可喜的成果。

**2.2 HIFU治疗CRLM的适应证与禁忌证** HIFU局部消融CRLM的适应证较广泛, 又具有可重复性特征, 理论上只要能建立良好的超声波通道, 所有的肝脏肿瘤都可以进行HIFU局部消融治疗。而对于CRLM, 手术切除被认为是唯一可以达到根治的治疗方法, 因此, 丧失手术机会的CRLM是HIFU治疗的唯一适应证。复习文献及总结笔者所在医院使用HIFU治疗CRLM的临床经验、教训, 以下情况一般不建议行HIFU治疗: (1)患者身体情况差, 无法耐受或坚持完成HIFU治疗; (2)患者存在肝功能衰竭、凝血功能异常等严重并发症和合并症; (3)患者HIFU治疗区域皮肤存在感染、破溃、严重疤痕形成等情况; (4)患者术前超声定位发现超声通道受阻, 经辅助处理后亦不能使机载超声清楚显示肿瘤病灶; (5)患者门静脉系统血栓或存在严重的血管壁损伤; (6)患者肿瘤病灶弥漫性浸润或与周围组织粘连紧密, 致肿瘤病灶无法测量。

**2.3 HIFU治疗CRLM的临床进展** 理论上, HIFU可对任意大小和形状的肝脏肿瘤进行局部消融治疗, 且因HIFU治疗可重复性的特点, 越来越多的临床医师利用HIFU治疗无法行手术切除的CRLM。主要包括单用HIFU治疗、HIFU联合放化疗2种应用方式。

**2.3.1 单用HIFU治疗:** 朱辉等<sup>[33]</sup>于2004年首先报道了18例CRLM患者经HIFU治疗后的疗效结果。除2例失访, 余16例患者12、18 mo的生存率为83.3%和66.7%, 中位生存期为16 mo; 而接受治疗的25个病灶中, 17个病灶肿瘤体积缩小范围在50%以上, 8个病灶肿瘤体积保持稳定, 仅1个病灶在治疗后9 mo经影像学检查证实局部复发, 且经HIFU再次治疗后, 随访7 mo未再发现肿瘤活动迹象; 同时, 在本次治疗中, 除8例患者出现治疗区皮肤浅II°烧伤, 无其他严重不良反应及并发症。近年来, 随着HIFU技术的日趋成熟, 关于HIFU治疗CRLM的报道亦逐渐增多<sup>[34,35]</sup>, 虽然总体生存率较前并无大幅度提高, 但不良反应及并发症明显减少。

此外, 研究表明, 在经过HIFU治疗后, 机体对肿瘤细胞的特异性免疫功能会得到加强。而HIFU诱发机体抗免疫能力提高的机制有以下几种可能: (1)通过空化效应实现诱发体内抗肿瘤

免疫反应<sup>[36,37]</sup>; (2)经HIFU治疗后, 凝固坏死的肿瘤细胞分解产物刺激机体免疫系统; 同时因肿瘤细胞组织的破坏, 隐蔽的肿瘤抗原决定簇得以充分暴露, 增加肿瘤细胞抗原性, 进而激发机体免疫系统<sup>[38]</sup>; (3)HIFU的热效应可诱发肿瘤细胞合成热休克蛋白(heat shock protein, HSP)<sup>[39]</sup>, HSP可激发针对同源肿瘤细胞的特异性细胞毒性T淋巴细胞<sup>[40]</sup>, 以刺激机体的免疫反应; (4)HIFU治疗造成大部分肿瘤细胞产生不可逆性的凝固性坏死, 削弱了肿瘤对机体免疫系统的抑制能力; 同时也解除了肿瘤细胞对机体免疫系统的封闭作用, 进而提高机体的抗肿瘤免疫能力<sup>[37]</sup>; (5)HIFU局部消融治疗后, 白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-2、肿瘤坏死因子等生物活性物质在坏死肿瘤周围聚集, 调节机体抗肿瘤免疫系统<sup>[41]</sup>。

**2.3.2 HIFU联合放化疗:** 虽然单用HIFU治疗CRLM的疗效及安全性在临床上已得到证实, 且可以通过HIFU治疗提高机体抗肿瘤免疫功能, 但患者总体生存率提高不明显。为进一步提高HIFU治疗CRLM的疗效, 临床医师逐渐开展了HIFU联合其他方法治疗CRLM的临床研究, 其中HIFU联合放化疗得到临床医师的亲睐。2008年, 刘铁军等<sup>[42]</sup>报道了HIFU联合腹腔化疗治疗肝转移癌的回顾性临床研究, 48例失去手术机会的CRLM患者, 25例患者接受HIFU联合腹腔化疗治疗, 23例患者接受单纯腹腔化疗, 结果显示HIFU联合腹腔化疗更有利于肝转移癌患者的治疗。2011年, 黄松钦等<sup>[21]</sup>使用HIFU联合放化疗治疗48例CRLM患者, 通过与45例单纯采用放化疗治疗的患者对比, 得出HIFU联合放化疗组近期有效率明显优于单纯放化疗组; 同时利用此法, 在不影响疗效的前提下, 还可适当减少化疗药物剂量, 以降低不良反应。目前认为, HIFU联合放化疗能取得较好的临床疗效主要包括两方面因素: 一方面HIFU的热效应改变药物动力学, 闭锁肿瘤微血管, 药物清除延迟, 从而起到对化疗的增敏作用<sup>[43]</sup>; 另一方面化疗药物能杀死HIFU治疗靶区外的肿瘤细胞, 同时, 因为HIFU治疗后, 肿瘤的稳定遭到破坏, 化疗药物亦更容易进入到肿瘤细胞产生疗效及抑制肿瘤细胞的损伤修复<sup>[21]</sup>。

此外, Wu等<sup>[44]</sup>在研究TACE联合HIFU治疗肝癌时发现, 联合治疗组的患者中位生存期长于单用TACE治疗组, 是否对CRLM的治疗有

#### ■相关报道

罗葳等的研究中明确指出HIFU因其自身优势, 将是今后肝癌综合治疗的重要组成部分。HIFU对提高肝癌整体治疗水平、改善肝癌患者生存质量具有积极的临床意义。同时, HIFU可刺激机体免疫系统, 对人体免疫反应产生一定的促进作用。

### ■创新盘点

HIFU治疗结直肠癌肝转移的报道较多,但目前报道多以HIFU单一治疗报道为主,本文综述报道了HIFU及联合其他方法在治疗结直肠癌肝转移方面的研究进展。总结分析了HIFU技术目前存在的不足,也展望了将来HIFU在结直肠癌肝转移方面联合治疗的新方法。

借鉴意义还需进一步研究。我们医院近期还开展了HIFU联合射频消融治疗CRLM的临床研究,但因病例数少、随访期短,尚未得出明确结论。

**2.4 HIFU治疗的安全性** 众多研究<sup>[45-48]</sup>证明,HIFU治疗CRLM是有效、安全、可靠的,尚未有严重不良反应(如胃肠道穿孔、胆瘘、胰腺损伤、大血管损伤)的报道,高血压、发热、肝功能损害等全身并发症亦相对少见。HIFU作为高度依赖影像学引导的体外无创性实体肿瘤局部治疗技术,随着影像学技术的快速发展,尤其是将MRI技术和HIFU治疗仪结合之后,弥补了超声引导下无法监测能量累积情况的缺点,此法不仅能判断肿瘤局部是否发生凝固性坏死,还能实时监控凝固性坏死的范围,日本学者Okada等<sup>[49]</sup>于2006年利用此法成功治疗1例肝肿瘤患者。HIFU治疗CRLM常见的主要并发症包括皮肤损伤、胆管扩张、胸膜反应性积液等,这些并发症可能与治疗时无法监测组织内温度有关。

### 3 HIFU治疗CRLM的不足

HIFU局部消融作为一种姑息性的减瘤治疗方法,虽然其安全性及疗效在临床研究方面已基本得到广大临床医师的认可,但在临床应用中仍存在许多技术难题急需克服。一方面因无法监控组织内温度,皮肤损伤等上述并发症无法避免,而最新报道的超声反演法无创超声测温手段<sup>[50]</sup>尚在实验研究阶段,是否能利用此法解决此问题还需进一步研究证实;另一方面因肋骨遮挡,很多患者因无法获得良好的超声波通道而不能接受HIFU治疗,虽然采取肋骨部分切除可以解决这一问题,但临床研究已证实,肋骨切除术不能有效提高HIFU治疗中晚期肝癌的疗效<sup>[51]</sup>,因此在HIFU治疗CRLM时亦不主张采用此法;此外,超声定位成像技术和跟踪技术<sup>[52]</sup>、HIFU治疗时的计量学等方面研究也有待进一步深入。同时,HIFU局部消融治疗虽已证实不仅能有效缓解症状、改善患者生存治疗、延长生存时间,亦能增强放、化疗效应和患者自身免疫力,但目前的临床研究都存在样本量较小、缺乏随机对照及长期随访等诸多问题,故HIFU在CRLM综合治疗中的作用与地位还需要多中心、大样本的临床随机对照研究来进一步明确。另外,HIFU联合射频消融治疗CRLM是否可取得更好的疗效,尚需更多、更深入的临床实验研究证实;HIFU局部消融技术能否成为CRLM

患者术前新辅助治疗,使患者重新获得手术机会也值得探索;还有,肿瘤的免疫治疗是近年的研究热点,HIFU联合免疫治疗方法是否能有效控制CRLM的病情进展,甚至减少CRLM的发生,也有重要的临床研究价值。

### 4 结论

HIFU治疗CRLM具有应用范围广,对周围器官及正常组织损伤小,无辐射,患者创伤小、痛苦轻、恢复快等优点,值得临床推广。相信随着HIFU自身设备的不断完善、技术的进一步改进及其对人体组织作用机制的更深层次研究,其在治疗CRLM方面的前景将会更加广阔<sup>[53]</sup>。

### 5 参考文献

- 董志伟,谷铁之. 临床肿瘤学. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 941-969
- Yan BC, Hart JA. Recent developments in liver pathology. *Arch Pathol Lab Med* 2009; 133: 1078-1086 [PMID: 19642734 DOI: 10.1043/1543-2165-133.7.1078]
- Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684]
- Pawlik TM, Choti MA. Surgical therapy for colorectal metastases to the liver. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 1057-1077 [PMID: 17530336 DOI: 10.1007/s11605-006-0061-3]
- 潘泽亚, 吴伯文, 吴孟超. 大肠癌肝转移的诊断与治疗进展. *中国实用外科杂志* 2000; 20: 183
- 叶颖江, 王杉. 结直肠癌肝转移外科手术新理念. *中华普通外科手术学杂志* 2010; 4: 3-5
- Wu XF, Song HY, Yoon JM, Yu YT, Chen YF. Synthesis of core-shell Au@TiO<sub>2</sub> nanoparticles with truncated wedge-shaped morphology and their photocatalytic properties. *Langmuir* 2009; 25: 6438-6447 [PMID: 19341284 DOI: 10.1586/egh.09.8]
- Tomlinson JS, Jarnagin WR, DeMatteo RP, Fong Y, Kornprat P, Gonen M, Kemeny N, Brennan MF, Blumgart LH, D'Angelica M. Actual 10-year survival after resection of colorectal liver metastases defines cure. *J Clin Oncol* 2007; 25: 4575-4580 [PMID: 17925551 DOI: 10.1200/JCO.2007.11.0833]
- 廖皓宇, 何劲松, 唐锦, 魏寿江. 结直肠癌肝转移临床治疗现状. *中华普通外科杂志* 2012; 6: 43-48
- Nelson RL, Freels S. A systematic review of hepatic artery chemotherapy after hepatic resection of colorectal cancer metastatic to the liver. *Dis Colon Rectum* 2004; 47: 739-745 [PMID: 15037930 DOI: 10.1007/s10350-003-0113-7]
- 曹锋, 王悦华, 李非. 结直肠癌肝转移射频消融治疗的研究进展. *临床肿瘤学杂志* 2009; 14: 93-95
- Nicholl MB, Bilchik AJ. Thermal ablation of hepatic malignancy: useful but still not optimal. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 318-323 [PMID: 18055158 DOI: 10.1016/j.ejso.2007.07.203]
- Dubinsky TJ, Cuevas C, Dighe MK, Kolokythas O, Hwang JH. High-intensity focused ultrasound: current potential and oncologic applications. *AJR Am J*

- Roentgenol* 2008; 190: 191-199 [PMID: 18094311 DOI: 10.2214/AJR.07.2671]
- 14 Leslie TA, Kennedy JE. High-intensity focused ultrasound principles, current uses, and potential for the future. *Ultrasound Q* 2006; 22: 263-272 [PMID: 17146334 DOI: 10.1097/01.ruq.0000237259.25885.72]
  - 15 苏海兵, 邹建中, 王智彪. 高强度聚焦超声肿瘤治疗技术原理. *中华肝胆外科杂志* 2011; 17: 271-272
  - 16 刘丽燕, 王理伟. 高强度聚焦超声治疗胰腺癌研究现状. *临床肿瘤学杂志* 2012; 17: 370-374
  - 17 霍彦明, 陈亚珠. 高强度聚焦超声技术的原理及机理研究. *中华物理医学与康复杂志* 2000; 22: 172-174
  - 18 关利铭, 王智彪, 伍烽, 白晋, 杜永洪, 文爽, 曹友德. 高强度聚焦超声对人乳腺癌细胞及其滋养血管损伤的病理观察. *中国临床医学杂志* 2006; 13: 675-677
  - 19 夏纪筑, 丁炎, 赖春冬, 伍烽. 高强度聚焦超声治疗H22肝癌后荷鼠淋巴细胞的杀伤活性的变化. *中国超声医学杂志* 2010; 26: 297-299
  - 20 黄耀, 张卫星, 彭淮都, 魏杨辉, 陈小珍. 高强度聚焦超声对恶性肿瘤患者细胞免疫功能的影响. *中国热带医学杂志* 2010; 10: 488-489
  - 21 黄松钦, 梅昌武, 陈舜英, 江小莹. 高强度聚焦超声联合化疗治疗大肠癌肝转移. *中国肿瘤临床与康复杂志* 2011; 18: 71-73
  - 22 胡斌, 吕伟, 王虎明, 赵玮, 周丁华. 高强度聚焦超声在胰腺癌治疗中的临床应用. *肝胆胰外科杂志* 2013; 25: 263-265
  - 23 Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
  - 24 Khatrri VP, Petrelli NJ, Belghiti J. Extending the frontiers of surgical therapy for hepatic colorectal metastases: is there a limit? *J Clin Oncol* 2005; 23: 8490-8499 [PMID: 16230676 DOI: 10.1200/JCO.2004.00.6155]
  - 25 王锡山. 结直肠癌肝转移手术时机的选择. *中华普通外科杂志* 2009; 3: 42-45
  - 26 Kennedy JE, Ter Haar GR, Cranston D. High intensity focused ultrasound: surgery of the future? *Br J Radiol* 2003; 76: 590-599 [PMID: 14500272 DOI: 10.1259/bjr/17150274]
  - 27 Wu F, Chen WZ, Bai J, Zou JZ, Wang ZL, Zhu H, Wang ZB. Tumor vessel destruction resulting from high-intensity focused ultrasound in patients with solid malignancies. *Ultrasound Med Biol* 2002; 28: 535-542 [PMID: 12049967 DOI: 10.1016/S0301-5629(01)00515-4]
  - 28 Yagel S. High-intensity focused ultrasound: a revolution in non-invasive ultrasound treatment? *Ultrasound Obstet Gynecol* 2004; 23: 216-217 [PMID: 15027006 DOI: 10.1002/uog.1017]
  - 29 牛凤岐, 朱承纲, 程洋. 高强度聚焦超声(HIFU)标准化的迄今历程与展望. *中国医疗器械信息杂志* 2006; 12: 6-10
  - 30 Tempany CM, Stewart EA, McDannold N, Quade BJ, Jolesz FA, Hynynen K. MR imaging-guided focused ultrasound surgery of uterine leiomyomas: a feasibility study. *Radiology* 2003; 226: 897-905 [PMID: 12616023 DOI: 10.1016/j.acra.2005.05.018]
  - 31 熊六林. 高强度聚焦超声的临床应用. *物理杂志* 2007; 36: 715-719
  - 32 Stewart EA, Rabinovici J, Tempany CM, Inbar Y, Regan L, Gostout B, Hesley G, Kim HS, Hengst S, Gedroyc WM. Clinical outcomes of focused ultrasound surgery for the treatment of uterine fibroids. *Fertil Steril* 2006; 85: 22-29 [PMID: 16412721]
  - 33 朱辉, 陈文直, 伍烽, 黎克全, 邹建中, 王智彪. 18例大肠癌肝转移高强度聚焦超声治疗的临床观察. *中国肿瘤临床杂志* 2004; 31: 15-18
  - 34 李洪波, 郑东庆, 胡元清, 丁大明, 张桂媛, 党建波. 高强度聚焦超声治疗结肠癌术后肝转移. *中国基层医药杂志* 2010; 17: 2608-2609
  - 35 孙艳, 伍强, 林启平, 张伟星, 钟喻. 高强度聚焦超声治疗21例结直肠癌肝转移. *肿瘤学杂志* 2010; 16: 104-105
  - 36 罗威, 周丁华. 高强度聚焦超声在肝癌临床治疗中的应用现状及发展. *中华肝胆外科杂志* 2012; 18: 72-75
  - 37 Hu Z, Yang XY, Liu Y, Sankin GN, Pua EC, Morse MA, Lysterly HK, Clay TM, Zhong P. Investigation of HIFU-induced anti-tumor immunity in a murine tumor model. *J Transl Med* 2007; 5: 34 [PMID: 17625013 DOI: 10.1186/1479-5876-5-34]
  - 38 Schueller G, Stift A, Friedl J, Dubsky P, Bachleitner-Hofmann T, Benkoe T, Jakesz R, Gnant M. Hyperthermia improves cellular immune response to human hepatocellular carcinoma subsequent to co-culture with tumor lysate pulsed dendritic cells. *Int J Oncol* 2003; 22: 1397-1402 [PMID: 12739010]
  - 39 Kruse DE, Mackanos MA, O'Connell-Rodwell CE, Contag CH, Ferrara KW. Short-duration-focused ultrasound stimulation of Hsp70 expression in vivo. *Phys Med Biol* 2008; 53: 3641-3660 [PMID: 18562783 DOI: 10.1088/0031-9155/53/13/017]
  - 40 Chan T, Chen Z, Hao S, Xu S, Yuan J, Saxena A, Qureshi M, Zheng C, Xiang J. Enhanced T-cell immunity induced by dendritic cells with phagocytosis of heat shock protein 70 gene-transfected tumor cells in early phase of apoptosis. *Cancer Gene Ther* 2007; 14: 409-420 [PMID: 17235354 DOI: 10.1038/sj.cgt.7701025]
  - 41 王文见, 欧阳茂, 罗亿治, 伍烽, 孔繁斌, 王智彪. 高强度聚焦超声对荷W256肝癌局部组织中T淋巴细胞亚群的影响. *中华普通外科杂志* 2000; 15: 536-539
  - 42 刘铁军, 金效民. 高强度聚焦超声联合腹腔化疗治疗肝转移癌的疗效观察. *中国医疗前沿杂志* 2008; 3: 36-38
  - 43 Zhao H, Yang G, Wang D, Yu X, Zhang Y, Zhu J, Ji Y, Zhong B, Zhao W, Yang Z, Aziz F. Concurrent gemcitabine and high-intensity focused ultrasound therapy in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Anticancer Drugs* 2010; 21: 447-452 [PMID: 20075714 DOI: 10.1097/CAD.0b013e32833641a7]
  - 44 Wu F, Wang ZB, Chen WZ, Zou JZ, Bai J, Zhu H, Li KQ, Jin CB, Xie FL, Su HB. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high-intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization. *Radiology* 2005; 235: 659-667 [PMID: 15858105]
  - 45 Goldberg SN, Gazelle GS, Compton CC, Mueller PR, Tanabe KK. Treatment of intrahepatic malignancy with radiofrequency ablation: radiologic-pathologic correlation. *Cancer* 2000; 88: 2452-2463 [PMID: 10861420 DOI: 10.1002/1097-0142(20000601)88: ]
  - 46 ter Haar G. High intensity ultrasound. *Semin Laparosc Surg* 2001; 8: 77-89 [PMID: 11337740]
  - 47 Li Q, Du J, Yu M, He G, Luo W, Li H, Zhou X. Transmission electron microscopy of VX2 liver tumors after high-intensity focused ultrasound ablation enhanced with SonoVue. *Adv Ther* 2009; 26: 117-125 [PMID: 19096769 DOI: 10.1007/s12325-008-0126-7]
  - 48 Xu ZL, Zhu XQ, Lu P, Zhou Q, Zhang J, Wu F. Activation of tumor-infiltrating antigen presenting cells

## ■应用要点

除单用HIFU和HIFU联合化疗两种方法治疗CRLM外, HIFU联合其他方法治疗CRLM的临床报道和应用较少, 本文综述的HIFU联合TACE、射频消融及免疫治疗等方法有望成为HIFU在CRLM治疗方面的新研究方向. 同时, 本文综述的HIFU目前存在的不足, 若得到有效解决, HIFU不仅在CRLM的治疗方面, 在整个肿瘤治疗方面的应用前景也必将更加广阔.



## ■同行评价

本文不仅综述HIFU在结直肠癌肝转移治疗中的应用现状,还回顾了HIFU的发展历程,展望了其在CRLM治疗方面的应用前景,总结全面,条理清楚,评价客观。

- by high intensity focused ultrasound ablation of human breast cancer. *Ultrasound Med Biol* 2009; 35: 50-57 [PMID: 18950932 DOI: 10.1016/j.ultrasmedbio.2008.08.005]
- 49 Okada A, Murakami T, Mikami K, Onishi H, Tanigawa N, Marukawa T, Nakamura H. A case of hepatocellular carcinoma treated by MR-guided focused ultrasound ablation with respiratory gating. *Magn Reson Med Sci* 2006; 5: 167-171 [PMID: 17139143 DOI: 10.2463/mrms.5.167]
- 50 熊六林, 钱祖文, 于晋生. 超声反演法无创测温实验研究. *中国超声医学杂志* 2008; 24: 17-19
- 51 金成兵, 朱辉, 王智彪, 张炼, 黎克全, 周昆, 杨炜, 彭松, 冉立峰. 肋骨切除术在HIFU联合TACE治疗中晚期肝癌中的临床价值. *重庆医科大学学报* 2009; 34: 475-478
- 52 Fischer K, Gedroyc W, Jolesz FA. Focused ultrasound as a local therapy for liver cancer. *Cancer J* 2010; 16: 118-124 [PMID: 20404608 DOI: 10.1097/PPO.0b013e3181db7c32]
- 53 King R, Rieke V, Pauly K B. The Feasibility of HIFU liver ablation through the ribcage and cartilage in a rodent mode. *AIP Conference Proceedings* 2009; 1113: 149-153 [DOI: 10.1063/1.1313402]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# RNAi沉默Sp3基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响

李 佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博

李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博, 广西医科大学第一附属医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530021

李佳, 在读博士, 主要从事肝癌发病机制和预防的研究。

广西科学研究与技术开发计划基金资助项目, No. 桂科攻1298003-2-5

广西新世纪十百千人才工程专项基金资助项目, No. 2007214

广西壮族自治区卫生厅自筹经费科研课题基金资助项目, No. Z2012052

作者贡献分布: 裸鼠成瘤模型、Real-time PCR和免疫组织化学等主要实验由李佳完成, 莫伟嘉与李海荣协助完成; 细胞培养、慢病毒转染由陆会平完成; 数据分析和文章撰写由李佳完成; 课题指导、文章修改和审阅由冯振博完成。

通讯作者: 冯振博, 教授, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院病理科。

guanghu1963@126.com

电话: 0771-5356534

收稿日期: 2013-11-24 修回日期: 2013-12-24

接受日期: 2013-12-25 在线出版日期: 2014-02-28

## RNAi-mediated silencing of Sp3 expression reduces invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model

Jia Li, Hui-Ping Lu, Wei-Jia Mo, Hai-Rong Li, Zhen-Bo Feng

Jia Li, Hui-Ping Lu, Wei-Jia Mo, Hai-Rong Li, Zhen-Bo Feng, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Science Research and Technology Development Project, No. 1298003-2-5; Special Grants From "New Century Ten-Hundred-Thousand Talent Engineering" of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 2007214; Self-Financing Scientific Research Fund of Guangxi Health Department, No. Z2012052

Correspondence to: Zhen-Bo Feng, Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. guanghu1963@126.com

Received: 2013-11-24 Revised: 2013-12-24

Accepted: 2013-12-25 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To observe the influence of specificity protein 3 (Sp3) silencing on invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model, and to explore the possible mechanisms involved.

**METHODS:** A shRNA-Sp3 or non-relevant

shRNA was transfected into HepG2 cells using a lentiviral vector. Non-transfected HepG2 cells were used as controls. The three groups of cells were injected into nude mice. Tumor formation rate was determined, and the pathological morphology of cells in three groups was observed. The mRNA and protein expression of Sp3,  $\beta$ -catenin, E-cadherin and matrix metalloproteinase 9 (MMP-9) was detected by real-time PCR and immunohistochemistry.

**RESULTS:** The tumor formation rate was lower in the shRNA-Sp3 group than in the non-relevant group and control group (60% vs 100%, 100%). The ability of invasion was weaker in the shRNA-Sp3 group. The expression of Sp3,  $\beta$ -catenin and MMP-9 mRNAs in the shRNA-Sp3 group was significantly lower than that in the non-relevant group and control group ( $F = 29.692, 21.894, 109.414$ ;  $P = 0.001, 0.002, < 0.001$ ). The expression of E-cadherin mRNA was significantly higher in the shRNA-Sp3 group than in the other two groups ( $F = 66.983, P < 0.001$ ). The expression levels of Sp3 ( $30 \pm 5.69$ ),  $\beta$ -catenin ( $28 \pm 5.13$ ) and MMP-9 proteins ( $97 \pm 10.41$ ) were significantly lower than those in the non-relevant group and control group ( $P = 0.000$  for all). The expression of E-cadherin protein ( $132 \pm 4.36$ ) was significantly higher in the shRNA-Sp3 group than in the other two groups ( $P = 0.000$ ).

**CONCLUSION:** Sp3 may influence the invasion of HepG2 cells *in vivo* by up-regulating the expression of  $\beta$ -catenin and MMP-9 and down-regulating the expression of E-cadherin.

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

**Key Words:** Specificity protein 3; Nude mice;  $\beta$ -catenin; E-cadherin; Matrix metalloproteinase 9

Li J, Lu HP, Mo WJ, Li HR, Feng ZB. RNAi-mediated silencing of Sp3 expression reduces invasion of HepG2 cells in a xenogeneic graft mouse model. *Shijie Huaren*

## ■背景资料

转录因子Sp3在多种人肿瘤细胞株及组织中高表达, 调控肿瘤细胞生长、侵袭等生物学行为。β-catenin是Wnt/β-catenin信号通路中的关键作用分子, 与肿瘤细胞增殖及浸润有关。β-catenin的启动子含有丰富的GC盒, 此结构能被Sp家族识别并结合。可见β-catenin为Sp3调控的下游基因, 提示Sp3基因在体内参与肝细胞癌侵袭能力的调控, 其机制可能与Wnt/β-catenin信号通路有关。

## ■同行评议者

高润平, 教授, 吉林大学第一医院肝胆胰内科

## ■ 研发前沿

Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的异常激活参与肝癌的发生发展,  $\beta$ -catenin是该信号通路中的关键作用分子, 与肿瘤侵袭及转移有关. 近年来不断有新的 $\beta$ -catenin调节因子被发现, 提示 $\beta$ -catenin的调控机制极为复杂. 因此, 深入探讨Sp3调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 对揭示其在肝细胞癌恶性生物学行为调控具有重大意义.

Xiaohua Zazhi 2014; 22(6): 813-818 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/813.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.813>

## 摘要

**目的:** 构建裸鼠人肝癌种植瘤模型, 观察沉默特异性蛋白3(specificity protein 3, Sp3)对裸鼠人肝癌种植瘤侵袭能力的影响, 并探讨其机制.

**方法:** 将Sp3 shRNA转染人肝癌HepG2细胞, 并设无关序列阴性组及空白组为对照, 建立3组裸鼠人肝癌种植瘤模型. 观察裸鼠肿瘤的成瘤率, 瘤体进行HE染色观察其病理学改变, 采用Real-time PCR及免疫组织化学检测瘤组织中Sp3、 $\beta$ -连接素( $\beta$ -catenin)、E-钙黏附蛋白(E-cadherin)及基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)mRNA和蛋白的表达情况.

**结果:** 实验组的成瘤率明显低于其他两组(60% vs 100%, 100%); HE观察实验组肿瘤细胞侵袭能力明显降低. 荧光定量PCR检测结果显示, 种植瘤中实验组的Sp3、 $\beta$ -catenin及MMP-9 mRNA相对表达量明显低于空白组及阴性组, 差异有统计学意义( $F = 29.692$ ,  $P = 0.001$ ;  $F = 21.894$ ,  $P = 0.002$ ;  $F = 109.414$ ,  $P < 0.001$ ); 实验组瘤体中E-cadherin mRNA的相对表达量高于其他两组( $F = 66.983$ ,  $P < 0.001$ ). 免疫组织化学结果显示, 实验组Sp3蛋白表达为 $30 \pm 5.69$ 、 $\beta$ -catenin蛋白表达为 $28 \pm 5.13$ 、MMP-9蛋白表达为 $97 \pm 10.41$ 均低于空白组及阴性组; E-cadherin蛋白表达为 $132 \pm 4.36$ 明显高于其他两组, 差异有统计学意义( $P = 0.000$ ).

**结论:** Sp3可通过上调 $\beta$ -catenin及其下游基因MMP-9表达, 同时下调E-cadherin的表达, 增强人肝癌细胞的侵袭能力.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 沉默特异性蛋白3; 裸鼠;  $\beta$ -连接素; E-钙黏附蛋白; 基质金属蛋白酶9

**核心提示:** 本研究结果表明, 沉默特异性蛋白3(specificity protein 3)可通过上调Wnt/ $\beta$ -连接素( $\beta$ -catenin)信号中 $\beta$ -catenin及其下游基因基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9)表达, 同时下调E-钙黏附蛋白(E-cadherin)的表达, 增强肝癌细胞侵袭性, 共同促进肿瘤的演进.

李佳, 陆会平, 莫伟嘉, 李海荣, 冯振博. RNA沉默Sp3基因对裸鼠人肝癌种植瘤细胞侵袭能力的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 813-818 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/813.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.813>

## 0 引言

特异性蛋白3(specificity protein 3, Sp3)作为特异蛋白家族成员之一, 属于特殊转录因子, Sp3和其他Sp特殊蛋白家族成员一样, 在胚胎形成及出生后发育时期广泛表达并起关键作用, 但在成熟齿类动物模型及人类正常组织中, Sp3表达较低或不表达, 例如裸鼠的肝组织中Sp3几乎不表达<sup>[1]</sup>. 而在多种人肿瘤细胞株及组织中高表达<sup>[2-7]</sup>, 从而调控肿瘤细胞的生长、侵袭等生物学行为. 我们前期试验证实了Sp3在人肝癌细胞HepG2中高表达, 并且沉默Sp3基因表达可引起人肝癌细胞HepG2的生长速度减慢、细胞周期阻滞<sup>[8]</sup>. 这些结果提示我们Sp3基因与肝细胞癌发生发展有关. 侵袭是恶性肿瘤具有的特征性生物学行为. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的异常激活参与肝癌的发生发展, 促进肿瘤细胞增殖及侵袭. 本研究利用已构建的三株细胞株分别建立裸鼠人肝癌种植瘤模型, 观察沉默Sp3基因表达对肝癌细胞侵袭能力的影响, 初步探讨Sp3对Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的调控对移植瘤肝癌细胞侵袭能力的影响, 并探讨其可能机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** HepG2肝癌细胞购自中国科学院上海生物细胞研究所. Balb/c裸鼠购自广西医科大学动物实验中心, 生产许可证号SCXK桂2009-000, 鼠龄6 wk, 雌雄兼用, 饲养于广西医科大学动物实验中心SPF级饲养房. cDNA逆转录试剂盒购自Fermentas公司, FastStart Universal SYBR Green Master (ROX)购自Roche公司. Sp3多克隆一抗(浓缩液)购自美国Santa Cruze公司,  $\beta$ -catenin、E-cadherin及基质金属蛋白酶9(matrix metalloproteinase 9, MMP-9)单克隆抗体工作液购自北京中杉金桥生物技术有限公司, 鼠兔通用型二抗购自上海长岛生物技术有限公司, DAB显色剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司.

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞转染及裸鼠人肝细胞癌成瘤模型的构建:** 细胞株实验组(Lv-shRNA-Sp3)、阴性组(Lv-shRNA-NC)由本课题组构建<sup>[8]</sup>. 将30只裸鼠随机分为3组: 实验组、阴性组和空白组, 每组10只.



表 1 Real-time PCR引物序列及产物长度

基因名称	上游引物	下游引物	产物长度(bp)
<i>Sp3</i>	5'-GCTTGACCTGTCCCAACTGTA-3'	5'-CTCCAGAATGCCAACGCAGA-3'	148
<i>β-catenin</i>	5'-GAGTGCTGAAGGTGCTATCTGTC-3'	5'-CTGAACAAGAGTCCCAAGGAGA-3'	197
<i>E-cadherin</i>	5'-CCAGCGTGGGAGGCTGTATA-3'	5'-TCCAAGCCCTTTGCTGTTTT-3'	110
<i>MMP-9</i>	5'-CGTGTCTGGAGATTCGACTTGA-3'	5'-TTGGAAGCTCACACGCCAGA-3'	165
<i>β-actin</i>	5'-GCACCACACCTTCTACAATGAGC-3'	5'-GGATAGCACAGCCTGGATAGCAAC-3'	166

参照相关文献[9]中的裸鼠皮下种植瘤模型建立方法, 将转染后48 h的实验组、阴性组及处于对数期生长的HepG2 3组细胞, 常规消化, 细胞悬液以 $1 \times 10^7$ 细胞/0.2 mL剂量分别接种于相应组的裸鼠右前肢腋下, 皮下接种。每隔3 d观察皮下成瘤情况, 裸鼠接种细胞后第28天处死。解剖观察瘤体生长情况。瘤体组织分为2份: 一份用4%中性甲醛固定, 制作蜡块后切片进行HE染色及免疫组织化学染色。另一份标本立即放置液氮中, 随后转移至-80 °C超低温冰箱保存, 用来提取RNA。

1.2.2 Real-time PCR检测基因表达: 应用Primer 5.0软件设计引物并由Invitrogen公司合成, 引物序列如表1。使用TRIzol分别提取3组种植瘤的总RNA, 检测RNA完整度后, 逆转录为cDNA, 参照逆转录试剂盒说明书进行, Real-time PCR方法采用ROX公司试剂盒说明书进行, 以 $\beta$ -actin为内参, 使用ABI公司的PCR仪对PCR产物进行定量检测, 由计算机分析给出Ct及RQ值。

1.2.3 免疫组织化学检测 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9: 石蜡切片脱蜡后, 进行Sp3及E-cadherin检测的切片浸入pH 8.0 EDTA, 进行 $\beta$ -catenin及MMP-9检测的切片浸入柠檬酸缓冲液, 均用高压锅修复1 min 30 s, 3% $H_2O_2$ 于室温孵育10 min以消除内源性过氧化物酶活性; 分别滴加Sp3(稀释1:150)、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9一抗, 37 °C温箱孵育1.5 h; PBS冲洗后滴加二抗, 继续37 °C孵育30 min; PBS冲洗后DAB显色, 苏木素复染, 脱水透明, 中性树胶封片。实验均设立阳性对照及阴性对照。结果判断: 判断结果综合染色深度结合阳性细胞百分比统计计分。Sp3、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9阳性染色呈棕褐色颗粒, Sp3阳性定位于细胞核,  $\beta$ -catenin定位于细胞膜、细胞浆及细胞核, E-cadherin阳性定位于细胞膜, MMP-9阳性定位于细胞浆。400倍高倍镜下随机选取10个不连续视野进行观察, 每个视野计算200个细胞中阳性细胞数, 取其均值。

**统计学处理** 应用SPSS16.0软件进行统计分析, 计量资料用mean $\pm$ SD表示, 组间比较用单因素方差分析, 组间多重比较用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 裸鼠成瘤情况 在给药期间, 共有4只裸鼠死亡, 其中空白组3只, 阴性组1只, 死亡原因可能与皮下瘤体生长较快导致恶病质有关。各组裸鼠接种肿瘤细胞悬液28 d后处死, 解剖结果显示: 空白组7只裸鼠均成瘤, 成瘤率100%; 阴性组9只均成瘤, 成瘤率100%; 实验组10只裸鼠中成瘤6只, 成瘤率只有60%。

2.2 三组裸鼠种植瘤的病理学变化 3组瘤体大体形态均呈结节状或分叶状, 切面灰白、实性质中, 中央可见坏死。实验组瘤体包膜均完整, 与周围组织无黏连, 瘤体易剥离; 空白组和阴性组瘤体包膜与周围组织粘连。HE染色结果可见3组种植瘤瘤体镜下均为中等分化肝细胞癌, 癌巢内癌细胞呈梁状排列, 中间可见坏死, 癌细胞胞浆呈嗜酸性, 细胞核圆形, 核浆比例增大, 可见瘤巨细胞。空白组和阴性组可见癌细胞突破包膜, 侵犯周围肌组织(图1); 实验组瘤体包膜完整, 未见癌细胞侵犯周围组织。

2.3 Real-time PCR检测裸鼠种植瘤Sp3、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9 mRNA表达量 荧光定量PCR检测结果显示, 种植瘤中实验组的Sp3、 $\beta$ -catenin及MMP-9 mRNA相对表达量明显低于空白组及阴性组, 差异有统计学意义( $F = 29.692, P = 0.001; F = 21.894, P = 0.002; F = 109.414, P < 0.001$ ), 空白组和阴性组之间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。实验组瘤体中E-cadherin mRNA的相对表达量高于其他两组, 差异有统计学意义( $F = 66.983, P < 0.001$ ), 空白组和阴性组之间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(图2)。

2.4 免疫组织化学检测裸鼠种植瘤中Sp3、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9蛋白的表达情

## ■ 相关报道

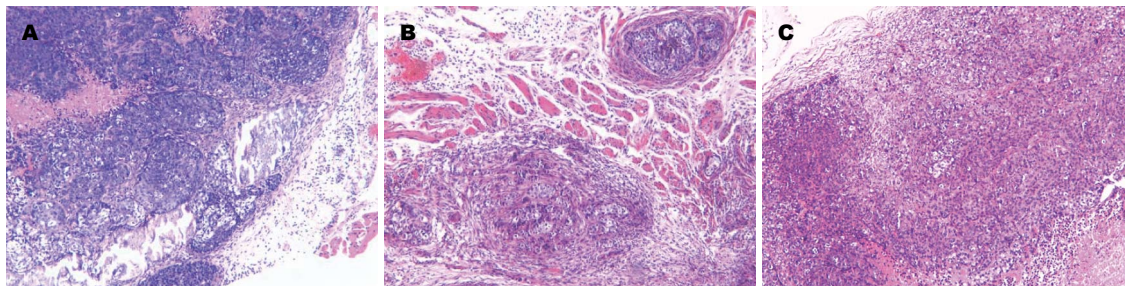
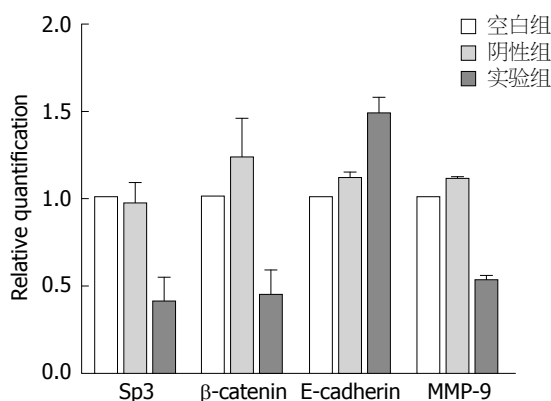
Pathi等对阿司匹林在结肠癌治疗的研究中表明 $\beta$ -catenin是Sp3家族的下游靶基因。本课题组前期实验结果发现Sp3在人肝癌细胞HepG2中高表达, 并且沉默Sp3基因表达可引起人肝癌细胞HepG2的生长速度减慢、细胞周期阻滞; 肝癌细胞癌组织中Sp3蛋白高表达, Sp3高表达与肿瘤恶性程度呈正相关; 这些结果提示我们Sp3基因与肝细胞癌的生长及浸润转移有关。

## ■创新亮点

本实验构建了基于HepG2细胞的裸鼠人肝癌种植瘤模型,观察沉默Sp3基因表达对肝癌细胞侵袭能力的影响,初步探讨Sp3对Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的调控对移植瘤肝癌细胞侵袭能力的影响,并探讨其可能机制。

表 2 各组移植瘤中Sp3、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9蛋白的表达情况 ( $n = 10$ , mean  $\pm$  SD)

	实验组	阴性组	空白组	F值	P值
Sp3	30 $\pm$ 5.69	188 $\pm$ 5.57	196 $\pm$ 1.53	1194	0.000
$\beta$ -catenin	28 $\pm$ 5.13	135 $\pm$ 5.14	141 $\pm$ 4.00	525.16	0.000
E-cadherin	132 $\pm$ 4.36	41 $\pm$ 8.39	32 $\pm$ 4.73	244.95	0.000
MMP-9	97 $\pm$ 10.41	166 $\pm$ 12.30	156 $\pm$ 4.73	43.262	0.000

图 1 3组瘤体癌组织的浸润情况(H&E  $\times$  100). A: 空白组癌细胞突破包膜; B: 阴性组癌细胞浸润周边肌组织; C: 实验组瘤体包膜完整。图 2 Real-time PCR检测3组种植瘤中Sp-3、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9 mRNA表达量。MMP-9: 基质金属蛋白酶9。

况 结果显示, 实验组Sp3蛋白表达为 $30 \pm 5.69$ 、 $\beta$ -catenin蛋白表达为 $28 \pm 5.13$ 、MMP-9蛋白表达为 $97 \pm 10.41$ 均低于空白组及阴性组, 差异有统计学意义( $P = 0.000$ ), 空白组和阴性组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。而实验组E-cadherin蛋白表达为 $132 \pm 4.36$ 明显高于其他两组, 差异有统计学意义( $P = 0.000$ ), 空白组和阴性组之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表2, 图3)。

## 3 讨论

Sp家族属于特殊转录因子, 目前发现有Sp1-9等9个成员<sup>[10-12]</sup>, 均为具有相似结构及转录特性的DNA结合蛋白, 该家族成员在C端均存在3个串联的Cys2His2型锌指结构域, 此结构域使该Sp家族成员以不同亲和力识别GC/GT盒, 激活很

多哺乳动物细胞的启动子, 决定启动子的特异性和转录效率从而参与多种基因的调控。目前发现许多癌症和疾病都存在Sp1和Sp3异常调节, 在大多数肿瘤中呈高表达, 并在肿瘤形成过程中起重要作用, 维持或促进细胞增殖及侵袭, 包括膀胱癌<sup>[2]</sup>、乳腺癌<sup>[4]</sup>、前列腺癌<sup>[13]</sup>等。本课题组前期实验结果<sup>[14]</sup>也发现肝细胞癌组织中Sp3蛋白高表达, Sp3高表达与肿瘤恶性程度呈正相关, 表明Sp3与肝细胞癌的发生发展有关。Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的异常激活参与肝癌的发生发展, 而 $\beta$ -catenin是该信号通路中的关键作用分子<sup>[15-17]</sup>, 不仅在钙黏蛋白介导的细胞黏附、细胞骨架分化中起重要作用, 而且在Wnt/ $\beta$ -catenin信号通道的关键环节调控cyclin D1、c-myc及MMPs等基因的表达, 从而促进肿瘤细胞增殖及浸润。

近年来不断有新的 $\beta$ -catenin调节因子被发现, 提示 $\beta$ -catenin的调控机制极为复杂。 $\beta$ -catenin启动子含有丰富的GC盒, 此结构能被Sp家族识别并结合。在2012年Pathi等<sup>[18]</sup>对阿司匹林在结肠癌治疗的研究中发现, 在结肠癌细胞SW480中利用小RNA干扰技术沉默Sp3导致 $\beta$ -catenin的表达减少, 表明 $\beta$ -catenin是Sp家族的下游靶基因。本实验利用RNA干扰技术构建下调Sp3表达的裸鼠人肝癌种植瘤模型, 结果发现瘤体Sp3和 $\beta$ -catenin mRNA及蛋白低表达, 两者表达均呈正相关, 提示Sp3直接或间接的调控 $\beta$ -catenin的表达, 这与Pathi的研究是一致的。裸鼠种植瘤大体



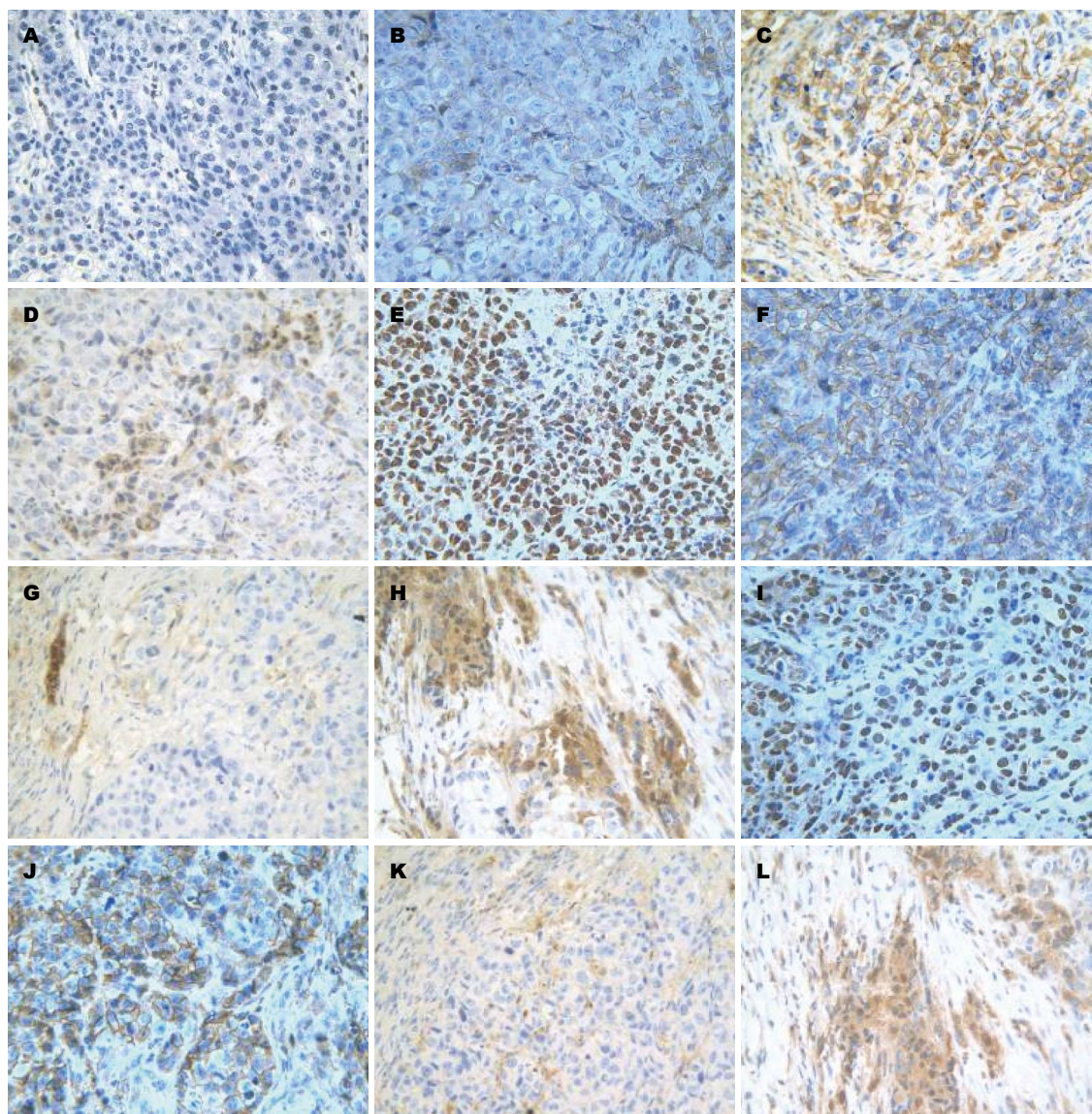


图 3 免疫组织化学检测3组种植瘤中Sp3、 $\beta$ -catenin、E-cadherin及MMP-9蛋白表达( $\times 400$ )。A-D: 实验组; E-H: 空白组; I-L: 阴性组; A, E, I: Sp3; B, F, J:  $\beta$ -catenin; C, G, K: E-cadherin; D, H, L: MMP-9。MMP-9: 基质金属蛋白酶9。

**■应用要点**  
Sp3可通过上调Wnt/ $\beta$ -catenin信号中 $\beta$ -catenin及其下游基因MMP-9表达,同时下调E-cadherin的表达,增强肝癌细胞侵袭性,共同促进肿瘤的演进。本文将为肝癌侵袭及转移的分子机制研究提供线索,同时为肝癌晚期治疗提供新思路。

和镜下观察结果显示,实验组中癌细胞侵袭能力减弱,瘤体周围未见明显浸润。为了了解Sp3是否通过调控 $\beta$ -catenin及其下游基因的表达,参与肝细胞癌细胞浸润及侵袭,本实验对3组种植瘤体中E-cadherin及MMP-9的表达进行检测,Real-time PCR和免疫组织化学结果显示:实验组中 $\beta$ -catenin和MMP-9 mRNA及蛋白表达显著降低, E-cadherin表达增加。本部分实验结果提示我们:沉默Sp3基因减弱了人肝癌细胞HepG2的侵袭能力, Sp3基因在体内参与肝细胞癌侵袭能力的调控,其机制可能与抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路有关。

随着肿瘤的进展,肿瘤细胞内Sp3合成增多并促进 $\beta$ -catenin转录,细胞膜上的 $\beta$ -catenin逐

渐转位到细胞质并转移进入细胞核与转录因子TCF/LEF-1结合,激活下游肿瘤相关基因的表达,诱导肝细胞癌的演进:包括激活上皮-间充质转变(epithelial-mesenchymal transition, EMT)调控基因Slug<sup>[19]</sup>,后者可抑制E-cadherin的转录,进而减少E-cadherin/ $\beta$ -catenin复合体形成,减弱细胞间的黏附;同时Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路可通过调节环氧化物酶-2(cyclooxygenase type 2, COX-2)提高MMPs的表达<sup>[20]</sup>;共同导致肿瘤的浸润及转移。

以上研究结果表明, Sp3可通过上调Wnt/ $\beta$ -catenin信号中 $\beta$ -catenin及其下游基因MMP-9表达,同时下调E-cadherin的表达,增强肝癌细胞侵袭性,共同促进肿瘤的演进。因此,深入探讨Sp3调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路,对揭示其在肝



# 同行评价

本文通过裸鼠人肝癌种植瘤模型证明沉默 $Sp3$ 基因在体内可减弱人肝癌细胞HepG2的迁移及侵袭能力,并初步探讨其机制,对探索肝癌发病机制具有实际意义。

细胞癌恶性生物学行为调控具有重大意义,两者之间的具体作用机制,还有待我们的进一步研究。

## 参考文献

- Chintharlapalli S, Papineni S, Ramaiah SK, Safe S. Betulinic acid inhibits prostate cancer growth through inhibition of specificity protein transcription factors. *Cancer Res* 2007; 67: 2816-2823 [PMID: 17363604 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-3735]
- Jutooru I, Chadalapaka G, Sreevalsan S, Lei P, Barhoumi R, Burghardt R, Safe S. Arsenic trioxide downregulates specificity protein (Sp) transcription factors and inhibits bladder cancer cell and tumor growth. *Exp Cell Res* 2010; 316: 2174-2188 [PMID: 20435036 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.04.027]
- Chintharlapalli S, Papineni S, Lei P, Pathi S, Safe S. Betulinic acid inhibits colon cancer cell and tumor growth and induces proteasome-dependent and -independent downregulation of specificity proteins (Sp) transcription factors. *BMC Cancer* 2011; 11: 371 [PMID: 21864401]
- Mertens-Talcott SU, Chintharlapalli S, Li X, Safe S. The oncogenic microRNA-27a targets genes that regulate specificity protein transcription factors and the G2-M checkpoint in MDA-MB-231 breast cancer cells. *Cancer Res* 2007; 67: 11001-11011 [PMID: 18006846 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-2416]
- Papineni S, Chintharlapalli S, Abdelrahim M, Lee SO, Burghardt R, Abudayyeh A, Baker C, Herrera L, Safe S. Tolfenamic acid inhibits esophageal cancer through repression of specificity proteins and c-Met. *Carcinogenesis* 2009; 30: 1193-1201 [PMID: 19406933 DOI: 10.1093/carcin/bgp092]
- Gao Y, Jia Z, Kong X, Li Q, Chang DZ, Wei D, Le X, Suyun H, Huang S, Wang L, Xie K. Combining betulinic acid and mithramycin a effectively suppresses pancreatic cancer by inhibiting proliferation, invasion, and angiogenesis. *Cancer Res* 2011; 71: 5182-5193 [PMID: 21673052 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-10-2016]
- Colon J, Basha MR, Madero-Visbal R, Konduri S, Baker CH, Herrera LJ, Safe S, Sheikh-Hamad D, Abudayyeh A, Alvarado B, Abdelrahim M. Tolfenamic acid decreases c-Met expression through Sp proteins degradation and inhibits lung cancer cells growth and tumor formation in orthotopic mice. *Invest New Drugs* 2011; 29: 41-51 [PMID: 19851711 DOI: 10.1007/s10637-009-9331-8]
- 陆会平, 李佳, 莫伟嘉, 冯振博. RNAi沉默 $Sp3$ 基因对肝癌HepG2细胞增殖的影响. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2595-2600
- 梁治坤, 黄志勇, 陈孝平, 刘聪, 吴在德. 5-杂氮-2'-脱氧胞苷诱导裸鼠HepG2种植瘤细胞T-cadherin的表达及其对种植瘤的抑制作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 1741-1745
- Schoy S, Gabant P, Van Reeth T, Hertveldt V, Drèze PL, Van Vooren P, Rivière M, Szpirer J, Szpirer C. Identification of KLF13 and KLF14 (SP6), novel members of the SP/XKLF transcription factor family. *Genomics* 2000; 70: 93-101 [PMID: 11087666 DOI: 10.1006/geno.2000.6362]
- Lu X, Gilbert L, He X, Rubin J, Nanes MS. Transcriptional regulation of the osterix (Osx, Sp7) promoter by tumor necrosis factor identifies disparate effects of mitogen-activated protein kinase and NF kappa B pathways. *J Biol Chem* 2006; 281: 6297-6306 [PMID: 16410254 DOI: 10.1074/jbc.M507804200]
- Kawakami Y, Esteban CR, Matsui T, Rodríguez-León J, Kato S, Izpisua Belmonte JC. Sp8 and Sp9, two closely related buttonhead-like transcription factors, regulate Fgf8 expression and limb outgrowth in vertebrate embryos. *Development* 2004; 131: 4763-4774 [PMID: 15358670 DOI: 10.1242/dev.01331]
- Ganapathy M, Ghosh R, Jianping X, Zhang X, Bedolla R, Schoolfield J, Yeh IT, Troyer DA, Olumi AF, Kumar AP. Involvement of FLIP in 2-methoxyestradiol-induced tumor regression in transgenic adenocarcinoma of mouse prostate model. *Clin Cancer Res* 2009; 15: 1601-1611 [PMID: 19223508]
- 莫伟嘉, 李佳, 陆会平, 冯振博.  $Sp3$ 与VEGF在肝细胞癌中的表达及相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 3101-3106
- Schmalhofer O, Brabletz S, Brabletz T. E-cadherin, beta-catenin, and ZEB1 in malignant progression of cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2009; 28: 151-166 [PMID: 19153669 DOI: 10.1007/s10555-008-9179-y]
- Fu Y, Zheng S, An N, Athanasopoulos T, Popplewell L, Liang A, Li K, Hu C, Zhu Y.  $\beta$ -catenin as a potential key target for tumor suppression. *Int J Cancer* 2011; 129: 1541-1551 [PMID: 21455986 DOI: 10.1002/ijc.26102]
- Jeanes A, Gottardi CJ, Yap AS. Cadherins and cancer: how does cadherin dysfunction promote tumor progression? *Oncogene* 2008; 27: 6920-6929 [PMID: 19029934 DOI: 10.1038/onc.2008.343]
- Pathi S, Jutooru I, Chadalapaka G, Nair V, Lee SO, Safe S. Aspirin inhibits colon cancer cell and tumor growth and downregulates specificity protein (Sp) transcription factors. *PLoS One* 2012; 7: e48208 [PMID: 23110215 DOI: 10.1371/journal.pone.0048208]
- Storci G, Bertoni S, De Carolis S, Papi A, Nati M, Ceccarelli C, Pirazzini C, Garagnani P, Ferrarini A, Buson G, Delledonne M, Fiorentino M, Capizzi E, Gruppioni E, Taffurelli M, Santini D, Franceschi C, Bandini G, Bonifazi F, Bonafé M. Slug/ $\beta$ -catenin-dependent proinflammatory phenotype in hypoxic breast cancer stem cells. *Am J Pathol* 2013; 183: 1688-1697 [PMID: 24036252 DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.07.020]
- Luo Y, Sun Z, Li Y, Liu L, Cai X, Li Z. Caudatin inhibits human hepatoma cell growth and metastasis through modulation of the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Oncol Rep* 2013; 30: 2923-2928 [PMID: 24064800]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 六味地黄丸对NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和TC的影响及意义

全晓红, 叶冬梅, 唐晓光

全晓红, 叶冬梅, 唐晓光, 赤峰学院医学院组胚教研室 内蒙古自治区赤峰市 024001

全晓红, 副教授, 主要从事基础医学教学的研究。

作者贡献分布: 此课题由全晓红设计; 研究过程有全晓红与唐晓光实施完成, 数据分析由叶冬梅完成; 论文写作由全晓红、叶冬梅及唐晓光共同完成。

通讯作者: 全晓红, 副教授, 024001, 内蒙古自治区赤峰市松山区机场路, 赤峰学院医学院教学办公室。quanxh@163.com

电话: 0476-8300399

收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2013-12-23

接受日期: 2013-12-25 在线出版日期: 2014-02-28

## Liuwei Dihuangwan protects against non-alcoholic fatty liver disease in rats

Xiao-Hong Quan, Dong-Mei Ye, Xiao-Guang Tang

Xiao-Hong Quan, Dong-Mei Ye, Xiao-Guang Tang, Department of Histology and Embryology, Medical School of Chifeng College, Chifeng 024001, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Xiao-Hong Quan, Associate Professor, Department of Histology and Embryology, Medical School of Chifeng College, Jichang Road, Songshan District, Chifeng 024001, Inner Mongolia Autonomous Region, China. quanxh@163.com

Received: 2013-12-07 Revised: 2013-12-23

Accepted: 2013-12-25 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To explore whether Liuwei Dihuangwan has a protective effect against non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in rats and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** Forty-five rats were randomly divided into three groups: a normal control group, a model control group, and a Liuwei Dihuangwan treated group. The normal control group was fed a normal diet, the model control group was fed a high-fat diet, and the Liuwei Dihuangwan treated group was fed a high-fat diet + Liuwei Dihuangwan. Serum levels of high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), aspartate transaminase (AST), alanine aminotransferase (ALT), albumin (ALB), total protein (TP), globulose

(GLB), as well as hepatic levels of superoxide dismutase (SOD), malonaldehyde (MDA), triglyceride (TG), and total cholesterol (TC) were compared between different groups.

**RESULTS:** Serum levels of HDL-C ( $0.61 \text{ mmol/L} \pm 0.06 \text{ mmol/L}$  vs  $1.08 \text{ mmol/L} \pm 0.16 \text{ mmol/L}$ ) were significantly lower and those of LDL-C and ALT ( $0.75 \text{ U/L} \pm 0.23 \text{ U/L}$  vs  $0.16 \text{ U/L} \pm 0.05 \text{ U/L}$ ;  $92.16 \text{ U/L} \pm 35.56 \text{ U/L}$  vs  $31.61 \text{ U/L} \pm 14.69 \text{ U/L}$ ) were significantly higher in the model control group than in the normal control group. Serum levels of LDL-C and ALT were significantly lower in the Liuwei Dihuangwan treated group than in the model control group ( $0.46 \text{ mmol/L} \pm 0.12 \text{ mmol/L}$  vs  $0.75 \text{ mmol/L} \pm 0.23 \text{ mmol/L}$ ;  $41.88 \text{ U/L} \pm 12.27 \text{ U/L}$  vs  $92.16 \text{ U/L} \pm 35.56 \text{ U/L}$ ;  $P < 0.05$  for both). Serum levels of ALB ( $18.84 \text{ g/L} \pm 1.95 \text{ g/L}$  vs  $20.16 \text{ g/L} \pm 0.95 \text{ g/L}$ ), TP ( $43.15 \text{ g/L} \pm 3.98 \text{ g/L}$  vs  $42.91 \text{ g/L} \pm 2.62 \text{ g/L}$ ) and GLB ( $24.34 \text{ g/L} \pm 1.65 \text{ g/L}$  vs  $22.75 \text{ g/L} \pm 2.19 \text{ g/L}$ ) had no significant differences between the model control group and the normal control group ( $P > 0.05$  for all), and between the Liuwei Dihuangwan treated group and the model control group (ALB:  $18.83 \text{ g/L} \pm 3.05 \text{ g/L}$  vs  $18.84 \text{ g/L} \pm 1.95 \text{ g/L}$ ; TP:  $41.17 \text{ g/L} \pm 4.84 \text{ g/L}$  vs  $43.15 \text{ g/L} \pm 3.98 \text{ g/L}$ ; GLB:  $22.33 \text{ g/L} \pm 2.41 \text{ g/L}$  vs  $24.34 \text{ g/L} \pm 1.65 \text{ g/L}$ ;  $P > 0.05$  for all). Hepatic levels of SOD ( $196.22 \text{ U/mgprot} \pm 25.08 \text{ U/mgprot}$  vs  $361.25 \text{ U/mgprot} \pm 24.17 \text{ U/mgprot}$ ) were significantly lower and those of MDA ( $3.92 \text{ nmol/mgprot} \pm 1.21 \text{ nmol/mgprot}$  vs  $1.34 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.32 \text{ nmol/mgprot}$ ), TG ( $3.75 \text{ mmol/L} \pm 0.52 \text{ mmol/L}$  vs  $1.62 \text{ mmol/L} \pm 0.44 \text{ mmol/L}$ ) and TC ( $1.77 \text{ mmol/L} \pm 0.65 \text{ mmol/L}$  vs  $1.05 \text{ mmol/L} \pm 0.28 \text{ mmol/L}$ ) were significantly higher in the model control group than in the normal control group ( $P < 0.05$  for all). Hepatic levels of SOD ( $274.06 \text{ U/mgprot} \pm 52.11 \text{ U/mgprot}$  vs  $196.22 \text{ U/mgprot} \pm 25.08 \text{ U/mgprot}$ ) were significantly higher and those of MDA, TG and TC ( $1.77 \text{ nmol/mgprot} \pm 0.53 \text{ nmol/mgprot}$  vs  $3.92 \text{ nmol/mgprot} \pm 1.21 \text{ nmol/mgprot}$ ,  $2.36 \text{ mmol/L} \pm 0.51 \text{ mmol/L}$  vs  $3.75 \text{ mmol/L} \pm 0.52 \text{ mmol/L}$ ,  $1.45 \text{ mmol/L} \pm 0.44$

## ■背景资料

随着近几年人们生活水平的提高以及生活习惯的改变, 非酒精性脂肪肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD) 临床发病率逐年升高。NAFLD患者易进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌, 是导致患者死亡的主要原因。六味地黄丸是滋补肾阴的中药方, 具有调节免疫、降血糖、降血脂以及肝脏保护等多种效果。

## ■同行评议者

邵华, 副主任药师, 东南大学附属中大医院药剂科

### ■相关报道

临床研究表明, 脂联素、抵抗素、瘦素等脂肪因子均与NAFLD发病有一定联系。

mmol/L vs 1.75 mmol/L  $\pm$  0.65 mmol/L) were significantly lower in the Liuwei Dihuangwan treated group than in the model control group ( $P < 0.05$  for all). Pathological changes observed by naked eyes and light microscopy were obvious in the model control group compared with the normal control group, and Liuwei Dihuangwan significantly improved these changes.

**CONCLUSION:** Liuwei Dihuangwan has positive therapeutic effects against experimental NAFLD in rats possibly by improving the levels of SOD, MDA, TG and TC.

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

**Key Words:** Liuwei Dihuangwan; Non-alcoholic fatty liver disease; Rat; Liver protection; Mechanisms of action

Quan XH, Ye DM, Tang XG. Liuwei Dihuangwan protects against non-alcoholic fatty liver disease in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 819-824 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/819.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.819>

### 摘要

**目的:** 探讨六味地黄丸对非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠肝脏组织超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)水平的影响, 并分析其对肝脏组织的保护作用及机制。

**方法:** 按照数字随机分组法将45只大鼠均分为正常组、模型组和六味地黄丸组3组, 正常组大鼠使用普通基础饲料喂养, 模型组大鼠使用高脂饲料喂养, 六味地黄丸组大鼠使用高脂饲料+六味地黄丸喂养, 比较3组大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoproteincholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶(altalanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)、总蛋白(total protein, TP)、球蛋白(globulose, GLB)水平和肝组织SOD、MDA、TG和总胆固醇(total cholesterol, TC)。

**结果:** 模型组大鼠血清HDL-C明显低于正常组大鼠(0.61 mmol/L  $\pm$  0.06 mmol/L vs 1.08 mmol/L  $\pm$  0.16 mmol/L), 血清LDL-C、ALT明

显高于正常大鼠(0.75 mmol/L  $\pm$  0.23 mmol/L vs 0.16 mmol/L  $\pm$  0.05 mmol/L、92.16 U/L  $\pm$  35.56 U/L vs 31.61 U/L  $\pm$  14.69 U/L), 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠血清LDL-C和ALT水平均明显低于模型组(0.46 mmol/L  $\pm$  0.12 mmol/L vs 0.75 mmol/L  $\pm$  0.23 mmol/L、41.88 U/L  $\pm$  12.27 U/L vs 92.16 U/L  $\pm$  35.56 U/L), 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 模型组大鼠与正常组大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较(18.84 g/L  $\pm$  1.95 g/L vs 20.16 g/L  $\pm$  0.95 g/L、43.15 g/L  $\pm$  3.98 g/L vs 42.91 g/L  $\pm$  2.62 g/L、24.34 g/L  $\pm$  1.65 g/L vs 22.75 g/L  $\pm$  2.19 g/L), 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠血清ALB、TP和GLB水平与模型组大鼠比较(18.83 g/L  $\pm$  3.05 g/L vs 18.84 g/L  $\pm$  1.95 g/L、41.17 g/L  $\pm$  4.84 g/L vs 43.15 g/L  $\pm$  3.98 g/L、22.33 g/L  $\pm$  2.41 g/L vs 24.34 g/L  $\pm$  1.65 g/L), 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 模型组大鼠肝脏组织SOD水平明显低于正常组大鼠, (196.22 U/mgprot  $\pm$  25.08 U/mgprot vs 361.25 U/mgprot  $\pm$  24.17 U/mgprot), MDA、TG和TC水平明显高于正常组大鼠(3.92 nmol/mgprot  $\pm$  1.21 nmol/mgprot vs 1.34 nmol/mgprot  $\pm$  0.32 nmol/mgprot、3.75 mmol/L  $\pm$  0.52 mmol/L vs 1.62 mmol/L  $\pm$  0.44 mmol/L、1.75 mmol/L  $\pm$  0.65 mmol/L vs 1.05 mmol/L  $\pm$  0.28 mmol/L), 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠SOD水平明显高于模型组(274.06 U/mgprot  $\pm$  52.11 U/mgprot vs 196.22 U/mgprot  $\pm$  25.08 U/mgprot), MDA、TG和TC水平明显低于模型组(1.77 nmol/mgprot  $\pm$  0.53 nmol/mgprot vs 3.92 nmol/mgprot  $\pm$  1.21 nmol/mgprot、2.36 mmol/L  $\pm$  0.51 mmol/L vs 3.75 mmol/L  $\pm$  0.52 mmol/L、1.45 mmol/L  $\pm$  0.44 mmol/L vs 1.75 mmol/L  $\pm$  0.65 mmol/L), 差异具有显著性( $P < 0.05$ )。肉眼和光镜检查均可见模型组大鼠较正常组大鼠有明显异常, 六味地黄丸组大鼠较模型组大鼠有明显改善。

**结论:** 六味地黄丸能够有效改善高脂饮食诱发的非酒精性脂肪肝大鼠肝功能, 对肝细胞具有保护作用, 可能通过改善SOD、MDA、TG和TC水平治疗非酒精性脂肪肝。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 六味地黄丸; 非酒精性脂肪肝; 大鼠; 肝脏保护; 作用机制

**核心提示:** 本研究结果显示, 六味地黄丸组大鼠血清高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoproteincholesterol, HDL-C)和谷丙转氨酶



(altalanine aminotransferase, ALT)水平均明显低于模型组, 差异具有显著性; 六味地黄丸组大鼠血清HDL-C和AST水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义. 表明六味地黄丸在降低非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)大鼠血清LDL-C和ALT水平上具有显著疗效, 对改善HDL-C和谷草转氨酶(aspartate transaminase)效果不明显. 六味地黄丸组大鼠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)水平明显高于模型组, 丙二醛(malonaldehyde, MDA)、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)水平明显低于模型组, 差异具有显著性. 表明六味地黄丸可能通过升高大鼠SOD水平和降低TG、TC、MDA水平实现改善NAFLD作用.

全晓红, 叶冬梅, 唐晓光. 六味地黄丸对NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和TC的影响及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 819-824 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/819.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.819>

## 0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是指由除酒精因素外的其他明确因素引发, 以弥漫性肝细胞大泡性脂肪变为主要特征的肝损伤<sup>[1]</sup>. 随着近几年人们生活水平的提高以及生活习惯的改变, NAFLD临床发病率逐年升高. NAFLD患者易进展为肝纤维化、肝硬化甚至肝癌, 是导致患者死亡的主要原因. 六味地黄丸是滋补肾阴的中药方, 具有调节免疫、降血糖、降血脂以及肝脏保护等多种效果<sup>[2]</sup>. 本研究采用六味地黄丸治疗高脂饲料长期喂养的NAFLD大鼠取得了良好的临床效果, 现报道如下.

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取45只健康SPF级Wistar ♂ 大鼠[实验动物合格证号: SCXK(新) 2003-0002]作为本研究研究对象, 所有大鼠均购自南京市模式动物研究所. 大鼠平均体质量为205.41 g±20.06 g, 分为5只/笼, 在22.0 °C±1.0 °C和40%-70%湿度下进行明暗各12 h喂养. 注意保持鼠笼通风和清洁, 每日更换饮水和饲料<sup>[3]</sup>. 在使用普通基础饲料喂养适应性喂养1 wk后, 按照数字随机分组法将45只大鼠均分为正常组、模型组和六味地黄丸组3组, 3组大鼠平均体质量比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性. 高脂饲料由我院按照15 g白糖、10 g猪油、5 g蛋黄粉、1 g胆固醇、

0.8 g胆酸钠和68.2 g大鼠普通基础饲料的比例自行加工制作, 使用<sup>60</sup>Co按32 kGy剂量辐照灭菌<sup>[4]</sup>. 六味地黄丸: 北京同仁堂科技发展股份有限公司制药厂, 国药准字Z11021283.

### 1.2 方法

1.2.1 建模及治疗: 正常组大鼠继续使用普通基础饲料喂养, 模型组和六味地黄丸组大鼠使用高脂饲料喂养. 六味地黄丸组在高脂饲料喂养的基础上加用六味地黄丸, 用药剂量为1.2 g/(kg·d), 采取混悬液灌胃方法给药. 3组大鼠均每周称重一次, 连续灌胃4 wk.

1.2.2 观察指标: 3组大鼠均在末次给药且禁食12 h后腹腔注射戊巴比妥钠麻醉, 剂量为40 mg/kg. 分离大鼠腹主动脉后收集10 mL新鲜血液, 静置1 h后使用3000 r/min离心机离心15 min. 取上清液检测血清高密度脂蛋白胆固醇(high-density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low-density lipoprotein cholesterol, LDL-C)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、白蛋白(albumin, ALB)、总蛋白(total protein, TP)和球蛋白(globulose, GLB). 处死大鼠后取部分肝组织进行超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malonaldehyde, MDA)、甘油三酯(triglyceride, TG)和总胆固醇(total cholesterol, TC)检测<sup>[5]</sup>.

**统计学处理** 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean±SD的形式表示, 差异性比较使用 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 3组NAFLD大鼠血清HDL-C、LDL-C、AST和ALT水平比较 模型组大鼠血清HDL-C明显低于正常组大鼠, 血清LDL-C、ALT明显高于正常大鼠, 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠血清LDL-C和ALT水平均明显低于模型组, 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠血清HDL-C和AST水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1).

2.2 3组NAFLD大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较 模型组大鼠与正常组大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠血清ALB、TP和GLB水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表2).

2.3 3组NAFLD大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG

### ■应用要点

六味地黄丸能够有效改善高脂饮食诱发的NAFLD大鼠肝功能, 对肝细胞具有保护作用, 可能通过改善SOD、MDA、TG和TC水平治疗NAFLD. 六味地黄丸可应用于临床治疗NAFLD患者以进一步深入分析其临床疗效及作用机制.

### ■同行评价

本文选题尚可, 设计合理, 结果可靠, 有一定的参考价值。

表 1 3组非酒精性脂肪肝大鼠血清HDL-C、LDL-C、AST和ALT水平比较 ( $n = 15$ , mean  $\pm$  SD)

分组	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	AST(U/L)	ALT(U/L)
正常组	1.08 $\pm$ 0.16	0.16 $\pm$ 0.05	107.52 $\pm$ 30.63	31.61 $\pm$ 14.69
模型组	0.61 $\pm$ 0.06 <sup>a</sup>	0.75 $\pm$ 0.23 <sup>ac</sup>	119.16 $\pm$ 24.13	92.16 $\pm$ 35.56 <sup>ac</sup>
六味地黄丸模型组	0.54 $\pm$ 0.14	0.46 $\pm$ 0.12	104.07 $\pm$ 22.53	41.88 $\pm$ 12.27

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 六味地黄丸组模型组. HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇; LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; AST: 谷草转氨酶; ALT: 谷丙转氨酶。

表 2 3组非酒精性脂肪肝大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较 ( $n = 15$ , mean  $\pm$  SD, g/L)

分组	ALB	TP	GLB
正常组	20.16 $\pm$ 0.95	42.91 $\pm$ 2.62	22.75 $\pm$ 2.19
模型组	18.84 $\pm$ 1.95	43.15 $\pm$ 3.98	24.34 $\pm$ 1.65
六味地黄丸模型组	18.83 $\pm$ 3.05	41.17 $\pm$ 4.84	22.33 $\pm$ 2.41

ALB: 白蛋白; TP: 总蛋白; GLB: 球蛋白。

表 3 3组非酒精性脂肪肝大鼠肝脏组织SOD、MDA、TG和TC水平比较 ( $n = 15$ , mean  $\pm$  SD)

分组	SOD(U/mgprot)	MDA(nmol/mgprot)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)
正常组	361.25 $\pm$ 24.17	1.34 $\pm$ 0.32	1.62 $\pm$ 0.44	1.05 $\pm$ 0.28
模型组	196.22 $\pm$ 25.08 <sup>ac</sup>	3.92 $\pm$ 1.21 <sup>ac</sup>	3.75 $\pm$ 0.52 <sup>ac</sup>	1.75 $\pm$ 0.65 <sup>ac</sup>
六味地黄丸模型组	274.06 $\pm$ 52.11	1.77 $\pm$ 0.53	2.36 $\pm$ 0.51	1.45 $\pm$ 0.44

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 六味地黄丸组模型组. SOD: 超氧化物歧化酶; MDA: 丙二醛; TG: 甘油三酯; TC: 总胆固醇。

和TC水平比较 模型组大鼠肝脏组织SOD水平明显低于正常组大鼠, MDA、TG和TC水平明显高于正常组大鼠, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 六味地黄丸组大鼠SOD水平明显高于模型组, MDA、TG和TC水平明显低于模型组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表3)。

#### 2.4 3组NAFLD大鼠肝组织病理学检查

2.4.1 肉眼观察: 正常组: 肝脏形态、大小、轮廓、颜色、质地均无明显异常且无油腻感, 实质回声均匀; 模型组: 肝脏体积异常增大, 颜色呈奶黄色, 质地明显变硬, 切面有油腻感; 六味地黄丸组: 肝脏体积增大和质地变硬情况好转, 颜色呈淡红色。

2.4.2 光镜观察: 正常组: 肝细胞结构正常, 细胞核位于细胞中央且清晰可见, 肝小叶清晰可见, 无明显炎症、脂肪变性以及坏死细胞(图1A); 模型组: 大部分细胞出现脂肪变性和损伤, 细胞质内部可见大量圆形脂滴, 细胞核移至细胞边缘, 不可见肝小叶(图1B); 六味地黄丸组: 细胞脂肪

变性和损伤明显减轻, 细胞质内部脂肪滴大量减少, 少数可见肝小叶(图1C)。

### 3 讨论

NAFLD的主要特征为脂质代谢紊乱, 肝脏细胞由于发生脂肪样病变引起脂肪在肝内堆积而发病。临床研究表明, 脂联素、抵抗素、瘦素等脂肪因子均与NAFLD发病有一定联系<sup>[6]</sup>。

LDL-C为极低密度脂蛋白水解后除去部分脂肪和少量蛋白质后的残余部分, 主要用于运输体内胆固醇至肝脏, 因此可以通过检测LDL-C水平反应肝脏胆固醇水平。HDL-C主要由肝脏生成和分泌, 主要用于将肝脏中的磷脂和胆固醇转运出去<sup>[7]</sup>。因此, 模型组大鼠通过喂养高脂饲料后血清LDL-C逐渐升高, 而HDL-C则逐渐下降, TC逐渐升高, 符合NAFLD患者的发病特征。NAFLD的另一个特征为甘油三酯在肝细胞中大量堆积, 主要是由于大鼠摄入过多脂肪导致机体脂肪酸 $\beta$ 氧化将脂肪从肝脏中外排和

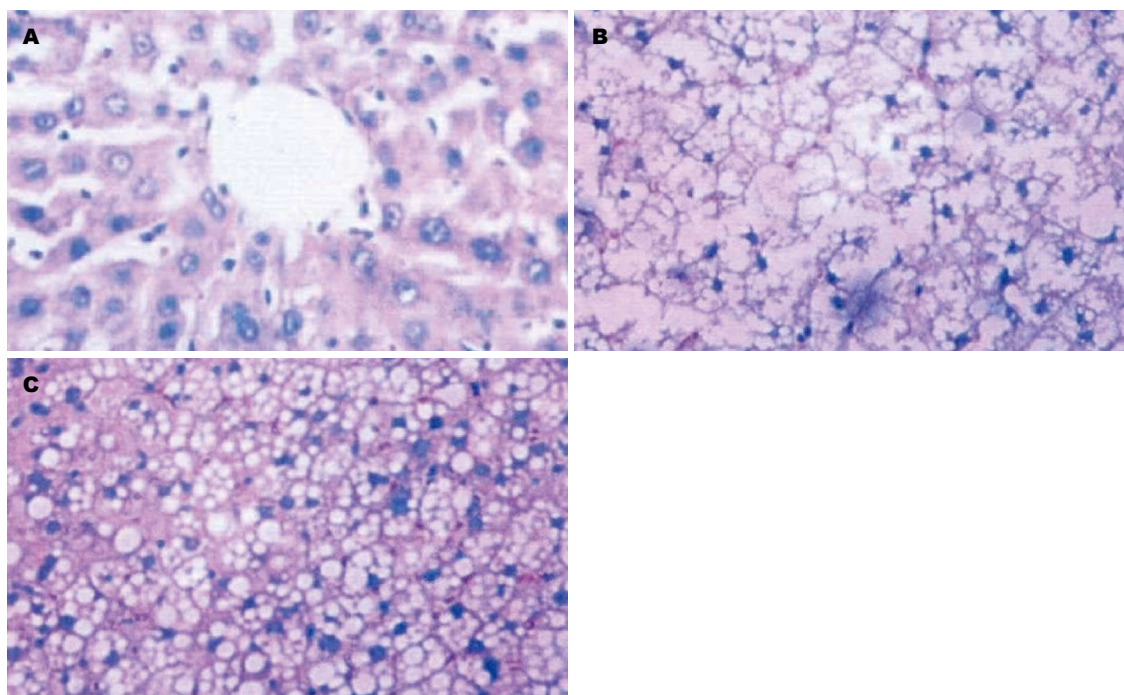


图1 大鼠肝细胞光镜观察( $\times 400$ ). A: 正常组大鼠肝细胞; B: 模型组大鼠肝细胞; C: 六味地黄丸组大鼠肝细胞.

消耗的作用不足以将多余的脂肪排出而造成堆积<sup>[8]</sup>. 因此, 模型组大鼠喂养高脂饲料后TG水平明显升高, 符合NAFLD发病特征. ALT和AST主要分布于肝细胞和心肌细胞内, 血清内较少, 肝细胞膜通透性增加或严重受损时ALT和AST被释放至血液中, 血清ALT和AST水平升高<sup>[9]</sup>. 因此, 模型组大鼠喂养高脂饲料发生酒精性脂肪肝时肝细胞膜通透性改变, 大量细胞受损或坏死, 导致血清ALT和AST水平升高. MDA是机体酶系统与非酶系统产生自由基并攻击生物膜中多不饱和脂肪酸而形成的脂质过氧化物. 其含量能够反映机体脂质过氧化程度, 也可间接反映肝细胞受损程度. SOD则可消除机体氧自由基, 主要作用是抵抗内、外环境中的超氧离子损伤机体<sup>[10]</sup>. SOD水平反映了机体清除氧自由基的能力. 因此, 模型组大鼠通过喂养高脂饲料后肝脏组织MDA水平升高, 而SOD水平下降. 总体来看, 本研究使用高脂饲料进行Wistar雄性大鼠长期喂养, 建立良好的NAFLD模型. 检测大鼠血清HDL-C、LDL-C、AST、ALT、ALB、TP、GLB水平和肝脏组织SOD、MDA、TG、TC水平能够准确显示NAFLD的发病特征. 另外, 模型组大鼠与正常组大鼠血清ALB、TP和GLB水平比较, 差异无统计学意义. 表明, NAFLD发病并不影响血清蛋白含量.

六味地黄丸由熟地黄、山药、山茱萸、牡丹皮、泽泻和茯苓按照质量比为8:4:4:3:3:3的比例配伍组成<sup>[11]</sup>. 其中熟地黄可补血滋润、益精填髓<sup>[12]</sup>, 山药健脾益肾、补虚羸, 山茱萸可补肝肾不足, 牡丹皮清热凉血、活血散瘀, 泽泻利水、泄热、渗湿<sup>[13]</sup>, 茯苓则可利水渗湿、败毒抗癌. 现代药理学研究表明六味地黄丸具有调节免疫、调节钙磷代谢、降血糖血脂、保护肝脏等多种作用<sup>[14]</sup>. 本研究结果显示, 六味地黄丸组大鼠血清LDL-C和ALT水平明显低于模型组, 差异具有显著性; 六味地黄丸组大鼠血清HDL-C和AST水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义. 表明六味地黄丸在降低NAFLD大鼠血清LDL-C和ALT水平上具有显著疗效, 对改善HDL-C和AST效果不明显. 六味地黄丸组大鼠SOD水平明显高于模型组, MDA、TG和TC水平明显低于模型组, 差异具有显著性. 表明六味地黄丸可能通过升高大鼠SOD水平和降低TG、TC、MDA水平实现改善NAFLD作用<sup>[15]</sup>. 六味地黄丸组大鼠血清ALB、TP和GLB水平与模型组大鼠比较, 差异无统计学意义. 表明六味地黄丸对NAFLD大鼠血清TP、ALB和GLB无明显影响. 肉眼和光镜检查均可见模型组大鼠较正常组大鼠有明显异常, 六味地黄丸组大鼠较模型组大鼠有明显改善. 表明, 六味地黄丸能够显著



改善大鼠肝细胞弥漫性肝细胞大泡性脂肪变。

总之,六味地黄丸能够有效改善高脂饮食诱发的NAFLD大鼠肝功能,对肝细胞具有保护作用,可能通过改善SOD、MDA、TG和TC水平治疗NAFLD。六味地黄丸可应用于临床治疗NAFLD患者以进一步深入分析其临床疗效及作用机制。

#### 4 参考文献

- 1 李瑜元. 非酒精性脂肪性肝病的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 109-115
- 2 隋晓丹, 邓厚波, 刘铁军. 中医药防治非酒精性脂肪肝病的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1708-1713
- 3 王倩, 管小琴. 大鼠非酒精性脂肪肝造模方法的改进. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1219-1224
- 4 朱竟赫, 赵金明, 秦文艳, 宋达夫, 包玉龙, 刘禾, 范英兰. 高脂血症实验动物模型研究概述. 实验动物科学 2012; 29: 48-52
- 5 Pazzaglia S, Cifaldi L, Saran A, Nobili V, Fruci D, Alisi A. Hedgehog/hyaluronic acid interaction network in nonalcoholic fatty liver disease, fibrosis, and hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2012; 56: 1589 [PMID: 22505342 DOI: 10.1002/hep.25783]
- 6 祁明美, 管小琴, 朱良荣, 杨云鹏. 抵抗素在非酒精性脂肪肝病中对胰岛素抵抗和肝纤维化的作用. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1383-1388
- 7 Arienti V, Aluigi L, Pretolani S, Accogli E, Polimeni L, Domanico A, Violi F. Ultrasonography (US) and non-invasive diagnostic methods for non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and early vascular damage. Possible application in a population study on the metabolic syndrome (MS). *Intern Emerg Med* 2012; 7 Suppl 3: S283-S290 [PMID: 23073869 DOI: 10.1007/s11739-012-0824-7]
- 8 郅敏, 陈旻湖, 陈洁, 陈文激, 郎江明. 罗格列酮对高脂饮食诱导非酒精性脂肪肝大鼠胰岛素抵抗及脂联素的影响. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2869-2874
- 9 张弛, 刘瑛, 李华珠, 杨晓春, 周桂莲, 吴文宇, 王敏, 熊璞. 血清谷丙转氨酶在正常范围内对非酒精性脂肪性肝病的预测. 世界华人消化杂志 2011; 19: 841-844
- 10 Argo CK, Northup PG, Al-Osaimi AM, Caldwell SH. Systematic review of risk factors for fibrosis progression in non-alcoholic steatohepatitis. *J Hepatol* 2009; 51: 371-379 [PMID: 19501928 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.03.019]
- 11 孙学健, 张运红, 张立勇. 六味地黄丸临床应用体会. 中医临床研究 2013; 05: 60-61
- 12 周雪康. 六味地黄丸的药理与临床应用. 中国中医药现代远程教育 2013; 11: 128-129
- 13 沈智理, 杜亮亮. 活血降脂丸治疗非酒精性脂肪肝的疗效分析. 中国中医基础医学杂志 2012; 18: 754-755
- 14 许柳, 张树峰. 六味地黄丸的药理作用及临床应用研究. 河北医学 2013; 19: 616-619
- 15 黄剑涛, 唐琪, 谢涛, 钱永苹, 肖炜婷, 余娜, 赵国荣. 六味地黄丸联合山楂防治大鼠非酒精性脂肪肝的实验研究. 湖南中医杂志 2013; 29: 108-111

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌克拉霉素耐药基因的作用

黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄干荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英

黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄干荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英, 右江民族医学院微生物学与免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000

黄衍强, 副教授, 主要从事消化疾病防治的研究。

广西教育厅科研立项基金资助项目, No. 桂教科研[2010]10号  
广西高校优秀人才资助计划基金资助项目, No. 桂教人[2011]40号

广西自然科学基金资助项目, No. 桂财教[2012]53号, 2012GXNSFAA053172

作者贡献分布: 黄衍强与赵丽娟对此文贡献均等, 负责课题的设计、数据分析、论文的撰写及研究资金的提供; 黄小凤与黄干荣负责收集标本和抑菌实验; 韦连登与韦红玉负责耐药基因的检测; 陈源红与唐华英负责耐药菌的培养。

通讯作者: 赵丽娟, 533000, 广西百色市城东路98号, 右江民族医学院微生物学与免疫学教研室. zhaolijuanxk@163.com

收稿日期: 2013-10-27 修回日期: 2013-11-15

接受日期: 2013-12-27 在线出版日期: 2014-02-28

## Effects of emodin and other herbal extracts on resistance of *Helicobacter pylori* to clarithromycin

Yan-Qiang Huang, Xiao-Feng Huang, Li-Juan Zhao, Gan-Rong Huang, Lian-Deng Wei, Hong-Yu Wei, Yuan-Hong Chen, Hua-Ying Tang

Yan-Qiang Huang, Xiao-Feng Huang, Li-Juan Zhao, Gan-Rong Huang, Lian-Deng Wei, Hong-Yu Wei, Yuan-Hong Chen and Hua-Ying Tang, Department of Medical Microbiology and Immunology, You Jiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Guangxi Department of Education research project funded projects, No. Gui teaching and research [2010]10; Talents subsidy scheme funded projects in Guangxi university, No. Gui teach people [2011]40; Guangxi Natural Science Foundation, No. Gui fiscal teach [2012]53, 2012GXNSFAA053172

Correspondence to: Li-Juan Zhao, Department of Medical Microbiology and Immunology, You Jiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhaolijuanxk@163.com

Received: 2013-10-27 Revised: 2013-11-15

Accepted: 2013-12-27 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the effects of emodin and other herbal extracts on resistance of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) to clarithromycin, and to explore the

methods for effectively inhibiting *H. pylori* antibiotic resistance.

**METHODS:** The MIC of herbal extracts against clarithromycin resistance of *H. pylori* was detected by double dilution method. Clarithromycin resistant *H. pylori* was cultured in medium containing herbal extracts at a concentration of half MIC and passaged once every 5 d for 6 times. The MIC of clarithromycin against antibiotic resistance of *H. pylori* was assessed before and after stress culture. The DNA of *H. pylori* was extracted to detect drug resistant-related gene mutations.

**RESULTS:** The MIC of clarithromycin against *H. pylori* was reduced by herbal extracts. The gene mutations of 23s rRNA A2143G and A2144G were detected in clarithromycin-resistant *H. pylori*. No back mutations were discovered after treatment with herbal extracts for 30 d.

**CONCLUSION:** Herbal extracts have a synergistic effect in inhibiting the clarithromycin resistance of *H. pylori*. The synergistic action is not associated with the back mutations of 23s rRNA gene mutations related to clarithromycin resistance of *H. pylori*.

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

**Key Words:** Herbal extracts; *Helicobacter pylori*; Drug resistance-related gene; Clarithromycin

Huang YQ, Huang XF, Zhao LJ, Huang GR, Wei LD, Wei HY, Chen YH, Tang HY. Effects of emodin and other herbal extracts on resistance of *Helicobacter pylori* to clarithromycin. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 825-830 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/825.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.825>

## 摘要

**目的:** 了解大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)克拉霉素耐

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)耐药菌株的出现是导致治疗胃溃疡、胃炎等疾病失败的主要原因, 克拉霉素作为新一代大环内酯类药物使用, 目前也出现了一定的耐药性。研制新药拮抗耐药性菌株要耗费很多的人力、物力, 而且研制过程很长, 因此必须寻找有效方法解决耐药性问题。

## ■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

## ■ 研发前沿

大黄素等中药成分在抗菌作用方面有很好的效果,但其作用机制,特别是分子作用机制尚未清楚,是否与耐药基因的回复突变有关未见报道。因此现在很多学者都从基因层面作研究,探讨中药逆转耐药性的分子机制。

药基因的作用,探索可以有效抑制耐药性*H. pylori*的方法。

**方法:**采用对倍稀释法检测大黄素等对克拉霉素耐药的*H. pylori*最低抑菌浓度(minimum inhibitory concentration, MIC),在中草药提取物1/2MIC环境下胁迫培养耐药性*H. pylori*,5 d传代1次,续传6次;E-test药敏实验检测胁迫培养前后克拉霉素对耐药性*H. pylori*的MIC提取*H. pylori* DNA, DNA测序法检测耐药基因,对比前后突变。

**结果:**大黄素等中药提取物能降低克拉霉素对耐药*H. pylori*的MIC,对克拉霉素耐药的*H. pylori*均出现23s rRNA基因的A2143G、A2144G点突变;黄连素等中药提取物作用30 d后未发现基因有回复突变。

**结论:**大黄素等中药提取物对克拉霉素耐药的*H. pylori*有一定的协同抑制作用,协同作用与*H. pylori* 23s rRNA耐药基因回复突变无关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 中药提取物; 幽门螺杆菌; 耐药基因; 克拉霉素

**核心提示:** 本文采用大黄素等中药提取物胁迫细菌生长的方法和分子生物学技术,观察大黄素等对幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)克拉霉素耐药基因的回复突变作用,探讨逆转*H. pylori*耐药性方法。

黄衍强, 黄小凤, 赵丽娟, 黄干荣, 韦连登, 韦红玉, 陈源红, 唐华英. 大黄素等中药提取物对幽门螺杆菌克拉霉素耐药基因的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 825-830 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/825.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.825>

## 0 引言

随着抗生素在根除幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)治疗中的广泛应用, *H. pylori*耐药株的发生率不断上升,而*H. pylori*耐药菌株的出现是导致治疗失败的主要原因。克拉霉素为新一代大环内酯类药物,对酸稳定,能溶解于低pH的胃液,口服生物利用度好,在胃黏膜中浓度高,不良反应小,单一用药的根除率为42%-54%,是目前已知抗生素中对*H. pylori*作用最强的药物之一。含克拉霉素的三联疗法与不含克拉霉素的三联疗法相比, *H. pylori*根除率可提高10%-20%,因而在抗*H. pylori*方案中将其作

为主要药物。但是目前*H. pylori*对克拉霉素已有一定的耐药率,尤其是初治失败后,克拉霉素的耐药率大幅度上升<sup>[1]</sup>。因此,寻找有效的基因修复突变的方法或避免突变的方法,降低*H. pylori*对克拉霉素的耐药率,提高防治的效果,是很多学者正在研究的课题。我国的中草药资源丰富,中药在抗菌作用方面效果显著,这提示我们可以通过中草药来抑制耐药性*H. pylori*生长,但是很多中药的有效成分和作用机制却有待确定。本研究从中药提取物协助*H. pylori*耐药基因发生回复突变的角度探索提高菌株敏感性的方法,从而了解中药提取物的作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 耐药性*H. pylori*由右江民族医学院病原学实验室分离、鉴定、保存,均经过AUTO-READER快速细菌自动鉴定仪鉴定。采用*H. pylori*敏感菌株J99由广东省微生物菌种保藏中心提供。98%大黄素(批号: 120908)、98%五味子(批号: 120908)、90%黄芩苷(批号: 120908)、97%黄连素(批号: 120810)购自陕西昂盛生物科技有限公司。克拉霉素E-test纸条购自瑞典AB-BIODISK公司,营养琼脂(批号: 12099)、营养肉汤(批号: 12099)、蛋白胨(批号: 120326)、哥伦比亚琼脂液(批号: 120848)均购自杭州天和微生物有限公司。SPX-150-Z型恒温培养箱(上海跃进医疗器械厂);低温冰箱(日本SANYO公司);SW-CJ-2FD型超净工作台(苏净集团安泰空气技术有限公司);电子天平(Sartorius公司, BP221S型);721紫外分光光度计(BIO-RAD);ZD-85振荡器培养箱(江苏金坛市环宇科学仪器厂)。

### 1.2 方法

**1.2.1 制备对倍稀释的中药提取物哥伦比亚琼脂平板和肉汤液:** 分别把98%大黄素、97%黄连素、98%五味子、90%黄芩苷与哥伦比亚琼脂液和肉汤液对倍稀释,把药物浓度分别调整为1、2、4、8、16、32、64、128、256  $\mu\text{g/mL}$ ,备用,同时用10 mg/mL泮托拉唑作为阳性对照,用纯培养液作为阴性对照。

**1.2.2 检测中药提取物对耐药性*H. pylori*的MIC:** 采用标准琼脂平板对倍稀释法检测MIC<sup>[2]</sup>。将营养肉汤培养基过夜培养的*H. pylori*稀释至0.5麦氏单位(相当于 $1.0 \times 10^8$  CFU/mL),用移液器接种约2  $\mu\text{L}$ 菌液到已经制备好的含不同浓度药物的哥伦比亚琼脂平板上,每孔约 $10^5$  CFU, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育20 h后判断结果。以能完全抑制*H. pylori*生



表 1 中药提取物对克拉霉素耐药 *H. pylori* 的 MIC 浓度 (μg/mL)

药物种类	药物浓度								
	1	2	4	8	16	32	64	128	256
大黄素	R	R	R	R	I	I	S	S	S
黄连素	R	R	R	R	I	I	S	S	S
五味子	R	R	R	R	R	R	I	S	S
黄芩苷	R	R	R	R	R	R	R	S	S

R: 耐药; I: 中介敏感; S: 敏感.

表 2 中药提取物对 *H. pylori* 敏感菌株 J99 的 MIC 浓度 (μg/mL)

药物种类	药物浓度								
	1	2	4	8	16	32	64	128	256
大黄素	R	R	R	R	R	S	S	S	S
黄连素	R	R	R	R	R	S	S	S	S
五味子	R	R	R	R	R	R	S	S	S
黄芩苷	R	R	R	R	R	R	S	S	S

J99 菌株为敏感菌株; R: 耐药; I: 中介敏感; S: 敏感.

## ■ 相关报道

周汎等研究发现黄连等 10 种中药对金黄色葡萄球菌等细菌有比较强的体外抗菌活性; 姜晓峰等研究发现大黄素逆转抗药性的作用与抑制核苷转运、降低糖蛋白的功能和表达相关, 这提示大黄素等有可能逆转 *H. pylori* 的耐药性, 其机制可能与一些基因的表达有密切的关系.

长的药物最低浓度为 MIC. 敏感性判断按照 2012 CLIS 临床微生物标准. *H. pylori* 菌株 J99 作为敏感菌株对照.

1.2.3 中药提取物胁迫耐药性 *H. pylori* 生长: 哥伦比亚平板转耐药性 *H. pylori* 过夜, 分别挑单菌落于 10 mL 哥伦比亚培养基, 摇菌约 18-20 h, 将菌液稀释至 0.5 麦氏单位后取 2 μL 加到含 5 mL 1/2 MIC 中药提取物的哥伦比亚琼脂液体肉汤液中, 37 °C 振荡器培养 5 d 后传代 1 次, 连续传 6 次, 共 30 d.

1.2.4 克拉霉素药敏实验: 用上述方法调整菌液稀释至 0.5 麦氏单位后取 2 μL 均匀涂布于 *H. pylori* 培养基平板上放置 2-3 min, 待平板表面凉干后用无菌镊子贴上克拉霉素 E-test 纸条, 37 °C 培养 5 d. 克拉霉素 E-test 药敏实验结果判断: 读取 MIC, 敏感 ≤ 2.5 μg/mL, 耐药 ≥ 5 μg/mL.

1.2.5 克拉霉素耐药菌株耐药基因检测: (1) *H. pylori* DNA 提取: 试剂盒购自上海捷瑞生物工程有限公司, 按照使用说明提取; (2) PCR 扩增: 根据文献 [2] 提供的含有 A2144G 和 A2143G 位点的基因设计并合成引物: 上游引物 5'-CCA CAG CGA TGT GGT CTCAG-3'; 下游引物: 5'-CTC CAT AAG AGC CAA AGCCC-3'. PCR 循环体系共 50 μL, 其中包括: ddH<sub>2</sub>O 29.5 μL; 10×PCR Buffer 6.3 μL; dNTPs 25 mmol/L 5.0 μL; Taq 酶 (5 kU/L) 0.5 μL; 上游引物 (10 μmol/L) 3.7 μL; 下

游引物 (10 μmol/L) 3.7 μL; DNA sample 1.3 μL; 反应条件: 94.0 °C 预变性 4 min, 94.0 °C 变性 40 s, 61.5 °C 退火 1 min, 32 个循环, 72.0 °C 延伸 1 min 72 °C, 末端延伸 7 min. PCR 产物的检测: 扩增反应完毕后取 5 μL PCR 产物与 1 μL 的 6× 溴酚兰载样缓冲液混合, 在 1.5% 的琼脂糖凝胶上电泳, 电压 4 V/cm, 80 min, 用 100 bp DNA Ladder 作分子量标准. 电泳缓冲液微 1×TBE (Tris-硼酸 90 mmol/L, EDTA 2 mol/L). 电泳结束后在紫外灯下观察结果, 425 bp 左右有一条带者为含有 A2143G 或 A2144G 点的基因片段; (3) DNA 测序: 选取中药提取物作用前后克拉霉素耐药菌株的 PCR 产物, 由上海捷瑞工程有限公司纯化后测序. 采用 DNATool 6.0 分子生物学软件分析耐药菌株 23s rRNA 基因的核苷酸序列, 并与基因组数据库 (National Center for Biotechnology Information, NCBI) 的 *H. pylori* J99 株 (NC-000921) 23s rRNA 基因序列进行比较.

## 2 结果

2.1 中药提取物对耐药性 *H. pylori* 的 MIC 测定 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷对克拉霉素耐药 *H. pylori* 的 MIC 分别是 64、64、128、128 μg/μL (表 1), 对 *H. pylori* 敏感菌株 J99 的 MIC 分别是 32、32、64、64 μg/μL (表 2), 对敏感菌株的抑

## ■创新盘点

本研究探讨大黄素等中药提取物对克拉霉素耐药的*H. pylori*的抑制作用,并从耐药基因回复突变角度探讨其逆转耐药的机制,发现大黄素等对耐药*H. pylori*有抑制作用,并能提高药物的敏感性,但其机制尚未发现与耐药基因回复突变有关。

表 3 中药提取物对耐药*H. pylori*作用前后克拉霉素的MIC( $\mu\text{g/mL}$ )

	大黄素	黄连素	五味子	黄芩苷	泮托拉唑	阴性对照
菌株被胁迫前	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0	5.0
菌株被胁迫后	2.2	2.4	2.6	2.8	2.5	5.0

敏感对照菌株J99MIC < 2.5  $\mu\text{g/mL}$ ; 敏感 $\leq 2.5$   $\mu\text{g/mL}$ ; 耐药 $\geq 5$   $\mu\text{g/mL}$ 。

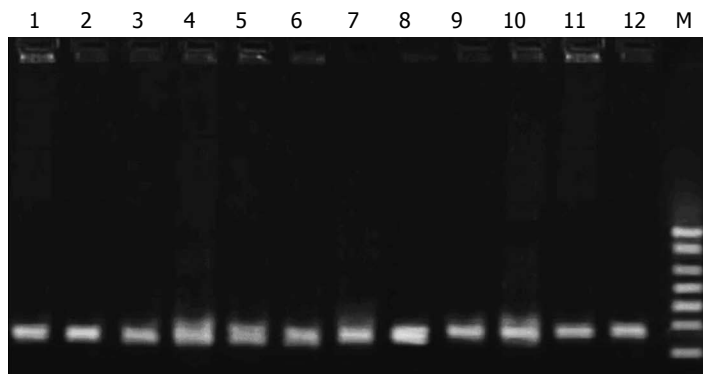


图 1 *H. pylori*的23s rRNA基因PCR产物电泳图。1-5: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长前的菌株; 6-10: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长后的菌株; 11, 12: 阴性对照前后菌株, 经扩增后均在425 bp处出现条带。

```

1      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
2      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
3      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
4      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
5      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
6      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
7      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
8      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
9      1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
10     1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
11     1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg
12     1      ccaaaaacacagcactttgccaactcgtaagaggaagtataaggtgtgacgcctgcccg

```

```

1      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
2      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
3      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
4      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
5      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
6      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
7      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
8      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
9      81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
10     81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
11     81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg
12     81      gacctgcatgaatggcgtaacgagatgggagctgtctcaaccagagattcagtgaattg

```

A2143G, A2144G

```

1      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
2      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
3      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
4      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
5      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
6      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
7      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
8      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
9      241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
10     241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
11     241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac
12     241     tagtggaggtgaaaattcctctaccgcggcaagacggaggacccgtggacctttac

```

1	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
2	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
3	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
4	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
5	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
6	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
7	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
8	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
9	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
10	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
11	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
12	301	tacaacttagcactgctaattggaatatcatgcgaggataggtgggaggctttgaagta
1	361	agggcttggctcttatggag
2	361	agggcttggctcttatggag
3	361	agggcttggctcttatggag
4	361	agggcttggctcttatggag
5	361	agggcttggctcttatggag
6	361	agggcttggctcttatggag
7	361	agggcttggctcttatggag
8	361	agggcttggctcttatggag
9	361	agggcttggctcttatggag
10	361	agggcttggctcttatggag
11	361	agggcttggctcttatggag
12	361	agggcttggctcttatggag

图2 中药提取物胁迫生长前后*H. pylori*菌株23s rRNA相关片段的碱基序列。1-5: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长前的菌株; 6-10: 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷、泮托拉唑胁迫生长后的菌株; 11, 12: 阴性对照菌株, 提示V功能区第2144位、第2143位有A-G突变。

## ■应用要点

探讨有效治疗耐药性*H. pylori*的方法是热点, 本文从我国中草药资源丰富, 有一定的抑菌作用, 并不易产生耐药性的角度寻找能逆转耐药性*H. pylori*的方法, 发现大黄素等能提高耐药性*H. pylori*的敏感性, 为探讨抑制耐药性*H. pylori*的方法提供了重要依据。

菌效果优于对耐药菌株。

**2.2 中药提取物胁迫*H. pylori*生长前后克拉霉素MIC** 大黄素等中药提取物胁迫生长30 d后, 克拉霉素对耐药性*H. pylori*的MIC明显降低, 特别是大黄素和黄连素作用后MIC降低1倍, 耐药性*H. pylori*已经变成敏感菌株, 效果比阳性对照泮托拉唑略好(表3)。

**2.3 中药提取物胁迫耐药*H. pylori*生长前后耐药基因对比**

**2.3.1 *H. pylori* 23s rRNA耐药基因PCR扩增:** 对大黄素等中药提取物作用前后*H. pylori*进行PCR扩增, 扩增出包含23s rRNA基因v功能区的425 bp片段。敏感与耐药菌株基因扩增片段于2.0%琼脂糖凝胶电泳中均显示单一的约425 bp大小的清晰条带, 位置相同(图1)。

**2.3.2 DNA测序:** 把胁迫生长前后菌株的PCR产物送上海捷瑞工程有限公司纯化后测序, 发现耐药性*H. pylori*菌株均存在23s rRNA基因v功能区第2144位、第2143位有A-G突变; 而中药提取物胁迫生长菌株没有发现回复突变。基因比对如图2。

## 3 讨论

在对*H. pylori*感染患者治疗过程中, 抗生素的耐药性问题是影响治疗效果的主要原因, 尤

其*H. pylori*对克拉霉素和甲硝唑耐药率的逐年增加, 导致同样的治疗方案随着时间的推移, 其*H. pylori*根除率越来越低, 很难达到理想的根除效果<sup>[3,4]</sup>。*H. pylori*的耐药率在不同国家或不同地区有明显差异, 并呈上升趋势<sup>[5,6]</sup>。目前, 医学界一直致力于寻找安全有效的抗菌药物。中草药是我国医学宝库中最珍贵财富之一, 现在比较多的中草药抑菌效果已经很明确, 大黄、黄连、黄芩的体外抑菌效果也有报道<sup>[7-11]</sup>。本研究实验结果证明了大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷对克拉霉素耐药或敏感的*H. pylori*均有较明显的抑制作用, 对敏感菌株的抑菌作用优于耐药菌株。在1/2MIC胁迫克拉霉素耐药*H. pylori*生长后, 能明显提高*H. pylori*对克拉霉素的敏感性, 大黄素和黄连素作用比较明显, 略高于阳性对照的泮托拉唑。因此大黄素和黄连素用来治疗克拉霉素耐药*H. pylori*引起的疾病效果会比较好。

关于*H. pylori*对克拉霉素的耐药机制, 比较一致地观点是*H. pylori* 23s rRNA V区点突变引起克拉霉素与核糖体结合力下降。已经发现的基因突变多为腺苷酸(A)转换为鸟苷酸(G), 已知的突变位点有A2144G、A2143G、A2142G、A2142C、G2115A、G2141A、A2142T和



## ■同行评价

本文有比较大的实用价值, 为寻找有效药物逆转*H. pylori*耐药提供参考依据。

A2143C<sup>[12-14]</sup>。桂西地区人群*H. pylori*的23s rRNA基因A2143G、A2144G点突变与克拉霉素的耐药有明显相关<sup>[15]</sup>。另外, 有学者研究发现部分抑菌中药提取物有抗突变作用<sup>[16]</sup>, 大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷对克拉霉素耐药和敏感*H. pylori*均有较明显的抑制作用, 但是其作用原理是否与23s rRNA耐药基因回复突变或抗耐药突变有关, 对此尚无见报道。我们在1/2MIC中药提取物浓度下压迫耐药菌株生长, 提取压迫前后克拉霉素MIC有变化的*H. pylori*菌株DNA, 扩增耐药基因, 检测基因序列, 对比突变, 在23s rRNA基因未发现A2143G、A2144G回复突变。因此, 研究结果表明大黄素、黄连素、五味子、黄芩苷在30 d内尚未能压迫克拉霉素耐药*H. pylori*的耐药基因发生回复突变, 其降低耐药性*H. pylori*的MIC和提高敏感性的原因可能与耐药性*H. pylori*外排泵等基因有关, 但需要进一步探索。

## 4 参考文献

- Giorgio F, Principi M, De Francesco V, Zullo A, Losurdo G, Di Leo A, Ierardi E. Primary clarithromycin resistance to *Helicobacter pylori*: Is this the main reason for triple therapy failure? *World J Gastrointest Pathophysiol* 2013; 4: 43-46 [PMID: 23946886 DOI: 10.4291/wjgp.v4.i3.43]
- Abdollahi H, Savari M, Zahedi MJ, Moghadam SD, Hayatbakhsh Abasi M. Detection of A2142C, A2142G, and A2143G Mutations in 23s rRNA Gene Conferring Resistance to Clarithromycin among *Helicobacter pylori* Isolates in Kerman, Iran. *Iran J Med Sci* 2011; 36: 104-110 [PMID: 23359224 DOI: 10.1002/dta.162]
- Wang J, Xu L, Shi R, Huang X, Li SW, Huang Z, Zhang G. Gastric atrophy and intestinal metaplasia before and after *Helicobacter pylori* eradication: a meta-analysis. *Digestion* 2011; 83: 253-260 [PMID: 21282951 DOI: 10.1159/000280318]
- Kang JM, Kim N, Shin CM, Lee HS, Lee DH, Jung HC, Song IS. Predictive factors for improvement of atrophic gastritis and intestinal metaplasia after *Helicobacter pylori* eradication: a three-year follow-up study in Korea. *Helicobacter* 2012; 17: 86-95 [PMID: 22404438 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00918.x]
- Kim MS, Kim N, Kim SE, Jo HJ, Shin CM, Park YS, Lee DH. Long-term follow up *Helicobacter Pylori* reinfection rate after second-line treatment: bismuth-containing quadruple therapy versus moxifloxacin-based triple therapy. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 138 [PMID: 24050512 DOI: 10.1186/1471-230X-13-104]
- Molina-Infante J, Gisbert JP. [Update on the efficacy of triple therapy for *Helicobacter pylori* infection and clarithromycin resistance rates in Spain (2007-2012)]. *Gastroenterol Hepatol* 2013; 36: 375-381 [PMID: 23623461 DOI: 10.1016/j.j.]
- 周汛, 李桂明. 10种中药的不同制剂对常见致病菌体外抗菌活性研究. *中华中医药杂志* 2009; 24: 237-239
- 彭懿. 加味痛泻要方合黄连素治疗腹泻型肠易激综合征的临床观察. *中医药导报* 2010; 16: 30-32
- 孙秋雁, 宫立孟. 高效液相色谱法测定消炎止痒洗剂中黄芩苷的含量. *医药导报* 2012; 31: 512-513
- 刘华一, 张滨, 姜立根. 蒲地蓝消炎口服液联合三联药物根除幽门螺杆菌63例. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1780-1784
- 盛颖明, 邹晓平, 于成功, 吕瑛, 张丽莉. 中药大黄辅助治疗重症急性胰腺炎的系统评价. *世界华人消化杂志* 2010; (7): 730-735
- Ho SL, Tan EL, Sam CK, Goh KL. Clarithromycin resistance and point mutations in the 23S rRNA gene in *Helicobacter pylori* isolates from Malaysia. *J Dig Dis* 2010; 11: 101-105 [PMID: 20402836]
- Lee HJ, Kim JI, Cheung DY, Kim TH, Jun EJ, Oh JH, Chung WC, Kim BW, Kim SS, Park SH, Kim JK. Eradication of *Helicobacter pylori* according to 23S ribosomal RNA point mutations associated with clarithromycin resistance. *J Infect Dis* 2013; 208: 1123-1130 [PMID: 23801607 DOI: 10.1093/infdis/jit287]
- Zhen-Hua Z, De-Qiang H, Yong X, Lin-Lin L, Nong-Hua L. Characterization of 23S rRNA gene mutation in primary and secondary clarithromycin-resistant *Helicobacter pylori* strains from East China. *Turk J Gastroenterol* 2013; 24: 5-9 [PMID: 23794337 DOI: 10.1063/1.4792202]
- 黄衍强, 赵丽娟, 黄赞松, 李晓华, 周喜汉, 岑朝. 桂西地区幽门螺杆菌对克拉霉素的耐药性分析. *中华微生物学与免疫学杂志* 2009; 29: 37-39
- 仲浩. 薰衣草精油在细菌回复突变实验中的抗突变作用. *国外医药(植物药分册)* 2006; 5: 217-220

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 超声内镜及其引导下的细针穿刺在食管结核诊断中的应用

王锦飞, 王金陵, 张平, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌

王锦飞, 王金陵, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

张平, 王锦飞, 武警湖北省总队医院消化内科 湖北省武汉市 430061

王锦飞, 医师, 主要从事消化内科及消化内镜的临床研究。

作者贡献分布: 此课题由程斌设计; 研究过程及论文写作由王锦飞、王金陵及程斌共同完成。

通讯作者: 程斌, 教授, 主任医师, 博士生导师, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科。b.cheng@tjh.tjmu.edu.cn

电话: 027-83663208 传真: 027-83646605

收稿日期: 2013-12-18 修回日期: 2014-01-04

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-02-28

## EUS and EUS-FNA for diagnosis of esophageal tuberculosis

Jin-Fei Wang, Jin-Lin Wang, Ping Zhang, Qian Sun, Xiao-Li Wu, Nian-Jun Chen, Wei Hou, Bin Cheng

Jin-Fei Wang, Jin-Lin Wang, Qian Sun, Xiao-Li Wu, Nian-Jun Chen, Wei Hou, Bin Cheng, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China.

Ping Zhang, Jin-Fei Wang, Department of Gastroenterology, Hubei Provincial Crops Hospital of Chinese People's Armed Police Forces, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Correspondence to: Bin Cheng, Professor, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College of Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. b.cheng@tjh.tjmu.edu.cn

Received: 2013-12-18 Revised: 2014-01-04

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To summarize the endoscopic ultrasonography (EUS) characteristics of esophageal tuberculosis and evaluate the role of EUS and EUS guided fine needle aspiration (EUS-FNA) in the diagnosis and differential diagnosis of esophageal tuberculosis.

**METHODS:** The clinical data, EUS and EUS-FNA data for 11 patients with esophageal tuberculosis were collected and analyzed retrospectively.

**RESULTS:** Eight lesions were found in the middle part of the esophagus and 3 in the upper part.

The lesions demonstrated as protrusion in 7 cases and ulceration in 4 cases. The layers of the esophageal wall were unclear or disappeared in some cases, and in some patients low echo occupying lesions inside or outside the esophageal wall were showed by EUS. The internal echo of the lesions was heterogeneous, and strong echo spots could be observed. In most cases, enlarged mediastinal lymph nodes were observed. EUS-FNA was used to take biopsy specimens in 7 cases: caseous necrosis was found in 2 cases; 3 biopsy specimens suggested tuberculosis; no cancer cells were observed in 2 biopsy specimens.

**CONCLUSION:** EUS can not only show the morphology and internal echo of the lesions, as well as the relationship between the lesions and esophageal wall, but also allow to observe the lymph nodes outside the esophageal wall. Biopsy specimens can be taken by EUS-FNA. EUS and EUS-FNA have high value in the diagnosis of esophageal tuberculosis.

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

**Key Words:** Esophageal tuberculosis; Endoscopic ultrasonography; Endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration

Wang JF, Wang JL, Zhang P, Sun Q, Wu XL, Chen NJ, Hou W, Cheng B. EUS and EUS-FNA for diagnosis of esophageal tuberculosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 831-836 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/831.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.831>

## 摘要

**目的:** 总结食管结核的超声内镜声像图特征, 评价超声内镜及引导下的细针穿刺(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA)在食管结核诊断与鉴别诊断中的作用。

**方法:** 回顾分析我院11例食管结核患者的临床表现、超声内镜声像图特征与EUS-FNA穿刺结果。

## ■背景资料

食管结核临床少见, 以往主要依赖临床表现及内镜活检来诊断, 常缺乏特异性, 且表面光滑的病灶, 活检困难。超声内镜可以观察病灶的起源层次、回声特点、壁外淋巴结情况, EUS-FNA可获取深部病灶的组织标本, 为诊断与鉴别诊断提供帮助。

## ■同行评议者

杨建民, 教授, 浙江省人民医院消化内科

## ■ 研究前沿

食管结核为良性病,但诊断困难。超声内镜及其引导下的细针穿刺近年来广泛用于消化系管壁及周围占位病灶的诊断,已取得良好效果,应用于食管结核的诊断与鉴别诊断具有重要价值。

**结果:** 11例诊断为食管结核的患者,8例病灶位于食管中段,3例位于食管上段;7例为隆起型病灶,4例为溃疡型病灶;超声内镜表现为食管壁层次不清或消失,部分为食管壁内低回声占位,部分为壁外低回声占位侵及食管壁,内部回声不均,见强回声光斑,多伴有纵隔淋巴结肿大,且其内见散在钙化斑;7例行EUS-FNA穿刺,2例为干酪样坏死物,2例病理考虑结核,3例未见异型细胞。

**结论:** 超声内镜可显示病灶形态及其与食管壁的关系、病灶内部回声特征、壁外淋巴结情况,结合EUS-FNA穿刺细胞学与病理学检查,在食管结核的诊断和鉴别中具有重要价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管结核; 内镜超声检查术; 内镜超声引导下细针抽吸活检术

**核心提示:** 超声内镜发现食管壁内不均质低回声,伴内部高回声钙化,壁外可见肿大淋巴结,边界模糊,内部回声不均,细针穿刺标本呈干酪样坏死物,病理发现炎性肉芽肿、类上皮细胞、多核巨细胞、郎罕氏巨细胞,应考虑食管结核。

王锦飞, 王金陵, 张平, 孙倩, 吴小力, 陈念钧, 侯伟, 程斌. 超声内镜及其引导下的细针穿刺在食管结核诊断中的应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 831-836 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/831.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.831>

## 0 引言

食管结核为良性病,临床少见,患者常以进食梗阻感为主诉,全身中毒症状轻,普通胃镜、胸部CT、上消化道造影缺乏特异性<sup>[1]</sup>,临床上极易误诊为食管肿瘤而行手术治疗<sup>[2]</sup>,影响患者生活质量。超声内镜可以观察病灶的起源层次、回声特点、壁外淋巴结情况,结合细针穿刺获取深部病灶的组织标本,在食管结核的诊断中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。本文回顾分析我院2008-2012年收治的11例食管结核患者的临床资料,报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2008-2012年我院诊断食管结核且行超声内镜检查或细针穿刺的11例患者,男6例,女5例,年龄27-77岁,平均49.1岁。所有患者均已在本院或外院行普通内镜检查发现食管病灶,为明确诊断继续行超声内镜检查。其中4例行超声微探头扫查并钳取组织活检,7例行内镜超

声引导下细针穿刺(endoscopic ultrasonography guided fine needle aspiration, EUS-FNA)。Olympus公司EU-ME1超声主机, UM2R、UM3R微探头; Aloka SSD 5彩色多普勒超声主机, Olympus UCT-240纵轴超声内镜, 穿刺针为Olympus 22 G EUS专用穿刺针。

**1.2 方法** 收集患者的内镜表现、实验室检查数据、超声内镜表现、病理结果、抗酸染色结果及诊断经过进行回顾分析。本组共有7例患者行内镜超声引导下细针穿刺,由同一位有经验的超声内镜医师操作。术前均排除心肺功能障碍及凝血功能障碍。采用静脉注射异丙酚全身麻醉,扫查食管、纵隔寻找病灶后测量大小,避开血管选择最短路径,应用Olympus公司22 G内镜超声专用穿刺针进行穿刺,以5-10 mL负压穿刺2-4针。将穿刺物涂片行细胞学检查,穿刺组织条用甲醛固定行病理学检查,同时加做抗酸染色。食管结核的确诊根据细针穿刺细胞学、病理、活检结果、患者临床表现、实验室检查结果及抗结核治疗后缓解情况综合分析<sup>[3]</sup>。行手术治疗者以手术病理为最终诊断。

## 2 结果

**2.1 临床特点及内镜表现** 11例患者主诉吞咽梗阻感4例,胸骨后疼痛3例,吞咽梗阻感并胸骨后疼痛4例。病程15 d-6 mo。5例有其他部位结核(肺结核)病史。1例患者有盗汗、消瘦症状。9例查结核抗体(TB-Ab),阳性6例(其中1例弱阳性)。6例做结核菌素试验(PPD试验),结果4例(+),2例(++),8例查红细胞沉降率,结果3-36 mm/h。9例行胸部CT检查,其中5例发现纵隔淋巴结肿大,3例发现肺部结节影。内镜检查病变发现病灶位于食管上段3例,余8例位于食管中段(72.7%),距门齿30-33 cm。内镜下表现为溃疡型4例,溃疡边界清晰、苔薄、周边黏膜相对正常;隆起型7例,表面大多光滑(图1A)。

**2.2 超声内镜检查** 4例行超声微探头扫查,7例行线阵或环扫。3例为食管壁层次不清,呈低回声增厚,内部见条索状高回声(图2B);6例为食管壁内低回声占位,病灶边界不清,切面大小为1.2 cm×0.9 cm至2.0 cm×1.0 cm,可贯穿食管管壁或与壁外低回声占位病灶相互融合,病灶内可见点状、条索状高回声光斑(图1B);2例表现为壁外低回声病灶,与食管外膜分界不清。11例中有6例可见食管旁或纵隔淋巴结肿大,有描述大小者共9枚,切面大小为1.0 cm×0.9 cm至3.2 cm×2.0 cm,其中7



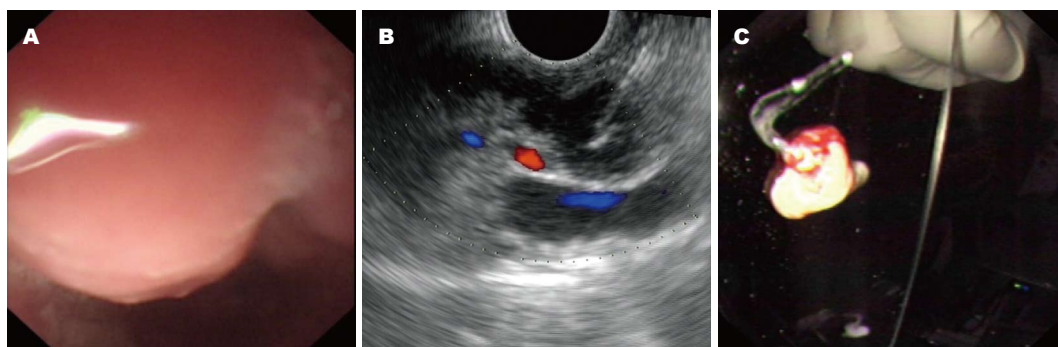


图1 本组第3例患者内镜与EUS-FNA图像。A: 食管距门齿31 cm见柱状隆起, 表面光滑; B: 超声内镜示食管病灶处壁外见3处低回声团块, 内部回声欠均, 侵及食管壁, 于1.4 cm × 1.2 cm病灶处行EUS+FNA; C: 以5 mL负压, 穿刺标本呈干酪样坏死物。EUS-FNA: 超声内镜及引导下的细针穿刺。

#### ■ 相关报道

杨力等分析近年来临床报道的440例食管结核病例资料, 误诊275例(62.5%, 275/440)。食管结核超声内镜特点为壁内均质或不均质低回声, 内部见高回声钙化, 壁外可见肿大淋巴结, 边界模糊, 部分相互黏连。这些特点有助于鉴别食管癌及其他黏膜下肿瘤。

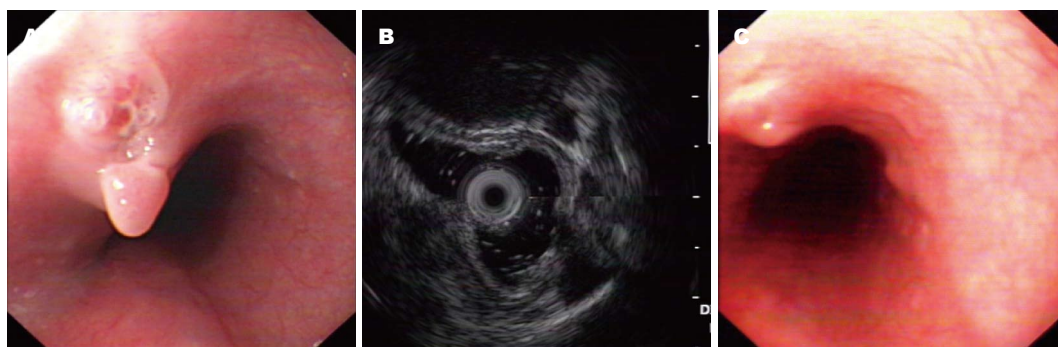


图2 本组第8例患者治疗前后内镜与EUS表现。A: 距门齿约30 cm见裂沟样溃疡; B: 超声微探头探扫见病灶处层次欠清晰, 呈低回声增厚, 内部见条索状高回声; C: 第二次深挖活检报炎性肉芽肿、结核可能, 抗结核治疗3 mo后复查所见: 病灶已明显好转。EUS: 超声内镜。

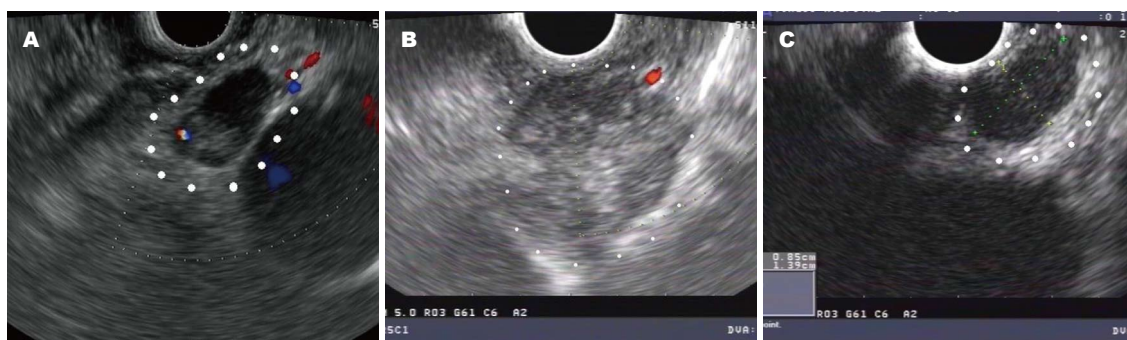


图3 食管结核与肿瘤转移时纵隔淋巴结的EUS声像图特征比较。A: 距门齿24 cm见一隆起, 内镜超声示食管壁内大小约2.0 cm × 1.0 cm低回声(白色圆点标注), 内部见片状高回声; B: 食管距门齿31~33 cm见一隆起, 内镜超声示食管壁外大小约2.1 cm × 1.5 cm低回声病灶(白色圆点标注), 内部回声不均匀, 见少许强回声光斑, 边界欠清晰; C: 作为对比, 选取一例诊断为肺癌纵隔淋巴结转移的病例, 淋巴结呈椭圆形低回声, 内部回声均匀。EUS: 超声内镜。

枚淋巴结内部可见散在强回声光斑(图3A, B)。

2.3 病理、治疗经过及随访 4例溃疡型病灶的病例采用活检钳取材或深挖活检, 7例表面光滑的病灶均行细针穿刺取材。2例细针穿刺标本标本为干酪样坏死物(图1C), 病理示结核可能; 3例病理为炎性肉芽肿、类上皮细胞、多核巨细胞, 考虑结核可能, 行抗痨治疗后复查病灶好转(图2C); 5例提示淋巴细胞、浆细胞浸润、慢性溃疡、未见异

型细胞, 结合临床及超声内镜特点初步排除恶性肿瘤, 经患者同意行诊断性抗痨治疗, 短期内复查内镜病灶好转。1例手术治疗, 术后病理见结核性肉芽肿。8例病理标本加做抗酸染色, 均无阳性结果(表1)。本组病例随访10 mo~4年, 均无复发。

### 3 讨论

结核病是由结核分枝杆菌引起的一种慢性肉

## ■创新盘点

本文主要研究食管与纵隔淋巴结结核的超声内镜声像图特点、EUS-FNA及其取得的组织细胞学结果对诊断的价值。总结了食管结核的内镜与超声内镜特征,总结了结合临床与内镜及超声内镜表现在食管结核诊断和鉴别诊断中的应用体会。

表 1 11例食管结核患者的内镜、CT与超声内镜和病理结果

编号	内镜表现	胸部平扫CT	超声内镜特点与初步诊断	活检方式	病理	抗酸染色
1	距门齿30-32 cm, 左下肺结节影、隆起表面光滑	纵膈淋巴结钙化	食管壁内不规则低回声团块, 边界不清, 结核可能	EUS-FNA	(镜下)炎性肉芽组织	阴性
2	距门齿24 cm, 隆起表面光滑	食管壁增厚、纵膈淋巴结增大	食管壁内低回声团块, 壁外见2处低回声	EUS-FNA	炎性肉芽肿, 未见异型细胞	阴性
3	距门齿31 cm, 隆起表面光滑	纵膈淋巴结增大	壁外见3处低回声病灶, 内部回声不均, 结核可能	EUS-FNA	见干酪样坏死、结核可能	阴性
4	距门齿30-32 cm, 未查呈纵行溃疡	未查	呈混合回声增厚, 见管状无回声区, 结核可能	活检钳	见淋巴细胞、浆细胞浸润(表面取材共两次)	阴性
5	距门齿31-33 cm, 右肺结节影、隆起表面光滑	纵膈淋巴结增大	壁内见2处低回声, 内部少许强回声光斑, 结核可能	EUS-FNA	(肉眼: 干酪样坏死物)结核可能	阴性
6	距门齿25 cm, 隆起表面光滑	未查	管壁层次不清, 见低回声团块, 边界欠清, 结核可能	EUS-FNA	上皮样细胞及多核巨细胞, 结核可能	阴性
7	距门齿30 cm, 隆起表面光滑	未见明显异常	壁内见1.8 cm × 2.1 cm低回声, 内部回声不均, 结核可能	EUS-FNA	穿刺标本见少量炎性肉芽组织, 未见异型细胞	未做
8	距门齿30-31 cm, 呈裂沟样溃疡	纵膈淋巴结增大	病变处呈低回声增厚, 外膜显示不清, 壁外见1处低回声	活检钳	(第二次深挖活检)炎性肉芽肿, 结核可能	未做
9	距门齿30 cm, 不规则小溃疡	右上肺结节影	起源于前三层低回声病变, 内见条索状高回声	活检钳	慢性溃疡	阴性
10	距门齿31 cm, 隆起表面光滑	纵膈淋巴结肿大	壁外见不规则低回声, 结核可能	EUS-FNA	见多核巨细胞、中性粒细胞, 结核可能	阴性
11	距门齿27 cm, 裂沟样溃疡	食管壁增厚	管壁层次消失, 呈低回声增厚, 考虑食管占位, 性质待查	活检钳	嗜酸性粒细胞浸润(术后病理结核性肉芽肿)	未做

EUS-FNA: 内镜超声引导下细针穿刺。

芽肿性疾病, 侵犯消化系最常见的部位是回盲部、回肠、空肠、乙状结肠。食管结核少见, 国外大样本尸解报告显示其占有结核患者的0.14%和0.15%<sup>[4]</sup>。根据其发病机制可分为原发性、继发型、血型播散型, 以继发型最常见。目前有观点认为食管结核可能继发于纵膈淋巴结结核<sup>[5]</sup>, 而气管隆突下淋巴组织丰富, 这也是食管结核好发于食管中段的原因。本组有8例病灶位于距门齿30 cm左右(72.7%, 8/11), 且有6例超声内镜发现食管旁或纵膈淋巴结肿大。

食管结核根据内镜表现可分为隆起型和溃疡型, 以隆起型最为常见。其临床表现主要为进食梗阻感及胸骨后疼痛, 偶见上消化道出血、呛咳<sup>[2,6,7]</sup>, 全身中毒症状轻<sup>[8]</sup>。CT、钡餐造影、内镜表现缺乏特异性, 易造成误诊。CT在结核与食管癌鉴别上作用有限, 但CT可发现肺部结核灶、纵膈淋巴结肿大, 为EUS+FNA提供指导。PPD试验、红细胞沉降率对食管结核的诊断也有一定的帮助<sup>[9]</sup>。

超声内镜是诊断食管结核很好的技术手段。超声内镜不仅可以清楚的显示食管壁层次结构, 病灶内部回声, 还可对壁外淋巴结情况进行扫查, EUS引导下的细针穿刺可获取细胞与病

理学标本。2006年Aydin等<sup>[10]</sup>报道食管结核超声内镜下表现为食管壁内不均质低回声伴中央钙化, 食管壁增厚与壁外肿大淋巴结黏连。2007年韩晓梅等<sup>[11]</sup>报道了2例食管结核的超声内镜表现, 近年来国内多篇研究<sup>[3,12-14]</sup>报道, 超声内镜下食管结核特征性表现为均质或不均质低回声病灶, 边界模糊, 内部有钙化, 纵膈可见肿大淋巴结与食管壁紧密黏连, 淋巴结内部可见高回声影, 认为超声内镜在该病的诊断及与食管癌及食管黏膜下肿瘤的鉴别中有重要价值。结合本组病例, 我们总结食管结核的超声内镜特点为: 溃疡型病灶常表现为食管壁低回声增厚且层次不清, 其可见点状、条索状高回声; 隆起型病灶超声表现为食管壁内或者壁外低回声团块, 壁内病灶一般边界不清, 伴中央钙化; 壁外者常与外膜紧密黏连; 部分病灶内可见管状低回声区, 为形成窦道的表现。病灶周边及纵膈内常可扫查到肿大淋巴结, 淋巴结形态不规则, 边界欠清晰, 部分淋巴结相互融合, 且其内可见强回声光斑, 为形成干酪样坏死的表现, 此为食管结核的重要特征。这些超声内镜特点有助于食管结核与食管黏膜下肿瘤和食管癌的鉴别诊断: 食管常见的黏膜下肿瘤如间质瘤、平滑肌瘤超声内



镜下表现主要为壁内第二或第四层低回声占位, 边界清晰, 回声均匀且外膜完整; 食管癌超声内镜也可表现为累及全层的不规则低回声增厚, 但内镜下常表现为表面溃疡较大、污秽苔; 而食管结核则为结节样隆起表面火山口样溃疡、苔薄、边缘整洁、周边黏膜相对正常<sup>[12]</sup>. 纵隔淋巴结的超声特点也是鉴别诊断的重要依据. 食管结核其纵隔淋巴结表现为形态不规则, 边界模糊, 部分相互融合, 其内可见散在点状高回声钙化斑; 而肿瘤淋巴结转移时, 淋巴结特点为圆形或椭圆形, 呈低回声, 内部回声均匀<sup>[12,15]</sup>, 且不与外膜黏连(图3C). 回顾本组唯一1例手术探查患者资料, 发现其溃疡特点与食管癌不符, 但由于对食管结核认识不足, 未采取多次活检<sup>[16]</sup>及诊断性抗结核治疗的方法<sup>[8,17]</sup>.

EUS-FNA是指在内镜超声的实时引导下对病变部位进行细针穿刺而获取细胞、组织或体液标本, 行细胞学或病理学等检查. 对表面光滑的食管壁内及壁外病灶行EUS-FNA, 弥补了常规活检的不足, 在食管结核的诊断与鉴别诊断中有重要价值. 过去认为食管中段临近肺门及大血管, 选择细针穿刺须慎重. 2012年国内文献中报道有2例经EUS-FNA确诊食管结核的病例<sup>[3]</sup>, 但无详细描述. 本组共有7例行EUS-FNA, 2例细针穿刺标本标本为干酪样坏死物, 病理示结核可能; 3例病理为炎性肉芽肿、类上皮细胞、多核巨细胞, 考虑结核; 2例细胞学见类上皮细胞、多核巨细胞, 未见明显异型细胞, 结合超声内镜特点及临床均考虑食管结核. 淋巴结结核病理改变分为4期, 第2和第3期结核出现大量干酪样坏死, 超声表现为病灶内部不均质高回声, 此时细针穿刺易取得干酪样坏死物, 对结核诊断价值极大<sup>[18]</sup>; 而第1期结核病理为淋巴组织增生、形成结节或肉芽肿, 穿刺组织病理可仅见炎性肉芽肿、类上皮结节、郎罕氏巨细胞, 结合内镜及超声内镜特点也可为结核的诊断提供帮助<sup>[12,19]</sup>. 此外, 病理学检查对排除食管癌有重要作用, 有研究表明食管、纵隔占位行EUS-FNA的病例, 食管恶性肿瘤阴性预测值为84.6%<sup>[20]</sup>. 本组中有2例病理诊断未见异型细胞, 诊断食管癌证据不足, 经与家属沟通后, 行诊断性抗痨治疗, 短期复查内镜病灶好转从而诊断为食管结核. 根据超声内镜声像图特征及穿刺标本特点, 本组超声内镜结合细针穿刺诊断食管结核的敏感性达81.8%, 对部分疑难病例可多次穿刺活检提高准确性. 另外本组病例采用22 G

穿刺针, 通过多普勒功能避开血管, 选择最短路径, 无1例发生出血、气胸等并发症, 且穿刺距离短, 造成播散的可能性极小, 安全性高.

然而, 本组病例穿刺标本抗酸染色阳性率低, 可能与取材量有限及标本的固定、切片处理程序有关<sup>[12,21]</sup>. 所以临床上即使多次抗酸染色阴性也不能否定食管结核. 李秀颖等<sup>[22]</sup>研究发现涂片的抗酸染色比HE切片染色阳性率高, 因为涂片染色取材新鲜, 只用950 mL/L乙醇固定. 余小琴等<sup>[23]</sup>对体表淋巴结结核行细针穿刺研究发现荧光定量聚合酶链反应较抗酸染色更快更准确, 值得借鉴. 另外, 床旁病理医师的指导对最终病理诊断的准确性有重要影响<sup>[20]</sup>.

总之, 超声内镜及其引导下的细针穿刺、细胞与病理学检查在食管结核的诊断中有重要价值. 我们建议: (1)对于进食梗阻感或胸骨后疼痛且病程较短者, 普通内镜检查发现为食管中段溃疡型病灶, 溃疡边缘清洁、周边黏膜相对正常, 且既往有结核病史或结核接触史者, 要考虑食管结核可能, 建议进一步行胸部CT及超声内镜检查, 可多次活检或深挖活检; (2)对于内镜下表现为隆起性病变或胸部CT检查发现食管壁内占位、纵隔淋巴结肿大, 超声内镜表现为食管壁内、壁外低回声占位、边界不清、内部见强回声光斑, 伴纵隔淋巴结肿大黏连, 且淋巴结形态不规则、内部见强回声钙化斑者, 建议行EUS-FNA行细胞学与病理学检查, 加做涂片抗酸染色; 穿刺标本呈干酪样坏死物对食管结核的诊断有重要价值; 结合超声内镜声像图特征与细胞和病理学考虑食管结核的诊断与鉴别诊断, 必要时可重复行EUS-FNA; (3)超声内镜拟诊为食管结核的病例, 如病理未发现典型的结核改变, 但亦未见明显的异型细胞, 应与患者及其家属充分沟通, 取得理解后可行诊断性抗痨治疗, 4-6 wk后根据患者自觉症状改善情况复查内镜或超声内镜, 并及时调整治疗策略.

#### 4 参考文献

- 1 蒋迎九, 李朝先, 向小勇, 杨双强, 李强, 汪斌. 食管结核88例术前误诊分析. 广东医学 2001; 22: 1152-1153
- 2 Mokoena T, Shama DM, Ngakane H, Bryer JV. Oesophageal tuberculosis: a review of eleven cases. *Postgrad Med J* 1992; 68: 110-115 [PMID: 1570250 DOI: 10.1136/pgmj.68.796.110]
- 3 郭瑾陶, 孙思予, 刘治军, 王晟, 刘香, 葛楠, 王国鑫. 超声内镜在食管结核诊断中的应用13例. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 111-113
- 4 Peixoto PC, Ministro PS, Sadio AD, Cancela EM, Araújo RN, Machado JL, Castanheira AH, Silva AT, Nunes RD, Carvalho MT, Caldas AF. Esophageal

#### ■应用要点

本文介绍食管结核的超声内镜特征、EUS-FNA及其细胞和病理学在食管结核诊断中的应用, 为食管结核的诊断与鉴别诊断提供了重要方法与策略.



## ■同行评价

食管结核罕见, 临床诊断困难, 易被误诊误治。超声内镜可显示一些特征性改变(本文参考文献有3篇包括英文1篇系我们发表的), 结合活检和细针穿刺, 对本病的诊断和鉴别诊断有很大的实用价值。

- tuberculosis: an unusual cause of dysphagia. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 1173-1176 [PMID: 19152888]
- 5 Puri R, Khaliq A, Kumar M, Sud R, Vasdev N. Esophageal tuberculosis: role of endoscopic ultrasound in diagnosis. *Dis Esophagus* 2012; 25: 102-106 [PMID: 21777339 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01223.x]
- 6 Dow CJ. Oesophageal tuberculosis: four cases. *Gut* 1981; 22: 234-236 [PMID: 7227859]
- 7 Devarbhavi HC, Alvares JF, Radhikadevi M. Esophageal tuberculosis associated with esophago-tracheal or esophagomediastinal fistula: report of 10 cases. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 588-592 [PMID: 12665778 DOI: 10.1067/mge.2003.140]
- 8 杨力, 朱晓佳, 赵赛菊. 食管结核440例临床与内镜分析. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 707-709
- 9 蒋迎九, 罗永艾, 李朝先, 向小勇. 食管结核164例临床分析. *中国防痨杂志* 2002; 24: 197-199
- 10 Aydin A, Tekin F, Ozutemiz O, Musoglu A. Value of endoscopic ultrasonography for diagnosis of esophageal tuberculosis: report of two cases. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1673-1676 [PMID: 16927151 DOI: 10.1007/s10620-005-9028-6]
- 11 韩晓梅, 杨建民, 许林海, 聂良明. 食管结核误诊肿瘤两例. *中华消化外科杂志* 2007; 6: 461, 464
- 12 秦秀敏, 贺舜, 张月明, 薛丽燕, 王贵齐. 食管结核的内镜和超声内镜特点以及鉴别诊断. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 370-373
- 13 韩晓梅, 杨建民, 许林海, 聂良明, 赵仲生. 食管结核内镜超声表现. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 147-149
- 14 周雨迁, 霍继荣, 刘德良, 王学红. 食管结核7例分析. *中华消化内镜杂志* 2009; 26: 42-44
- 15 Fujiwara Y, Osugi H, Takada N, Takemura M, Lee S, Ueno M, Fukuhara K, Tanaka Y, Nishizawa S, Kinoshita H. Esophageal tuberculosis presenting with an appearance similar to that of carcinoma of the esophagus. *J Gastroenterol* 2003; 38: 477-481 [PMID: 12768391 DOI: 10.1007/s00535-002-1088-1]
- 16 Abid S, Jafri W, Hamid S, Khan H, Hussainy A. Endoscopic features of esophageal tuberculosis. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 759-762 [PMID: 12739552 DOI: 10.1067/mge.2003.205]
- 17 Leung VK, Chan WH, Chow TL, Luk IS, Chau TN, Loke TK. Oesophageal tuberculosis mimicking oesophageal carcinoma. *Hong Kong Med J* 2006; 12: 473-476 [PMID: 17148804]
- 18 Han XM, Yang JM, Xu LH, Nie LM, Zhao ZS. Endoscopic ultrasonography in esophageal tuberculosis. *Endoscopy* 2008; 40: 701-702 [PMID: 18680081 DOI: 10.1055/s-2008-1077479]
- 19 赵奕文, 金正吉, 郑颖, 方超, 王伟, 潘秀芳. 颈淋巴结结核的超声表现与分型. *上海医学影像* 2008; 17: 218-220
- 20 王艳, 王金林, 安成泰, 陈念钧, 李荣香, 胡继芬, 段亚琦, 申铭, 朱峰. 内镜超声引导下细针穿刺活检诊断上消化道壁外占位性病变的价值. *中华消化内镜杂志* 2013; 30: 424-428
- 21 Park JH, Kim SU, Sohn JW, Chung IK, Jung MK, Jeon SW, Kim SK. Endoscopic findings and clinical features of esophageal tuberculosis. *Scand J Gastroenterol* 2010; 45: 1269-1272 [PMID: 20568972 DOI: 10.3109/00365521.2010.501524]
- 22 李秀颖, 刘翔. 针吸细胞抗酸染色在结核诊断中的应用. *实用临床杂志* 2005; 3: 96
- 23 余小琴, 方雪松. 细针吸取细胞学联合荧光定量聚合酶链反应在诊断淋巴结结核中的作用. *中华结核和呼吸杂志* 2009; 32: 51-54

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗疗效与安全性的评估

马超, 孔德润

马超, 安徽医科大学第一附属医院 安徽省阜阳市 236015  
马超, 安徽省阜阳市第二人民医院消化内科 安徽省阜阳市 236015  
孔德润, 安徽医科大学第一附属医院消化内科 安徽省合肥市 230022  
马超, 主治医师, 主要从事门脉高压症的研究。  
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81070337, 81271736  
安徽省教育厅自然科学基金重点研究基金资助项目, No. KJ2012Z189  
安徽省卫生厅医学科研课题基金资助项目, No. 2010B018  
作者贡献分布: 此课题设计由孔德润; 论文检索, 采集数据, 数据分析及论文写作由马超完成。  
通讯作者: 孔德润, 教授, 硕士生导师, 230022, 安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院消化内科。  
kdr168@sohu.com  
电话: 0551-62922039  
收稿日期: 2013-12-04 修回日期: 2014-01-02  
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Efficacy and safety of hood-assisted endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices

Chao Ma, De-Run Kong

Chao Ma, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Fuyang 236015, Anhui Province, China  
Chao Ma, Department of Gastroenterology, the Second People's Hospital of Fuyang City, Fuyang 236015, Anhui Province, China  
De-Run Kong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, Anhui Province, China  
Supported by: Educational and Health Department of Anhui Province, Nos. KJ2012Z189 and 2010B018; National Natural Science Foundation of China, Nos. 81070337 and 81271736  
Correspondence to: De-Run Kong, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Shushan District, Hefei 230022, Anhui Province, China. kdr168@sohu.com  
Received: 2013-12-04 Revised: 2014-01-02  
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the efficacy and safety of hood-assisted endoscopic esophageal injection sclerotherapy (EIS) in cirrhotic patients with esophageal varices.

**METHODS:** Seventy-eight cirrhotic patients with esophageal varices treated by EIS were

divided into two groups: 47 patients (group A) were treated by direct injection and 31 by hood-assisted endoscopy (group B). The changes in endoscopic characteristics of esophageal varices, the time required to perform endoscopic treatment, and other complications were compared between the two groups. The patients were followed 1, 6, and 12 mo after treatment.

**RESULTS:** The hood-assisted EIS method might improve efficacy compared with the direct injection group (group B: 96.8% vs group A: 74.5%,  $P < 0.05$ ). The smaller volume of sclerosant was required to eradicate varices in the hood-assisted EIS group ( $80.54 \text{ mL} \pm 18.72 \text{ mL}$  vs  $60.54 \text{ mL} \pm 12.74 \text{ mL}$ ,  $P < 0.05$ ). The sessions of sclerotherapy ( $4.78 \text{ times} \pm 1.24 \text{ times}$  vs  $2.78 \text{ times} \pm 1.24 \text{ times}$ ,  $P < 0.05$ ), the time required to perform endoscopic treatment ( $8.26 \text{ min} \pm 1.45 \text{ min}$  vs  $5.27 \text{ min} \pm 1.63 \text{ min}$ ,  $P < 0.05$ ) and the incidence of complications were significantly reduced in the hood-assisted group.

**CONCLUSION:** Our preliminary results indicate that the hood-assisted EIS method may reduce the risk of variceal bleeding during EIS and improve the efficacy of EIS.

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

**Key Words:** Esophageal and gastric varices; Bleeding; Esophageal injection sclerotherapy; Hood-assisted

Ma C, Kong DR. Efficacy and safety of hood-assisted endoscopic injection sclerotherapy in patients with cirrhosis and esophageal varices. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 837-841 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/837.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.837>

## 摘要

**目的:** 探讨透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗的临床疗效与安全性。

**方法:** 78例肝硬化患者采用硬化剂治疗食管静脉曲张, 分成内镜下直接注射治疗组(A组,  $n$

## ■背景资料

食道静脉曲张破裂出血是肝硬化常见并发症, 患者生活质量、生存率低下。随着内镜技术的发展, 内镜下套扎术、食管静脉曲张硬化术、组织胶注射术在食管胃静脉曲张(esophageal gastric varices, EGV)的急性出血期和再出血预防取得了优越的临床效果, 已经被认为是EGV的首选治疗方案。其中硬化剂治疗已经作为一线的治疗方案广泛应用于防治食管胃静脉曲张破裂出血。

## ■同行评议者

何松, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科

## ■研究前沿

硬化剂治疗过程中,既要保证注入曲张静脉内,不发生穿透、划伤曲张静脉,国内外专家运用了多种方法,包括静脉内注射,小剂量黏膜加固法,美兰染色等,但是并发症的发生率仍然较高,如何减少并发症及降低食管狭窄的发生率,减少治疗次数是临床亟待解决的问题。

= 47),透明帽辅助下注射治疗组(B组,  $n = 31$ )。治疗后1、6、12 mo行胃镜检查,比较食管曲张静脉治疗后改变、内镜治疗所需时间及术后不良反应发生率。

**结果:**透明帽辅助组的食管曲张静脉治疗有效率高于直接注射治疗组(B组96.8%, A组74.5%,  $P < 0.05$ ),硬化剂使用量减少(A组80.54 mL  $\pm$  18.72 mL, B组60.54 mL  $\pm$  12.74 mL,  $P < 0.05$ )及治疗次数减少(A组4.78次  $\pm$  1.24次, B组2.78次  $\pm$  1.24次,  $P < 0.05$ ),内镜下治疗时间缩短(A组8.26 min  $\pm$  1.45 min, B组5.27 min  $\pm$  1.63 min,  $P < 0.05$ ),治疗周期缩短(A组29.31 d  $\pm$  6.29 d, B组20.20 d  $\pm$  4.79 d,  $P < 0.05$ ),并发症的发生率减少(A组48.9%, B组38.7%)。

**结论:**初步研究发现透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗能降低术中出血风险、提高疗效。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**食管和胃静脉曲张; 出血; 硬化剂治疗; 透明帽辅助

**核心提示:**透明帽辅助的食管静脉曲张硬化术(endoscopic injection sclerotherapy),可减少聚桂醇及血液外溢,不影响同时进行的其他静脉及黏膜的治疗,提高了治疗的效率。使用硬化剂总量减少,治疗的时间明显缩短,视野更清楚,出血明显减少,并发症的发生减少。

马超, 孔德润. 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗疗效与安全性的评估. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 837-841 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/837.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.837>

## 0 引言

食管静脉曲张破裂出血是肝硬化最常见的并发症,病死率高,远期疗效不佳。随着内镜技术的发展,食管静脉曲张套扎术(endoscopic variceal ligation, EVL)、食管静脉曲张硬化术(endoscopic injection sclerotherapy, EIS)、组织胶注射术(gastric variceal obturation, GVO)在食管胃静脉曲张(esophageal gastric varices, EGV)的急性出血期和再出血预防取得了优越的临床效果,已经被认为是EGV的首选治疗方案。其中EIS广泛应用于急性曲张静脉出血及择期的内镜下治疗,我们探索应用透明帽辅助下EIS,比较与常规EIS的临床疗效与安全性,发现可以降低术中出血风险,缩短内镜治疗时间,提高曲张静脉消

失率,减少并发症发生。现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择我院2009-10/2012-10住院患者78例,均经临床、生化、影像学及内镜检查确诊肝硬化门脉高压症合并食道静脉曲张(endoscopic variceal, EV),而且既往有多次出血(呕血或/和黑便)。在出血停止或血液动力学、病情稳定时行电子胃镜检查明确诊断食管静脉曲张破裂出血,所有患者有完整的住院病例及随访资料。其中男40例,女38例,年龄21-78岁,平均年龄40.5岁  $\pm$  4.15岁。肝功能按Child-Pugh分级标准,Child A级33例、Child B级29例、Child C级16例。并分为EIS直接治疗组(A组,治疗中不使用透明帽,  $n = 47$ 例)和透明帽辅助治疗组(B组,  $n = 31$ 例),两组在年龄、性别、病因、病情方面差异无显著性。其中乙型病毒性肝炎肝硬化52例,酒精性肝硬化12例,胆汁性肝硬化7例,病因不明的7例,行外科脾切除+贲门周围血管离断术后的22例。其中急诊内镜下治疗2例,其余均为择期治疗,具体资料如表1。胃镜为Pentax公司3990E治疗型内镜,注射针为美国cook公司可调式一次性注射针,药物为山西天宇生产的聚桂醇10 mL/支,透明帽为美国cook公司内镜透明帽。

### 1.2 方法

**1.2.1 食管胃底静脉曲张的分级:**静脉曲张的记录方法参照以下3个因素进行<sup>[1]</sup>: (1)曲张静脉位置(location, L); Lg: 曲张静脉位于胃部; Lgf: 曲张静脉位于胃底; Lgb: 曲张静脉位于胃体; Lga: 曲张静脉位于胃窦; Le, g: 食管曲张静脉与胃曲张静脉完全相通; Le, Lg: 食管曲张静脉与胃曲张静脉各自独立; Le, g, LS: 一支以上胃曲张静脉与食管曲张静脉完全相通,但还有胃孤立曲张静脉存在; (2)曲张静脉直径(diameter, D); (3)危险因素(risk factor, Rf)。按食管静脉曲张形态及出血危险程度分轻、中、重3级。轻度(G1): 食管静脉曲张呈直线形或略有迂曲,无红色征。中度(G2): 食管静脉曲张呈直线形或略有迂曲。有红色征或食管静脉曲张呈蛇形迂曲隆起但无红色征。重度(G3): 食管静脉曲张呈蛇形迂曲隆起,且有红色征或食管静脉曲张呈串珠状、结节状或瘤状(不论是否有红色征)。

**1.2.2 治疗:**调试注射针出针长度约0.5 cm,注射针内预充聚桂醇。术前充分和患者进行交流,以获得尽可能的配合,胃镜前端安装透明帽(图1A)。清醒状态下,进镜后首先在食管下段曲张



表 1 两组患者的基础资料

项目	分组		P值
	EIS常规治疗组(A组)	透明帽辅助EIS组(B组)	
n	47	31	>0.05
男/女	25/22	17/14	>0.05
出血次数	1-5	1-4	>0.05
Child分级			>0.05
A	16	17	
B	10	19	
C	5	11	
病因			>0.05
乙型肝炎肝硬化	28	24	
酒精性	4	8	
外科手术后	9	13	
病因不明	2	5	

表 2 两组患者治疗后疗效 n(%)

分组	n	显效	有效	无效	有效率
A组	47	15(31.9)	20(42.6)	12(25.5)	35(74.5)
B组	31	14(45.2)	16(51.6)	1(3.2)	30(96.8)
P值		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

静脉隆起最明显处, 选择齿状线上方靶静脉, 采用静脉内注射法, 刺入曲张静脉内, 每点根据曲张静脉直径注射聚桂醇5-7 mL, 观察静脉抬起或呈灰白色改变为满意。退针观察, 如有出血, 立即用透明帽局部压迫止血, 同时进行下一个静脉内的注射, 直至所有静脉内均完成注射, 聚桂醇注射总量不超过30 mL。遂后在贲门周围进行黏膜下注射, 选择3、6、9、12点的位置, 黏膜下注射聚桂醇1-2 mL, 至黏膜抬起, 完成贲门周围黏膜下注射, 以加固黏膜层。每次治疗7-12个点, 治疗完成后吸引胃内积气, 观察食道内无活动性出血后退镜。每周进行治疗一次, 同时观察溃疡、狭窄等并发症的情况, 治疗的终点为食道静脉曲张完全消失或者基本消失<sup>[1]</sup>。

**1.2.3 术后处理:** 术后禁食24 h, 酌情予生长抑素或奥曲肽静脉滴注12 h; 常规使用质子泵抑制剂分次静脉滴注2 d; 同时预防性使用抗生素1-2 d, 24 h后无呕血及黑便者可进温凉流质饮食。

**1.2.4 观察指标:** 所有患者均观察内镜下治疗时间, 治疗后1、3、6、12 mo胃镜检查观察食管静脉曲张消失情况, 及术后不良反应发生率, 并根据曲张静脉复发情况决定再次行内镜下治疗,

表 3 两组患者治疗参数及并发症情况

治疗参数	A组	B组	P值
n	47	31	
硬化剂总量(mL)	80.54±18.72	60.54±12.74	<0.05
治疗次数	4.78±1.24	2.78±1.24	<0.05
内镜治疗时间(min)	8.26±1.45	5.27±1.63	<0.05
治疗天数(d)	29.31±6.29	20.20±4.79	<0.05
并发症[n(%)]	23(48.9)	12(38.7)	<0.05
发热	9(19.1)	6(19.4)	
胸痛	8(17)	4(12.9)	
食管溃疡	6(12.7)	2(6.4)	
食管狭窄	2(4.2)	0(0.0)	

治疗后12 mo统计数据。

**1.2.5 疗效判定标准<sup>[2]</sup>:** (1)食管静脉曲张的显效为曲张静脉重度变为轻度, 红色征消失, 或曲张静脉完全消失; (2)有效为重度变为中度, 中度变为轻度伴有红色征存在; (3)无效为曲张静脉无改变或不能有效控制出血者, 或者在随访区间再次出血的。

**统计学处理** 采用SPSS11.5软件包进行数据管理及统计学分析, 计量资料采用mean±SD表示, 计数资料采用率表示。计量资料的组内差异性比较采用方差齐性检验(F检验), 符合正态分布和方差齐性时采用t检验。计数资料的组间数据比较行 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 基础资料** 两组患者的年龄、病因、肝功能经 $\chi^2$ 检验或t检验, 差异无显著性( $P>0.05$ , 表1)。

**2.2 疗效比较** 我们按照(曲张静脉完全消失例数+曲张静脉基本消失例数)/总例数×100%计算曲张静脉治疗有效率, 结果显示使用透明帽辅助EIS组曲张静脉治疗有效率高与常规EIS组(96.8% vs 74.5%,  $P<0.05$ )硬化剂使用量减少(A组80.54 mL±18.72 mL, B组60.54 mL±12.74 mL,  $P<0.05$ )及治疗次数减少(A组4.78次±1.24次, B组2.78次±1.24次,  $P<0.05$ ), 治疗时间(A组8.26 min±1.45 min, B组5.27 min±1.63 min,  $P<0.05$ )缩短, 治疗周期缩短(A组29.31 d±6.29 d, B组20.20 d±4.79 d,  $P<0.05$ )(表2)。

**2.3 并发症** 观察发热、胸痛、食管溃疡及狭窄的发生率, 直接EIS注射组(A)组共发生23例(48.9%), 透明帽辅助EIS组(B组)12例(38.7%), 透

## ■ 相关报道

因为硬化剂治疗的特殊性-并发症发生率高, 硬化剂的使用方法经历了较大的改善。程留芳教授应用大剂量硬化剂治疗曲张静脉出血取得良好的止血效果, 急诊止血率为97.0%, 食管静脉曲张消失及基本消失率达84.1%; 李兆申提出了小剂量黏膜加固法, 可减少近期出血及静脉曲张复发。

### ■创新盘点

我们在清醒状态下进行硬化治疗,减少了误吸的可能。应用透明帽辅助进行静脉曲张硬化治疗时,可以将靶静脉固定于透明帽前端,视野清晰,可同时进行局部压迫及硬化剂注射,减少出血及硬化剂的流失,减少不良反应的发生。

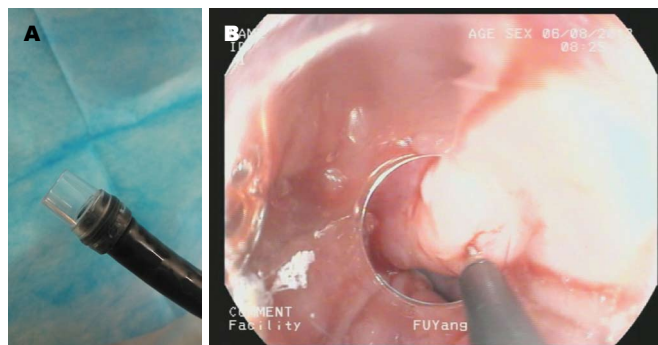


图1 透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗。A: 安装透明帽; B: 透明帽治疗中。

明帽辅助EIS组的并发症发生率减少,差异有统计学意义( $P<0.05$ ,表3)。

### 3 讨论

EIS是防治食管静脉曲张破裂出血的有效方法。EIS后2 wk时食管及其血管出现肉芽组织,3-4 wk发生纤维化,从而导致血管闭塞,达到预防再出血的目的。也是因为聚桂醇的血管破坏及闭塞作用,可使EIS的纤维化向更深的黏膜下层延伸,消除部分深层血管,减少血管再通及再出血的几率<sup>[3,4]</sup>。程留芳等<sup>[5-8]</sup>提出了大剂量硬化剂可以更好防治食道静脉曲张出血的主张。日本学者Tomikawa等<sup>[9]</sup>采用大剂量硬化剂注射方法,急诊止血率达98.9%,静脉曲张完全消失率83.5%,证明大剂量硬化剂注射治疗食管胃底静脉曲张有效。我国学者程留芳等<sup>[10]</sup>研究同样发现,这一疗法急诊止血率为97.0%,食管静脉消失及基本消失率达84.1%,和国外的报道效果相近,并发现其能显著提高患者生存率。

有研究<sup>[10-15]</sup>提出了序贯治疗及黏膜加固的治疗方法,均取得了良好的治疗效果。但仍因注射硬化剂时无精确靶向性及难以掌握精确的药物注射剂量,对曲张静脉及穿通支血管的闭塞作用仍难以达到理想的效果。

国内部分学者<sup>[16,17]</sup>在硬化治疗时采用无痛内镜下进行方式,其目的除了减少患者痛苦外,还可能减少发生穿透食管壁、划伤曲张静脉等可能。我们观察发现,使用透明帽后可以避免以上风险的发生。透明帽已普遍应用于多种内镜下治疗,例如:异物取出,食道胃黏膜切除术等<sup>[18]</sup>。我们在普通内镜下进行EIS操作,因为患者恶心反应,同时要完成贲门周围黏膜的加固,治疗所需要的时间还是比较长的,我们进行常规EIS治疗时间为 $8.26 \text{ min} \pm 1.45 \text{ min}$ 。使用透明帽后,可以将靶静脉固定于透明帽前端,视野清晰,穿刺的静脉相对固定,减少了因为恶心而发生的静脉

划伤可能,并且可以清晰地观察注射针的出针及黏膜、血管穿刺情况(图1B)。因为提高了治疗的效率,治疗所需时间缩短为 $5.27 \text{ min} \pm 1.63 \text{ min}$ 。因此,治疗周期也明显缩短(A组 $29.31 \text{ d} \pm 6.29 \text{ d}$ , B组 $20.20 \text{ d} \pm 4.79 \text{ d}$ ,  $P<0.05$ )。进行治疗中有患者退针的时候会发生注射点的短暂性渗血或喷射样出血,这时部分聚桂醇会随着血液流出,减少了聚桂醇在血管内的存在,局部药物浓度下降,同时食管腔内出现积血,影响治疗时的视野。使用透明帽后,局部压迫可减少聚桂醇外溢,不影响同时进行的其他静脉及黏膜的治疗,提高了治疗的效率。这可能也是曲张静脉消失率高于对照组的原因。因为减少聚桂醇丢失,使用硬化剂总量减少,治疗的时间明显缩短,治疗中视野更清楚,出血明显减少。

硬化剂治疗后血管再通发生慢、复发率低,但并发症多,静脉曲张消失所需治疗次数也多<sup>[19,21]</sup>。治疗过程中,硬化剂治疗相关的并发症的发生率约在25%左右,这和我们常规EIS组的并发症发生率一致。过去研究<sup>[22,23]</sup>认为硬化剂治疗并发症的发生率较高,其中食管溃疡、狭窄发生较为严重,会影响患者的日常生活。其原因是硬化剂剂量大,容易造成溃疡较为深大,炎症反应累及至肌层,溃疡愈合后产生瘢痕,不可避免地造成食管狭窄的发生。另一方面,也是多次硬化后的炎症反应相互重叠交错,综合形成的结果。尚有部分操作时,穿刺针进入食管肌层,引起肌层的炎症,也会发生狭窄<sup>[24,25]</sup>。我们发现,在使用透明帽治疗过程中,因为视野的清晰,可以观察到注射针的出针情况,静脉及黏膜下刺入情况,减少了聚桂醇进入食管肌层或更深层的可能,所以发生并发症也是减少的。

总之,我们初步研究发现透明帽辅助下EIS,可以进一步提高硬化剂治疗的效果、减少术中出血风险、减少硬化剂用量及术后并发症发生

率. 我们将进行更多样本临床观察.

#### 4 参考文献

- Tajiri T, Yoshida H, Obara K, Onji M, Kage M, Kitano S, Kokudo N, Kokubu S, Sakaida I, Sata M, Tajiri H, Tsukada K, Nonami T, Hashizume M, Hirota S, Murashima N, Moriyasu F, Saigenji K, Makuuchi H, Oho K, Yoshida T, Suzuki H, Hasumi A, Okita K, Futagawa S, Idezuki Y. General rules for recording endoscopic findings of esophagogastric varices (2nd edition). *Dig Endosc* 2010; 22: 1-9 [PMID: 20078657]
- 中华医学会消化内镜学分会食管胃静脉曲张学组. 消化道静脉曲张及出血的内镜诊断和治疗规范试行方案(2009年). *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 1-4
- 李盼, 孔德润, 谢惠君, 孙斌, 许建明. 食管曲张静脉套扎和硬化治疗疗效与安全性的前瞻性评估. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3791-3795
- 王广华, 谭万岱, 杜长夫. 内镜下套扎联合硬化剂治疗食管静脉曲张破裂出血的临床疗效及安全性. *山东医药* 2013; 53: 60-62
- Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Tajiri T. New methods for the management of esophageal varices. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 1641-1645 [PMID: 17461464]
- 林香春, 蔺武, 程留芳, 吴静. 大剂量硬化剂注射治疗食管胃底静脉曲张疗效观察. *山东医药* 2008; 48: 101-102
- 李坪, 成军, 毛羽, 胡居, 龙蒋煜. 急诊内镜治疗食管贲门胃底静脉曲张活动出血200例. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 90-93
- Garcia-Tsao G, Sanyal AJ, Grace ND, Carey WD. Prevention and management of gastroesophageal varices and variceal hemorrhage in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2086-2102 [PMID: 17727436 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01481.x]
- Tomikawa M, Hashizume M, Okita K, Kitano S, Ohta M, Higashi H, Akahoshi T. Endoscopic injection sclerotherapy in the management of 2105 patients with esophageal varices. *Surgery* 2002; 131: S171-S175 [PMID: 11821806 DOI: 10.1067/msy.2002.119500]
- 范铁艳, 程留芳. 结扎和硬化剂治疗肝硬化食管静脉曲张出血疗效比较的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 1704-1709
- 王进广, 孔德润. 内镜干预及联合普萘洛尔预防食管静脉曲张破裂再出血的疗效对比. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2944-2950
- 柴新, 张英国. 普萘洛尔和经内镜硬化治疗预防肝硬化静脉曲张再出血的荟萃分析. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 437-442
- 蔺武, 刘心娟, 姜国俊, 魏南, 芦月霞, 郭晶, 程留芳. EVS、EVS EVL续贯EVS和EVL续贯EVS治疗食管静脉曲张的疗效比较. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 1020-1023
- 吴毓麟, 程桂英, 陈隆典, 邹晓平. 内镜下硬化剂治疗食管静脉曲张出血. *江苏医药* 2008; 34: 29-31
- Ishii H, Sonoyama T, Nakashima S, Nagata H, Shiozaki A, Kuriu Y, Ikoma H, Nakanishi M, Ichikawa D, Fujiwara H, Okamoto K, Ochiai T, Kokuba Y, Sakakura C, Otsuji E. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma with severe intratumoral arterioportal shunt. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 3211-3214 [PMID: 20593509 DOI: 10.3748/wjg.v16.i25.3211]
- 魏志, 孙志勤, 董伟, 孙奎林, 刘晓峰, 尚瑞莲, 贾爱芹, 李群, 黄华. 无痛内镜在肝硬化食管胃底静脉曲张内镜序贯治疗中的应用探讨. *中华消化杂志* 2012; 32: 411-413
- 霍红, 吴桂恺, 刘国祥, 朱福涛, 徐京丽, 张晓君, 司雁菱. 无痛内镜下序贯治疗食管胃底静脉曲张的疗效与安全性评价. *中华消化病与影像杂志(电子版)* 2012; 2: 308-311
- 张娜娜, 李鹏, 张澍田. 透明帽在消化内镜诊治中的应用. *中华消化内镜杂志* 2012; 29: 298-300
- 岳玉, 汤克云, 邵利萍, 汪升早. 聚桂醇在急诊硬化治疗食管静脉曲张破裂出血中的应用体会. *淮海医药* 2013; 31: 351-353
- 闫文姬, 柴国君, 杨云生, 孙国辉, 王娟, 刘迎娣. 食管静脉曲张硬化治疗后食管发生狭窄的相关因素. *武警医学* 2012; 23: 386-391
- Senju S, Nishida H, Sakamoto M, Ishikawa A, Ishii M, Yoneyama K, Kawauchi A, Mitamura K. Endoscopic color Doppler ultrasonographic evaluation of recurrent esophagogastric varices following endoscopic injection sclerotherapy. *Hepatol Res* 2003; 26: 174-180 [PMID: 12850688 DOI: 10.1016/S1386-6346(03)00090-1]
- Kong DR, Ma C, Wang M, Wang JG, Chen C, Zhang L, Hao JH, Li P, Xu JM. Effects of propranolol or propranolol plus isosorbide-5-mononitrate on variceal pressure in schistosomiasis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4228-4233 [PMID: 23864788 DOI: 10.3748/wjg.v19.i26.4228]
- Yoshida H, Mamada Y, Taniai N, Yoshioka M, Hirakata A, Kawano Y, Mizuguchi Y, Shimizu T, Ueda J, Uchida E. Treatment modalities for bleeding esophagogastric varices. *J Nippon Med Sch* 2012; 79: 19-30 [PMID: 22398787 DOI: 10.1272/jnms.79.19]
- 尚瑞莲, 李兆申, 金震东, 邹多武, 孙自勤, 湛先保, 王东. 小剂量硬化剂加固对食管静脉曲张术后的影响. *实用肝脏病杂志* 2009; 12: 207-209
- 谭智. 肝硬化食管静脉曲张出血及硬化治疗效果的相关因素分析. *河北医药* 2013; (19): 2911

#### 同行评价

本文探讨透明帽辅助下食管静脉曲张硬化治疗的疗效及并发症, 认为使用透明帽治疗临床疗效较好, 能降低患者出血风险及提高疗效. 设计结合临床实际, 有一定的参考价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





## 奥美拉唑的不良反应

王子娟, 张 弋

### ■背景资料

奥美拉唑(omeprazole)是一种质子泵抑制剂,易浓集于酸性环境中,阻断了胃酸分泌的最后步骤,对各种因素引起的胃酸分泌均有很强的抑制作用。主要用于胃、十二指肠溃疡,反流性食管炎,卓艾氏综合征及消化性溃疡急性出血。

王子娟, 天津医科大学 天津市 300070

张弋, 天津第一中心医院药剂科 天津市 300192

王子娟, 主要从事药理学研究。

作者贡献分布: 本论文中课题设计、文献检索、数据分析、论文写作由王子娟完成; 论文复核由张弋完成。

通讯作者: 张弋, 300192, 主任药师, 天津市南开区复康路24号, 天津第一中心医院药学部. jane4033@126.com

收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-01-15

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-02-28

### Adverse reactions of omeprazole

Zi-Juan Wang, Yi Zhang

Zi-Juan Wang, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Yi Zhang, Pharmacy Department, Tianjin First Center Hospital, Tianjin 300192, China

Correspondence to: Zhang Yi, Chief Pharmacist, Tianjin First Center Hospital, 24 Fukang Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. jane4033@126.com

Received: 2014-01-06 Revised: 2014-01-15

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-02-28

### Abstract

**AIM:** To analyze the general rules and characteristics of adverse drug reactions (ADRs) of omeprazole to provide information for its rational usage in clinic.

**METHODS:** We searched the Chinese Journal Full-text Database (CNKI) and Wanfang Database from January 2008 to December 2013 with omeprazole and ADR as key words for published articles reporting ADR of omeprazole. Clinical data such as patient age, time of ADR occurrence, and clinical manifestations were analyzed statistically.

**RESULTS:** A total of 47 cases were collected from 40 reports. Common ADRs were damage to skin and its appendages, nervous system damage and systemic damage. Adverse reactions may be very serious or rare.

**CONCLUSION:** ADRs of omeprazole may lead to systemic damage, but the prognosis is good. Prevention and monitoring of ADRs of omepra-

zole should be strengthened in clinical practice.

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

**Key Words:** Omeprazole; Adverse reactions

Wang ZJ, Zhang Y. Adverse reactions of omeprazole. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 842-845 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/842.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.842>

### 摘要

**目的:** 分析奥美拉唑所致不良反应的一般规律和特点, 为临床合理用药提供参考。

**方法:** 以“奥美拉唑”并含“不良反应”为主要检索词, 检索中国期刊全文数据库2008-01/2013-12公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道, 分别从患者年龄和性别分布、不良反应的发生时间和临床表现等方面进行统计分析。

**结果:** 共检索出40篇文献, 涉及47例病例。不良反应累及系统-器官以皮肤及其附件损害、精神系统损害和全身性损害为主, 可能导致严重的和罕见的药品不良反应发生。

**结论:** 奥美拉唑不良反应累及系统较多, 不良反应预后良好, 临床应加强对奥美拉唑不良反应的预防和监测。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 奥美拉唑; 不良反应

**核心提示:** 以“奥美拉唑”并含“不良反应”为主要检索词, 检索中国期刊全文数据库2008-01/2013-12公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道, 分别从患者年龄和性别分布、不良反应的发生时间和临床表现等方面进行统计分析。

王子娟, 张弋. 奥美拉唑的不良反应. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 842-845 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/842.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.842>

### ■同行评议者

黄国, 教授, 四川大学华西药学院药剂系; 彭宗根, 副研究员, 中国医学科学院医药生物技术研究所病毒室

表 1 47例奥美拉唑不良反应患者的年龄分布情况

年龄(岁)	n	构成比(%)
≤17	2	4.26
18-40	15	31.91
41-65	16	34.04
>65	14	29.79
合计	47	100.00

表 2 47例奥美拉唑不良反应发生时间

发生时间	n	构成比(%)
≤30 min	8	17.02
>30 min且≤1 d	6	12.77
>1 d且≤15 d	26	55.32
>15 d	6	12.76
不详	1	2.13
合计	47	100.00

## 0 引言

奥美拉唑(omeprazole)是一种质子泵抑制剂,易浓集于酸性环境中,能特异性的作用于胃壁细胞质子泵( $H^+-K^+-ATP$ 酶)所在部位,并转换为亚磺酰胺的活性形式,然后通过二巯基与质子泵的巯基呈不可逆性的结合,生成亚磺酰胺与质子泵的复合物,从而抑制该酶活性,使壁细胞内 $H^+$ 不能转运到胃腔中,阻断了胃酸分泌的最后步骤,对各种因素引起的胃酸分泌均有很强的抑制作用。奥美拉唑应用于临床以来,主要用于胃、十二指肠溃疡,反流性食管炎,卓艾氏综合征及消化性溃疡急性出血<sup>[1]</sup>。随着该药在临床的广泛应用,有关其不良反应的报道逐渐增多,现将国内2008-2013年公开发表的47例有关使用奥美拉唑引起的不良反应分析如下,旨在提高对奥美拉唑的认识,促进更合理应用,发挥其临床治疗作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 以“奥美拉唑”并含“不良反应”为主要检索词,检索中国期刊全文数据库2008-01/2013-12公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道。剔除重复报告、药物联合应用及资料不全等报告,最后纳入统计的文献为40篇,涉及47例病例。

**1.2 方法** 采用回顾性研究的方法,分别从患者基本信息、不良反应发生时间和临床表现及预后等方面进行统计分析。药品不良反应因果关系根据国家药品不良反应监测中心的药品不良反应判断标准进行评价。

## 2 结果

**2.1 患者年龄和性别分布** 在47例奥美拉唑致不良反应病例中,男性27例,占57.4%;女性20例,占42.6%。年龄最小的1岁半,最大的86岁,中位年龄47岁。各年龄段都有不良反应病例报告(表1)。

**2.2 给药途径与剂量** 在47例奥美拉唑致不良反

应病例中,有19例为口服给药,28例为静脉滴注给药。3例剂量不详,其余单次给药的最大剂量为80 mg,最小剂量为20 mg。

**2.3 不良反应发生时间分布** 文献报道奥美拉唑不良反应发生时间最短的为给药后10 min,最长的为连续用药1年(表2)。2例为第2次使用后出现不良反应,1例为连续使用多次后出现,其余为第1次使用后出现不良反应。

**2.4 不良反应累及系统-器官及主要临床表现** 通过分析显示,奥美拉唑所致不良反应累及多个系统-器官,其中排名前3位的分别为皮肤及其附件损害20例(占18.35%),精神系统损害17例(占15.60%),全身性损害15例(占13.76%)。临床主要表现为瘙痒、皮疹、烦躁、谵语、发热、过敏性休克、心悸等(表3)。

**2.5 药物不良反应(adverse drug reaction, ADR)的处理及结果** 在47例报告中,对发生的ADR最常用的处理方法是停药。一般的ADR如皮疹等在停药一段时间后,症状会自行消失。对一些较为严重的ADR,除了停药之外,给予肾上腺素和地塞米松等进行对症治疗,经处理,47例患者ADR均好转或者痊愈。

## 3 讨论

**3.1 不良反应与患者年龄、性别的关系** 不同年龄、性别的个体对药物的吸收、分布、代谢、排泄是不同的。一般来说,女性比男性更易发生ADR。另外,未成年人身体处于生长发育阶段,肝肾功能及一些酶系统尚不成熟,对药物的敏感性较高,老年人由于各器官、系统功能逐渐衰弱,生理机能逐步减退,对药物代谢与耐受能力降低,药代动力学也有明显的改变,因此老年人发生ADR的几率较大<sup>[2]</sup>。本文所分析奥美拉唑致不良反应病例以41-65岁人群最多,可能与消化性溃疡多发于此年龄段人群有关。调查发现奥美拉唑致不良反应男女比例接近1.35:1,

## ■ 研发前沿

随着该药在临床的广泛应用,有关其不良反应的报道逐渐增多,现将国内2008-2013年公开发表的47例有关使用奥美拉唑引起的不良反应分析如下,旨在提高对奥美拉唑的认识,促进更合理应用,发挥其临床治疗作用。

## ■相关报道

关于奥美拉唑引起精神错乱的报道较为少见,在《奥美拉唑引起罕见不良反应-可逆性精神错乱1例报道》中,报道的此类不良反应的发生率为1%,临床工作中常容易忽略,如能正确认识药物不良反应,及时调整药物治疗方案,则可避免误诊发生。

表 3 47例奥美拉唑不良反应累及系统-器官及主要临床表现

累及系统-器官	主要临床表现及例次	n	构成比(%)
皮肤及其附件损害	皮疹(5)、多形性红斑(1)、红丘疹(2)、瘙痒(7)、荨麻疹(2)、表皮剥脱(2)、湿疹(1)	20	18.35
精神系统损害	烦躁(4)、谵语(4)、精神错乱(3)、幻觉(3)、攻击性行为(2)、失眠(1)	17	15.60
全身性损害	发热(4)、过敏性休克(3)、寒战(2)、乏力(6)	15	13.76
中枢及外周神经系统损害	头痛(2)、头晕(7)、运动性失语(1)	10	9.17
消化系统损害	腹痛(1)、恶心(2)、呕吐(2)、消化系出血(3)、口干(1)、消化道多发息肉(1)	10	9.17
呼吸系统损害	呼吸困难(2)、胸闷(7)	9	8.26
心血管系统损害	心悸(4)、血压降低(1)、心动过缓(4)	9	8.26
肝脏损害	纤维蛋白原减少(2)、肝酶升高(4)	6	5.50
肌肉骨骼系统损害	关节痛(2)、肌肉痛(2)	4	3.68
血液系统损害	低镁血症(1)、白细胞减少(1)、粒细胞减少(1)	3	2.75
泌尿系统损害	肾功能异常(1)、急性尿潴留(2)	3	2.75
内分泌系统损害	男性乳房女性化(1)、尿酸升高(2)	3	2.75
合计		109	100.00

这并非男性使用奥美拉唑ADR的发生率高,而是奥美拉唑的主要适应症是消化性溃疡,其发病率有着明显的性别差异,其男女比例在4:1左右<sup>[3]</sup>,由此推测奥美拉唑ADR的发生与性别无关。

**3.2 不良反应与给药途径、剂量的关系** 在47例奥美拉唑致不良反应病例中,静脉滴注给药占59.57%。严重的不良反应如过敏性休克、多脏器功能损害等都是静脉滴注给药后出现的<sup>[4,5]</sup>,因此建议尽量采用口服给药的方式以避免或减少不良反应的发生。药品的使用剂量单次给药的最大剂量为80 mg<sup>[6]</sup>,超出了说明书的推荐剂量,属于不合理使用药品导致的不良事件。

**3.3 不良反应发生时间分布** 奥美拉唑不良反应发生时间最短的为给药后10 min,给药后30 min内发生的占17.02%,给药15 d以上发生不良反应的占12.76%,说明奥美拉唑引发的不良反应既有速发型不良反应,也可引起迟发型不良反应。有的消化系溃疡患者自行连续服用半年甚至1年后发现不良反应<sup>[7]</sup>,而其说明书规定“本品抑制胃酸分泌的作用强,时间长,故应用本品时不宜同时再服用其他抗酸剂或抑酸剂。为防止抑酸过度,在一般消化性溃疡等疾病,不建议大剂量长期应用(卓艾氏综合征患者除外)。”属于不合理使用药品导致的不良事件,因此建议患者能严格按照说明书或者医嘱合理使用药品,切忌长期大剂量应用。

**3.4 不良反应累及系统-器官及主要临床表现** 经过分析发现,奥美拉唑所致不良反应累及系统-器官较多,以皮肤及其附件损害、精神系统损

害和全身性损害为主。也有严重的和罕见的药品不良反应值得关注。

47例病例中有3例出现了过敏性休克,占6.38%<sup>[8,9]</sup>。过敏性休克主要发生在静脉给药途径中,一般在给药的30 min内出现,提醒临床用药时要密切观察患者情况,一旦发现异常,要积极采取有效处理措施。

奥美拉唑引起的罕见药品不良反应精神系统的损害报道也较多,主要表现为烦躁、谵语、精神错乱、幻觉和攻击性行为<sup>[10,11]</sup>,停用药品后症状逐渐消失,都为可逆性的。机制不明,推测可能与该药可以通过血脑屏障有关。其中1例患者既往有精神病史,服用药物后可能诱发了精神异常。提醒临床医务人员要注意与精神疾病及脑血管疾病中额、颞叶病灶引起的精神症状等相鉴别,以免误诊误治。

奥美拉唑还可导致迟发性消化系出血<sup>[12,13]</sup>。奥美拉唑在防止急性消化道出血方面起到了很大的作用。但研究也发现,奥美拉唑的使用会使胃窦部G细胞分泌大量胃泌素,从而增加胃壁细胞分泌功能。在应用奥美拉唑同时,壁细胞的分泌功能尚不明显,一旦停止使用,壁细胞的分泌功能会得以充分显现,出现反跳性胃酸分泌增加,使胃内的pH下降,胃黏膜就会再次受到伤害而发生出血现象。因此建议奥美拉唑应采用逐渐减量的停药方法,这样可防止因突然停药引起胃酸的过度分泌而导致消化系再次发生出血。

奥美拉唑还可引起肌肉骨骼系统的损害,主要表现为关节痛和肌肉痛<sup>[14]</sup>。长期应用还可以引起低镁血症。近几年,美国、欧盟药品监督管理



部门先后发布了有关质子泵抑制剂类药品的安全性信息, 警示此类药品的骨折、低镁血症等风险以及与氯吡格雷的药物相互作用, 并修订了药品说明书. FDA对多项公开发表的流行病学研究的调查分析显示, 使用质子泵抑制剂可能导致髌骨、腕骨、脊骨骨折风险升高, 并提示升高的风险可能与剂量、用药时间相关, 但风险强度无法确定. FDA要求医生在处方质子泵抑制剂时应考虑低剂量、短疗程的治疗方式. 同时美国FDA和欧盟药品管理局(European Medicines Agency, EMA)最近两年发布通告提醒使用质子泵抑制剂3 mo以上会有低镁血症的风险. 低镁血症的严重表现主要有疲劳、手足抽搐、谵妄、惊厥、头晕及室性心律失常. 因此对于需要长期治疗的患者, 尤其是同期合并使用其他可导致低镁血症的药物时, 应在治疗之前进行血镁检查并在治疗过程中定期检查<sup>[15]</sup>.

奥美拉唑是治疗消化性溃疡等胃肠道疾病的有效药品. 由于患者可能需要长期用药, 因此医务人员和患者应充分重视此类药品的安全性问题, 详细了解此类药品的不良反应、禁忌症、注意事项和相互作用. 在治疗前医生应询问患者的既往病史(如心血管疾病等)和联合用药情况, 将可能存在的安全性风险告知患者, 为患者处方最低有效剂量的药品, 在增加剂量或

调整治疗方案时, 应密切关注患者的不良反应发生情况.

#### 4 参考文献

- 1 国家药典委员会. 临床用药须知. 2010年版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 366
- 2 陈新谦, 金有豫, 汤光. 新编药理学. 第17版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 17
- 3 徐来凤, 张玉平, 郭秀兰. 1386例消化性溃疡的流行病学分析. 中华消化内镜杂志 2000; 17: 184-185
- 4 汤启明, 王文兴. 奥美拉唑致过敏性休克1例. 北方药学 2013; 10: 53
- 5 白燕林. 注射用奥美拉唑引起多脏器功能损害一例. 内蒙古医学杂志 2011; 43: 22
- 6 杨海, 赵海. 奥美拉唑诱发精神异常1例. 中国药物警戒 2012; 9: 639
- 7 张志辉, 王慧英, 王敏. 长期服用奥美拉唑致低镁血症1例. 临床合理用药 2012; 5: 11
- 8 江丽欢. 注射用奥美拉唑致过敏性休克1例. 中国药物应用与监测 2010; 7: 187-188
- 9 谢奕如, 陈瑞擎, 黄楚珠. 口服奥美拉唑致过敏性休克1例. 药物流行病学杂志 2008; 17: 270
- 10 邓秀娟, 谭宇军, 蒋慧倩. 奥美拉唑引起罕见药品不良反应-可逆性精神错乱1例报道. 中国医药导报 2010; 7: 133
- 11 贾勤惠, 宁红霞, 李芳. 奥美拉唑致精神异常. 药品不良反应杂志 2009; 11: 427
- 12 李彩云, 万里. 奥美拉唑致迟发消化道出血1例报告. 医学理论与实践 2012; 25: 1574
- 13 金玉. 奥美拉唑致迟发严重消化道出血2例. 临床荟萃 2010; 25: 1097
- 14 王飞, 李毅. 奥美拉唑罕见不良反应2例分析. 西北药学杂志 2009; 24: 234
- 15 国家食品药品监督管理局药品评价中心. 警惕质子泵抑制剂的骨折、低镁血症风险以及与氯吡格雷的相互作用. 药品不良反应信息通报 2013

#### 同行评价

本文统计分析了6年来公开发表的奥美拉唑所致不良反应的文献报道, 分别从患者年龄和性别分布、不良反应的发生时间和临床表现等方面进行统计分析, 将可能存在的安全性风险告知患者, 并对临床的联合用药有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特点及其与预后的关系

李伟, 隋红, 周建华

## ■背景资料

神经内分泌肿瘤在临床上一直以来被视作一种罕见的肿瘤, 随着现代医学的进步、检测技术的提高以及对该病的认识逐渐深入, 神经内分泌肿瘤发病率已明显增高。通过对胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特征及其对预后影响的分析, 提高临床医师的诊治水平。

李伟, 隋红, 周建华, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科 黑龙江省哈尔滨市 150040

李伟, 主要从事消化系肿瘤的基础和临床研究。

黑龙江省青年科学基金资助项目, No. QC2012C011

作者贡献分布: 病例查询、临床资料整理、文章起草及数据分析由隋红与李伟完成; 文章修改与审阅由周建华完成。

通讯作者: 周建华, 教授, 主任医师, 150040, 黑龙江省哈尔滨市哈平路, 哈尔滨医科大学附属肿瘤医院内科。

zhoujianhua5@sohu.com

电话: 0451-86298268

收稿日期: 2013-12-03 修回日期: 2013-12-26

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: Clinicopathologic characteristics and their correlation with prognosis

Wei Li, Hong Sui, Jian-Hua Zhou

Wei Li, Hong Sui, Jian-Hua Zhou, Department of Internal Medicine, Harbin Medical University Cancer Hospital, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China

Supported by: the Young Science Foundation of Heilongjiang Province, No. QC2012C011

Correspondence to: Jian-Hua Zhou, Professor, Department of Internal Medicine, Harbin Medical University Cancer Hospital, Haping Road, Harbin 150040, Heilongjiang Province, China. zhoujianhua5@sohu.com

Received: 2013-12-03 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To analyze the clinicopathologic characteristics of gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms (GEP-NEN) and their correlation with prognosis.

**METHODS:** Clinical data for 43 patients diagnosed pathologically with GEP-NEN in Harbin Medical University Cancer Hospital from April 2007 to April 2013 were retrospectively analyzed. Survival analysis was performed by Kaplan-Meier method. The relationship between clinicopathologic characteristics and prognosis was analyzed using the Log-rank test. Independent risk factors for prognosis were analyzed by multivariate Cox regression analysis.

**RESULTS:** The mean age was 57.5 years, with a male-to-female ratio of 2.91:1. The most common site was stomach (19 cases, 44.19%). There were 2 cases of functional GEP-NEN (one case of glucagonoma and another case of carcinoid syndrome). Of the 43 patients, 14 received postoperative drug therapy. There were 22 deaths in 43 patients (52.38%) and one case (2.38%) was lost to follow-up. The 1- and 3-year survival rates were 70.2% and 36.9%, with a median overall survival (OS) of 16.0 months. Univariate analysis showed that tumor size ( $\geq 5$  cm), depth of invasion, lymph node metastasis, distant metastasis and pathological grades of NEC (neuroendocrine carcinoma) and MANEC (mixed adenoneuroendocrine carcinoma) could affect the patient's prognosis ( $P < 0.05$  for all). Age, gender, smoking, drinking, family history of cancer, surgical approach and postoperative drug therapy were not significantly associated with prognosis. Multivariate analysis showed that lymph node metastasis, distant metastasis and pathological type were independent risk factors.

**CONCLUSION:** The stomach is the most common primary site of GEP-NEN, and GEP-NEN lacks specific clinical manifestations. Lymph node metastasis, distant metastasis and pathological type are independent risk factors.

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

**Key Words:** Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm; Clinical pathology; Prognosis

Li W, Sui H, Zhou JH. Gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasms: Clinicopathologic characteristics and their correlation with prognosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 846-852 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/846.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.846>

## 摘要

**目的:** 分析胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN)的临床病理特点及其与预后的关系。

## ■同行评议者

李正荣, 副主任医师, 副教授, 南昌大学附属第一医院胃肠外科(普六病区); 王文跃, 主任医师, 中日友好医院普通外科

**方法:** 收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院2007-04/2013-04通过病理诊断为GEP-NEN的患者资料, Kaplan-Meier法进行生存分析, Log-rank法比较临床病理特点与预后的关系, 多因素Cox回归分析影响患者预后的独立危险因素。

**结果:** 43例患者的平均年龄为57.5岁, 男女性别比为2.91:1。原发部位中以胃部最多(19例, 44.19%)。2例为功能性的GEP-NEN(1例为胰高血糖素瘤, 1例出现类癌综合征)。有14例术后经过药物治疗。43例患者中死亡22例(52.38%), 失访1例(2.38%)。患者1、3年生存率分别为70.2%、36.9%, 中位总生存期为16.0 mo。单因素分析显示: 肿瘤大小( $\geq 5$  cm)、T分期、淋巴结转移、远处转移以及病理类型为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)、混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC)影响患者的预后( $P < 0.05$ )。患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、手术方式及术后药物治疗与预后无相关性。多因素分析显示: 淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后的独立危险因素。

**结论:** 胃是GEP-NEN最常见的原发部位, 临床表现无特异性。淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后的独立危险因素。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃肠胰神经内分泌肿瘤; 临床病理; 预后

**核心提示:** 胃是胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm)最常见的原发部位, 临床表现无特异性。单因素分析显示: 肿瘤大小、T分期、淋巴结转移、远处转移以及病理类型为神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma)、混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma)影响患者的预后。淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后的独立危险因素。

李伟, 隋红, 周建华. 胃肠胰神经内分泌肿瘤的临床病理特点及其与预后的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 846-852  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/846.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.846>

## 0 引言

神经内分泌肿瘤(neuroendocrine neoplasms, NEN)是一组起源于肽能神经元和神经内分泌细胞的异质性肿瘤, 可发生于全身各个部位, 以

胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN)最常见<sup>[1]</sup>。GEP-NEN一度被认为是罕见病, 但是随着诊断技术的发展和各种生物标志物的发现, 这类疾病越来越多在临床中被诊断出来。美国的一项流行病学研究显示, GEP-NEN的发病率由1973年的1.09/10万增长到2004年的5.25/10万<sup>[2]</sup>。Lawrence等<sup>[3]</sup>发现GEP-NEN的患病率在消化系统恶性肿瘤中占第二位, 其发病率仅次于大肠癌。在我国, 目前还没有有力的GEP-NEN流行病学资料, 对该病的流行趋势、临床特征及预后防治了解较少, 仅朱预等<sup>[4]</sup>在2006年就我国胰腺神经内分泌肿瘤的诊治情况做了概述, 高尤亮等<sup>[5]</sup>对福建地区的NEN的临床特点进行了统计。本研究回顾性分析哈尔滨医科大学附属肿瘤医院2007-04/2013-04收治的43例GEP-NEN患者的临床资料, 探讨分析GEP-NEN的临床病理特点及其与预后的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集哈尔滨医科大学附属肿瘤医院2007-04至2013-04通过病理诊断为GEP-NEN的患者资料, 共43例, 其中男性32例, 女性11例, 年龄20-77岁, 平均年龄为57.5岁。回顾性分析患者的年龄、性别、临床表现、病理等相关资料。

### 1.2 方法

**1.2.1 分类及分级标准:** 采用2010年世界卫生组织(World Health Organization, WHO)对GEP-NEN分类方法<sup>[6]</sup>: 神经内分泌瘤(neuroendocrine tumor, NET)、神经内分泌癌(neuroendocrine carcinoma, NEC)、混合性腺神经内分泌癌(mixed adenoneuroendocrine carcinoma, MANEC)及增生性和肿瘤前病变(hyperplastic and pre-neoplastic lesions)。采用欧洲神经内分泌肿瘤协会(European Neuroendocrine Tumor Society, ENETS)根据细胞增生比例(细胞核分裂指数和Ki-67指数)的分级方法<sup>[7]</sup>: G1: 核分裂 $< 2$ 个/10高倍镜视野和(或)Ki-67指数 $\leq 2\%$ ; G2: 核分裂2-20个/10高倍镜视野和(或)Ki-67指数为3%-20%; G3: 核分裂 $> 20$ 个/10高倍镜视野和(或)Ki-67指数 $> 20\%$ , 若两者结果不一致, 以高级别为准。

**1.2.2 随访:** 通过联系电话或地址信息获得随访信息, 随访截止时间为2013-10-31。起点为患者病理报告诊断时间, 终点为患者因肿瘤而死亡的时间, 生存时间为起点到终点或随访截止所经历的

## ■ 研发前沿

胃肠胰神经内分泌肿瘤近年来发病率提高主要是由于诊断技术的进步, 目前该研究领域的重点和热点问题是对此病有诊断价值的生物标志物和更多、更有效的治疗手段, 我们亟待解决的问题也是具有诊断价值的生物标志物和大规模中心III期临床试验数据探索更多有效的治疗手段。



## ■相关报道

Yao等报道亚洲人种直肠为最常见的原发部位,疾病分期、肿瘤原发部位、组织学分级、性别、种族、年龄等对疾病预后有影响。Rinke等报道长效奥曲肽对分化好的胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastro-enteropancreatic neuroendocrine neoplasm)有较好疗效。

表 1 43例GEP-NEN患者的临床病理特点n(%)

临床病理参数	n(%)
性别	
男	32(74.42)
女	11(25.58)
年龄(岁)	
<60	25(58.14)
≥60	18(41.86)
吸烟史	
无	24(55.81)
有	19(44.19)
饮酒史	
无	24(55.81)
有	19(44.19)
肿瘤家族史	
无	36(83.72)
有	7(16.28)
肿瘤大小(cm)	
<5	19(44.19)
≥5	24(55.81)
手术方式	
活检	4(9.30)
手术切除	39(90.70)
T分期	
T1、T2	11(25.58)
T3、T4	29(67.44)
Tx	3(6.98)
淋巴结转移	
无	21(48.84)
有	22(51.16)
远处转移	
无	37(86.05)
有	6(13.95)
病理分类	
NET	13(30.23)
NEC	29(67.44)
MANEC	1(2.33)
病理分级	
G1、G2	13(30.23)
G3	30(69.77)

Tx: 无法评估。

时间。因各种原因而失去联系的视为失访。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件处理统计数据, Kaplan-Meier法进行生存分析, Log-rank法比较临床病理特点与预后的关系, 多因素Cox回归分析影响患者预后的独立危险因素。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

## 2.1 一般资料分析

2.1.1 临床表现: 发病部位: 43例患者的发病部位依次为: 胃19例(44.19%)、胰腺14例(32.56%)、直肠3例(6.98%)、食道2例(4.65%)、壶腹部2例(4.65%)、结肠2例(4.65%)、回盲部1例(2.32%), 起源部位中胃为最常见。临床症状: 43例患者中2例(4.65%)患者为功能性的(1例为胰高血糖素瘤, 1例出现类癌综合征), 其余41例(95.35%)为非功能性的, 后者主要表现为非特异性的消化系统症状, 如吞咽困难、腹痛、腹胀、呕血、黄染、腹泻、黑便、消瘦等。1例临床表现为典型的类癌综合征, 主要症状为胸闷、面部潮红。

2.1.2 临床病理特点: 43例GEP-NEN患者中, 男性32例(74.42%)、女性11例(25.58%); <60岁的25例(58.14%), ≥60岁的18例(41.86%); 有吸烟史者19例(44.19%), 无吸烟史者24例(55.81%); 有饮酒史者19例(44.19%), 无饮酒史者24例(55.81%); 有肿瘤家族史7例(16.28%), 无肿瘤家族史36例(83.72%); 肿瘤大小(直径)在0.6-20 cm, 平均为5.5 cm; T分期中, T1、T2为11例, T3、T4为29例, 3例因病例资料不完整无法评估; 伴有淋巴结转移者22例(51.16%); 6例远处转移中全部伴有肝转移, 其中2例同时伴有肺转移; 绝大多数患者通过手术切除(90.70%); 病理类型中以NEC最多见(67.44%)(表1)。

2.1.3 治疗情况: 43例GEP-NEN患者中4例(9.30%)经内镜下活检取得病理, 其中NEC、NET各为2例, 其余39例经手术完全切除原发灶(90.70%), 其中11例(28.21%)为NEC, 27例(69.23%)为NET, 1例(2.56%)为MANEC。43例患者中有14例接受化疗, 其中3例同时接受生长抑素治疗, 化疗药物以细胞毒药物为主(氟尿嘧啶、铂类、依托泊苷等), 生长抑素治疗药物采用奥曲肽。术后化疗患者中有12例为G3患者。

## 2.2 预后因素分析

2.2.1 总生存情况: 43例患者的中位随访时间为14 mo(2-52 mo), 死亡22例(52.38%), 皆因肿瘤死亡, 1例患者失访。患者1、3年生存率分别为70.2%、36.9%, 中位总生存期为16.0 mo(图1)。

2.2.2 单因素分析: 患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、手术方式及术后药物治疗与预后无相关性, 而肿瘤大小(≥5 cm)、T分期、有淋巴结转移、有远处转移和病理类型为

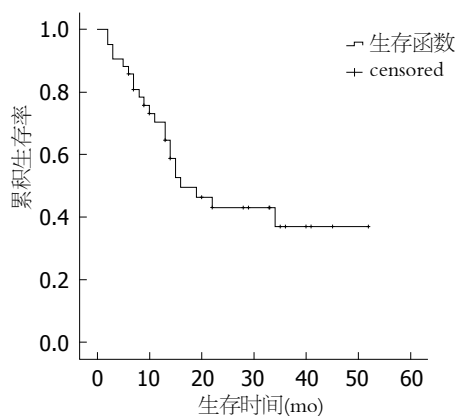


图 1 43例GEP-NEN患者的生存曲线.

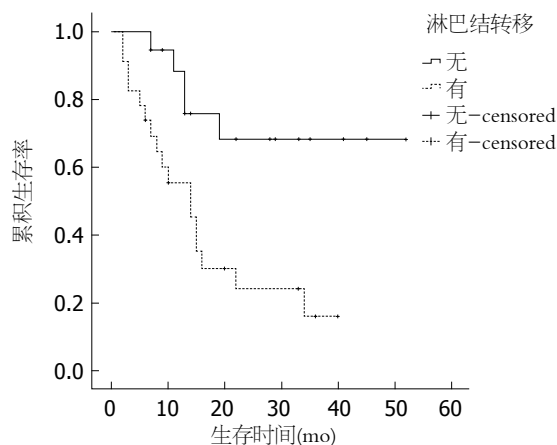


图 4 有无淋巴结转移的患者生存曲线.

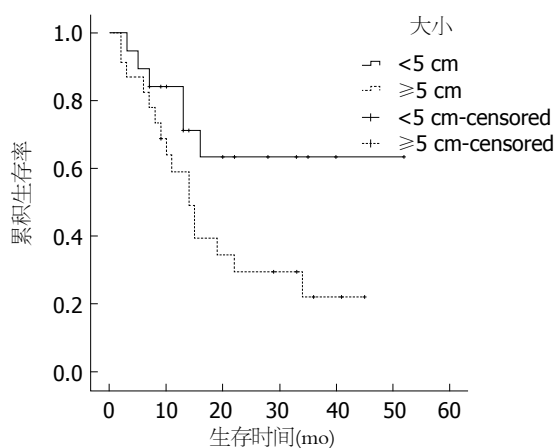


图 2 不同肿瘤大小的患者生存曲线.

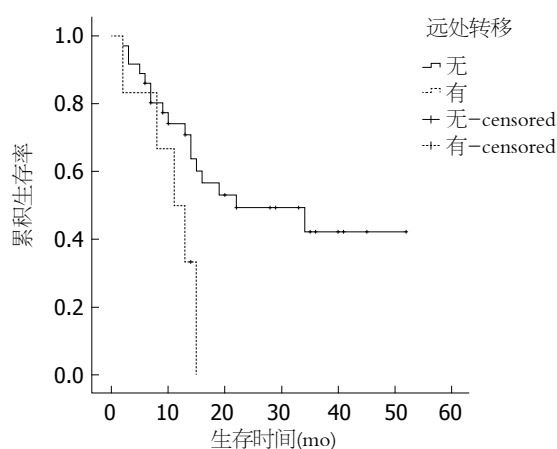


图 5 有无远处转移的患者生存曲线.

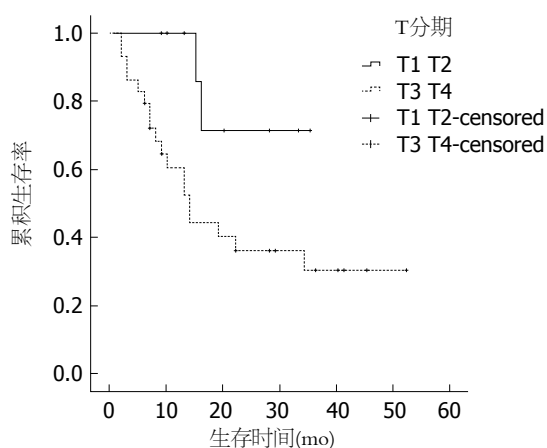


图 3 不同T分期的患者生存曲线.

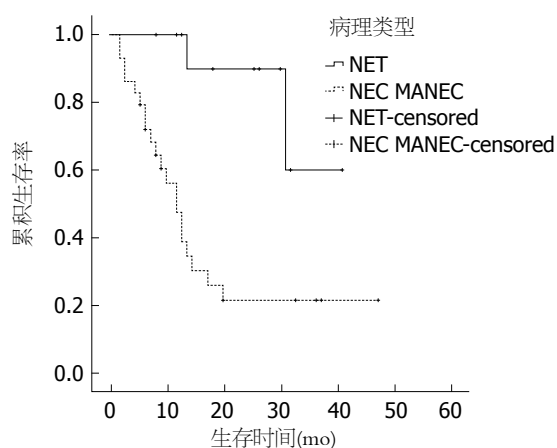


图 6 不同病理类型的患者生存曲线.

### ■创新盘点

对43例胃肠胰神经内分泌肿瘤(gastroenteropancreatic neuroendocrine neoplasm, GEP-NEN)的基本资料,包括吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史等纳入了分析影响患者预后的因素,病例资料较完整,文章结论是胃是GEP-NEN最常见的原发部位,临床表现无特异性,淋巴结转移、远处转移及病理类型是预后独立危险因素.

NEC、MANEC影响患者的预后( $P<0.05$ )(图2-6).

**2.2.3 多因素Cox回归分析:** 将单因素分析中 $P<0.05$ 的变量纳入多因素Cox回归分析,结果显示,淋巴结转移、远处转移及病理类型是影响预后的独立危险因素( $P<0.05$ ,表2).

### 3 讨论

近年来,世界各国的GEP-NEN发病率都在逐渐增加.美国1973-2004年发病率增加了5倍<sup>[2]</sup>;意大利1985-2005年发病率从0.7/10万增至1.6/10万(男),0.3/10万增至2.1/10万(女)<sup>[8]</sup>;澳大利亚的发

## ■应用要点

病例资料较完整,统计资料真实,尽管病例数较少,但有一定的临床指导意义。该病并没有特殊的临床表现,这提示在临床诊治过程中不可忽略该病。在治疗中,根据病理分级的不同而进行不同的治疗。

表 2 具有独立危险因素的多因素分析

相关因素	P值	危险度	95%置信区间
淋巴结转移	0.028	3.534	1.147-10.889
远处转移	0.029	4.445	1.165-16.958
病理类型	0.036	8.926	1.156-68.925

病率从1980-1989年的1.7/10万增至2000-2006年的3.3/10万<sup>[9]</sup>。我国尚没有大型临床资料。高尤亮等<sup>[5]</sup>统计福建地区2006-2011年GEP-NEN的发病率为0.20%,这可能与现代医学的进步、检测技术的提高以及对该病的认识逐渐深入有关。在本研究中,哈医大附属肿瘤医院在2007年以前的病例中,GEP-NEN的发病率极低,在2007年以后该病逐渐被发现和认识。

本组研究中的发病部位主要为:胃(44.19%)、胰腺(32.56%),其次为直肠(6.98%)、食道(4.65%)、壶腹部(4.65%)、结肠(4.65%)、回盲部(2.32%)。Oberg<sup>[10]</sup>报道欧美地区GEP-NEN最常见的部位为直肠和小肠。出现不同的结果可能与种族及地域的不同以及诊断的病例数较少有关。GEP-NEN根据是否产生激素引起相应的临床症状可分为功能性和非功能性两类,本组研究中仅有2例为功能性的GEP-NEN,其余均没有特异性的临床症状,因此病理检查结合免疫组织化学的方法对该病的诊断尤为重要。典型的类癌综合征并不多见,其发生率不足神经内分泌肿瘤的10%<sup>[11]</sup>,本研究中仅有1例(2.33%)出现类癌综合征。

美国的SEER(Surveillance Epidemiology and End Results)数据显示,神经内分泌肿瘤的1年生存率为76%-94%,3年生存率为48%-87%<sup>[2]</sup>,国内文献报道1年和3年生存率分别为69%和34%<sup>[12]</sup>,本研究的患者1年、3年生存率分别为70.2%、36.9%。单因素分析显示:肿瘤大小( $\geq 5$  cm)、T分期、淋巴结转移、远处转移以及病理类型为NEC、MANEC影响患者的预后。本研究中肿瘤大小 $> 2$  cm与 $\leq 2$  cm预后的差异无统计学意义,而进一步分析得出肿瘤大小 $\geq 5$  cm与 $< 5$  cm预后的差异有统计学意义,既往文献报道<sup>[13]</sup>肿瘤大小 $< 1$  cm转移发生率为3%,预后较好,1-2 cm者转移发生率为10%-15%, $> 2$  cm者转移发生率为60%-80%,预后差,这有赖于更多的病例进一步研究。T分期、淋巴结转移、远处转移及病理类型均对预后有影响,这与既往文献报道一致<sup>[14,15]</sup>。

患者年龄、性别、吸烟史、饮酒史、肿瘤家族史、手术方式及术后药物治疗与预后无相关性,其中年龄、性别、手术方式及术后药物治疗对预后的影响既往文献报道不一致<sup>[8,16]</sup>。治疗方面手术仍是主要的治疗手段,即使局部或远处转移,特别是肝转移患者通过手术切除或局部治疗<sup>[17]</sup>也可以通过减轻肿瘤负荷来提高患者的生存率和生活质量,但本组研究中完全手术切除和镜下活检患者的生存时间并没有统计学差异。6例远处转移中有2例行减瘤术,由于病例数较少,无法比较两组的生存差异。药物治疗包括化疗及生长抑素治疗,43例患者中有14例术后行化疗,化疗药物以氟尿嘧啶、铂类及依托泊苷为主,其中3例合并使用生长抑素(醋酸奥曲肽)治疗,结果并没有显示出对预后统计学差异。由于GEP-NEN发病率较低,因此缺少大型的III期临床试验对照不同化疗药物的疗效,总体来说GEP-NEN化疗效果欠佳。德国的PROMID研究证实长效奥曲肽对分化好的GEP-NEN有较好疗效<sup>[18]</sup>,本研究中仅有3例患者行奥曲肽治疗,因病例数太少无法比较生存差异。另外,靶向药物哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂-依维莫司<sup>[19]</sup>和酪氨酸酶抑制剂-舒尼替尼<sup>[20]</sup>对GEP-NEN也有较好疗效,但本研究中并没有患者使用该类药物治疗。目前我们国家参照2010年欧洲肿瘤内科学会指南<sup>[10]</sup>制定了神经内分泌肿瘤的流程:病理分级为1级(G1),Ki-67 $< 2\%$ ,采用生物治疗或生物治疗联合靶向,包括生长抑素类似物(somatostatin analogues, SMS)、 $\alpha$ -干扰素、SMS+ $\alpha$ -干扰素、SMS+舒尼替尼、SMS+贝伐单抗、SMS+依维莫司;病理分级为2级(G2),Ki-67在3%-20%之间采用化疗为主的综合治疗,包括链脲霉素(streptozotocin, STZ)+氟尿嘧啶/阿霉素、STZ+依维莫司、替莫唑胺+卡培他滨、舒尼替尼+SMS、贝伐单抗+SMS、SMS控制症状;病理分级为3级(G3),Ki-67 $> 20\%$ ,该类肿瘤对化疗敏感,方案包括顺铂+足叶乙甙(VP-16)、替莫唑胺+卡培他滨+贝伐单抗、SMS控制症状。本研究中病理分级为G3的患者是否化疗与预后无相关性,分析原因可能为:(1)病例数偏少,随访时间不够长;(2)所采用的化疗方案多样以及疗程的影响。多因素分析显示:淋巴结转移、远处转移及病理类型是影响预后的独立危险因素,其死亡风险分别为3.534、4.445、8.926倍,与既往文献报道一



致<sup>[2,21]</sup>.

目前, 多种新的治疗方法和治疗药物, 如肽受体放射性同位素治疗(peptide receptor radionuclide therapy, PRRT)<sup>[22]</sup>、帕瑞肽(SOM230)<sup>[23]</sup>、索拉菲尼<sup>[24]</sup>以及帕唑帕尼<sup>[25]</sup>等药物都在临床试验当中. 尽管在命名、分类、药物治疗等方面有显著进步, 但因其生物学行为异常复杂和多变及高度的异质性仍给我们带来很多亟待解决的问题, 如有预测价值的生物标志物, 大规模中心III期临床试验数据探索更多有效的治疗手段等. 我们有理由相信, 随着对GEP-NEN不断的深入和了解, 对其治疗必将产生里程碑式的飞跃.

#### 4 参考文献

- Oberg K, Castellano D. Current knowledge on diagnosis and staging of neuroendocrine tumors. *Cancer Metastasis Rev* 2011; 30 Suppl 1: 3-7 [PMID: 21311954 DOI: 10.1007/s10555-011-9292-1]
- Yao JC, Hassan M, Phan A, Dagohoy C, Leary C, Mares JE, Abdalla EK, Fleming JB, Vauthey JN, Rashid A, Evans DB. One hundred years after "carcinoid": epidemiology of and prognostic factors for neuroendocrine tumors in 35,825 cases in the United States. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3063-3072 [PMID: 18565894 DOI: 10.1200/JCO.2007.15.4377]
- Lawrence B, Gustafsson BI, Chan A, Svejda B, Kidd M, Modlin IM. The epidemiology of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2011; 40: 1-18, vii [PMID: 21349409 DOI: 10.1016/j.ecl.2010.12.005]
- 朱预. 中国胰腺内分泌外科50年胰岛细胞肿瘤的50年. *中华肝胆外科杂志* 2006; 12: 433-435
- 高尤亮, 王晨, 曾德华, 万丹, 王婷. 神经内分泌肿瘤714例临床病理分析. *海南医学* 2013; 24: 285-287
- Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumours of the digestive system. Lyon: IARC Press, 2010: 26-27
- Rindi G, Klöppel G, Alhman H, Caplin M, Couvelard A, de Herder WW, Eriksson B, Falchetti A, Falconi M, Komminoth P, Körner M, Lopes JM, McNicol AM, Nilsson O, Perren A, Scarpa A, Scoazec JY, Wiedenmann B. TNM staging of foregut (neuro)endocrine tumors: a consensus proposal including a grading system. *Virchows Arch* 2006; 449: 395-401 [PMID: 16967267 DOI: 10.1007/s00428-006-0250-1]
- Caldarella A, Crocetti E, Paci E. Distribution, incidence, and prognosis in neuroendocrine tumors: a population based study from a cancer registry. *Pathol Oncol Res* 2011; 17: 759-763 [PMID: 21476126 DOI: 10.1007/s12253-011-9382-y]
- Luke C, Price T, Townsend A, Karapetis C, Kotasek D, Singhal N, Tracey E, Roder D. Epidemiology of neuroendocrine cancers in an Australian population. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 931-938 [PMID: 20419344 DOI: 10.1007/s10552-010-9519-4]
- Öberg KE. Gastrointestinal neuroendocrine tumors. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 7: vii72-vii80 [PMID: 20943646 DOI: 10.1093/annonc/mdq290]
- 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理专家组. 中国胃肠胰神经内分泌肿瘤病理学诊断共识意见. *中华病理学杂志* 2011; 40: 257-262
- 周俊, 丁克锋. 胃肠胰神经内分泌肿瘤患者预后的多因素分析. 浙江大学, 2012
- Plöckinger U, Rindi G, Arnold R, Eriksson B, Krenning EP, de Herder WW, Goede A, Caplin M, Oberg K, Reubi JC, Nilsson O, Delle Fave G, Ruzsniwski P, Ahlman H, Wiedenmann B. Guidelines for the diagnosis and treatment of neuroendocrine gastrointestinal tumours. A consensus statement on behalf of the European Neuroendocrine Tumour Society (ENETS). *Neuroendocrinology* 2004; 80: 394-424 [PMID: 15838182 DOI: 10.1159/000085237]
- 叶郁红, 张声, 王行富, 陈余朋, 王鹏程. 90例胃肠道神经内分泌肿瘤病理学重新诊断评估. *华中科技大学学报* 2012; 41: 440-444
- Medrano-Guzmán R, Alvarado-Cabrero I, González-Rodríguez D, López-García SC, Páez-Agraz F. [Surgical prognostic factors of gastroenteropancreatic neuroendocrine tumors (GEP NET)]. *Rev Med Inst Mex Seguro Soc* 2012; 50: 243-248 [PMID: 23182252]
- 王谊, 喻璟瑞, 向明飞, 李吉满. 消化系统神经内分泌肿瘤的临床分析. *中国肿瘤临床与康复* 2012; 19: 405-407
- Anthony LB, Strosberg JR, Klimstra DS, Maples WJ, O'Dorisio TM, Warner RR, Wiseman GA, Benson AB, Pommier RF. The NANETS consensus guidelines for the diagnosis and management of gastrointestinal neuroendocrine tumors (nets): well-differentiated nets of the distal colon and rectum. *Pancreas* 2010; 39: 767-774 [PMID: 20664474 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3181ec1261]
- Rinke A, Müller HH, Schade-Brittinger C, Klose KJ, Barth P, Wied M, Mayer C, Aminossadati B, Pape UF, Bläker M, Harder J, Arnold C, Gress T, Arnold R. Placebo-controlled, double-blind, prospective, randomized study on the effect of octreotide LAR in the control of tumor growth in patients with metastatic neuroendocrine midgut tumors: a report from the PROMID Study Group. *J Clin Oncol* 2009; 27: 4656-4663 [PMID: 19704057 DOI: 10.1200/JCO.2009.22.8510]
- Yao JC, Shah MH, Ito T, Bohas CL, Wolin EM, Van Cutsem E, Hobday TJ, Okusaka T, Capdevila J, de Vries EG, Tomassetti P, Pavel ME, Hoosen S, Haas T, Lincy J, Lebwohl D, Öberg K. Everolimus for advanced pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 514-523 [PMID: 21306238 DOI: 10.1056/NEJMoa1009290]
- Raymond E, Dahan L, Raoul JL, Bang YJ, Borbath I, Lombard-Bohas C, Valle J, Metrakos P, Smith D, Vinik A, Chen JS, Hörsch D, Hammel P, Wiedenmann B, Van Cutsem E, Patyna S, Lu DR, Blankmeester C, Chao R, Ruzsniwski P. Sunitinib malate for the treatment of pancreatic neuroendocrine tumors. *N Engl J Med* 2011; 364: 501-513 [PMID: 21306237 DOI: 10.1056/NEJMoa1003825]
- 王霄, 宋争放, 姚文秀, 潘长穿, 向明飞, 王欢. 胃肠胰神经内分泌瘤的临床病理特点及预后的多因素分析. *中华医学杂志* 2013; 93: 1411-1414
- Bergsma H, van Vliet EI, Teunissen JJ, Kam BL, de Herder WW, Peeters RP, Krenning EP, Kwekkeboom DJ. Peptide receptor radionuclide therapy (PRRT) for GEP-NETs. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 867-881 [PMID: 23582925 DOI: 10.1016/j.bpg.2013.01.004]
- Kvols LK, Oberg KE, O'Dorisio TM, Mohideen P, de

#### ■同行评价

本文分析了临床病理特点与预后的关系, 多因素Cox回归分析影响患者预后的独立危险因素. 虽然国内也有类似的报道, 但本文资料收集较完整, 病例数较多, 有一定的临床指导意义.

- Herder WW, Arnold R, Hu K, Zhang Y, Hughes G, Anthony L, Wiedenmann B. Pasireotide (SOM230) shows efficacy and tolerability in the treatment of patients with advanced neuroendocrine tumors refractory or resistant to octreotide LAR: results from a phase II study. *Endocr Relat Cancer* 2012; 19: 657-666 [PMID: 22807497 DOI: 10.1530/ERC-11-0367]
- 24 Chan JA, Mayer RJ, Jackson N, Malinowski P, Regan E, Kulke MH. Phase I study of sorafenib in combination with everolimus (RAD001) in patients with advanced neuroendocrine tumors. *Cancer Chemother Pharmacol* 2013; 71: 1241-1246 [PMID: 23475104 DOI: 10.1007/s00280-013-2118-9]
- 25 Ahn HK, Choi JY, Kim KM, Kim H, Choi SH, Park SH, Park JO, Lim HY, Kang WK, Lee J, Park YS. Phase II study of pazopanib monotherapy in metastatic gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Br J Cancer* 2013; 109: 1414-1419 [PMID: 23989950 DOI: 10.1038/bjc.2013.470]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例

许进军, 甘宁

许进军, 甘宁, 湖北省肿瘤医院中西医结合科 湖北省武汉市 430034

许进军, 主治医师, 主要从事晚期肿瘤的临床与基础研究.

作者贡献分布: 此课题由许进军设计; 研究过程由许进军与甘宁共同实施完成; 数据分析由甘宁完成; 本论文写作由许进军与甘宁共同完成.

通讯作者: 许进军, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市卓刀泉南路116号, 湖北省肿瘤医院中西医结合科.

penlink1975@sina.com

电话: 027-87670032

收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2013-12-26

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Efficacy of oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens for patients with advanced gastric carcinoma

Jin-Jun Xu, Ning Gan

Jin-Jun Xu, Ning Gan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Jin-Jun Xu, Attending Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, Zhuodaoquan South Road, Wuhan 430034, Hubei Province, China. penlink1975@sina.com

Received: 2013-12-10 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To study the efficacy and safety of three different fluoropyrimidine regimens in combination with oxaliplatin for patients with advanced gastric carcinoma (AGC).

**METHODS:** One hundred and eighty patients with AGC were included in the study and divided into three groups (60 patients in each group) from January 2008 to January 2013. Group A was treated with FOLFOX4 regimen, group B with XELOX regimen, and group C with L-OHP + S-1. Liver and kidney function test and chest and abdominal CT or MRI were performed before and after treatment. The survival data between three groups were compared statistically.

**RESULTS:** All patients were assessable for tox-

icity and response to treatment. In groups A, B and C, the recovery rate (RR) was 38.3%, 41.7% and 45%, respectively; disease control rate (DCR) was 55%, 68.3% and 66.7%; median time to progression (MTTP) was 5.5, 6.5 and 6.7 months; and mean overall survival (MOS) was 11.0, 13.1 and 14.5 months. Side effects were similar among the three groups, mainly including bone marrow depression, nausea, vomiting, nervous system toxicity and hand-foot syndrome, although the incidence of stomatitis was higher in group C than in groups A and B.

**CONCLUSION:** Oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens has appreciable curative effects and is well tolerated in AGC patients, with the efficacy of S-1 and capecitabine being better.

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

**Key Words:** Advanced gastric carcinoma; Fluorouracil; Capecitabine; Combined chemotherapy

Xu JJ, Gan N. Efficacy of oxaliplatin in combination with three different fluoropyrimidine regimens for patients with advanced gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 853-857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.853>

## 摘要

**目的:** 评价奥沙利铂联合3种氟尿嘧啶制剂的化疗方案治疗进展期胃癌的有效性和安全性.

**方法:** 回顾性分析2008-01/2013-01我院治疗进展期胃癌180例, 分3组, 每组60例. A组: 患者给予奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙; B组: 患者给予奥沙利铂联合卡培他滨; C组: 患者给予奥沙利铂联合替吉奥. 比较3种不同给药方案前后血常规、肝肾功能、胸腹部CT扫描及胃镜等检查的变化, 分析近期疗效及化疗的不良反应; 采用Kaplan-Meier法、Log-rank检查比较3组患者的生存期及疾病进展时间.

**结果:** 180例均可评价疗效, A、B、C组的恢复

## ■背景资料

据世界卫生组织癌控项目的统计数据, 全球每年死于癌症的患者高达700万例, 其中死于胃癌的患者占了70万例. 疑似胃癌患者中的四分之三确诊时已为晚期, 已丧失最佳治疗时机, 同时针对早期胃癌患者术后2年内有一半以上会转移, 且晚期胃癌的治疗效果欠佳, 预后非常差, 5年生存率不到10%.

## ■同行评议者

王邦茂, 教授, 天津医科大学总医院消化内科



## ■ 研发前沿

胃癌是一种严重威胁人类生命安全和健康的恶性肿瘤,在亚洲、南美洲及东欧等地区的发病率显得特别高,在我国也居恶性肿瘤发病率及死亡率的前列。我国每年新确诊病例约占全球总数的1/3。针对这样严峻的形式,那么选取合理的化疗方案对胃癌进行积极治疗就显得很重要。

率(recovery rate, RR)分别为38.3%、41.7%、45%;疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为55%、68.3%、66.7%;疾病中位无进展生存期(median time to progression, MTTP)分别为5.5、6.5、6.7 mo;平均总生存时间(median overall survival, MOS)分别为11.0、13.1、14.5 mo。所有患者经药物治疗后出现骨髓抑制、胃肠道反应等不良反应的统计无明显的差异,但是C组口腔黏膜炎发病率高于A和B组。

**结论:**奥沙利铂联合3种不同氟尿嘧啶制剂对进展期胃癌进行治疗,均有一定疗效,并且不良反应可以耐受,其中替吉奥和卡培他滨效果较好。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**胃癌;氟尿嘧啶;卡培他滨;联合化疗

**核心提示:**本研究中采用3种不同的氟尿嘧啶制剂联合奥沙利铂来治疗进展期胃癌:其中含卡培他滨与替吉奥(gimeraciland oteracil porassium, S-1)的两组治疗恢复率(recovery rate)分别为41.7%、45%,与5-氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)组比较,效果相当,但有S-1与卡培他滨两组的疾病控制率(disease control rate, DCR)明显增高,分别为66.7%、68.3%,与5-FU组相比差异明显,足以证明卡培他滨和S-1较5-FU制剂效果好且方便。另外TPP以卡培他滨和S-1组疗效较好,比后面口服的氟尿嘧啶制剂效果好,这个结果已经在以往的研究中得到证实。

许进军, 甘宁. L-OHP联合三种氟尿嘧啶制剂治疗进展期胃癌180例. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 853-857 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/853.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.853>

## 0 引言

胃癌是一种严重威胁人类生命安全和健康的恶性肿瘤,在亚洲、南美洲及东欧等地区的发病率显得特别高<sup>[1]</sup>,在我国也居恶性肿瘤发病率及死亡率的前列。我国每年新确诊病例约占全球总数的1/3。针对这样严峻的形式,那么选取合理的化疗方案对胃癌进行积极治疗就显得很重要。5-氟尿嘧啶(flurouracil, 5-FU)作为一种常见的化疗药物,临床常用其来治疗胃癌,但由于5-FU的首过代谢显著及亲脂性较低且其治疗剂量与中毒剂量接近,所以容易影响治疗效果且易出现不良反应<sup>[2]</sup>。卡培他滨(xeloda, XLD)和替

吉奥(gimeraciland oteracil porassium, S-1)是两种口服氟尿嘧啶类药物,临床前期试验结果显示其有着较好的生物利用度和抗肿瘤活性,近年有文献报道可以用他们来治疗胃癌;另外奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)作为是第3代铂类化疗药物,其与5-FU具有协同作用,适用于对5-FU耐药的患者<sup>[3]</sup>。本研究对L-OHP联合3种氟尿嘧啶药物治疗进展期胃癌的安全性及疗效进行观察。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 临床资料选取2008-01/2013-01我院收治的未手术进展期胃癌患者180例,标准:(1)观察指标及病理组织学诊断肯定;(2)预计生存时间大于3 mo且ECOG评分≤2分;(3)肝肾功能正常骨髓储备良好,经诊断无其他原发肿瘤。选取的180例患者中:男117例,女63例,年龄27-79岁,平均64.23岁±0.6岁,中位年龄62岁±0.2岁。180例患者按随机数字表法分为3组,每组60例,按病例分型(表1)。在治疗前做常规临床检查,且入组前与患者及家属均签化疗知情同意书。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗:**化疗方案A组: L-OHP 130 mg/m<sup>2</sup>加入5%葡萄糖注射液500 mL,持续静脉滴入2 h, d1; CF 200 mg/m<sup>2</sup>加入5%葡萄糖注射液500 mL,静脉滴入2 h, d1-2; 5-FU 600 mg/m<sup>2</sup>持续静脉灌注22 h, d1-2; 5-FU 400 mg/m<sup>2</sup>静脉推注, d1-2。每2周重复一次。4个周期后评价疗效及不良反应。化疗方案B组: L-OHP 130 mg/m<sup>2</sup>加入5%葡萄糖注射液500 mL,持续静脉滴入2 h, d1; XLD 1000 mg/m<sup>2</sup>早晚两次口服, d1-14, 21 d为一个周期。2个周期评价疗效。化疗方案C组: L-OHP同方案B; S-1 40-50 mg/m<sup>2</sup>, 早晚两次口服, d1-14, 餐后服用, 21 d为一个周期, 2个周期评价疗效。支持治疗: 所有患者均行中心静脉置管术; 均给与恩丹西酮等被预防化疗引起的呕吐; 给予粒细胞集落刺激因子, 且根据不良反应适量减量。注: A组患者最多接受12个治疗周期; B和C组患者最多接受8个周期。

**1.2.2 疗效评定标准:**按照全国实体瘤药物治疗疗效评定标准进行评估<sup>[4]</sup>。主要分为完全缓解(complete response, CR)、部分缓解(partial response, PR)、稳定(stable disease, SD)、进展(progressive disease, PD)。客观指标主要依靠胃镜, 另外CT和MRI作为辅助检查; 对于达到CR或PR的病例, 4 wk后影像学检查以确认。且按照2000国立癌症研究所的常规毒性判定标准不良

表 1 不同治疗组进展期胃癌患者基线资料比较 [ $n = 60, n(\%)$ ]

临床特征	A组	B组	C组	P值
性别				
男	42(70.0)	38(63.3)	37(61.7)	0.61
女	18(30.0)	22(36.7)	23(38.3)	
年龄(岁)				
<65	15(25.0)	21(35.0)	13(21.7)	0.236
≥65	45(75.0)	39(65.0)	47(78.3)	
病例分型				
低分化腺癌	33(55.0)	37(61.7)	32(53.3)	0.815
中分化腺癌	7(11.7)	6(10.0)	8(13.3)	
粘液腺癌	6(10.0)	9(15.0)	8(13.3)	
印戒细胞	14(23.3)	8(13.3)	12(20.0)	
ECOG评分				
0-1	48(80.0)	38(63.3)	40(66.7)	0.107
2	12(20.0)	22(36.7)	20(33.3)	
分期				
III期	44(73.3)	37(61.7)	42(70.0)	0.407
IV期	16(26.7)	23(38.3)	18(30.0)	
转移部位				
淋巴结	32(53.3)	30(50.0)	29(48.3)	0.937
肝	10(16.7)	10(16.7)	11(18.3)	
肺	7(11.7)	10(16.7)	6(10.0)	
腹膜	8(13.3)	6(10.0)	11(18.3)	
其他脏器	3(5.0)	4(6.7)	3(5.0)	

A组: 患者给予奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙; B组: 患者给予奥沙利铂联合卡培他滨; C组: 患者给予奥沙利铂联合替吉奥。

反应分度标准评定不良反应。

1.2.3 随访: 所有患者采用门诊复查和电话随访, 自化疗周期结束后每3月随访1次, 随访终点为肿瘤转移或死亡, 共随访1-30 mo。

**统计学处理** 采用统计软件SPSS17.0对资料数据应用 $\chi^2$ 检验或秩和检验进行分析; 另外采用Kaplan-Meier方法进行生存分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 近期疗效 A、B和C组患者的恢复率(recovery rate, RR)(表2)分别为36.7%(22/60)、41.7%(25/60)、45.0%(27/60), 差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.667, P = 0.732$ )。疾病控制率(disease control rate, DCR)分别为55.0%(33/60)、68.3%(41/60)、66.7%(40/60), 差异无统计学意义( $\chi^2 = 2.727, P = 0.256$ )。随访结束后统计得出结论, 148例患者死亡, 22例生存, 失访10例。

2.2 远期疗效 所有患者共900个周期化疗, 平

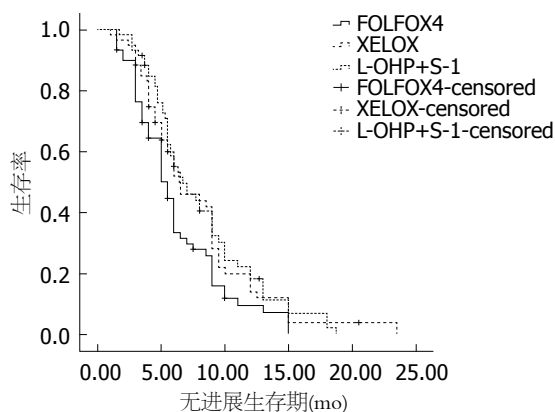


图 1 不同化疗方案组患者疾病进展时间。

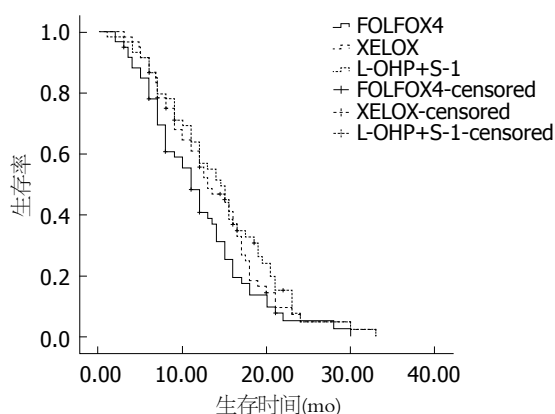


图 2 不同化疗方案组患者生存时间。

均每个患者5个化疗周期。A组的疾病中位无进展生存期(median time to progression, MTTP)分别为5.5 mo(95%CI: 4.5-6.5 mo), B组的为6.5 mo(95%CI: 4.4-8.6 mo), C组的为6.7 mo(95%CI: 4.7-8.7 mo), 且差异有统计学意义( $\chi^2 = 6.012, P = 0.049$ )(图1); B、C两组差异无统计学( $\chi^2 = 0.072, P = 0.789$ )(图2)。A、B、C三组的中位生存时间分别为11.0 mo(95%CI: 9.2-12.7 mo)、13.1 mo(95%CI: 9.4-16.6)、14.5 mo(95%CI: 12.1-14.0 mo), 差异无显著统计学意义; 组间比较显示, A和C两组的差异显著( $P = 0.034$ ); 而A、B组之间, B、C组之间差异无统计学意义。

2.3 生存率 A、B、C三组3 mo的生存率(表3)分别为93.3%、98.3%、96.7%, 总生存率为96.1%; 1年的生存率分别为35%、51.7%、51.7%, 总生存率为46.1%; 2年的生存率分别为3.3%、3.3%、5.0%, 总生存率为4.4%。三组的不同时间生存率差异无统计学意义。

2.4 不良反应 多数患者的不良反应大部分为轻度且出现在3个周期化疗后, 其中药物对血

### ■ 相关报道

有文献报道, 肿瘤组织中的胸腺嘧啶磷酸化酶的活性较其临近的正常组织高3-10倍, 这种靶向性的抗肿瘤作用极大减少了氟尿嘧啶对正常人体细胞的损害。

## ■同行评价

奥沙利铂联合3种不同氟尿嘧啶制剂对进展期胃癌进行治疗,均有一定疗效,且不良反应可以耐受,其中替吉奥和卡培他滨效果较好,值得临床医师参考。

表 2 不同化疗方案组疗效比较 ( $n = 60$ )

分组	CR	PR	SD	PD	RR(%)	DCR(%)
A组	2	21	10	27	38.3	55.0
B组	2	23	16	19	41.7	68.3
C组	3	24	13	20	45.0	66.7

CR: 完全缓解; PR: 部分缓解; SD: 稳定; PD: 进展; RR: 恢复率; DCR: 疾病控制率。A组: 患者给予奥沙利铂、氟尿嘧啶联合亚叶酸钙; B组: 患者给予奥沙利铂联合卡培他滨; C组: 患者给予奥沙利铂联合替吉奥。

液系统的影响主要表现为白细胞及血红蛋白降低: 白细胞降低A、B、C 3组发生率分别为88.3%、80%、80%; 血红蛋白降低发生率分别为91.7%、85%、85%; 而血小板降低发生率较低, 分别为65%、43.3%、56.7%; 差异均无统计学意义 $P > 0.05$ 。胃肠道反应以恶心、呕吐常见, 其中恶心发生率分别为66.7%、51.7%、45%; 呕吐发生率分别为51.7%、53.3%、48.3%; 差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。另外, 常见的末梢神经毒性及手足综合征, 3组发生率无显著统计学差异; C组口腔溃疡发病率明显高于A和B组。

## 3 讨论

胃癌主要是指原发于胃组织的恶性肿瘤, 其在全世界范围内是发病率最高的癌症之一, 是我国的第2大常见肿瘤, 每2-3 min就有1例中国人死于胃癌。据世界卫生组织癌控项目的统计数据, 全球每年死于癌症的患者高达700万例, 其中死于胃癌的患者占了70万例。疑似胃癌患者中的四分之三确诊时已为晚期, 已丧失最佳治疗时机, 同时针对早期胃癌患者术后2年内有一半以上会转移<sup>[5]</sup>, 且晚期胃癌的治疗效果欠佳, 预后非常差, 5年生存率不到10%<sup>[6]</sup>。所以胃癌尤其是晚期胃癌的治疗很不理想, 但同时又有很多研究表明, 晚期胃癌是对化疗比较敏感, 因此我们思考可以通过规范化疗及探讨新型化疗方案缓解肿瘤进一步恶化及改善症状, 提高生存质量<sup>[7]</sup>。奥沙利铂是第三代铂类药物, 癌细胞的作用位点和顺铂一致, 以DNA为作用靶点, 形成链内和链间交联, 从而抑制DNA的合成及复制。氟尿嘧啶是核糖核酸尿嘧啶的类似物, 作为抗代谢物在体内阻断脱氧核糖核苷酸转化为胸苷酸, 从而干扰DNA的合成<sup>[8,9]</sup>。临床研究均证明奥沙利铂及氟尿嘧啶从不同的途径协同杀灭肿瘤细胞且药效互补。卡培他滨和S-1都属于5-FU的

表 3 不同时间生存率比较  $n(\%)$ 

治疗方案	3 mo生存率	1年生存率	2年生存率
FOLFOX4	56(93.3)	21(35.0)	2(3.3)
XELOX	59(98.3)	31(51.7)	2(3.3)
L-OHP+S-1	58(96.7)	31(51.7)	3(5.0)
合计	173(96.1)	83(46.1)	8(4.4)

前体药物<sup>[10-12]</sup>。其中卡培他滨主要经过肝脏和肿瘤组织内的羧酸酯酶等酶类作用转变为5-FU。有文献报道, 肿瘤组织中的胸腺嘧啶磷酸化酶的活性较其临近的正常组织高3-10倍, 这种靶向性的抗肿瘤作用极大减少了氟尿嘧啶对正常人体细胞的损害<sup>[13-15]</sup>。另外替加氟、吉美嘧啶(gimeracil, CDHP)、奥替拉西(potassiumoxonate, OXO), 按1:0.4:1组成S-1, 其中CDHP能够有效抑制二氢嘧啶脱氢酶, 阻止5-FU的降解, 延长半衰期, 而OXO可以特异性抑制肠道黏膜细胞内的乳清酸核糖转移酶, 进而通过使5-FU磷酸化产物降低而减少胃肠道不良反应。

本研究中采用3种不同的氟尿嘧啶制剂联合奥沙利铂来治疗进展期胃癌: 其中含卡培他滨与S-1的两组治疗RR分别为41.7%、45%, 与5-FU组比较, 效果相当, 但有S-1与卡培他滨两组的DRC明显增高, 分别为66.7%、68.3%, 与5-FU组相比差异明显, 足以证明卡培他滨和S-1较5-FU制剂效果好且方便。另外TPP以卡培他滨和S-1组疗效较好, 比后面口服的氟尿嘧啶制剂效果好, 这个结果已经在以往的研究中得到证实。但3组的平均总生存时间(median overall survival, MOS)分别为11、13.1及14.5 mo, 统计结果无差异, 总生存比较也无明显差异, 进一步采用组间比较, 统计结果提示S-1组相对其他组而言存在一定的生存优势。然而因为本研究也存在一定的缺陷一样品量小, 那么在扩大样本量后是否还有明显的生存优势, 这有待进一步的研究证实。此外氟尿嘧啶类药物和L-OHP常见的不良反应有静脉炎、白细胞降低、血红蛋白降低、血小板降低、口腔黏膜炎、末梢神经毒性、手足综合征等。参与本研究的患者均行中心静脉置管后避免发生静脉炎; 3组通过比较, 结果提示: 骨髓造血系统反应、胃肠道反应、可逆性周围神经损害以及手足综合征发生率, 差异无统计学意义, 并且可以通过调整化疗剂量次数和针对症状的治疗后让患者达到缓解控制; 但S-1组口腔炎发生率较高, 通过给予黏膜保



护剂和康复新后, 口腔炎有所好转, 患者的相应症状同样可以得到缓解。

总之, 我们发现应用3种不同氟尿嘧啶制剂联合L-OHP对进展期胃癌进行治疗, 均有一定的效果。但卡培他滨和S-1组较5-FU疾病控制率高, 有更好的耐受性, 且给药也较方便, 适宜临床推广。

#### 4 参考文献

- 1 钟锡明, 黄卫兵, 肖明. 紫杉醇联合化疗方案治疗晚期胃癌的临床疗效. 现代肿瘤医学 2008; 2: 246-248
- 2 李雅, 王晓梅, 韩士田. 5-氟尿嘧啶衍生物抗癌活性研究. 河北工程大学学报 2008; 25: 92-95
- 3 樊翠珍, 戴红, 黄冬方, 于丹, 葛洋, 周围围, 范姗姗, 严冬, 刘月明. 不同氟尿嘧啶制剂联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的临床观察. 中华肿瘤防治杂志 2013; 20: 539-543
- 4 周际昌. 实用肿瘤内科学. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2003
- 5 谭亚琴. 新药在进展期胃癌化疗应用现状及前景. 疾病监测与控制 2012; 6: 593-596, 592
- 6 温爱萍. 奥沙利铂联合5-氟尿嘧啶及亚叶酸钙治疗晚期胃癌的疗效研究. 中国医药导报 2013; 10: 87-89
- 7 Doerr ME, Jones JL. The roles of integrins and extracellular matrix proteins in the insulin-like growth factor I-stimulated chemotaxis of human breast cancer cells. *J Biol Chem* 1996; 271: 2443-2447 [PMID: 8576205 DOI: 10.1074/jbc.271.5.2443]
- 8 Lee JL, Kang YK, Kang HJ, Lee KH, Zang DY, Ryoo BY, Kim JG, Park SR, Kang WK, Shin DB, Ryu MH, Chang HM, Kim TW, Baek JH, Min YJ. A randomised multicentre phase II trial of capecitabine vs S-1 as first-line treatment in elderly patients with metastatic or recurrent unresectable gastric cancer. *Br J Cancer* 2008; 99: 584-590 [PMID: 18665164 DOI: 10.1038/sj.bjc.6604536]
- 9 Chollet P, Schöffski P, Weigang-Köhler K, Schellens JH, Cure H, Pavlidis N, Grünwald V, De Boer R, Wanders J, Fumoleau P. Phase II trial with S-1 in chemotherapy-naïve patients with gastric cancer. A trial performed by the EORTC Early Clinical Studies Group (ECSG). *Eur J Cancer* 2003; 39: 1264-1270 [PMID: 12763215 DOI: 10.1016/S0959-8049(03)00237-5]
- 10 樊翠珍, 初玉平, 戴红. 希罗达和替吉奥联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的临床疗效观察. 临床肿瘤学杂志 2011; 16: 725-727
- 11 谭亚琴. 新药在进展期胃癌化疗应用现状及前景. 疾病监测与控制 2012; 6: 593-596, 592
- 12 邹孟军, 郁少波, 劳利迪. 奥沙利铂与卡培他滨联合化疗的毒副反应及护理. 现代实用医学 2010; 22: 944-945
- 13 孔曼, 裴文仲, 杨建东. 替吉奥联合奥沙利铂治疗进展期胃癌的临床疗效观察. 首都医科大学学报 2013; 34: 446-449
- 14 赵兴峰. 卡培他滨联合奥沙利铂新辅助化疗对进展期胃癌的疗效观察. 中国医药导刊 2013; (9): 1503-1504
- 15 刘林, 杨新辉, 王海江, 尹东, 王琦三, 雷程, 金博. 多西他赛联合奥沙利铂及替吉奥治疗进展期胃癌的疗效及对围手术期影响. 中国肿瘤临床 2013; 33: 788-791

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# <sup>13</sup>C-噤嚟西啶呼气试验对肝硬化储备功能的评估及治疗效果的评价

江振宇, 苏秉忠, 苑丹丹, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫

## ■背景资料

临床医生需要了解患者肝脏储备功能, 多数人都都在使用Child-Pugh评分法评估肝脏储备功能。此方法长期使用后发现此种分级虽然准确度尚可, 但敏感性和特异性欠佳。目前有较多新方法, 其中呼气试验因其具有无创安全、快速动态、敏感性特异性及准确性高而倍受临床工作者推宠。

江振宇, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫, 包头医学院第二附属医院消化内科 内蒙古自治区包头市 014030

苏秉忠, 内蒙古医科大学附属医院消化内科 内蒙古自治区呼和浩特市 010040

苑丹丹, 包头医学院第一附属医院 内蒙古自治区包头市 014010

江振宇, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的介入诊疗工作。

作者贡献分布: 本课题由江振宇与苏秉忠共同设计, 对此课题所做贡献均等; 课题由江振宇负责实施; 统计学分析由苑丹丹负责; 病例资料收集由江振宇、常志恒、张静洁、庞慧芳及汤泊夫负责; 论文撰写由江振宇完成。

通讯作者: 苏秉忠, 主任医师, 010040, 内蒙古自治区呼和浩特市回民区通道北街1号, 内蒙古医科大学附属医院消化内科。marx1981@sohu.com

收稿日期: 2013-12-15 修回日期: 2014-1-10

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-02-28

## <sup>13</sup>C-methacetin breath test for evaluation of liver functional reserve and treatment effectiveness in patients with liver cirrhosis

Zhen-Yu Jiang, Bing-Zhong Su, Dan-Dan Yuan, Zhi-Heng Chang, Jing-Jie Zhang, Hui-Fang Pang, Bo-Fu Tang

Zhen-Yu Jiang, Zhi-Heng Chang, Jing-Jie Zhang, Hui-Fang Pang, Bo-Fu Tang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014030, Inner Mongolia Autonomous Region, China  
Bing-Zhong Su, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, Huhhot 014040, Inner Mongolia Autonomous Region, China  
Dan-Dan Yuan, the First Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

Correspondence to: Bing-Zhong Su, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Inner Mongolia Medical University, 1 Tongdao North Street, Huimin District, Huhhot 014040, Inner Mongolia Autonomous Region, China. marx1981@sohu.com

Received: 2013-12-15 Revised: 2014-1-10

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the value of <sup>13</sup>C-methacetin breath test in diagnosis and treatment of liver cirrhosis and the association between Child-Pugh score and <sup>13</sup>C-MBT, and to analyze their advantages and disadvantages.

**METHODS:** Eighty-eight inpatients and 10 healthy volunteers were enrolled. All of them received <sup>13</sup>C-MBT and Child-Pugh scoring. According to <sup>13</sup>C-MBT levels, 88 patients with liver cirrhosis were divided into three subgroups: levels I ( $n = 21$ ), II ( $n = 36$ ), and III ( $n = 31$ ). According to Child-Pugh score, the patients were also divided into three subgroups: grade A in 16 cases, grade B in 41 cases and grade C in 31 cases. Liver function changes between before and after treatment were assessed. Sensitivity, specificity and time required to achieve efficacy between two groups were compared.

**RESULTS:** There was a good consistency ( $Kappa = 0.84, P < 0.05$ ) between <sup>13</sup>C-MBT levels (levels I, II and III) and Child-Pugh score (grades A, B and C). Sensitivity and specificity of <sup>13</sup>C-MBT were similar to those of Child-Pugh score (93.8%, 75.6%, 87.1% vs 91.7%, 89.4%, 93.0%). Concerning the time required to achieve efficacy, according to Child-Pugh score, there was no statistic significance among three subgroups of patients ( $P > 0.05$ ), while according to <sup>13</sup>C-MBT levels, a statistic significance was observed among the three subgroups of patients ( $P < 0.05$ ). The higher the <sup>13</sup>C-MBT level, the shorter the time required to achieve efficacy.

**CONCLUSION:** <sup>13</sup>C-MBT is a simple, safe and reliable technique, representing a complementary method for Child-Pugh scoring.

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

**Key Words:** Liver functional reserve; Liver cirrhosis; Child-Pugh score; <sup>13</sup>C-MBT

Jiang ZY, Su BZ, Yuan DD, Chang ZH, Zhang JJ, Pang HF, Tang BF. <sup>13</sup>C-methacetin breath test for evaluation of liver functional reserve and treatment effectiveness in patients with liver cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 858-861 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.858>

## ■同行评议者

杨家和, 教授, 中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

## 摘要

**目的:** 评估 $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶呼气试验在肝硬化诊疗过程中的价值, 与Child-Pugh分级比较, 了解两种分级方法的关系及优缺点。

**方法:** 肝硬化88例, 健康志愿者10例。检测所有人的 $^{13}\text{C}$ -MBT、Child-Pugh评分。根据88例肝硬化肝储备功能分级分组(一级21例、二级36例、三级31例), 同时使用Child-Pugh评分法评分及分组(A级16例、B级41例、C级31例)。观察两种分组方法患者治疗后的肝脏功能变化情况, 对比两种分组方法的敏感性、特异性及治疗显效时间, 并进行统计学分析。

**结果:**  $^{13}\text{C}$ -MBT分级与Child-Pugh分级具有良好的一致性(Kappa = 0.84,  $P < 0.05$ ), 其敏感性(93.8%, 75.6%, 87.1%)、特异性(91.7%, 89.4%, 93.0%)均较好。在对于两种分级方法的治疗显效时间上, Child-Pugh A级(8.2 d  $\pm$  4.9 d), B级(12.1 d  $\pm$  5.6 d), C级(15.6 d  $\pm$  4.5 d), 三组数据进行两两比较后, 均无显著性差异。而 $^{13}\text{C}$ -MBT一级(5.4 d  $\pm$  3.2 d), 二级(11.2 d  $\pm$  2.9 d), 三级(17.6 d  $\pm$  1.9 d), 三组数据进行两两比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 即 $^{13}\text{C}$ -MBT值越高, 治疗显效时间越短, 值越低则治疗显效时间越长。

**结论:**  $^{13}\text{C}$ -MBT安全、敏感、量化、准确、应用广泛, 是Child-Pugh分级的一个补充, 某种程度上可替代Child-Pugh分级。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝脏储备功能; 肝硬化; Child-Pugh分级;  $^{13}\text{C}$ -MBT

**核心提示:** 本次研究从不同角度再次论证了 $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶呼气试验的优点与价值。Child-Pugh分级与 $^{13}\text{C}$ -MBT分组两种方法的结果比较, 治疗显效时间上有一定的差异性, 在 $^{13}\text{C}$ -MBT分组中,  $^{13}\text{C}$ -MBT值越高, 治疗显效时间越短, 而值越低则治疗显效时间越长, 差异性明显。在Child-Pugh分级中, 各组治疗显效时间无显著性差异。

江振宇, 苏秉忠, 苑丹丹, 常志恒, 张静洁, 庞慧芳, 汤泊夫.  
 $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶呼气试验对肝硬化储备功能的评估及治疗效果的评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 858-861 URL:  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/858.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.858>

## 0 引言

肝硬化是我国常见疾病和主要死亡原因之一。

临床医生需要了解患者肝脏储备功能, 指导治疗。肝脏储备功能是指肝脏耐受手术、创伤以及打击的额外潜能。多数人都在使用Child-Pugh评分法评估肝脏储备功能。此方法基本可以反映肝病严重程度并在一定程度上为预后做出预测。但长期使用后发现此种分级虽然准确度尚可, 但敏感性和特异性欠佳<sup>[1-3]</sup>。目前有较多新方法, 其中呼气试验因其具有无创安全、快速动态、敏感性特异性及准确性高而倍受临床工作者的推宠。本研究将探讨噤噤西啶呼气实验。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 肝硬化住院患者88例(男性54例, 女性34例, 平均年龄54岁)。健康对照组10例(男性6例, 女性4例, 平均年龄49岁)。IRIS呼吸监测机,  $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶。

### 1.2 方法

**1.2.1 检测肝硬化患者相关指标:** 计算Child-Pugh评分, 根据A、B、C 3级分为3组, 根据 $^{13}\text{C}$ -MBT值同样分为一、二、三级。 $^{13}\text{C}$ -MBT值一级(0.25-0.5)、二级(0.15-0.25)、三级(<0.15)分别对应Child-Pugh A、B、C级。 $^{13}\text{C}$ -MBT 0.5-0.8对应病理性肝损害或肝纤维化, MBT 0.8-1.2肝功能正常, MBT>1.2肝功能诱导。 $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶呼气实验步骤: (1)测身高(cm)、体质量(kg); (2)隔夜空腹, 收集0时呼出气100 mL, 将50 mg  $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶溶于100 mL绿茶水中, 1 min内口服, 并开始计时; (3)收集10、20、30、40、50、60、80、100、120 min呼出气各100 mL; (4)将以上10个气袋按次序与检测孔相连, 在菜单上选择肝功能检测, 底物为 $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶, 输入身高体质量年龄, 自动检测并打印结果。经过计算得出 $^{13}\text{C}$ -MBT。

**1.2.2 规范化治疗及判断标准:** 给予保肝、利尿、补充白蛋白等, 密切观察患者病情, 包括精神状态、腹水、肝功能等, 并记录患者临床治愈、显效时间。临床治愈: 无症状, 肝功能恢复正常, 腹水完全消退, 无并发症; 好转: 症状好转, 肝功能、腹水及并发症较前明显好转; 未愈: 未达到上述标准者。以患者好转的时间作为判断显效时间<sup>[4-6]</sup>。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计学软件, 计量资料以mean  $\pm$  SD表示, 组间差异采用 $t$ 检验, 计数资料用一致性检验(Kappa值)及 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 有统计学意义。

## 2 结果

88例肝硬化患者, 从治疗的显效时间上, Child-

## ■ 研发前沿

肝细胞微粒体内混合功能氧化酶系的活性和储备能力直接影响 $^{13}\text{C}$ -噤噤西啶分解代谢产生 $^{13}\text{CO}_2$ 的速度和量,  $^{13}\text{CO}_2$ 排出的速度和量可以特异性地反映肝脏储备功能和损害程度。



## ■相关报道

国内外大量研究表明<sup>13</sup>C-MBT分级与Child-Pugh分级有显著的一致性。其检测范围较之Child-Pugh分级比较广泛,可以应用于肝硬化、脂肪肝、各种急慢性肝炎。

表 1 Child-Pugh分级治疗显效时间 (mean ± SD, d)

Child-Pugh分级	n	显效时间
A级	16	8.2 ± 4.9
B级	41	12.1 ± 5.6
C级	31	15.6 ± 4.5

表 2 <sup>13</sup>C-MBT分级治疗显效时间 (mean ± SD, d)

<sup>13</sup> C-MBT分级	n	显效时间
A级	21	5.4 ± 3.2
B级	36	11.2 ± 2.9
C级	31	17.6 ± 1.9

Pugh分级A、B、C级的时间分别为: 8.2 d ± 4.9 d、12.1 d ± 5.6 d、15.6 d ± 4.5 d。<sup>13</sup>C-MBT分级一级、二级、三级显效时间分别为: 5.4 d ± 3.2 d、11.2 d ± 2.9 d、17.6 d ± 1.9 d(表1, 2)。

## 3 讨论

经典的Child-Pugh分级标准自提出数十年来, 一直受到广泛认同, 对不同程度的肝硬化患者治疗方案提供了实在的临床参考, 具备重要的临床价值。但此方法应用范围一般仅局限于较重的肝病的患者, 如晚期肝硬化<sup>[7]</sup>, 对于重度肝损伤或肝纤维化及一些早期肝硬化患者, Child-Pugh分级法就缺乏敏感性, 难以将其准确归类分级。Child-Pugh易受医生主观因素影响, 尤其是肝性脑病, 临床医生根据患者病情及经验进行主观判断, 极易受到一些因素的干扰, 如患者因出血、电解质紊乱或其他并发症等情况引起的意识障碍、行为异常; 腹腔积液也易受到多种情况影响, 如患者应用利尿剂消除腹水或者大量补液, 而引起腹水量的波动, 或者患者腹腔的癌性腹水, 即使给予利尿治疗, 也不易消除; 另外三项生化指标, 也易受到其他因素的干扰, 如保肝及损肝药物的使用、肝胆系统的结石肿瘤、血液制品的应用等, 都会不同程度的对检验结果产生影响。这些都是Child-Pugh分级在临床工作中的缺点及不足。

<sup>13</sup>C-噤噤西啶呼气试验是目前较为先进的一种检测肝脏储备功能的方法, 其通过肝脏微粒体发生, 被<sup>13</sup>C标记的噤噤西啶主要在肝细胞微粒体混合功能氧化酶作用下脱甲基生成对乙酰氨基酚和甲醛, 后者继续氧化成<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>, 通过检测<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>呼出的MV<sub>max40</sub>(40 min前代谢速率峰值)、CUM<sub>40</sub>(40 min代谢速率峰值)、CUM<sub>120</sub>(120 min CO<sub>2</sub>累积呼出丰度), 经过计算来反映肝脏储备功能。肝细胞微粒体内混合功能氧化酶系的活性和储备能力直接影响<sup>13</sup>C-噤噤西啶分解代谢产生<sup>13</sup>CO<sub>2</sub>的速度和量, <sup>13</sup>CO<sub>2</sub>排出的速度和量可以特异性地反映肝脏储备功能和损害程度<sup>[8,9]</sup>。国内外大量研究表明<sup>13</sup>C-MBT分

级与Child-Pugh分级有显著的一致性。其检测范围较之Child-Pugh分级比较广泛, 可以应用于肝硬化、脂肪肝、各种急慢性肝炎, 而且具有量化的优势。肝脏微粒体可受许多内外因素诱导或抑制, 如吸烟、药物等, 可间接影响<sup>13</sup>C-MBT结果<sup>[10]</sup>, 故使用前应尽量排除类似的干扰。总体来说, 这类方法具有无侵害性、高灵敏性、高特异性、高准确性、可定量以及实时动态检测等优点, 越来越受到临床工作者的欢迎<sup>[11-15]</sup>。

本次研究从不同角度再次论证了<sup>13</sup>C-噤噤西啶呼气试验的优点与价值。研究中, 两种分组方法的结果比较, 治疗显效时间上有一定的差异性, 在<sup>13</sup>C-MBT分组中, 不同组别的治疗显效时间不同, 即<sup>13</sup>C-MBT值越高, 治疗显效时间越短, 而值越低则治疗显效时间越长, 差异性明显。在Child-Pugh分级中, 各组治疗显效时间无显著性差异, 此项结果与一些学者的相关临床实验一致<sup>[16]</sup>。这可以帮助临床医生准确了解肝硬化病情、判断预后, 为治疗及预防提供有效参考。

研究中15例患者的分级在两种方法中处于不同级别, 其中Child-Pugh分级为B级的患者4例, 在<sup>13</sup>C-MBT分级为3级, 半年内有3例死亡, 原因为消化系出血及肝性脑病, 另外1例病情未见明显好转; Child-Pugh分级为B级的患者6例, 在<sup>13</sup>C-MBT分级为一级, 患者目前均病情稳定, 一般状况良好; 其中Child-Pugh分级为C级的患者4例, 在<sup>13</sup>C-MBT分级为二级, 经治疗后, 病情较快好转, 目前生活状态及各项检查指标均可, 无明显恶化倾向; 其中Child-Pugh分级为A级的患者1例, 在<sup>13</sup>C-MBT分级为二级, 目前情况一般。这两种分组存在的差异, 可能是主观判断和客观事实的冲突, 对这一小部分患者进行临床观察及半年以上的密切随访, 针对其各项生化检查、影像学检查、生存质量调查发现其更加符合<sup>13</sup>C-MBT的分级判断和病情预测。

<sup>13</sup>C-噤噤西啶呼气试验可以更加准确的判断肝硬化患者的病情及其预后, 较之Child-Pugh分级具有明显的优势。本研究认为<sup>13</sup>C-MBT可以作为Child-Pugh分级的一个补充, 使其更加完善,

或者在某种程度上替代Child-Pugh分级, 与很多国内外学者的观点一致。

#### 4 参考文献

- 1 贾绮宾, 梁学亚, 吴改玲.  $^{13}\text{C}$ -噁塞西啉呼气试验检测肝脏储备功能. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2646-2650
- 2 Farrell GC, Larter CZ. Nonalcoholic fatty liver disease: from steatosis to cirrhosis. *Hepatology* 2006; 43: S99-S112 [PMID: 16447287]
- 3 de Alwis NM, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S104-S112 [PMID: 18304679 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.009]
- 4 王陇德, 宗淑杰, 主编. 临床诊疗指南-消化系统疾病分册. 第一版. 人民卫生出版社, 2005: 83-87
- 5 陈灏珠, 主编. 实用内科学. 第13版. 人民卫生出版社, 2009
- 6 美国肝病学会. 2004年美国肝病学会肝硬化腹水的治疗指南. 中华医学信息导报, 2005
- 7 Herold C, Heinz R, Radespiel-Tröger M, Schneider HT, Schuppan D, Hahn EG. Quantitative testing of liver function in patients with cirrhosis due to chronic hepatitis C to assess disease severity. *Liver* 2001; 21: 26-30 [PMID: 11169069 DOI: 10.1034/j.1600-0676.2001.210104.x]
- 8 Testa E, Malfatti F, Milazzo S, Cordiviola C, Cotellessa T, Marabotto E, Giannini E, Ceppa P, Mamone M, Risso D, Testa R. Hyaluronic acid and aspartate aminotransferase levels normalized by liver function can reflect sinusoidal impairment in chronic liver disease. *Liver Int* 2006; 26: 439-444 [PMID: 16629647 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2006.01251.x]
- 9 Herold C, Ganslmayer M, Ocker M, Zopf S, Gailer B, Hahn EG, Schuppan D. Inducibility of microsomal liver function may differentiate cirrhotic patients with maintained compared with severely compromised liver reserve. *J Gastroenterol Hepatol* 2003; 18: 445-449 [PMID: 12653894 DOI: 10.1046/j.1440-1746.2003.03007.x]
- 10 高茹, 关玉盘, 贾凯.  $^{13}\text{C}$ -噁塞西啉呼气试验测量肝脏储备功能的临床研究. 中华腹部疾病杂志 2005; 7: 477-479
- 11 张璟, 张帆, 张猛.  $^{13}\text{C}$ -噁塞西啉呼气试验对肝癌患者肝储备功能状况的评估. 临床荟萃 2008; 23: 1048
- 12 张冬梅, 王丙信, 程秀莲.  $^{13}\text{C}$ -美沙西汀呼气试验对肝硬化患者肝功能状况的量化评价. 现代中西医结合杂志 2007; 16: 3009
- 13 刘婷, 郭晓林, 朴云峰, 季慧范. 吗啉菁绿排泄试验在肝病治疗领域中的应用. 中国老年学杂志 2010; 30: 3215-3217
- 14 李红霞, 王俊平, 杨颖, 张瑾, 冯秋玲, 刘广莉.  $^{13}\text{C}$ -美沙西汀呼气试验检测肝癌肝动脉化疗栓塞术后肝储备功能的研究. 肿瘤研究与临床 2010; 22: 383-387
- 15 王永席, 翟红兵, 苏旅明, 董玮, 王莎莎, 王素侠.  $^{13}\text{C}$ -噁塞西啉呼气试验测定肝脏储备功能及其相关指标的临床研究. 中国医刊 2010; 4: 62-64
- 16 钱刚, 吴宝灵, 余海滨, 吴敏, 刘金明, 李欣, 林学. 肝脏储备功能检测在肝硬化诊疗中的临床应用. 实用临床医学 2009; 10: 22-24

#### ■同行评价

$^{13}\text{C}$ -噁塞西啉呼气试验是目前较为先进的一种检测肝脏储备功能的方法, 可以更加准确的判断肝硬化患者的病情及其预后, 有一定的优势. 本方法具有无侵害性、高灵敏性、高特异性、高准确性、可定量以及实时动态检测等优点. 本方法可以作为Child-Pugh评分的补充。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响

仇奕然, 张海燕

## ■背景资料

临床上肝硬化患者并发胆囊结石的发生率比较高, 由于肝硬化疾病本身可以引起纤维化进而压迫、扭曲血管并发门脉高压等情况的发生, 开腹手术切除手术的应用受到很大的影响。

仇奕然, 南方医科大学 江苏省启东市 226200

仇奕然, 张海燕, 江苏省启东市中医院普外科 江苏省启东市 226200

仇奕然, 主要从事腹腔镜下胆囊切除术研究。

作者贡献分布: 仇奕然负责课题的设计、研究过程、试剂的提供、数据分析及论文写作; 张海燕负责研究过程、试剂的提供、数据分析。

通讯作者: 张海燕, 副主任医师, 226200, 江苏省启东市中医院紫薇中路458号, 江苏省启东市中医院普外科。

jinjin9387@126.com

电话: 0513-83251941

收稿日期: 2013-12-03 修回日期: 2013-12-25

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Laparoscopic surgery in patients with liver cirrhosis with gallbladder stones: Effect on immunity and complications

Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang

Yi-Ran Qiu, Southern Medical University, Qidong 226200, Jiangsu Province, China

Yi-Ran Qiu, Hai-Yan Zhang, Department of General Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qidong City, Qidong 226200, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Hai-Yan Zhang, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, Hospital of Traditional Chinese Medicine of Qidong City, Qidong 226200, Jiangsu Province, China. jinjin9387@126.com

Received: 2013-12-03 Revised: 2013-12-25

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To study the effect of laparoscopic surgery on immunity and complications in patients with liver cirrhosis and gallbladder stones.

**METHODS:** Eighty patients with liver cirrhosis and gallbladder stones were randomly divided into either an observation group or a control group. Patients in the observation group underwent laparoscopic surgery, and patients in the control group underwent open surgery. Arterial blood samples were taken to determine plasma concentrations of adrenaline, norepinephrine and dopamine. Intraoperative blood loss, operative time, flow rate, and length of hospital stay

were recorded. C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and T lymphocyte subsets (CD4, CD8) were determined.

**RESULTS:** Intraoperative blood loss, operative time, postoperative flow and drainage time, anal exhaust time and hospital stay in the observation group were significantly lower than those in the control group ( $165.84 \text{ mL} \pm 50.23 \text{ mL}$  vs  $240.33 \text{ mL} \pm 150.56 \text{ mL}$ ,  $91.78 \text{ min} \pm 21.74 \text{ min}$  vs  $137.94 \text{ min} \pm 30.55 \text{ min}$ ,  $274.37 \text{ mL} \pm 121.15 \text{ mL}$  vs  $418.53 \text{ mL} \pm 132.24 \text{ mL}$ ,  $2.34 \text{ d} \pm 1.46 \text{ d}$  vs  $5.72 \text{ d} \pm 1.84 \text{ d}$ ,  $1.33 \text{ d} \pm 0.73 \text{ d}$  vs  $2.73 \text{ d} \pm 1.33 \text{ d}$ ,  $8.43 \text{ d} \pm 1.24 \text{ d}$  vs  $11.54 \text{ d} \pm 3.22 \text{ d}$ ,  $P < 0.05$  for all). The levels of CRP, IL-6 and TNF- $\alpha$  in the observation group were significantly lower than those in the control group ( $6.13 \text{ mg/L} \pm 1.64 \text{ mg/L}$  vs  $14.24 \text{ mg/L} \pm 2.52 \text{ mg/L}$ ,  $9.44 \text{ pg/mL} \pm 1.65 \text{ pg/mL}$  vs  $12.82 \text{ pg/mL} \pm 1.54 \text{ pg/mL}$ ,  $10.42 \text{ pg/mL} \pm 1.64 \text{ pg/mL}$  vs  $19.83 \text{ pg/mL} \pm 1.53 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.05$  for all). Preoperatively, there were no significant differences in the percentages of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> lymphocytes or CD4/CD8 ratio between the observation group and control group ( $42.53\% \pm 4.63\%$  vs  $42.42\% \pm 4.64\%$ ,  $29.32\% \pm 2.44\%$  vs  $29.13\% \pm 2.64\%$ ,  $1.65 \pm 0.26$  vs  $1.66 \pm 0.24$ ,  $P > 0.05$  for all). On postoperative days 1 and 3, the percentages of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> lymphocytes and CD4/CD8 ratio were significantly higher in the observation group than in the control group (day 1:  $33.22\% \pm 2.52\%$  vs  $28.24\% \pm 2.74\%$ ,  $19.83\% \pm 2.53\%$  vs  $14.24\% \pm 2.52\%$ ,  $1.11 \pm 0.23$  vs  $0.73 \pm 0.33$ ,  $P < 0.05$  for all; day 3:  $39.42\% \pm 2.64\%$  vs  $34.12\% \pm 2.34\%$ ,  $24.44\% \pm 2.65\%$  vs  $19.82\% \pm 2.54\%$ ,  $1.43 \pm 0.24$  vs  $1.04 \pm 0.22$ ,  $P < 0.05$  for all). The percentages of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> lymphocytes and CD4/CD8 ratio were significantly higher on postoperative days 1 and 3 in both groups compared with preoperative values ( $P < 0.05$  for all). The percentages of patients developing infection and hypoalbuminemia were significantly lower in the observation group than in the control group ( $7.5\%$  vs  $25.0\%$ ,  $10.0\%$  vs

## ■同行评议者

汤朝晖, 副主任医师, 上海交大医学院附属新华医院普外科



30.0%,  $P < 0.05$ ). The incidence of blood coagulation dysfunction did not differ significantly between the two groups (20.0% vs 25.0%,  $P > 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Compared with open surgery, laparoscopic surgery is associated with less trauma, more rapid recovery, lower effect on immune function and response, and lower incidence of adverse reactions in patients with liver cirrhosis and gallbladder stones.

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

**Key Words:** Liver cirrhosis; Gallbladder stones; Laparoscopy; Immune

Qiu YR, Zhang HY. Laparoscopic surgery in patients with liver cirrhosis with gallbladder stones: Effect on immunity and complications. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 862-867 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/862.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.862>

## 摘要

**目的:** 探讨腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响, 为其研究提供可参考依据。

**方法:** 共纳入80例入住我院普外科诊断为肝硬化并发胆囊结石患者, 采用随机数字法平均分为观察组与对照组两组, 分别给予腹腔镜微创治疗及开腹手术治疗, 观察患者手术过程中失血量、手术时间、引流量、住院时间等, 比较两组的差异。抽取静脉血术后检测应激反应指标C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素-6(interleukins-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )。于术前, 术后1、3 d检测T淋巴细胞亚群(CD4、CD8)的含量。

**结果:** 观察组患者术中出血量、手术时间、术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者, 两组间比较差异有统计学意义( $165.84 \text{ mL} \pm 50.23 \text{ mL}$  vs  $240.33 \text{ mL} \pm 150.56 \text{ mL}$ ,  $91.78 \text{ min} \pm 21.74 \text{ min}$  vs  $137.94 \text{ min} \pm 30.55 \text{ min}$ ,  $274.37 \text{ mL} \pm 121.15 \text{ mL}$  vs  $418.53 \text{ mL} \pm 132.24 \text{ mL}$ ,  $2.34 \text{ d} \pm 1.46 \text{ d}$  vs  $5.72 \text{ d} \pm 1.84 \text{ d}$ ,  $1.33 \text{ d} \pm 0.73 \text{ d}$  vs  $2.73 \text{ d} \pm 1.33 \text{ d}$ ,  $8.43 \text{ d} \pm 1.24 \text{ d}$  vs  $11.54 \text{ d} \pm 3.22 \text{ d}$ , 均  $P < 0.05$ )。术后观察组患者CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均明显低于对照组患者, 两组间差异比较有统计学意义( $6.13 \text{ mg/L} \pm 1.64 \text{ mg/L}$  vs  $14.24$

$\text{mg/L} \pm 2.52 \text{ mg/L}$ ,  $9.44 \text{ pg/mL} \pm 1.65 \text{ pg/mL}$  vs  $12.82 \text{ pg/mL} \pm 1.54 \text{ pg/mL}$ ,  $10.42 \text{ pg/mL} \pm 1.64 \text{ pg/mL}$  vs  $19.83 \text{ pg/mL} \pm 1.53 \text{ pg/mL}$ , 均  $P < 0.05$ )。术前观察组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $42.53\% \pm 4.63\%$ ,  $29.32\% \pm 2.44\%$ ,  $1.65 \pm 0.26$ , 对照组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $42.42\% \pm 4.64\%$ ,  $29.13\% \pm 2.64\%$ ,  $1.66 \pm 0.24$ , 两组比较差异不明显( $P > 0.05$ )。术后1 d观察组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $33.22\% \pm 2.52\%$ ,  $19.83\% \pm 2.53\%$ ,  $1.11 \pm 0.23$ , 对照组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $28.24\% \pm 2.74\%$ ,  $14.24\% \pm 2.52\%$ ,  $0.73 \pm 0.33$ , 两组均有明显下降, 与术前相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后3 d观察组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $39.42\% \pm 2.64\%$ ,  $24.44\% \pm 2.65\%$ ,  $1.43 \pm 0.24$ , 对照组患者CD4、CD8、CD4/CD8分别为 $34.12\% \pm 2.34\%$ ,  $19.82\% \pm 2.54\%$ ,  $1.04 \pm 0.22$ , 两组均有上升, 与术后1 d相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后1、3 d观察组CD4、CD8、CD4/CD8均明显高于对照组, 两组差异比较有统计学意义( $P < 0.05$ )。术后观察组患者出现感染、低蛋白血症的例数少于对照组患者, 两组间比较差异有统计学意义[3(7.5%) vs 10(25.0%), 4(10.0%) vs 12(30.0%),  $P < 0.05$ ]; 凝血功能障碍比较差异不明显[8(20.0%) vs 10(25.0%),  $P > 0.05$ ]。

**结论:** 腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快, 同时对患者应激反应及免疫功能的影响小, 且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低, 值得临床推广应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝硬化; 胆囊结石; 腹腔镜; 免疫

**核心提示:** 本研究分析腹腔镜与开腹手术对肝硬化并发胆囊结石患者的疗效发现, 观察组患者术中出血量、手术时间术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者。可见腹腔镜治疗的操作时间比较短、创伤比较小、术后恢复时间及住院时间短。一般而言, 腹腔镜治疗的关键为控制术中 $\text{CO}_2$ 气腹压, 当出现 $\text{CO}_2$ 气腹压高时, 易压迫患者血管, 尤其对于肝硬化患者, 更容易引起门静脉高压的发生, 进而引起静脉曲张等并发症的发生, 因此手术过程中需要密切注意静脉曲张及脾脏的大小, 避免手术过程中损伤。

仇奕然, 张海燕. 腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6):

## ■研究前沿

由于肝硬化本身已存在机体免疫功能的异常, 当受到腹腔镜或开腹手术治疗, 可进一步通过抑制机体的细胞免疫功能影响患者的免疫功能。随着医学技术的迅猛发展, 腹腔镜应用于肝硬化并发胆囊结石治疗得到广泛应用。

## ■创新盘点

本研究不仅分析术中及术后并发症的发生情况,并进一步分析了对应激反应及免疫反应影响,对两种术式比较更详细。

862-867 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/862.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.862>

## 0 引言

临床上肝硬化患者并发胆囊结石的发生率比较高,由于肝硬化疾病本身可以引起纤维化进而压迫、扭曲血管并发门脉高压等情况的发生,开腹手术切除术的应用受到很大的影响<sup>[1]</sup>。随着医学技术的迅猛发展,腹腔镜应用于肝硬化并发胆囊结石治疗得到广泛应用。由于肝硬化本身已存在机体免疫功能的异常,当受到腹腔镜或开腹手术治疗,可进一步通过抑制机体的细胞免疫影响患者的免疫功能<sup>[2]</sup>。在此背景下,本研究即探讨腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者免疫水平及其并发症的影响,为其研究提供可参考依据。

## 1 材料和方法

1.1 材料 连续收集2009-01/2013-08入住我院普外科诊断为肝硬化并发胆囊结石患者80例,均有不同程度腹胀、腹痛、消化不良等临床表现,且均行腹部超声检查诊断胆囊结石,腹部CT检查诊断肝硬化。年龄38-65岁,平均年龄48.3岁±5.1岁,胆囊结石病程1-5年,肝功能分级Child A级52例,Child B级为28例。采用随机数字法平均分为观察组与对照组两组,两组间性别、病程及Child分级等比较差异不明显( $P>0.05$ ),具有临床可比性。排除标准:心肺功能不全、自身免疫性疾病、凝血功能障碍等。所有患者均签署知情同意书。

## 1.2 方法

1.2.1 治疗:术前积极完善影像学、生化检查,保证凝血功能及血细胞分析等检测指标在正常范围之内。术中常规监测患者心电图及生命体征变化,麻醉前30 min给予肌肉注射0.5 mg阿托品及0.1 g苯巴比妥钠。观察组患者给予静吸复合全麻,面罩吸氧3 min后,在建立静脉通路的基础上行麻醉诱导,麻醉维持给予维库溴铵及间断吸入异氟醚(呼气末浓度维持在1.0-1.2 MAC),静脉持续泵注瑞芬太尼0.1-0.2  $\mu\text{g}/(\text{kg}\cdot\text{min})$ 。脐部建立穿刺点,建立 $\text{CO}_2$ 气腹,并留置10 mm压力,腹腔镜下行胆囊切除手术治疗。对照组患者全麻条件下行开腹手术措施。

1.2.2 观察指标:密切观察患者手术过程中的失血量、手术时间、引流量、引流时间、住

院时间等。抽取静脉血术后检测应激反应指标C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白介素-6(interleukins-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )。术前,术后1、3 d检测T淋巴细胞亚群(CD4、CD8)含量。

**统计学处理** 数据处理采用SPSS17.0软件包进行。采用 $\text{mean}\pm\text{SD}$ 表示正态分布且方差齐的计量资料,行 $t$ 检验;采用百分数表示计数资料,行 $\chi^2$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两种手术方法术中及术后差异比较 两种手术方法术中及术后差异比较结果显示:观察组患者术中出血量、手术时间术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者,两组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ,表1)。

2.2 两种手术方法对机体应激反应的影响 两种手术方法对机体应激反应的影响分析结果显示:术后观察组患者CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均明显低于对照组患者,两组间差异比较有统计学意义( $P<0.05$ ,表2)。

2.3 两种治疗方法对患者免疫水平的影响 两种治疗方法对患者免疫水平的影响分析结果显示:术前两组患者CD4、CD8、CD4/CD8比较差异不明显( $P>0.05$ );术后1 d两组CD4、CD8、CD4/CD8均有明显下降,与术前相比差异有统计学意义( $P<0.05$ );术后3 d两组CD4、CD8、CD4/CD8上升,与术后1 d相比差异有统计学意义( $P<0.05$ );术后1、3 d观察组CD4、CD8、CD4/CD8均明显高于对照组,两组差异比较有统计学意义( $P<0.05$ ,表3)。

2.4 两组患者并发症发生分析 两组患者并发症发生分析结果显示:术后观察组患者出现感染、低蛋白血症的例数少于对照组患者,两组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ );凝血功能障碍比较差异不明显( $P>0.05$ )(表4)。

## 3 讨论

临床上肝硬化由于引起肝脏发生纤维化,进而压迫、扭曲血管易并发门脉高压的发生,甚至可能合并脾大及食管、胃底静脉曲张,因此肝硬化是胆囊结石手术治疗的相对禁忌症,但随着腹腔镜技术的不断进步及设备的不断更新,腹腔镜技术通过改变手术的入路,突破了这一

表 1 两种手术方法术中及术后差异比较 ( $n = 40$ , mean  $\pm$  SD)

分组	观察组	对照组	$t$ 值	$P$ 值
术中出血量(mL)	165.84 $\pm$ 50.23	240.33 $\pm$ 150.56	5.953	0.000
手术时间(min)	91.78 $\pm$ 21.74	137.94 $\pm$ 30.55	5.162	0.000
术后引流量(mL)	274.37 $\pm$ 121.15	418.53 $\pm$ 132.24	2.543	0.011
术后引流时间(d)	2.34 $\pm$ 1.46	5.72 $\pm$ 1.84	3.133	0.003
术后排气时间(d)	1.33 $\pm$ 0.73	2.73 $\pm$ 1.33	3.547	0.000
住院时间(d)	8.43 $\pm$ 1.24	11.54 $\pm$ 3.22	2.123	0.043

## ■应用要点

腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快, 同时对患者应激反应及免疫功能的影响小, 且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低, 值得临床推广应用。

表 2 两种治疗手术对机体应激反应的影响 ( $n = 40$ , mean  $\pm$  SD)

分组	观察组	对照组	$t$ 值	$P$ 值
CRP(mg/L)	6.13 $\pm$ 1.64	14.24 $\pm$ 2.52	2.523	0.015
IL-6(pg/mL)	9.44 $\pm$ 1.65	12.82 $\pm$ 1.54	2.567	0.009
TNF- $\alpha$ (pg/mL)	10.42 $\pm$ 1.64	19.83 $\pm$ 1.53	3.998	0.000

CRP: C-反应蛋白; IL-6: 白介素-6; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 。

表 3 两种治疗方法对患者免疫水平的影响( $n = 40$ , mean  $\pm$  SD)

分组	时间	观察组	对照组	$t$ 值	$P$ 值
CD4(%)	术前	42.53 $\pm$ 4.63	42.42 $\pm$ 4.64	0.953	0.411
	术后1 d	33.22 $\pm$ 2.52	28.24 $\pm$ 2.74	3.453	0.002
	术后3 d	39.42 $\pm$ 2.64	34.12 $\pm$ 2.34	2.643	0.008
CD8(%)	术前	29.32 $\pm$ 2.44	29.13 $\pm$ 2.64	0.533	0.339
	术后1 d	19.83 $\pm$ 2.53	14.24 $\pm$ 2.52	3.463	0.000
	术后3 d	24.44 $\pm$ 2.65	19.82 $\pm$ 2.54	3.928	0.000
CD4/CD8	术前	1.65 $\pm$ 0.26	1.66 $\pm$ 0.24	0.463	0.611
	术后1 d	1.11 $\pm$ 0.23	0.73 $\pm$ 0.33	4.162	0.000
	术后3 d	1.43 $\pm$ 0.24	1.04 $\pm$ 0.22	2.819	0.006

表 4 两组患者并发症发生分析 ( $n = 40$ ,  $n(\%)$ )

分组	感染	低蛋白血症	凝血功能障碍	其他
观察组	3(7.5)	4(10.0)	8(20.0)	1(2.5)
对照组	10(25.0)	12(30.0)	10(25.0)	2(5.0)
$\chi^2$ 值	4.501	5.000	0.287	0.346
$P$ 值	0.034	0.025	0.592	0.556

相对禁忌症, 已应用到了临床诊治的过程中<sup>[3,4]</sup>。

本研究分析腹腔镜与开腹手术对肝硬化并发胆囊结石患者的疗效发现, 观察组患者术中出血量、手术时间术后引流量、引流时间、肛门排气时间及住院时间均明显低于对照组患者。可见腹腔镜治疗的操作时间比较短、创伤比较小、术后恢复时间及住院时间短。一般而言, 腹

腔镜治疗的关键为控制术中CO<sub>2</sub>气腹压, 当出现CO<sub>2</sub>气腹压高时, 易压迫患者血管, 尤其对于肝硬化患者, 更容易引起门静脉高压的发生, 进而引起静脉曲张等并发症的发生, 因此手术过程中需要密切注意静脉曲张及脾脏的大小, 避免手术过程中损伤<sup>[5,6]</sup>。黄炜<sup>[7]</sup>选取34例开腹治疗肝硬化合并胆囊结石患者为对照组, 34例腹腔镜治疗肝硬化合并胆囊结石患者为观察组, 结果发现对照组术中出血量(192.1 mL  $\pm$  42.6 mL)、手术时间(122.6 min  $\pm$  25.4 min)、术后禁食时间(2.7 d  $\pm$  0.9 d)和术后住院时间(9.3 d  $\pm$  1.8 d)均高于观察组(79.9 mL  $\pm$  38.7 mL、63.3 min  $\pm$  21.8 min、1.0 d  $\pm$  0.6 d、4.2 d  $\pm$  1.1 d), 两组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

手术创伤是引起机体应激反应系统激活



### ■同行评价

本文研究结果显示,腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快,同时对患者应激反应及免疫功能的影响小,且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低,值得临床推广应用。

的因素之一,本研究分析两种手术方法对机体应激反应的影响发现,术后观察组患者CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 水平均明显低于对照组患者。分析原因认为CRP、IL-6、TNF- $\alpha$ 均为炎性细胞激活释放的炎性因子。其中CRP是一种急性时相反应蛋白,可以有效识别宿主体内的炎性反应,并通过吞噬细胞释放炎症因子<sup>[8]</sup>。IL-6在炎症反应中起核心调节作用,是炎症免疫反应的重要介质<sup>[9]</sup>。TNF- $\alpha$ 能增强中性粒细胞趋化性,协助炎症细胞穿透血管壁和释放炎症递质,从而促进炎症反应<sup>[10,11]</sup>。Kim等<sup>[12]</sup>对比腹腔镜及传统开腹术后TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平,结果发现术后1 d腹腔镜组TNF- $\alpha$ 、IL-6、CRP水平均低于开腹组( $P<0.05$ ),术后3 d TNF- $\alpha$ 、CRP水平低于开腹组( $P<0.05$ )。

临床上多数肝硬化患者本身已存在机体免疫功能的下降,无论是腹腔镜还是开腹手术作为有创治疗,均可影响患者的免疫功能。本研究分析两种治疗方法对患者免疫水平的影响发现,术前两组患者CD4、CD8、CD4/CD8比较差异不明显;术后1 d两组CD4、CD8、CD4/CD8均有明显下降;术后3 d两组CD4、CD8、CD4/CD8上升,与术后1 d相比差异有统计学意义;术后1、3 d观察组CD4、CD8、CD4/CD8均明显高于对照组。可见开腹手术对患者细胞免疫的影响比较大,抑制作用更强。分析原因认为:(1)腹腔镜组术后进食早,不仅可以更早的恢复肠功能,且可以为免疫反应提供能量,避免禁食时间长引起的能量功能不足<sup>[13]</sup>;(2)腹腔镜术中气腹及术后12 h脾脏T细胞的表达增加,进而可以增加免疫功能,但具体机制尚不明确<sup>[14]</sup>。

本研究进一步分析两组患者并发症发生发现,术后观察组患者出现感染、低蛋白血症的例数少于对照组患者;凝血功能障碍比较差异不明显。可见腹腔镜治疗可以降低感染的发生。黎朝良等<sup>[15]</sup>研究发现,术后感染性并发症发生率腹腔镜组明显低于开腹组,分别为2例(7.4%)与5例(16.7%), $P<0.05$ 。术后低白蛋白血症发生率开腹组明显高于腹腔镜组,分别为7例(23.3%)与3例(11.1%), $P<0.05$ 。术后两组的凝血功能障碍发生率无明显差异,分别为5例(18.5%)与5例(16.7%), $P<0.05$ 。与本研究结果相似。

总之,本研究显示,腹腔镜微创治疗对肝硬化并发胆囊结石患者创伤小、恢复快,同时对患

者应激反应及免疫功能的影响小,且不良反应的发生率亦较开腹治疗降低,值得临床推广应用。

### 4 参考文献

- 1 朱信强,丁闯,张明,管小青,陈焰.腹腔镜联合胆道镜治疗胆总管结石107例.世界华人消化杂志 2012; 20: 2496-2499
- 2 Siddiqui MN, Siddiqui ZA. Systematic review and meta-analysis of intraoperative versus preoperative endoscopic sphincterotomy in patients with gallbladder and suspected common bile duct stones (*Br J Surg* 2011; 98: 908-916). *Br J Surg* 2012; 99: 144; author reply 144 [PMID: 22135176 DOI: 10.1002/bjs.7826]
- 3 王兵,丁佑铭,汪斌,袁吉林,袁亚君.胆囊结石合并肝硬化患者行腹腔镜胆囊切除术的临床研究.中华临床医师杂志 2012; 6: 197-198
- 4 Chinnery GE, Krige JE, Bornman PC, Bernon MM, Al-Harethi S, Hofmeyr S, Banderker MA, Burmeister S, Thomson SR. Endoscopic management of bile leaks after laparoscopic cholecystectomy. *S Afr J Surg* 2013; 51: 116-121 [PMID: 24209694 DOI: 10.7196/sajs.1829]
- 5 Stevens JL, Lalotitis A, Gould SW. Hepatocolonic fistula: a rare consequence of retained gallstones after laparoscopic cholecystectomy. *Ann R Coll Surg Engl* 2013; 95: e139-e141 [PMID: 24165331 DOI: 10.1308/003588413X13629960048550]
- 6 张鸣杰,张国雷,魏云海,高偲.腹腔镜手术治疗胃胃切除术后胆囊结石27例临床分析.中华肝胆外科杂志 2012; 18: 634-635
- 7 黄炜,许海林,邹伟荣,季必宏.腹腔镜治疗胆囊结石合并肝硬化36例临床分析.中华危重症医学杂志 2013; 6: 35-36
- 8 Kamarulzaman MN. Comment on: Laparoscopic transperitoneal ureterolithotomy for large ureteric stone. *Urol Ann* 2012; 4: 195-196 [PMID: 23248532 DOI: 10.4103/0974-7796.102679]
- 9 Ray S, Bhattacharya SP. Endoclip migration into the common bile duct with stone formation: a rare complication after laparoscopic cholecystectomy. *JSLs* 2013; 17: 330-332 [PMID: 23925031 DOI: 10.4293/108680813X13654754534350]
- 10 Lee JW, Cho SY, Yeon JS, Jeong MY, Son H, Jeong H, Kim HH, Lee SB. Laparoscopic pyelolithotomy: comparison of surgical outcomes in relation to stone distribution within the kidney. *J Endourol* 2013; 27: 592-597 [PMID: 23234358 DOI: 10.1089/end.2012.0570]
- 11 吴硕东,陈永生,田雨,苏洋.经脐单切口腹腔镜胆囊联合其他脏器切除术的评价.世界华人消化杂志 2010; 18: 3045-3049
- 12 Kim EH, Larson JA, Figenshau M, Figenshau RS. Perioperative complications of robot-assisted partial nephrectomy. *Curr Urol Rep* 2014; 15: 377 [PMID: 24343244 DOI: 10.1007/s11934-013-0377-y]
- 13 覃文,程德志,黄雪卿.肝硬化患者胆囊结石的外科处理.肝胆胰外科杂志 2010; 22: 255-256
- 14 Schätz T, Hruby S, Colleselli D, Janetschek G, Lusuardi L. A severe complication of mid-urethral tapes solved by laparoscopic tape removal and ureterotomostomy. *Can Urol Assoc J* 2013; 7: E598-E600 [PMID: 24069104 DOI: 10.5489/cuaj.393]

- 15 黎朝良, 方兰, 丁佑铭, 董荣坤, 韩明福, 张笃. 胆囊结石合并肝硬化患者腹腔镜与开腹胆囊切除术后细胞

免疫功能变化及术后并发症. 中华肝胆外科杂志 2013; 19: 312-313

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 原发性胆汁性肝硬化肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达及血清学指标关系

孙 静, 褚燕君, 张芳宾, 郑 聪

## ■背景资料

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性肝内胆汁淤积性肝病, 病因不明确, 与免疫异常有关。好发于中老年女性患者, 以肝内进行性小胆管破坏, 伴汇管区和汇管周围炎症及纤维化为特点, 最终导致门脉高压、肝硬化, 甚至肝衰竭。该病预后不良, 从出现症状到死亡或行肝移植的平均时间为5-10年。随着近年诊断技术及对本病认识水平的提高, 本病在国内有增多趋势。熊去氧胆酸(ursodeoxycholic, UDCA)是目前唯一能有效改善肝脏生化功能和延缓门静脉高压, 延长生存期或移植前期的治疗, 所以早期诊断、早期治疗对PBC患者十分重要。

## ■同行评议者

赵铁建, 教授, 广西中医药大学基础医学院人体机能系

孙静, 褚燕君, 张芳宾, 郑聪, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

孙静, 郑州大学第一附属医院消化内科在读硕士研究生, 主要从事慢性肝病的研究。

作者贡献分布: 本文由褚燕君与孙静设计; 研究过程由孙静、褚燕君及郑聪完成; 写作由孙静完成; 褚燕君与张芳宾参与文章修改及校订。

通讯作者: 褚燕君, 教授、主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

1054900885@qq.com

电话: 0371-66862082

收稿日期: 2013-11-15 修回日期: 2013-12-24

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Correlation among hepatic biopsy pathohistology, expression of LAMP2 and laboratory parameters in patients with primary biliary cirrhosis

Jing Sun, Yan-Jun Chu, Fang-Bin Zhang, Cong Zheng

Jing Sun, Yan-Jun Chu, Fang-Bin Zhang, Cong Zheng, Department of Digestive Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Yan-Jun Chu, Chief Physician, Department of Digestive Diseases, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. 1054900885@qq.com

Received: 2013-11-15 Revised: 2013-12-24

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To search some laboratory parameters reflecting hepatic pathological changes and to observe lysosomal granule membrane protein (LAMP2) expression in patients with primary biliary cirrhosis (PBC).

**METHODS:** Forty-five patients with PBC who underwent hepatic pathological examination and tests for liver function, blood coagulation function, autoimmune antibody and immunoglobulin from June 2003 to December 2012 were included. The correlation was assessed between hepatic pathohistology and laboratory findings.

The expression of LAMP2 in hepatic tissue was also studied by immunohistochemical method.

**RESULTS:** Pathological stage was significantly correlated with the expression of LAMP2 ( $P < 0.05$ ). Pathological stage and expression of LAMP2 were correlated with gamma glutamyltranspeptidase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), direct bilirubin (DBIL) and albumin (ALB). Prothrombin time (PT), fibrinogen (FIB), IgG, IgM, antinuclear antibodies (ANA), anti-mitochondrial antibody (AMA), and anti-mitochondrial antibody M2 (AMA-M2) had no correlation with pathological stage or expression of LAMP2.

**CONCLUSION:** The abnormal expression of LAMP2 may have a role in the pathogenesis of PBC. Some laboratory parameters are helpful for judging hepatic pathological stage of PBC.

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

**Key Words:** Primary biliary cirrhosis; Lysosomal granule membrane protein; Liver biopsy; Pathological staging; Laboratory tests

Sun J, Chu YJ, Zhang FB, Zheng C. Correlation among hepatic biopsy pathohistology, expression of LAMP2 and laboratory parameters in patients with primary biliary cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 868-873 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/868.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.868>

## 摘要

**目的:** 探讨原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)患者肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2(lysosomal granule membrane protein, LAMP2)表达及血清学指标三者间的关系。

**方法:** 收集2003-06/2012-12于我院确诊为PBC的45例患者肝穿肝脏病理分期及其同期生化、血凝、免疫球蛋白及自身免疫性抗体滴



度,免疫组织化学方法观察LAMP2在PBC患者肝组织的表达,分析三者间的相关性。

**结果:**随着PBC患者肝脏组织病变程度的加重,LAMP2在肝组织的表达呈增加趋势( $\chi^2 = 20.534, P = 0.002$ ),二者相关系数( $r$ )为0.555( $P < 0.05$ );血清谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶、直接胆红素、白蛋白与肝脏病理分期相关系数 $r$ 分别为0.318、0.305、0.410和-0.295( $P$ 值分别为0.033、0.041、0.005和0.049),与LAMP2相关系数 $r$ 分别为0.578、0.522、0.479和-0.335( $P$ 值分别为0.000、0.000、0.001和0.024);其中直接胆红素在不同病理分期中位值差异具有统计学意义[3.9(2.3-69.4) *vs* 22.8(1.8-191.5) *vs* 18.4(4.1-275.3),  $P = 0.013$ ];谷氨酰转氨酶、碱性磷酸酶、直接胆红素、白蛋白在不同LAMP2表达强度下中位值差异均具有统计学意义[137.0(21.0-233.0) *vs* 233.5(5.0-657.0) *vs* 411.0(180.0-1351.0),  $P = 0.001$ ], [130.0(42.0-196.0) *vs* 205.5(74.0-801.0) *vs* 320.0(89.0-2114.0),  $P = 0.001$ ], [4.1(1.8-12.6) *vs* 14.3(2.3-186.0) *vs* 33.2(3.4-275.3),  $P = 0.006$ ], [41.3(37.3-45.6) *vs* 36.6(28.5-47.3) *vs* 36.9(27.0-48.2),  $P = 0.021$ ].凝血酶原时间、纤维蛋白原、免疫球蛋白IgG、免疫球蛋白IgM、抗核抗体滴度、抗线粒体抗体滴度、抗线粒体抗体M2亚型滴度与肝脏病理分期及LAMP2蛋白间均无显著相关性。

**结论:**LAMP2在肝组织异常表达可能与PBC发病机制有关;血清生化指标在一定程度上有助于PBC肝组织病变程度的判断。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**原发性胆汁性肝硬化;溶酶体膜蛋白-2;肝穿;病理分期;血清学指标

**核心提示:**血清生化指标在一定程度上有助于无病理情况下原发性胆汁性肝硬化患者肝组织病变程度的判断,但不能总是做出准确预测,肝穿仍然是最重要手段。

孙静,褚燕君,张芳宾,郑聪.原发性胆汁性肝硬化肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达及血清学指标关系.世界华人消化杂志 2014; 22(6): 868-873 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/868.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.868>

## 0 引言

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种慢性进行性胆汁淤积性肝病,其发

病机制未明,多种免疫因素参与其中.肝脏穿刺病理活检在PBC的诊断及疾病严重程度的判定中具有重要的价值<sup>[1]</sup>,然此项操作为有创检查,患者耐受性差.鉴于此,本研究通过回顾性分析PBC患者肝脏病理分期与血清学指标之间的联系,期望找到能够预测肝组织病变严重程度的临床指标,以指导在无病理情况时对病情的判断.溶酶体膜蛋白-2(lysosomal granule membrane protein, LAMP2)是新近发现的抗中性粒细胞浆抗体(antineutrophil cytoplasmic antibodies, ANCA)亚型<sup>[2]</sup>,参与多种自身免疫性疾病发生发展过程,本研究通过分析LAMP2在PBC患者肝脏中表达改变与血清学指标及肝组织病理分期的相关性,探讨LAMP2表达在PBC中的意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2003-06/2012-12于郑州大学第一附属医院行肝穿活检并确诊为PBC者.诊断均符合2000年美国肝脏病学会(America Association for the Study of Liver Diseases, AASLD)PBC指导意见<sup>[3]</sup>,排除合并其他自身免疫性肝病、系统自身免疫性疾病、各种急慢性病毒性肝炎、半年内使用可疑肝损伤药物、长期大量饮酒及临床资料不完整者.通过临床病案记录及病理科档案记录获取患者肝穿活检同期血清谷氨酰转氨酶(gamma glutamyltranspeptidase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、直接胆红素(direct bilirubin, DBIL)、白蛋白(albumin, ALB)、凝血酶原时间(prothrombin time, PT)、纤维蛋白原(fibrinogen, FIB)、抗核抗体(anti-nuclear antibodies, ANA)、抗线粒体抗体(anti-mitochondrial antibody, AMA)、抗线粒体抗体M2亚型(anti-mitochondrial antibody M2 typing, AMA-M2)、免疫球蛋白IgG及IgM等血清学指标及肝组织病理蜡块连续切片;免疫组织化学实验用兔抗人LAMP2抗体(1:100)、CW2035试剂盒、苏木素均为北京康为世纪生物科技有限公司产品。

### 1.2 方法

**1.2.1 血清学指标检测及肝穿组织病理分期:**血清GGT、ALP、DBIL、ALB采用日本Olympus全自动生化分析仪检测;PT、FIB采用罗氏CoaguChek XS血凝分析仪检测;ANA、AMA、AMA-M2采用免疫荧光法测定;免疫球蛋白采用Immage800特定蛋白分析仪检测.肝组织切片分别用苏木精-伊红(HE),网织纤维等常规染色,

## ■ 研究前沿

原发性胆汁性肝硬化起病隐袭,没有明显的临床症状,常仅表现为肝功异常,乏力,纳差,右上腹不适等,往往被误诊为慢性肝炎(病因不明型).目前认为本病可能是自身免疫性疾病的一种类型,患者常有细胞免疫及体液免疫的异常,还常合并其他自身免疫性疾病.总结该病相关的生化、肝穿病理特点,有助于此病的早期发现及诊疗,可为进一步探讨病因提供线索。

## ■相关报道

近年来,国内外大量研究关注了LAMP2在自身免疫性疾病发病机制中的可能作用,为揭开LAMP2的神秘面纱积累了大量的实验数据.

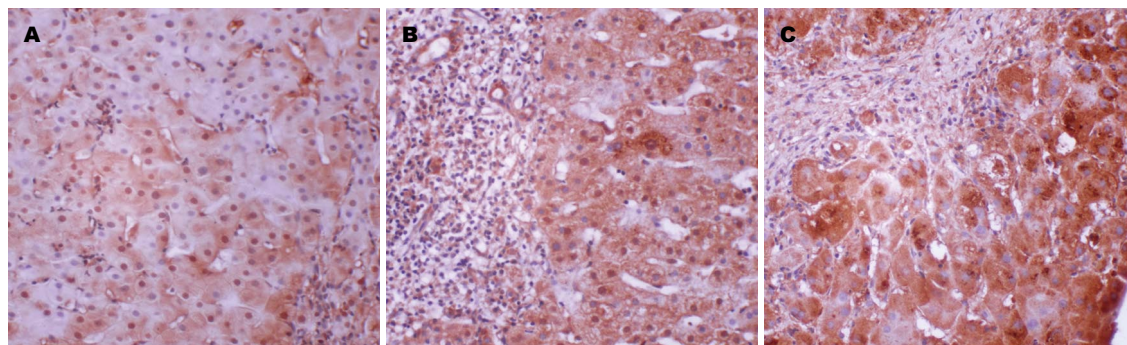


图1 LAMP2在PBC不同病理分期肝穿组织的表达( $\times 400$ ). A: I期PBC肝细胞阳性; B: II期肝细胞阳性; C: III期肝细胞阳性. LAMP2: 溶酶体膜蛋白-2.

表1 肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白-2表达强度关系( $n$ )

病理分期	LAMP2蛋白表达				合计
	-	+	++	+++	
I	0	5	9	0	14
II	1	2	11	5	19
III+IV <sup>1</sup>	0	1	2	9	12
合计	1	8	22	14	45

<sup>1</sup>因III、IV期病例数偏少,且二者间病理改变近似,故将两期合并分析. LAMP2: 溶酶体膜蛋白-2.

由我院2名病理科医师独立读片,肝组织病理分期根据Scheuer组织学分期<sup>[4]</sup>分4期: I期胆管炎期、II期胆管增生期、III期纤维化期和IV期肝硬化期;因III、IV期病例数偏少,且二者间病理改变近似,故将两期合并分析.

1.2.2 免疫组织化学法检测LAMP2在肝脏组织的表达: 甲醛固定,石蜡包埋肝活检蜡块,连续切片,采用PV-9000免疫组织化学二步法检测LAMP2的表达改变: LAMP2染色阳性信号定位于肝细胞胞浆中,呈棕黄色颗粒,每个标本随机观察5个高倍镜视野,每个视野记录200个肝细胞,阳性细胞百分数<5%为阴性(-),5%-25%为弱阳性(+),>25%-50%为阳性(++),>50%为强阳性(+++).

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件对研究数据进行统计分析. 符合正态分布的变量采用mean $\pm$ SD表示,非正态分布变量采用中位数(最低值-最高值)表示;多组定量资料间比较采用方差分析,无法转换的非正态资料采用非参数检验,等级资料间相关性分析采用Spearman秩相关分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

共45例患者纳入分析,其中女性42例,男性3例,中位年龄53岁(27-77岁).

2.1 PBC肝脏病理分期与LAMP2表达的关系(表1,图1) LAMP2表达强度在PBC不同肝脏病理分期间存在差异(有序多分类资料秩和检验, $\chi^2 = 20.534$ ,  $P = 0.002$ ),随着肝脏组织病变程度的加重,LAMP2在其肝组织的表达逐渐增强;两者呈正相关,相关系数 $r = 0.555(P<0.05)$ .

2.2 PBC肝脏病理分期与肝功能、血凝、免疫球蛋白的关系 血清GGT、ALP、DBIL水平与肝脏病理分期呈正相关, $r$ 分别为0.318、0.305和0.410, $P$ 分别为0.033、0.041和0.005. 血清ALB水平与肝脏病理分期呈负相关, $r = -0.295(P = 0.049)$ . 血清PT、FIB、IgM、IgG与肝脏病理分期无显著相关性, $r$ 分别为0.032、0.193、-0.054和0.203( $P$ 分别为0.836、0.205、0.726和0.182)(表2).

GGT在III+IV期中位值显著高于I期(Kruskal-Wallis检验, $Z = -2.109$ ,  $P = 0.035$ )及II期( $Z = -2.130$ ,  $P = 0.033$ ); ALP在III+IV期中位值显著高于I期( $Z = -2.006$ ,  $P = 0.045$ ); DBIL在II期及III+IV期中位值均高于I期( $Z$ 分别为-2.186、-3.035,  $P$ 分别为0.029、0.002); IgG在III+IV期平均值高于II期( $Z = -2.068$ ,  $P = 0.039$ ),其中DBIL在不同病理分期中位值差异具有统计学意义( $\chi^2 = 8.691$ ,  $P = 0.013$ ). 分别将GTT、ALP、DBIL和IgG与肝脏不同病理分期之间做受试者工作特征(receiver operating characteristic curve, ROC)曲线,用以反映不同生化指标对肝脏病理分期的预测性能,ROC曲线下面积均<0.7, $P$ 均>0.05.

2.3 PBC肝脏病理分期与自身免疫性抗体的关系 PBC患者肝脏病理分期与自身免疫性抗体ANA、AMA、AMA-M2滴度间无显著性相关, $r$ 分别为0.135、-0.066和0.051, $P$ 分别为0.377、0.667和0.742. 分析显示,上述三者抗体滴度在不同病理分期间均无统计学差异( $P$ 均>0.05).

表 2 病理分期与GGT、ALP、DBIL、ALB、PT、FIB、IgM、IgG的关系

分期	I	II	III+IV	统计值	P值
<i>n</i>	14	19	12		
GGT(U/L)	206.0(17.0–513.0)	194.0(5.0–842.0)	295.5(125.0–1351.0) <sup>ac</sup>	5.822	0.054
ALP(U/L)	153.5(74.0–405.0)	201.0(42.0–801.0)	256.5(89.0–2114.0) <sup>a</sup>	4.207	0.122
DBIL(μmol/L)	3.9(2.3–69.4)	22.8(1.8–191.5) <sup>a</sup>	18.4(4.1–275.3) <sup>a</sup>	8.691	0.013
ALB(g/L)	40.1 ± 3.86	37.67 ± 5.54	36.71 ± 4.09	1.802	0.177
PT(s)	11.96 ± 1.64	11.06 ± 2.02	12.36 ± 2.20	1.821	0.174
FIB(g/L)	3.08 ± 1.22	3.18 ± 0.90	3.48 ± 0.88	0.545	0.584
IgM(g/L)	4.19 ± 2.08	2.95 ± 2.00	4.25 ± 2.51	1.888	0.164
IgG(g/L)	14.23 ± 4.86	13.04 ± 3.88	16.92 ± 5.68 <sup>c</sup>	4.414	0.110

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs I期; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs II期. GGT: 谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶; DBIL: 直接胆红素; ALB: 白蛋白; PT: 凝血酶原时间; FIB: 纤维蛋白原.

表 3 LAMP2与GGT、ALP、DBIL、ALB、PT、FIB、IgM、IgG关系

LAMP2	-/+ <sup>1</sup>	++	+++	统计值	P值
<i>n</i>	9	22	14		
GGT(U/L)	137.0(21.0–233.0)	233.5(5.0–657.0)	411.0(180.0–1351.0) <sup>ac</sup>	14.877	0.001
ALP(U/L)	130.0(42.0–196.0)	205.5(74.0–801.0) <sup>a</sup>	320.0(89.0–2114.0) <sup>ac</sup>	13.829	0.001
DBIL(μmol/L)	4.1(1.8–12.6)	14.3(2.3–186.0) <sup>a</sup>	33.2(3.4–275.3) <sup>a</sup>	10.215	0.006
ALB(g/L)	41.3(37.3–45.6)	36.6(28.5–47.3)	36.9(27.0–48.2) <sup>a</sup>	7.774	0.021
PT(s)	11.36 ± 1.42	11.65 ± 2.09	11.97 ± 2.24	0.258	0.774
FIB(g/L)	2.96 ± 1.07	3.15 ± 1.07	3.52 ± 0.82	0.978	0.384
IgM(g/L)	2.6(1.1–10.4)	3.2(1.2–7.9)	2.8(1.4–9.7)	0.202	0.735
IgG(g/L)	12.1(10.0–23.4)	13.3(8.2–31.0)	13.1(8.4–20.2)	0.651	0.722

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs -/+组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs ++组. <sup>1</sup>组病例数偏少, 故将-组与+组合并分析. GGT: 谷氨酰转肽酶; ALP: 碱性磷酸酶; DBIL: 直接胆红素; ALB: 白蛋白; PT: 凝血酶原时间; FIB: 纤维蛋白原; LAMP2: 溶酶体膜蛋白-2.

2.4 LAMP2表达强度与肝功能、血凝、免疫球蛋白水平的关系 血清GGT、ALP、DBIL与LAMP2表达强度呈正相关, *r*分别为0.578、0.522、0.479, *P*分别为0.000、0.000和0.001; ALB水平与LAMP2表达呈负相关(*r* = -0.335, *P* = 0.024). PT、FIB、IgM、IgG与LAMP2表达无显著性相关, *r*分别为0.071、0.221、-0.052和-0.004, *P*分别为0.641、0.145、0.735和0.98, 如表3所示.

GGT、ALP、DBIL、ALB在不同蛋白表达强度下中位值差异具有统计学意义( $\chi^2$ 分别为14.877、13.829、10.215、7.774, *P*分别为0.001、0.001、0.006、0.021); GGT在LAMP2表达+++组平均值显著高于-/+组(*Z* = -3.655, *P* = 0.000)及++组(*Z* = -2.256, *P* = 0.000); ALP在不同蛋白表达强度下中位值两两间差异均具有统计学意义(*t* = -3.308, *P* = 0.021; *Z* = -2.546, *P*

= 0.001; *Z* = -2.044, *P* = 0.041); DBIL在+++组中位值显著高于-/+组(*Z* = -3.339, *P* = 0.001), ALB在-/+组中位值高于++组(*t* = 2.997, *P* = 0.019)及+++组(*Z* = -2.964, *P* = 0.003).

2.5 LAMP2表达强度与自身免疫性抗体的关系 PBC肝组织LAMP2表达强度与ANA、AMA、AMA-M2滴度间无显著性相关, *r*分别为0.182、0.145和0.205, *P*分别为0.231、0.391和0.224, 且三抗体滴度在不同蛋白表达强度下亦不存在明显差异(均*P* > 0.05).

### 3 讨论

3.1 PBC肝脏病理分期与血清学指标 肝穿病理活检在PBC的诊断及疾病严重程度的判定中具有重要价值, 然此项操作为有创检查, 存在诸多禁忌症及并发症, 患者耐受性差, 因此, 寻找能够预测PBC患者肝脏病理分期的临床指标显得

### ■创新盘点

国内国外大量文献通过回顾性分析原发性胆汁性肝硬化患者临床表现、生化检查、肝穿病理特点, 总结该病相关诊疗要点, 为临床工作提供依据. 本文在此基础上, 进一步通过实验验证此病患者肝脏特异标志物的表达情况, 深层次探究原发性胆汁性肝硬化的发病机制, 具有一定的前瞻性.



## ■同行评价

论文以探讨原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者肝脏病理分期与溶酶体膜蛋白(LAMP2)表达及血清学指标三者间的关系为目标,是一个很好的选题,有较好的学术价值。

十分必要。

血清中GGT、ALP均主要来自肝脏,分布于肝细胞的毛细胆管侧和整个胆管系统,胆汁淤积时刺激肝细胞过度产生GGT及ALP,并通过胆汁酸渗析作用随淤积胆汁返流入血,因此,GGT及ALP能一定程度上反映肝胆系统疾病病变严重程度。马丽娜等<sup>[5]</sup>曾报道GGT及ALP在PBC患者不同病理分期间存在显著差异,病理改变严重者GGT及ALP升高明显。我们的研究亦显示,GGT及ALP与肝脏病理分期间存在正相关关系,这与国内及国外Vleggaar等<sup>[6]</sup>研究结果一致。血清DBIL的升高能反映胆管减少及肝硬化程度,随着PBC疾病程度进展,此项指标进行性升高,与患者的预后相关<sup>[7]</sup>。本研究的结果与上述结论一致。ALB、PT、FIB均在一定程度上反映肝脏合成能力,但本研究显示,ALB与肝脏病理分期间相关系数仅为-0.295,PT及FIB与病理分期间无相关性,考虑(1)本研究样本量小,且为避免出现各种肝穿并发症,45例患者中7例在肝穿检查前输注新鲜冰冻血浆纠正凝血功能并补充ALB;(2)本研究中未能包含临床严重肝功能异常、凝血功能极差不适宜肝穿检查的患者。本研究分别将GGT、ALP和DBIL血清学水平与肝脏不同病理分期之间做ROC曲线,显示上述血清学指标不适合判定肝脏病理分期。

血清AMA或AMA-M2阳性是PBC最特征性免疫学指标,阳性率可达95%,是重要的早期诊断手段,我们的研究中,仅1例患者AMA及AMA-M2均阴性,阳性率达98%(44/45)。但我们的研究亦表明,AMA、AMA-M2滴度及IgM、IgG与PBC肝脏病理分期间均无相关性,王吉耀等<sup>[8]</sup>回顾性分析及金燕等<sup>[9]</sup>随访研究均显示AMA及AMA-M2阳性与临床病情无关。

3.2 LAMP2与PBC LAMP2基因定位于Xq24-q25,主要表达在胎盘、肝脏、肺脏,蛋白定位于内体膜、溶酶体膜、细胞膜,并穿梭于三种膜成分之间<sup>[10]</sup>。LAMP2确切功能尚不清楚,既往普遍认同LAMP2为一种结构蛋白,其特殊结构可防止溶酶体内强酸环境对溶酶体膜的自身溶解<sup>[11]</sup>;但近年研究发现,LAMP2在自身免疫性疾病的发生中发挥重要调控作用<sup>[12]</sup>,直接参与了中性粒细胞的黏附、自噬和抗原递呈<sup>[13]</sup>,被作为一种新的ANCA亚型提出<sup>[1]</sup>,Kain等<sup>[14]</sup>发现LAMP2自身抗体参与微量局灶坏死性肾小球肾炎的发生。

王璐等<sup>[15]</sup>研究发现LAMP2在PBC患者肝脏

组织表达强度与其病理分期呈正相关,可能参与肝细胞胆汁异常排泄过程,在PBC发病机制中发挥重要作用。我们的研究也证实,LAMP2与PBC肝脏病理分期间呈正相关,且LAMP2与GGT、ALP、DBIL等反映胆管病变程度的生化指标间也存在正相关关系。因此,我们推测,LAMP2在肝脏组织的表达异常可能参与PBC发病过程。

总之,在无法获得肝脏病理组织学资料时,定期检测肝功能、血凝、自身免疫性抗体、免疫球蛋白等临床指标有助于了解PBC病情程度,但不能对肝脏病理分期进行判定;因此,肝穿仍是PBC的重要诊断手段。LAMP2可能参与PBC发病过程,但具体发病机制问题有待进一步研究探讨。

## 4 参考文献

- 1 王学祥. 肝穿穿刺活检在肝硬化诊断与治疗方面的意义. 中国实用医学 2011; 6: 108-109
- 2 Kain R, Matsui K, Exner M, Binder S, Schaffner G, Sommer EM, Kerjaschki D. A novel class of auto-antigens of anti-neutrophil cytoplasmic antibodies in necrotizing and crescentic glomerulonephritis: the lysosomal membrane glycoprotein h-lamp-2 in neutrophil granulocytes and a related membrane protein in glomerular endothelial cells. *J Exp Med* 1995; 181: 585-597 [PMID: 7836914 DOI: 10.1084/jem.181.2.585]
- 3 Heathcote EJ. Management of primary biliary cirrhosis. The American Association for the Study of Liver Diseases practice guidelines. *Hepatology* 2000; 31: 1005-1013 [PMID: 10733559 DOI: 10.1053/he.2000.5984]
- 4 Scheuer PJ. Classification of chronic viral hepatitis: a need for reassessment. *J Hepatol* 1991; 13: 372-374 [PMID: 1808228 DOI: 10.1016/0168-8278(91)90084-O]
- 5 马丽娜, 黄雁翔, 曹振环, 陈新月. 53例原发性胆汁性肝硬化临床和病理分析. 实用肝脏病杂志 2008; 11: 166-168
- 6 Vleggaar FP, Van Ooteghem NA, Van Buuren HR, Van Berge Henegouwen GP. Cholestatic liver diseases: slow progress in understanding and treating slowly progressive disorders. *Scand J Gastroenterol Suppl* 2000; (232): 86-92 [PMID: 11232499]
- 7 Longo M, Crosignani A, Battezzati PM, Squarcia Giussani C, Invernizzi P, Zuin M, Podda M. Hyperlipidaemic state and cardiovascular risk in primary biliary cirrhosis. *Gut* 2002; 51: 265-269 [PMID: 12117892 DOI: 10.1136/gut.51.2.265]
- 8 王吉耀, 蒋伟, 高虹, 贺伯明, 刘文滨. 原发性胆汁性肝硬化的临床及病理学特征. 中华肝脏病杂志 2002; 10: 334-337
- 9 郭婧婧, 金燕, 张运丽. 原发性胆汁性肝硬化患者血清相关自身抗体检测及其临床意义. 医学临床研究 2006; 23: 1425-1427
- 10 Sawada R, Jardine KA, Fukuda M. The genes of major lysosomal membrane glycoproteins, lamp-1 and lamp-2. 5'-flanking sequence of lamp-2 gene and comparison of exon organization in two genes. *J Biol Chem* 1993; 268: 9014-9022 [PMID: 8517882]

- 11 Hunziker W, Simmen T, Höning S. Trafficking of lysosomal membrane proteins in polarized kidney cells. *Nephrologie* 1996; 17: 347-350 [PMID: 8987042]
- 12 Schneede A, Schmidt CK, Hölttä-Vuori M, Heeren J, Willenborg M, Blanz J, Domanskyy M, Breiden B, Brodesser S, Landgrebe J, Sandhoff K, Ikonen E, Saftig P, Eskelinen EL. Role for LAMP-2 in endosomal cholesterol transport. *J Cell Mol Med* 2011; 15: 280-295 [PMID: 19929948 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2009.00973.x]
- 13 Saftig P, Beertsen W, Eskelinen EL. LAMP-2: a control step for phagosome and autophagosome maturation. *Autophagy* 2008; 4: 510-512 [PMID: 18376150]
- 14 Kain R, Exner M, Brandes R, Ziehermayr R, Cunningham D, Alderson CA, Davidovits A, Raab I, Jahn R, Ashour O, Spitzauer S, Sunder-Plassmann G, Fukuda M, Klemm P, Rees AJ, Kerjaschki D. Molecular mimicry in pauci-immune focal necrotizing glomerulonephritis. *Nat Med* 2008; 14: 1088-1096 [PMID: 18836458 DOI: 10.1038/nm.1874]
- 15 王璐. 原发性胆汁性肝硬化相关抗体1F9的抗原分离及鉴定. 第四军医大学, 2012

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 蛋白激酶C在糖基化终末产物介导结肠平滑肌细胞内钙离子浓度中的作用

朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳

## ■背景资料

糖尿病(diabetes mellitus, DM)胃肠动力障碍与胃肠道自主神经、Cajal间质细胞及平滑肌细胞病变相关, 平滑肌病变在DM胃肠动力障碍中的研究已成为重点, 其中DM结肠平滑肌细胞内钙离子信号通路异常, 导致钙离子浓度异常, 是本病的病理基础之一。

朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳, 南京医科大学第一附属医院消化科 江苏省南京市 210029  
朱滢, 在读硕士, 主要从事胃肠动力性疾病的研究。  
国家自然科学基金资助项目, No. 81270462  
江苏省国际合作基金资助项目, No. BZ2011044  
作者贡献分布: 该课题由王云、朱滢及林琳共同设计; 研究过程由朱滢、孙晓萌及巩尧瑶操作完成; 研究所用试剂及分析工具由巩尧瑶与朱滢提供; 数据分析由朱滢与王庆娥完成; 论文撰写由朱滢完成; 林琳与王云协助课题设计并修改论文。  
通讯作者: 林琳, 教授, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院消化科。lin9100@aliyun.com  
电话: 025-68136920  
收稿日期: 2013-12-06 修回日期: 2013-12-30  
接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Advanced glycation end products inhibit intracellular calcium concentration in colon smooth muscle cells in a protein kinase C-dependent manner

Ying Zhu, Qing-E Wang, Yun Wang, Yao-Yao Gong, Xiao-Meng Sun, Lin Lin

Ying Zhu, Qing-E Wang, Yun Wang, Yao-Yao Gong, Xiao-Meng Sun, Lin Lin, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81270462; the International Science and Technology Cooperation Program of Jiangsu Province, No. BZ2011044

Correspondence to: Lin Lin, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 300 Guangzhou Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. lin9100@aliyun.com  
Received: 2013-12-06 Revised: 2013-12-30  
Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of advanced glycation end products (AGEs) on intracellular calcium concentration in isolated colonic smooth muscle cells and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** Colonic smooth muscle cells were

isolated from normal adult rats, and immunofluorescence staining for  $\alpha$ -actin was used to identify smooth muscle cells. The responsiveness of colonic smooth muscle cells to AGEs was measured by confocal laser scanning microscopy. Intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration ( $[\text{Ca}^{2+}]_i$ ) was determined by Fluo3/AM based digital microfluorimetric measurement. Protein kinase C (PKC) activity was detected by PKC activity assay. PKC inhibitor chelerythrine was used to examine the role of PKC in AGEs-mediated inhibition of  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in colonic smooth muscle cells.

**RESULTS:** Colonic smooth muscle cells were successfully isolated from normal rats and identified by immunofluorescence staining. AGEs inhibited  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in a concentration-dependent manner. AGEs at a concentration of 50 or 100  $\mu\text{g/mL}$  significantly inhibited the mean  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  compared with the control group ( $56.7\% \pm 3.6\%$ ,  $78.6\% \pm 5\%$  vs  $99.6\% \pm 3.1\%$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). PKC activity increased in SMCs treated with 50  $\mu\text{g/mL}$  or 100  $\mu\text{g/mL}$  of AGEs compared with the control group. Pretreatment with chelerythrine (1  $\mu\text{mol/L}$ ) reduced AGEs-mediated inhibition of  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  ( $70.7\% \pm 3.7\%$  vs  $87.1\% \pm 2.5\%$ ,  $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** AGEs inhibit  $[\text{Ca}^{2+}]_i$  in colonic smooth muscle cells in a PKC-dependent manner.

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

**Key Words:** Advanced glycation end products; Smooth muscle cell; Protein kinase C;  $\text{Ca}^{2+}$

Zhu Y, Wang QE, Wang Y, Gong YY, Sun XM, Lin L. Advanced glycation end products inhibit intracellular calcium concentration in colon smooth muscle cells in a protein kinase C-dependent manner. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(6): 874-879 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/874.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.874>

## ■同行评议者

刘长征, 副教授, 中国医学科学院基础医学研究所



## 摘要

**目的:** 探讨糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)对结肠平滑肌细胞内钙离子浓度的影响及可能机制。

**方法:** 酶解法分离培养SD大鼠结肠平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC),  $\alpha$ -actin免疫荧光鉴定; 激光共聚焦显微镜检测(SMC)钙闪烁; 蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)活性检测试剂盒检测细胞PKC活性。

**结果:** 细胞免疫荧光鉴定大鼠结肠SMC。不同浓度AGEs(50、100  $\mu\text{g/mL}$ )刺激结肠SMC后, 与对照组比较, 钙离子浓度显著降低( $56.7\% \pm 3.6\%$ 、 $78.6\% \pm 5\%$  vs  $99.6\% \pm 3.1\%$ ,  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), 50  $\mu\text{g/mL}$ 为体外最大有效浓度。与对照组相比, AGEs(50、100  $\mu\text{g/mL}$ )升高细胞内PKC活性。PKC抑制剂chelerythrine可阻断AGEs介导的钙离子浓度降低( $70.7\% \pm 3.7\%$  vs  $87.1\% \pm 2.5\%$ ,  $P < 0.05$ )。

**结论:** AGEs可激活PKC通路、从而降低胞内钙离子的浓度, 最终抑制大鼠结肠平滑肌收缩。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 糖基化终末产物; 结肠平滑肌细胞; 蛋白激酶C; 钙离子

**核心提示:** 本研究提示糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)可激活结肠平滑肌细胞内的蛋白激酶C(protein kinase C, PKC), PKC磷酸化下游底物丝/苏氨酸残基, 调节结肠平滑肌细胞内钙离子浓度, 参与细胞收缩等功能。

朱滢, 王庆娥, 王云, 巩尧瑶, 孙晓萌, 林琳. 蛋白激酶C在糖基化终末产物介导结肠平滑肌细胞内钙离子浓度中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 874-879 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/874.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.874>

## 0 引言

糖尿病胃肠动力障碍是糖尿病(diabetes mellitus, DM)的慢性并发症之一, 发生于75%的DM患者<sup>[1,2]</sup>。糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)在DM患者血清及各种组织中均显著升高, 他与DM肾病、DM血管病变的研究颇多, 与DM胃肠动力障碍的研究很少<sup>[3,4]</sup>。细胞外钙内流和内钙释放是平滑肌细胞(smooth muscle cell, SMC)收缩的决定因素; DM结肠

SMC内钙离子信号通路异常, 导致钙离子浓度异常<sup>[5,6]</sup>。本文探讨AGEs是否影响结肠SMC内钙离子浓度及可能机制, 为DM胃肠道动力障碍的研究提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 清洁级SD大鼠, 体质量150-200 g, 由南京医科大学实验动物中心提供; DMEM培养基、胎牛血清、青链霉素混悬液、大豆胰蛋白酶抑制剂(Gibco, USA);  $\alpha$ -actin抗体(Abgent, USA); AGEs(Merck Millipore, Germany); FITC标记山羊抗大鼠IgG二抗(Bioworld, USA); 蛋白激酶C(protein kinase C, PKC)检测试剂盒(Enzo, USA); PKC抑制剂chelerythrine、II型胶原酶(Sigma, USA); Fluo-3/AM(Invitrogen, USA)。

### 1.2 方法

**1.2.1 结肠SMCs的分离及原代培养:** SD大鼠断颈处死, 快速自肛门上2 cm取结肠10 cm左右, 用Hepes-Ringer缓冲液反复冲洗, 去除黏膜和浆膜层、剪碎平滑肌组织、加入消化液(0.1%的II型胶原酶和0.01%的大豆胰蛋白酶抑制剂)消化、离心, 含10%胎牛血清及DMEM培养液重悬细胞、过筛; 锥虫蓝染色确认细胞活力 $>90\%$ , 于37  $^{\circ}\text{C}$ 、95% $\text{O}_2$ 和5% $\text{CO}_2$ 条件下培养, SMCs长至致密单层时, 传代培养, 采用2代SMCs进行实验。

**1.2.2 结肠SMCs的鉴定:** 取对数生长期的SMCs, 胰蛋白酶消化、制成单细胞悬液、接种到放有载玻片的培养皿中、 $\text{CO}_2$ 培养箱培养1-3 d, 待SMCs长至单层时, 吸去培养液, PBS冲洗、冰丙酮固定、PBS冲洗、BSA封闭30 min后吸去、加 $\alpha$ -actin一抗(1:100), 阴性对照不加一抗, 4  $^{\circ}\text{C}$ 过夜, PBS冲洗; 加羊抗兔IgG二抗(1:500), 室温避光湿盒中孵育1 h, 冲洗、hoechst33258染核3 min、PBS冲洗、封片、镜下观察特异性荧光。

**1.2.3 细胞内钙离子浓度的检测:** 用DMSO溶解的Fluo-3/AM为钙荧光探针, SMCs接种于玻底皿中, PBS冲洗后, 加5  $\mu\text{mol/L}$ 的Fluo-3/AM, 置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、95% $\text{O}_2$ 和5% $\text{CO}_2$ 孵育箱40 min、PBS冲洗; 激光共聚焦显微镜激发光波488 nm, 发射光波为515 nm, 采样间歇为2 s, 记录单个SMC在给予AGEs前后荧光强度变化(荧光强度表示为F/F<sub>0</sub>, F<sub>0</sub>为初始荧光强度)。

**1.2.4 PKC活性检测:** 蛋白裂解液提取各组细胞蛋白, 4  $^{\circ}\text{C}$ 、12000 r/min、5 min、取上清, BCA法测定蛋白总量, 加待检样品30  $\mu\text{L}$ 于包被的反应孔中, 37  $^{\circ}\text{C}$ 孵育2 h, 洗涤、加酶标抗体30  $\mu\text{L}$ ,

## ■ 研发前沿

糖基化终末产物(advanced glycation end products, AGEs)在DM患者血清及各种组织中均显著升高, 他与DM肾病、DM血管病变的研究颇多。但AGEs与DM结肠平滑肌病变相关迄今为止尚未报道。

## ■相关报道

国内外研究报道DM胃肠动力障碍存在胃肠道平滑肌病变,且DM结肠平滑肌细胞内存在钙离子信号通路异常.

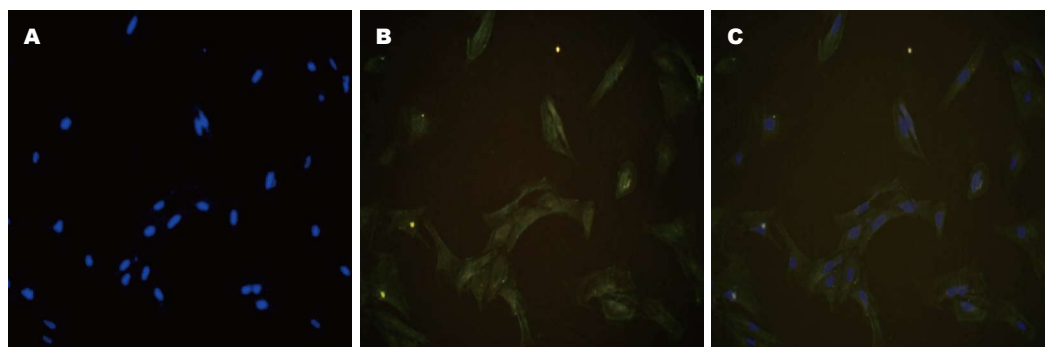


图1 大鼠结肠SMC鉴定(细胞免疫荧光×200). A: Hoechst33258染色细胞核(蓝色); B:  $\alpha$ -actin染色(绿色); C: 融合.

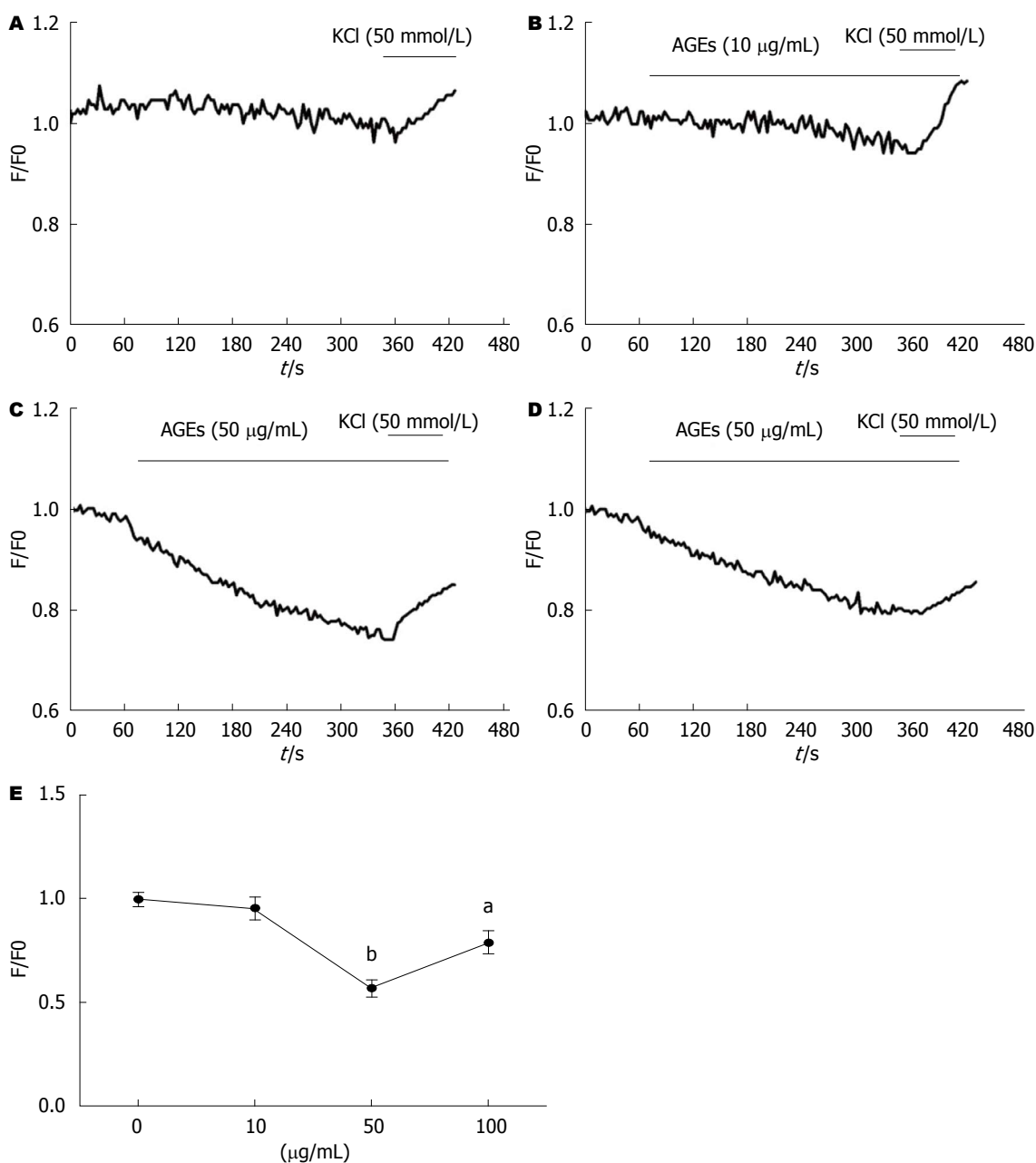


图2 Fluo-3/AM负载大鼠结肠SMC钙离子, 给予不同浓度AGEs荧光强度的变化. A: 对照组; B: 10  $\mu$ g/mL AGEs; C: 50  $\mu$ g/mL AGEs; D: 100  $\mu$ g/mL AGEs; E: 不同浓度AGEs介导结肠SMC荧光强度, 用F/F0表示, F: 实时荧光强度; F0: 基础荧光强度. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

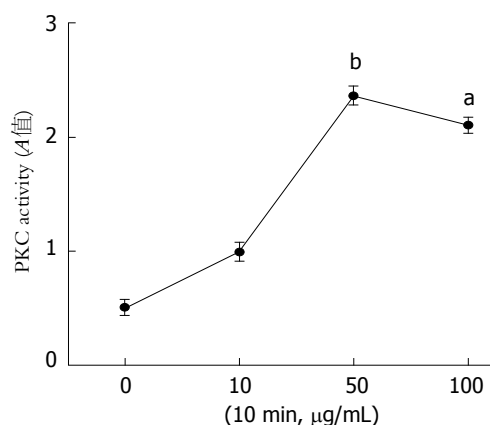


图3 不同浓度AGEs对结肠SMC中PKC活性的影响. AGEs在50  $\mu\text{g/mL}$ 和100  $\mu\text{g/mL}$ 时, 升高细胞内PKC活性. <sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照组.

室温孵育2 h, 洗涤、加显色液30  $\mu\text{L}$ 、显色30-45 min、终止反应, 在450 nm波长读板.

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件包分析, 非参数检验之K-S检验进行数据正态性分析, 各组数据均呈正态分布, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 各组间比较采用单因素方差分析和成组 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 结肠SMCs鉴定(免疫荧光)** 细胞核Hoechst染色呈蓝色, 大部分细胞 $\alpha$ -actin荧光反应阳性, 细胞呈梭形(胞质见红色荧光)(图1).

**2.2 不同浓度AGEs对结肠SMCs中钙离子浓度的影响** 与对照组相比, AGEs在50和100  $\mu\text{g/mL}$ 时, 降低Fluo-3/AM负载的钙离子荧光强度( $56.7\% \pm 3.6\%$ 、 $78.6\% \pm 5\%$  vs  $99.6\% \pm 3.1\%$ ,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 说明AGEs可降低SMCs内钙离子浓度; AGEs在10  $\mu\text{g/mL}$ 时, 与对照组的差异无统计学意义; 实验结束后加入50 mmol/L氯化钾, 钙离子显著升高表示细胞活性良好(图2).

**2.3 不同浓度AGEs对结肠SMCs中PKC活性的影响** 与对照组相比, AGEs在50  $\mu\text{g/mL}$ 和100  $\mu\text{g/mL}$ 时, 升高细胞内PKC活性( $2.3600 \pm 0.0723$ 、 $2.1060 \pm 0.0625$  vs  $0.5123 \pm 0.0614$ ,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 而AGEs在10  $\mu\text{g/mL}$ 时, 与对照组差异无统计学意义(图3).

**2.4 PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低** 预先给予PKC抑制剂chelerythrine(1  $\mu\text{mol/L}$ )可显著升高Fluo-3/AM负载的钙离子荧光强度, 说明细胞内钙离子浓度明显增加; 再加入AGEs后荧光强度下降, 但下降较溶剂

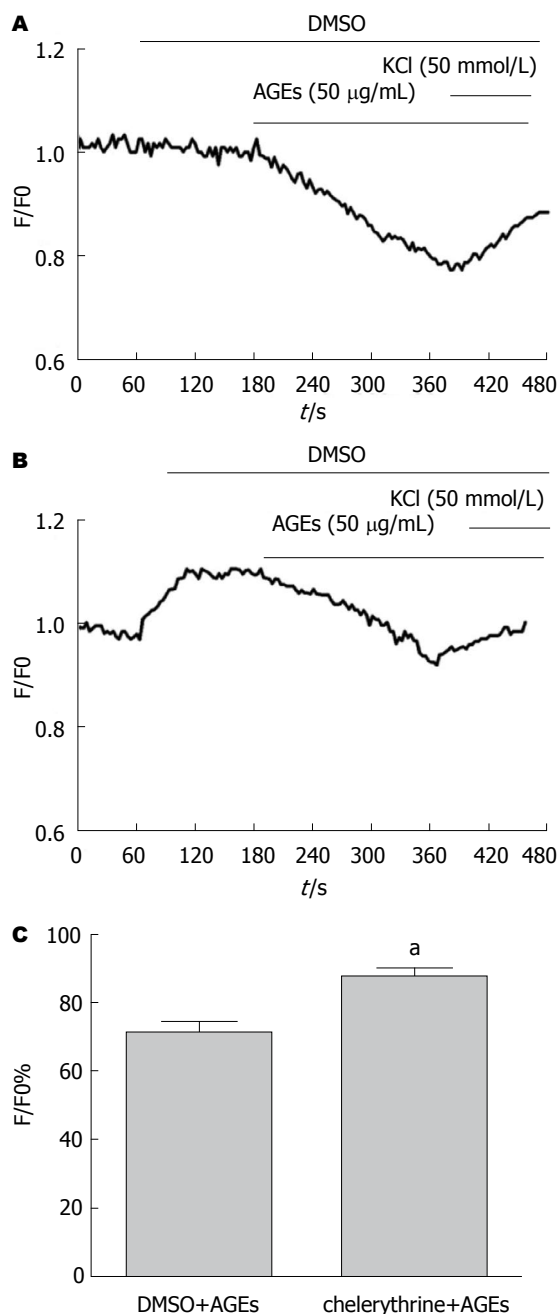


图4 PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低. A: 溶剂对照组; B: PKC抑制剂chelerythrine组; C: PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低, 用 $F/F_0\%$ 表示,  $F$ : 实时荧光强度,  $F_0$ : 基础荧光强度. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs 溶剂对照组. AGEs: 糖基化终末产物.

对照组(DMSO, 1  $\mu\text{L}$ )明显减少. 提示PKC抑制剂chelerythrine阻断AGEs介导的钙离子浓度降低( $70.7\% \pm 3.7\%$  vs  $87.1\% \pm 2.5\%$ ,  $P<0.05$ )(图4).

## 3 讨论

本实验证实: AGEs可以影响细胞内钙离子浓度, 其通过活化PKC, 来降低细胞内钙离子浓度; 而PKC抑制剂chelerythrine则可阻断AGEs降低细

### ■创新盘点

文本首次采用激光共聚焦的方法观测AGEs对结肠平滑肌细胞内钙离子浓度的影响及可能机制, 为DM胃肠道动力障碍研究提供依据.



### ■应用要点

本研究提示AGEs抑制结肠平滑肌细胞内钙离子浓度,可能是DM胃肠动力障碍的相关机制,为临床治疗DM胃肠动力障碍提供治疗靶点。

胞内钙离子浓度的作用。提示PKC参与了AGEs抑制大鼠结肠SMCs钙信号的作用,减少钙离子释放<sup>[7,8]</sup>。

细胞外钙内流和内钙释放是SMCs收缩的决定因素,经典的钙致敏平滑肌收缩机制是:钙离子与钙调蛋白结合,再结合并激活肌球蛋白轻链激酶(myosin light chain kinase, MLCK),激活的MLCK磷酸化肌球蛋白轻链(myosin light chain, MLC),促进肌动蛋白和肌球蛋白之间的横桥周期、导致平滑肌收缩。而肌球蛋白轻链磷酸酶(myosin light chain phosphatase, MLCP)可使肌球蛋白轻链去磷酸化、导致平滑肌松弛<sup>[9,10]</sup>。

研究发现PKC有多种亚型,其中 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 等亚型主要分布于胃肠SMC上,PKC可被DAG、 $\text{Ca}^{2+}$ 或磷脂激活,参与调节细胞收缩、细胞增殖、代谢和凋亡等多种过程<sup>[11-13]</sup>。生理条件下,磷脂酶C(phospholipase C, PLC)激活,水解4,5-二磷酸磷脂酰肌醇(4,5-phosphatidylinositol biphosphate, PIP2)产生三磷酸肌醇(inositol triphosphate, InsP3)和甘油二酯(diacylglycerides, DAG),InsP3与内质网上InsP3R结合、引起内质网钙离子释放,细胞内钙离子浓度升高;同时PKC活化负反馈调节钙离子的释放<sup>[14-16]</sup>,PKC这种保护性负反馈机制一方面源于细胞内钙过度释放、导致内质网自身应急信号的激活,另一方面可防止细胞内钙过度释放引起能量浪费和细胞损伤<sup>[17,18]</sup>;该生理过程决定着多种生物学效应,如钙依赖性酶和通道的激活,细胞收缩等<sup>[19-21]</sup>。另有文献报道,其他一些蛋白激酶如PKG、PKA也能负反馈调节细胞内钙离子浓度,发挥相应的生物学功能<sup>[22-24]</sup>。

文献报道AGEs在DM患者血清及组织中比正常人明显升高,他可通过氧化应激、糖基化修饰某些蛋白在DM并发症中起重要作用<sup>[25,26]</sup>。本实验的新颖点:从DM结肠SMCs病变入手,探讨AGEs是否通过SMCs内钙离子途径、最终影响SMCs收缩的。遗憾的是:AGEs作用受体及信号通路尚不明确(尤其是胃肠平滑肌AGEs的作用受体不明),因此没有特异性受体拮抗剂<sup>[27-29]</sup>,不能直接证明AGEs降低SMCs内钙离子浓度的信号通路。另外,调节SMCs内钙离子的机制很多,AGEs是否影响细胞外钙离子内流?是作用于胞膜上T型钙通道或者L型钙通道还是抑制内质网上InsP3R3或ryanodine受体释放钙离子<sup>[30]</sup>?仍有待研究证实。最后,SMCs内钙离子浓度的检测还

可以结合流式细胞术及膜片钳技术多重证实。

总之,AGEs可以降低结肠SMC内钙离子浓度从而抑制收缩。AGEs激活PKC降低细胞内钙离子浓度,是细胞内钙离子降低的重要因素。DM患者结肠动力障碍与患者血清及组织中AGEs增多相关,AGEs对结肠平滑肌是否有直接抑制作用,以及AGEs降低结肠SMCs内钙离子的其他机制,仍待研究。

### 4 参考文献

- 1 Chandrasekharan B, Anitha M, Blatt R, Shahnavaz N, Kooby D, Staley C, Mwangi S, Jones DP, Sitaraman SV, Srinivasan S. Colonic motor dysfunction in human diabetes is associated with enteric neuronal loss and increased oxidative stress. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: 131-138, e26 [PMID: 20939847 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01611.x]
- 2 Wang YR, Fisher RS, Parkman HP. Gastroparesis-related hospitalizations in the United States: trends, characteristics, and outcomes, 1995-2004. *Am J Gastroenterol* 2008; 103: 313-322 [PMID: 18047541 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01658.x]
- 3 Neves D. Advanced glycation end-products: a common pathway in diabetes and age-related erectile dysfunction. *Free Radic Res* 2013; 47 Suppl 1: 49-69 [PMID: 23822116 DOI: 10.3109/10715762.2013.821701]
- 4 Zhao Z, Liu J, Shi B, He S, Yao X, Willcox MD. Advanced glycation end product (AGE) modified proteins in tears of diabetic patients. *Mol Vis* 2010; 16: 1576-1584 [PMID: 20806041]
- 5 Touw K, Chakraborty S, Zhang W, Obukhov AG, Tune JD, Gunst SJ, Herring BP. Altered calcium signaling in colonic smooth muscle of type 1 diabetic mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G66-G76 [PMID: 21979758 DOI: 10.1152/ajpgi.00183.2011]
- 6 Clark RJ, McDonough PM, Swanson E, Trost SU, Suzuki M, Fukuda M, Dillmann WH. Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 2003; 278: 44230-44237 [PMID: 12941958 DOI: 10.1074/jbc.M303810200]
- 7 Yue C, Ku CY, Liu M, Simon MI, Sanborn BM. Molecular mechanism of the inhibition of phospholipase C beta 3 by protein kinase C. *J Biol Chem* 2000; 275: 30220-30225 [PMID: 10893237 DOI: 10.1074/jbc.M004276200]
- 8 Codazzi F, Teruel MN, Meyer T. Control of astrocyte  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations and waves by oscillating translocation and activation of protein kinase C. *Curr Biol* 2001; 11: 1089-1097 [PMID: 11509231 DOI: 10.1016/S0960-9822(01)00326-8]
- 9 Gao N, Huang J, He W, Zhu M, Kamm KE, Stull JT. Signaling through myosin light chain kinase in smooth muscles. *J Biol Chem* 2013; 288: 7596-7605 [PMID: 23362260 DOI: 10.1074/jbc.M112.427112]
- 10 Ihara E, Chappellaz M, Turner SR, MacDonald JA. The contribution of protein kinase C and CPI-17 signaling pathways to hypercontractility in murine experimental colitis. *Neurogastroenterol Motil* 2012; 24: e15-e26 [PMID: 22093175 DOI: 10.1111/

- j.1365-2982.2011.01821.x]
- 11 Young SH, Wu SV, Rozengurt E.  $\text{Ca}^{2+}$ -stimulated  $\text{Ca}^{2+}$  oscillations produced by the  $\text{Ca}^{2+}$ -sensing receptor require negative feedback by protein kinase C. *J Biol Chem* 2002; 277: 46871-46876 [PMID: 12356761 DOI: 10.1074/jbc.M207083200]
  - 12 Janiak R, Wilson SM, Montague S, Hume JR. Heterogeneity of calcium stores and elementary release events in canine pulmonary arterial smooth muscle cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2001; 280: C22-C33 [PMID: 11121373]
  - 13 Berridge MJ, Lipp P, Bootman MD. The versatility and universality of calcium signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2000; 1: 11-21 [PMID: 11413485 DOI: 10.1038/35036035]
  - 14 Hirose K, Kadowaki S, Tanabe M, Takeshima H, Iino M. Spatiotemporal dynamics of inositol 1,4,5-trisphosphate that underlies complex  $\text{Ca}^{2+}$  mobilization patterns. *Science* 1999; 284: 1527-1530 [PMID: 10348740]
  - 15 Berridge MJ. Smooth muscle cell calcium activation mechanisms. *J Physiol* 2008; 586: 5047-5061 [PMID: 18787034 DOI: 10.1113/jphysiol.2008.160440]
  - 16 Lo KJ, Luk HN, Chin TY, Chueh SH. Store depletion-induced calcium influx in rat cerebellar astrocytes. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1383-1392 [PMID: 11906951 DOI: 10.1038/sj.bjp.0704594]
  - 17 Montero M, Lobatón CD, Gutierrez-Fernández S, Moreno A, Alvarez J. Modulation of histamine-induced  $\text{Ca}^{2+}$  release by protein kinase C. Effects on cytosolic and mitochondrial  $[\text{Ca}^{2+}]$  peaks. *J Biol Chem* 2003; 278: 49972-49979 [PMID: 14523015 DOI: 10.1074/jbc.M308378200]
  - 18 Hajnóczky G, Davies E, Madesh M. Calcium signalling and apoptosis. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 304: 445-454 [PMID: 12729578 DOI: 10.1016/s0006-291x(03)00616-8]
  - 19 Zhu J, Chen L, Xia H, Luo HS. Mechanisms mediating CCK-8S-induced contraction of proximal colon in guinea pigs. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 1076-1085 [PMID: 20205277 DOI: 10.3748/wjg.v16.i9.1076]
  - 20 Gong YY, Si XM, Lin L, Lu J. Mechanisms of cholecystokinin-induced calcium mobilization in gastric antral interstitial cells of Cajal. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 7184-7193 [PMID: 23326123 DOI: 10.3748/wjg.v18.i48.7184]
  - 21 Schöfl C, Börger J, Mader T, Waring M, von zur Mühlen A, Brabant G. Tolbutamide and diazoxide modulate phospholipase C-linked  $\text{Ca}^{2+}$  signalling and insulin secretion in beta-cells. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; 278: E639-E647 [PMID: 10751197]
  - 22 Murthy KS. cAMP inhibits  $\text{IP}(3)$ -dependent  $\text{Ca}^{2+}$  release by preferential activation of cGMP-primed PKG. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G1238-G1245 [PMID: 11668033]
  - 23 Soulsby MD, Wojcikiewicz RJ. The type III inositol 1,4,5-trisphosphate receptor is phosphorylated by cAMP-dependent protein kinase at three sites. *Biochem J* 2005; 392: 493-497 [PMID: 16107208 DOI: 10.1042/BJ20051325]
  - 24 Straub SV, Giovannucci DR, Bruce JL, Yule DI. A role for phosphorylation of inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in defining calcium signals induced by Peptide agonists in pancreatic acinar cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 31949-31956 [PMID: 12065595 DOI: 10.1074/jbc.M204318200]
  - 25 Fujimoto E, Kobayashi T, Fujimoto N, Akiyama M, Tajima S, Nagai R. AGE-modified collagens I and III induce keratinocyte terminal differentiation through AGE receptor CD36: epidermal-dermal interaction in acquired perforating dermatosis. *J Invest Dermatol* 2010; 130: 405-414 [PMID: 19865095 DOI: 10.1038/jid.2009.269]
  - 26 Wei Q, Ren X, Jiang Y, Jin H, Liu N, Li J. Advanced glycation end products accelerate rat vascular calcification through RAGE/oxidative stress. *BMC Cardiovasc Disord* 2013; 13: 13 [PMID: 23497312 DOI: 10.1186/1471-2261-13-13]
  - 27 Vlassara H, Striker GE. AGE restriction in diabetes mellitus: a paradigm shift. *Nat Rev Endocrinol* 2011; 7: 526-539 [PMID: 21610689 DOI: 10.1038/nrendo.2011.74]
  - 28 Yan SF, Ramasamy R, Schmidt AM. Receptor for AGE (RAGE) and its ligands-cast into leading roles in diabetes and the inflammatory response. *J Mol Med (Berl)* 2009; 87: 235-247 [PMID: 19189073 DOI: 10.1007/s00109-009-0439-2]
  - 29 Fujita T. AGE/RAGE axis in the development of abdominal aortic aneurysm. *Ann Surg* 2010; 252: 203-25; author reply 205 [PMID: 20562684 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181e495e6]
  - 30 Dabertrand F, Nelson MT, Brayden JE. Ryanodine receptors, calcium signaling, and regulation of vascular tone in the cerebral parenchymal microcirculation. *Microcirculation* 2013; 20: 307-316 [PMID: 23216877 DOI: 10.1111/micc.12027]

#### 同行评价

本文有一定的学术价值, 研究论点新颖, 为探索DM胃肠动力障碍、平滑肌病变提供了新思路。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# NICE分类对结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉鉴别诊断的价值

司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋

## ■背景资料

大多数结直肠癌是经过腺瘤-腺癌的途径发生的, 因此对结直肠腺瘤的早期诊断及内镜下治疗是减少结直肠癌发生的重要干预措施。结直肠腺瘤多以息肉样形态存在, 因此如何简单、准确地在内镜下识别腺瘤性息肉对决定进一步治疗措施是非常重要的。以往的研究均基于放大内镜完成, 由于受放大结肠镜普及受限未能在临床上广泛推广。

司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科 北京市 100038

司空银河, 北京大学医学部2011级在读硕士, 主要从事消化内镜方面的研究。

作者贡献分布: 本文由林香春与司空银河设计; 研究过程由司空银河、林香春、吴静、刘揆亮、蔺武、魏南、姜国俊、刘红、台卫平、宿慧及刘芳勋完成; 数据分析由司空银河、刘揆亮及林香春完成; 论文写作由司空银河与林香春完成。

通讯作者: 林香春, 副教授, 100038, 北京市海淀区羊坊店铁匠路10号, 首都医科大学附属北京世纪坛医院消化内科。

xiangchunlin@hotmail.com

电话: 010-63926370 传真: 010-63926211

收稿日期: 2013-12-05 修回日期: 2014-1-13

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-02-28

## Value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps

Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Kui-Liang Liu, Wu Lin, Nan Wei, Guo-Jun Jiang, Hong Liu, Wei-Ping Tai, Hui Su, Fang-Xun Liu

Yin-He Sikong, Xiang-Chun Lin, Jing Wu, Kui-Liang Liu, Wu Lin, Nan Wei, Guo-Jun Jiang, Hong Liu, Wei-Ping Tai, Hui Su, Fang-Xun Liu, Department of Gastroenterology, Capital Medical University Affiliated Beijing Shijitan Hospital, Beijing 100038, China

Correspondence to: Xiang-Chun Lin, Chief Physician, Associate Professor, Department of Gastroenterology, Capital Medical University Affiliated Beijing Shijitan Hospital, 10 Yangfangdian Teyi Road, Haidian District, Beijing 100038, China. xiangchunlin@hotmail.com

Received: 2013-12-05 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To systemically evaluate the value of narrow-band imaging international colorectal endoscopic (NICE) classification in differentiating neoplastic and non-neoplastic colorectal polypoid lesions.

**METHODS:** A series of 60 white-light endoscopy (WLE) and narrow-band imaging (NBI) images of colorectal polyps were studied. They were subjected to 10 raters to predict the pathology using NICE classification, and those 10 raters were divided into 2 groups, NBI-experienced group and NBI-beginner group. The histopa-

thology was used as the gold standard to calculate the specificity, sensitivity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of NICE classification in predicting pathology of colorectal polyps, and compare if there were significant differences between the two groups in sensitivity, specificity and accuracy.

**RESULTS:** The sensitivity, specificity, accuracy, positive predictive value and negative predictive value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps were 99.33%, 64.67%, 82.00%, 74.40% and 98.95%, respectively, in the NBI-experienced group, and 91.33%, 66.00%, 78.67%, 73.70% and 90.16%, respectively, in the NBI-beginner group. There was no significant difference between the two groups in sensitivity, specificity and accuracy. The interobserver agreement was good.

**CONCLUSION:** Use of NICE classification in NBI colonoscopy could effectively distinguish neoplastic and non-neoplastic colorectal polyps, and it could be used by both NBI experienced endoscopists and NBI beginners.

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

**Key Words:** Narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification; Colorectal polyps; Narrow-band imaging

Sikong YH, Lin XC, Wu J, Liu KL, Lin W, Wei N, Jiang GJ, Liu H, Tai WP, Su H, Liu FX. Value of NICE classification in differentiating colorectal neoplastic and non-neoplastic polyps. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 880-884  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/880.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.880>

## 摘要

**目的:** 系统评价基于窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察的国际结直肠分类系统(narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification, NICE)对结直肠息肉样病变性质的诊断价值。

**方法:** 10名医师分为NBI有经验组及NBI初学

## ■同行评议者

张凤春, 教授, 上海交通大学医学院附属仁济医院



组, 独立读取入选的54例患者的60枚结直肠息肉的常规内镜下及NBI模式下的图片。根据NICE分类预测息肉为肿瘤性或非肿瘤性, 以组织病理学结果为金标准分别计算两组诊断肿瘤性及非肿瘤性息肉的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值; 比较两组准确率、敏感性、特异性有无差异; 评价观察者间一致性。

**结果:** NICE分类诊断肿瘤性及非肿瘤性息肉的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值在有经验组分别为99.33%、64.67%、82.00%、74.40%及98.95%; 在初学者组分别为91.33%、66.00%、78.67%、73.70%及90.16%。两组敏感性、特异性及准确率无显著差异。观察者间一致性良好。

**结论:** NICE分型在鉴别肿瘤性及非肿瘤性息肉方面具有较可靠的诊断价值, 不仅适用于NBI有经验者, 亦适用于NBI初学者。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** NICE分类; 结直肠息肉; NBI

**核心提示:** 本文采用基于窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察的国际结直肠分类系统(narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification, NICE), 由2组医生(NBI有经验组及NBI初学者组)对60枚结肠息肉样病变进行读片并预测其为肿瘤性或非肿瘤性病变, 计算各组的诊断敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值, 并比较组内、组间一致性。结果显示NICE分类系统在预测息肉的肿瘤性及非肿瘤性息肉方面具有较高的敏感性及准确率, 组内及组间一致性良好。提示NICE分类系统简便、易学、准确性高, 具有重要的临床应用价值。

司空银河, 林香春, 吴静, 刘揆亮, 蔺武, 魏南, 姜国俊, 刘红, 台卫平, 宿慧, 刘芳勋. NICE分类对结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉鉴别诊断的价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 880-884  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/880.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.880>

## 0 引言

由于我国生活节奏加快、饮食习惯改变等原因, 结直肠癌的发病率逐年上升。大多数结直肠癌是经过腺瘤-腺癌的途径发生的, 因此对结直肠腺瘤的早期诊断及治疗是减少结直肠癌发生的重要干预措施。结直肠腺瘤多以息肉样形态存在, 如何简单、准确地在内镜下预测息肉样病

变的组织学类型是临床亟需解决的问题。NICE分类作为非放大内镜下的分类系统, 在预测息肉的组织学类型方面具有较高的准确率<sup>[1,2]</sup>, 因其简便易行而逐渐受到重视, 国内尚无系统的研究。本研究旨在系统研究NICE分类鉴别结直肠肿瘤性与非肿瘤性息肉的有效性及其实用性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2011-12/2012-11在我院接受结肠镜检查的54例患者, 共60枚息肉, 其中增生性息肉及腺瘤各30枚。由我院消化内科10名医师参与本研究, 根据NICE分类采用盲法对入选的内镜图片进行读片及结果判定。由另外一名医师对判定结果进行记录和分析。

### 1.2 方法

**1.2.1 息肉入选标准:** (1)采用奥林巴斯CF-260H结肠镜进行检查, 发现息肉样病变; (2)直肠息肉大小3-20 mm; (3)保存清晰的白光模式及NBI模式的近距离采取的图像; (4)有完整的病理组织学诊断结果。

**1.2.2 息肉排除标准:** (1)图像质量差, 影响判断结果者; (2)家族性结肠息肉病; (3)遗传性非息肉性结肠癌; (4)结肠息肉样病变做活检; (5)存在多个息肉, 影响内镜形态和病理结果的一对一判定。

**1.2.3 评价标准:** (1)NICE分类系统: Hewett等<sup>[1,3]</sup>提出NICE分类系统, 根据结直肠息肉表面颜色、血管结构及表面结构分3型, 根据分型判定为增生性息肉、腺瘤(包括黏膜内癌和黏膜下浅层浸润癌)或黏膜下深层浸润癌(表1, 图1); (2)NICE分类判定方法: 10名医师按照颜色、血管及表面结构3项内容仔细判读60张图片, 根据NICE分类标准判定为1型或2型, 3条标准中符合2条以上即可判定。1型为非肿瘤性病变, 2型为肿瘤性病变; (3)病理学判定标准: 病变部位取活检1-3块或经内镜下切除标本, 用40 g/L甲醛溶液固定、石蜡包埋、切片后行HE染色。由1位病理医师最终判定。肿瘤性及非肿瘤性息肉按照WHO分类标准判定<sup>[4]</sup>。

**1.2.4 医师分组:** 参加读片的10位医师根据应用NBI经验分为2组: 熟练组: NBI经验在5年以上; 初学者组: NBI经验不足5年<sup>[5]</sup>。

**统计学处理** 用SPSS19.0软件进行统计学分析。计量资料采用mean±SD表示。计算NICE分类诊断结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值。应用独立样本t检验比较两组准确率、敏感

## ■研究前沿

基于窄带成像技术(narrow-band imaging, NBI)观察的国际结直肠分类系统(narrow-band imaging international colorectal endoscopic classification, NICE)作为非放大内镜下的分类系统, 在预测息肉的组织学类型方面具有较高的准确率, 其简便、易行, 便于在临床推广应用, 但尚无国内应用的报道。

## ■ 相关报道

2011年Hewett等提出NBI观察的NICE,建立了1型及2型的判定标准,对<1 cm的结直肠息肉的实时诊断准确率为89%,敏感性为98%,阴性预测值为95%;Hewett等研究提示其在鉴别远端结肠肿瘤性及非肿瘤性病变的准确率、特异性及敏感性分别为97.7%、93.9%、98.4%,在<5 mm的息肉中具有同样的诊断价值。

表 1 NICE分类系统

	1型	2型	3型
颜色	与背景黏膜相近或更亮	相对背景黏膜偏棕色(需确认颜色变化是由血管所致)	相对背景黏膜呈棕色或深棕色,有时伴有片状白色区域
血管结构	病灶表面缺乏血管或可能仅有孤立的丝状血管	增粗的棕色血管围绕白色结构	部分区域血管明显不规则或缺失
表面结构	均匀一致的深色或白点,或没有明显的结构	棕色血管围绕下的卵圆形、管状或分支状白色结构	结构不规则或缺乏结构
最可能的病理类型	增生性息肉	腺瘤(包括黏膜癌及黏膜下浅层浸润癌)	黏膜下深层浸润癌

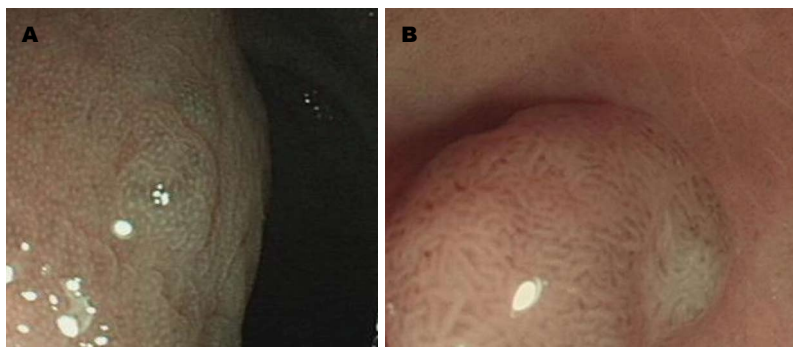


图 1 NICE分类下的典型增生性息肉和典型腺瘤。A: 典型增生性息肉: 颜色与周围黏膜相同, 表面缺乏血管结构, 可见均匀一致的白色点状结构; B: 典型腺瘤: 颜色较周围黏膜更显棕色, 可见增粗的棕色血管围绕的管状结构。

性及特异性的差异。Kappa检验评价观察者间一致性。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 一般情况 符合入选标准的54例患者、60枚结直肠息肉中, 男性33例, 女性21例, 平均年龄70.67岁±10.04岁, 息肉平均大小8.30 mm±3.52 mm。25枚息肉位于右半结肠, 30枚位于左半结肠, 5枚位于直肠。无蒂型(Is型)息肉40枚, 亚蒂型(Isp型)息肉17枚, 有蒂型(Ip型)息肉3枚。

2.2 病理结果 60枚息肉包括非肿瘤性息肉30枚(增生性息肉及炎性息肉), 肿瘤性息肉30枚(全部为腺瘤)。

### 2.3 NICE分类对结直肠息肉性质的判定

2.3.1 两组的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值及阴性预测值: 如表2所示, NICE分类诊断结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉在有经验组的敏感性、特异性、准确率、阳性预测值、阴性预测值分别为99.33%、64.67%、82.00%、74.40%及98.95%; 在初学组分别为91.33%、66.00%、78.67%、73.70%及90.16%。

2.3.2 两组敏感性、特异性及准确率的比较: 如表2所示, 有经验组与初学组的准确率、敏感性、特异性经独立样本t检验的P值分别为0.127、0.844、0.240, 无显著差异。

2.3.3 观察者间一致性: 用Kappa检验评估观察者间一致性。Kappa值小于0.40为一致性较差, 在0.41-0.75间为一致性一般, >0.75为一致性良好。如表2所示, 有经验组Kappa值为0.93, 初学组Kappa值为0.76, 总体观察者间的Kappa值为0.83, 各观察者间一致性良好。

## 3 讨论

近年来结直肠癌发病率在我国已跃居恶性肿瘤的第3-5位, 特别是在大城市增幅更快<sup>[6]</sup>。结直肠腺瘤属于结直肠癌的癌前病变, 经内镜下切除可降低结直肠癌的发病率<sup>[7]</sup>。因此, 中国结直肠肿瘤筛查、早诊早治和综合预防共识意见建议对于结直肠癌的癌前病变行内镜下切除。结直肠腺瘤在内镜下大多以息肉样形态存在, 与增生性息肉相比具有较高的恶变潜能, 内镜下对息肉样病变的性质进行判定是内镜医师必备的能力, 也是目前研究的热点之一。工藤进英等<sup>[8]</sup>于1993年提出pit pattern分类法, 在放大染色内镜下将结肠黏膜表面隐窝分为5型, 其中I-II型为增生性息肉, III-IV型为腺瘤, V型为结直肠癌, 成为结直肠病变诊断的经典分类方法而沿用至今, Eisen等<sup>[9]</sup>的多中心研究结果显示采用pit pattern分类鉴别肿瘤性与非肿瘤性息肉的敏感性与特异性均为82%, 准确率为68%。Wada

表 2 NICE分类系统鉴别肿瘤性及非肿瘤性息肉

分组	<i>n</i>	敏感性(%) mean ± SD (95%CI)	特异性(%) mean ± SD (95%CI)	准确率(%) mean ± SD (95%CI)	阳性预测值(%) mean ± SD (95%CI)	阴性预测值(%) mean ± SD (95%CI)	一致性检验 Kappa (95%CI)
有经验组	5	99.33 ± 1.49 (98.00–100)	64.67 ± 6.91 (60.67–70.67)	82.00 ± 3.80 (79.67–85.32)	74.40 ± 3.81 (72.13–77.92)	98.95 ± 2.35 (96.84–100)	0.93 (0.88–0.97)
初学组	5	91.33 ± 9.31 (83.33–98.67)	66.00 ± 12.78 (57.34–77.34)	78.67 ± 4.47 (75.00–82.00)	73.70 ± 7.36 (68.90–80.50)	90.16 ± 10.19 (82.06–98.26)	0.76 (0.66–0.86)
总体	10						0.83 (0.79–0.87)
<i>t</i> 检验		<i>P</i> = 0.127	<i>P</i> = 0.844	<i>P</i> = 0.240			

95%CI: 95%置信区间。

等<sup>[10]</sup>进行的大型前瞻性研究结果显示pit pattern分类鉴别肿瘤性与非肿瘤性息肉的敏感性与特异性分别为86.8%及96.2%。虽然这一分类方法具有较好的诊断准确率,但是由于染色、放大需要花费较多时间,很难在实际工作中大规模应用,而较多应用于临床科研。2009年佐野宁等<sup>[11]</sup>提出毛细血管形态分类(capillary pattern, CP)法(佐野分类),即在放大内镜NBI模式下将黏膜表面的毛细血管网进行详细分类,其中I型为增生性息肉,II型为腺瘤,III型为结肠癌。其后有多篇有关CP分类的研究报道,其诊断准确率在85%-98%之间,对结直肠息肉样病变具有较好的诊断能力<sup>[10,12-16]</sup>。CP分类不需要进行色素染色,具有准确率高、简便、省时的优势。但这一方法同样是放大结肠镜下的分类,而放大结肠镜在日本以外的国家普及率低,限制了国际上的广泛应用。因此,在临床工作中亟需一种不依赖放大结肠镜的简便、易行的分类方法。

2011年Hewett等提出NICE分类系统,在pit pattern分类及CP分类的基础上,在高清晰非放大NBI下分别对黏膜颜色、血管结构及表面结构进行判断,最后判定为非肿瘤性或肿瘤性息肉的方法。首先提出NICE分类系统中的1型及2型的判定标准<sup>[1]</sup>,如表1所示,1型对应增生性息肉,2型对应腺瘤(包括黏膜内癌及黏膜下浅层浸润癌),并报道了该分类系统对<1 cm的结直肠息肉的实时诊断准确率为89%,敏感性为98%,阴性预测值为95%。随后Hayashi等<sup>[3]</sup>提出了NICE分类系统中3型的判定标准,如表1所示,3型对应黏膜下深层浸润癌,并报道了在任何1个3型判定标准存在时,诊断黏膜下深层浸润癌的敏感性为94.9%,阴性预测值为95.9%,并形成了完

整的NICE分类系统。NICE分类在非放大NBI下进行,不需要繁杂的染色过程,简便、易行,易于推广。随后的有关NICE分类的临床观察研究表明,其在鉴别远端结肠肿瘤性及非肿瘤性病变的准确率、特异性及敏感性分别为97.7%、93.9%、98.4%。在<5 mm的息肉中具有同样的诊断价值<sup>[2]</sup>。然而,现有的几篇文献均为参与制定NICE分类系统的单位的研究,仍需在其他单位进一步探讨在实际临床推广中的效果以及是否简便易学等问题。

本研究将参与医师分为NBI熟练组及初学组,选取60枚息肉的常规模式和NBI模式下的图片并按NICE分类进行息肉的组织病理学预测。结果显示,两组的诊断准确率为80%左右,较上述文献报道偏低。其中两组的敏感性及阴性预测值高,尤其在有经验组两者均在95%以上,与文献报道相似,提示NICE分类系统在诊断非肿瘤性病变有可靠的应用价值,不易导致腺瘤的漏诊而贻误治疗。观察者间一致性方面,有经验组Kappa值0.93,初学组Kappa值0.76,总体Kappa值0.83,提示各观察者间一致性良好。两组诊断敏感性、特异性及准确率无显著差异。因此,NICE分类系统具有较高的诊断准确率,良好的观察者间一致性,不仅适用于有经验组,亦适用于初学组。

本研究结果中诊断的特异性及准确率较国外研究尚有一定差距<sup>[1,2]</sup>,分析其原因如下:(1)以往有关研究均由提出NICE分类的单位进行,较我们更熟悉NICE分类标准,尤其在非放大结肠镜下表面结构、表面血管的判定在部分病变存在一定的困难;(2)背景黏膜颜色对息肉颜色的判定有干扰,本研究包括了5例结肠黑变病的患

# ■创新盘点

本文首次在国内报道了NBI观察的NICE在预测结直肠息肉的组织学类型方面的能力,并比较了不同层次内镜医师应用NICE分类系统的能力,有一定的临床意义。



### ■同行评价

本文探讨了NBI观察的NICE在鉴别结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉方面的诊断价值,证实了其较高的敏感性及准确率,并比较了不同层次内镜医师应用NICE分类系统的能力,证实了NICE分类系统不仅适用于NBI有经验者,亦适用于NBI初学者,有一定的临床应用价值。内容客观,观点新颖,具有一定的科学意义。

者,由于背景黏膜呈棕色,按照NICE分类第1项及第2项容易将增生性息肉误判为腺瘤;(3)某些增生性息肉表面存在炎症时,由于颜色发红、水肿致黏膜表面隐窝结构开大,采用NICE分类判定时会出现比周围颜色深、隐窝结构呈管状结构、表面血管明显等情况,易误判为腺瘤;(4)个别图片清晰度较差,粪水覆盖或没有抵近观察图片,粪水在NBI下呈红色至深红色,影响颜色的判断,尤其初学者更易受到干扰因素的影响从而导致判定失误。因此,我们认为在应用NICE分型的过程中,清晰的图片及抵近观察表面结构是提高诊断准确率的有效方法。

本研究为单中心研究,采用回顾性方法判读内镜图片而非实时诊断,结果易受图片质量的影响,存在选择偏倚,与实际临床诊断有一定差别。需进行多中心、前瞻性以及实时判断的研究进一步证实NICE分类系统的临床应用价值。

NICE分类系统在鉴别结直肠肿瘤性及非肿瘤性息肉方面具有较高的诊断价值,简便、易行,不仅适用于NBI有经验者,亦适用于NBI初学者,具有较好的临床应用价值。

### 4 参考文献

- Hewett DG, Kaltenbach T, Sano Y, Tanaka S, Saunders BP, Ponchon T, Soetikno R, Rex DK. Validation of a simple classification system for endoscopic diagnosis of small colorectal polyps using narrow-band imaging. *Gastroenterology* 2012; 143: 599-607. e1 [PMID: 22609383 DOI: 10.1053/j.gastro.2012.05.006]
- Hewett DG, Huffman ME, Rex DK. Leaving distal colorectal hyperplastic polyps in place can be achieved with high accuracy by using narrow-band imaging: an observational study. *Gastrointest Endosc* 2012; 76: 374-380 [PMID: 22695207 DOI: 10.1016/j.gie.2012.04.446]
- Hayashi N, Tanaka S, Hewett DG, Kaltenbach TR, Sano Y, Ponchon T, Saunders BP, Rex DK, Soetikno RM. Endoscopic prediction of deep submucosal invasive carcinoma: validation of the narrow-band imaging international colorectal endoscopic (NICE) classification. *Gastrointest Endosc* 2013; 78: 625-632 [PMID: 23910062 DOI: 10.1016/j.gie.2013.04.185]
- Bosman FT, Carneiro F, Hruban RH, Theise ND. WHO classification of tumors of the digestive system. Lyon (France): IARC Press, 2010: 160-165
- Higashi R, Uraoka T, Kato J, Kuwaki K, Ishikawa S, Saito Y, Matsuda T, Ikematsu H, Sano Y, Suzuki S, Murakami Y, Yamamoto K. Diagnostic accuracy of narrow-band imaging and pit pattern analysis significantly improved for less-experienced endoscopists after an expanded training program. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 127-135 [PMID: 20493482 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.054]
- 赵平, 陈万青. 2010中国肿瘤登记年报. 北京: 军事医学科学出版社, 2011
- Winawer SJ, Zauber AG, Ho MN, O'Brien MJ, Gottlieb LS, Sternberg SS, Waye JD, Schapiro M, Bond JH, Panish JF. Prevention of colorectal cancer by colonoscopic polypectomy. The National Polyp Study Workgroup. *N Engl J Med* 1993; 329: 1977-1981 [PMID: 8247072 DOI: 10.1056/NEJM]
- Kudo S, Hirota S, Nakajima T, Hosobe S, Kusaka H, Kobayashi T, Himori M, Yagyu A. Colorectal tumours and pit pattern. *J Clin Pathol* 1994; 47: 880-885 [PMID: 7962600 DOI: 10.1136/jcp.47.10.880]
- Eisen GM, Kim CY, Fleischer DE, Kozarek RA, Carr-Locke DL, Li TC, Gostout CJ, Heller SJ, Montgomery EA, Al-Kawas FH, Lewis JH, Benjamin SB. High-resolution chromoendoscopy for classifying colonic polyps: a multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 687-694 [PMID: 11979251 DOI: 10.1067/mge.2002.123619]
- Wada Y, Kashida H, Kudo SE, Misawa M, Ikehara N, Hamatani S. Diagnostic accuracy of pit pattern and vascular pattern analyses in colorectal lesions. *Dig Endosc* 2010; 22: 192-199 [PMID: 20642608 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.00983.x]
- Sano Y, Ikematsu H, Fu KI, Emura F, Katagiri A, Horimatsu T, Kaneko K, Soetikno R, Yoshida S. Meshed capillary vessels by use of narrow-band imaging for differential diagnosis of small colorectal polyps. *Gastrointest Endosc* 2009; 69: 278-283 [PMID: 18951131 DOI: 10.1016/j.gie.2008.04.066]
- Rastogi A, Bansal A, Wani S, Callahan P, McGregor DH, Cherian R, Sharma P. Narrow-band imaging colonoscopy—a pilot feasibility study for the detection of polyps and correlation of surface patterns with polyp histologic diagnosis. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 280-286 [PMID: 18155210 DOI: 10.1016/j.gie.2007.07.036]
- Yoo HY, Lee MS, Ko BM, Kim HK, Ahn HS, Han SH, Bae JY, Min SK, Lee JC, Ryu CB. Correlation of narrow band imaging with magnifying colonoscopy and histology in colorectal tumors. *Clin Endosc* 2011; 44: 44-50 [PMID: 22741112 DOI: 10.5946/ce.2011.1.44]
- 林香春, 吴静, 王沧海, 魏南, 刘红. 高清晰非放大结肠镜窄波成像模式对结肠息肉样病变变性的诊断. *中国内镜杂志* 2010; 16: 1243-1246
- Henry ZH, Yeaton P, Shami VM, Kahaleh M, Patrie JT, Cox DG, Peura DA, Emura F, Wang AY. Meshed capillary vessels found on narrow-band imaging without optical magnification effectively identifies colorectal neoplasia: a North American validation of the Japanese experience. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 118-126 [PMID: 20381799 DOI: 10.1016/j.gie.2010.01.048]
- Rex DK. Narrow-band imaging without optical magnification for histologic analysis of colorectal polyps. *Gastroenterology* 2009; 136: 1174-1181 [PMID: 19187781 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.009]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响

杜童, 韩琳, 牛洪欣

杜童, 韩琳, 牛洪欣, 山东省医学科学院附属医院 山东省济南市 250031

杜童, 硕士, 主管护师, 国家二级心理咨询师, 主要从事临床肿瘤心理学的研究。

作者贡献分布: 此研究经费及设计由牛洪欣提供; 研究过程由杜童与韩琳完成; 数据分析及论文写作由杜童完成; 研究过程及论文写作由牛洪欣提供技术支持和指导。

通讯作者: 牛洪欣, 副主任医师, 250031, 济南市天桥区无影山路38号, 山东省医学科学院附属医院微创外科。

sdblache@126.com

电话: 0531-61368951

收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2014-01-02

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients

Tong Du, Lin Han, Hong-Xin Niu

Tong Du, Lin Han, Hong-Xin Niu, Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Science, Jinan 250031, Shandong Province, China

Correspondence to: Hong-Xin Niu, Deputy Chief Physician, Affiliated Hospital of Shandong Academy of Medical Science, 38 Wuyingshan Road, Jinan 250031, Shandong Province, China. sdblache@126.com

Received: 2013-12-10 Revised: 2014-01-02

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients.

**METHODS:** Ninety patients who were diagnosed with colorectal cancer and had completed clinical treatment were randomly divided into either a control group ( $n = 45$ ) or an intervention group ( $n = 45$ ). The intervention group was given psychological intervention five times, while the control group did not receive any intervention. The core quality of life questionnaire, self-rating anxiety scale (SDS) questionnaire and self-rating depression scale (SAS) questionnaire were administered to patients of both groups before and after intervention.

**RESULTS:** After intervention, the SDS and SAS scores in the intervention group were significantly

cantly lower than those in the control group, although the social and psychological dimension scores were significantly higher in the intervention group ( $P < 0.01$ ). The physical, function and symptom dimension score between the two groups was not statistically significant ( $P > 0.05$ ). The control group had no significant changes in all aspects of quality of life, anxiety or depression.

**CONCLUSION:** Psychological intervention can improve quality of life, anxiety and depression and thereby promote recovery in colorectal cancer patients.

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

**Key Words:** Colorectal carcinoma; Psychological intervention; Quality of life; Controlled study

Du T, Han L, Niu HX. Effect of psychological intervention on quality of life in colorectal cancer patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 885-889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.885>

## 摘要

**目的:** 探讨心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响。

**方法:** 本研究采用病例随访研究, 将已确诊为结直肠癌且已完成临床治疗的90例患者, 随机分为对照组45例, 干预组45例。对干预组患者进行5次心理干预, 对照组患者不进行任何干预, 两组都采用生活质量核心问卷、焦虑自评问卷、抑郁自评问卷对患者进行2次调查, 分别为初测(干预前)、后测(5次心理治疗结束当周)。

**结果:** 与初测相比, 干预组被试干预后的抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)和焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)评分明显低于对照组, 且其社会、心理维度评分明显高于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ),

## ■背景资料

研究发现多数肿瘤的发生发展均涉及到焦虑抑郁等心理因素, 肿瘤发生可影响患者的心理状态, 产生消极的心理反应, 使病情进一步加重或恶化。随着医学的发展, 传统的“生物”医学模式已被“生物-心理-社会”医学模式所取代, 改善患者的心理健康, 提高患者的生活质量, 对癌症的康复具有重要意义。

## ■同行评议者

崔莲花, 副教授, 青岛大学医学院公共卫生系

## ■ 研发前沿

研究显示,心理干预通过借鉴心理教育、认知行为、情感支持等心理治疗技术,改善癌症患者的情绪,减少心理痛苦,提高生活质量。在改善癌症患者焦虑情绪上,认知行为治疗、心理教育、放松训练及正念训练都有积极的效果,而在改善抑郁情绪上,认知行为治疗更为有效。

躯体和功能与症状维度评分两组间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。而对照组在生活质量各方面及焦虑抑郁情绪无明显改变。

**结论:**心理干预能够改善结直肠癌患者的生活质量及焦虑抑郁情绪,促进康复。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结直肠癌; 心理干预; 生活质量; 对照研究

**核心提示:**心理干预能够显著改善结直肠癌患者的生活质量及焦虑抑郁情绪,促进康复。结直肠癌患者明显存在焦虑、抑郁情绪,免疫功能低下,长期处于这样的状态下,导致生活质量差,容易影响疾病的预后和转归。心理干预可有效改善结直肠癌患者的生活质量及焦虑、抑郁情绪。积极、健康的心理状况有助于纠正低下的免疫功能,进而提高患者生活质量,帮助和促进结直肠癌患者康复乃至延长生存期。

杜童, 韩琳, 牛洪欣. 心理干预对结直肠癌患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 885-889 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/885.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.885>

## 0 引言

结直肠癌(colorectal carcinoma, CRC)是消化系统常见的恶性肿瘤之一,据流行病学资料显示,该病的发病率及死亡率均呈逐年上升的趋势<sup>[1]</sup>。研究发现多数肿瘤的发生发展均涉及到焦虑抑郁等心理因素<sup>[2]</sup>。肿瘤发生以后,可影响患者心理状态,产生消极的心理反应,使病情进一步加重或恶化。随着医学的发展,传统的“生物-医学模式”已被“生物-心理-社会医学”模式所代替,改善患者的心理健康,提高患者的生活质量,对癌症的康复具有重要意义<sup>[3]</sup>。在心理干预提高癌症患者生活质量,改善其情绪方面已经有过大量的研究。相关研究的综述及Meta分析显示心理干预能够改善癌症患者的情绪,减少心理痛苦,提高生活质量<sup>[4,5]</sup>。心理干预多借鉴心理教育、认知行为、情感支持等心理治疗技术。研究表明不同干预方法的效果不同,在改善癌症患者焦虑情绪上,认知行为治疗、心理教育、放松训练及正念训练都有积极的效果,而在改善抑郁情绪上,认知行为治疗更为有效<sup>[6]</sup>;但是至今为止哪种干预方法最有效仍无定论, Faller等<sup>[7]</sup>的Meta分析显示结构式的心理教育最有效,而Hannah等<sup>[8]</sup>的综述指出关于癌症患者的心理

教育干预的众多研究的结果各异,而认知行为干预的有效性更为明确。

本研究以国内外的研究经验为基础,并结合本地特点设计了一套心理干预方案。研究采用小组互动的集体干预形式,结合信息提供、认知行为、冥想放松等多种心理干预方法,目的是将心理干预运用于中国大陆的结直肠癌患者,通过临床实验验证心理干预的效果,并探讨这一方法在改善生活质量及焦虑抑郁情绪中的长期效果。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 制定入组标准: (1)经病理确诊的结直肠癌患者; (2)手术或/和放疗、化疗后,已进入康复期,且在本研究进行时,手术或放化疗的次数、病情、肿瘤分期等对患者的生活质量无明显影响; (3)年龄18-70岁,性别不限; (4)小学及以上文化程度; (5)经前期治疗后病情稳定,一般状况良好,卡氏功能状态评分(Karnofsky, KPS)得分 $\geq 60$ 分; (6)既往和目前无精神障碍、中枢神经系统疾病、脑肿瘤及脑转移瘤,无意识障碍; (7)采用知情同意、自愿原则。纳入研究者均为2010-05/2011-05我院收治的90例结直肠癌患者,平均年龄55岁,其中男56例,女34例。将入组患者随机分成两组,其中干预组45例,对照组45例。干预组和对照组在年龄、性别、心理状态、抑郁自评量表评分、病情分布、治疗的方法等方面呈均衡分布。分别于心理干预前及干预后进行生活质量核心问卷、焦虑自评量表、抑郁自评量表及生物反馈指标检测,各项指标均由专业精神科医师指导进行,采用调查问卷方式测评。

### 1.2 方法

**1.2.1 研究设计及程序:**研究者对符合入组标准的患者进行访谈,了解患者的基本情况,说明研究的目的及意义,并邀请患者参加,签署知情同意书。将干预组的患者进行测量和心理干预;对照组患者只进行测量。干预组的施测程序是: (1)前测:入组时; (2)后测:干预结束后当周。对照组的施测程序是: (1)前测:入组时; (2)后测:前测5 wk后。其中生活质量核心问卷、焦虑自评量表、抑郁自评量表及生物反馈指标在干预组的两次施测及对照组的两次施测中都需要填写。

**1.2.2 生活质量指标:**用梁小波等<sup>[10]</sup>编制直肠癌生存质量调查量表对干预后两组患者的生活质量进行评估。该量表包括46个条目,分为躯体、心理、社会、排便功能与症状4个维度。量表为总



加量表, 分类评分, 总分为46-230分, 评分越高, 表示生存质量越高. 该量表的结构效度 $r = 0.9247$ , 重测信度 $r = 0.98021$ , 具有较好的信、效度.

**1.2.3 焦虑情绪指标:** 焦虑自评量表(self-rating anxiety scale, SAS)由Zung于1971年编制, 用于评价被试的主观焦虑感受. 其评定跨度时间为最近1 wk, 即评定现在或者过去1 wk内的焦虑情况. 包含有20个项目, 按症状出现的频繁程度分为4级评分, 本研究使用该量表标准分进行分析, 分数越高, 表示焦虑水平越高. SAS具有较高的信度与效度, 被广泛用于精神病临床、心理咨询及普通人群心理健康状况的调查.

**1.2.4 抑郁情绪指标:** 抑郁自评量表(self-rating depression scale, SDS)由Zung于1965年编制, 用于衡量抑郁状态的轻重程度及其在治疗中的变化. 问卷由20项条目构成; 每项条目根据最近一周内的感受分1-4级评定, 累积各条目分为总分, 总分越高, 抑郁情绪越严重. 该量表已在我国家和地区的跨文化测试中体现出较好的信度和效度.

**1.2.5 心理干预方案:** 心理干预对每一患者每周干预一次, 每次100 min, 共进行5 wk. 根据心理教育、认知行为治疗、放松治疗、生物反馈治疗、团体心理学等理论, 本研究针对结直肠癌患者的干预内容如下: (1)结直肠癌患者康复座谈: 该内容的设定是以支持性心理治疗及心理教育为依据的, 结直肠癌患者坐在一起分享患病后的各种经历及康复和抗癌经验. 在康复座谈中的话题主要有以下几点: 结直肠癌的病因-为什么我会得癌; 我的患癌经历; 我对癌症认识-癌症 $\neq$ 死亡; 我的抗癌秘笈-“如何饮食”、“怎样锻炼”、“抗癌产品之我见”、“心理-癌症将抗的基石”、“科学的康复观”, 有造口的患者分享造口的护理常识及注意事项; 排忧解难-扫除“转移复发”的阴影; 解疑答惑; (2)冥想放松训练: 属于行为训练方法的一种, 借助于录音引导意念, 跟随提示想象即可. 冥想音频由研究人员提前制作, 患者在心理干预活动中学习并掌握冥想技术, 并发放冥想音频资料, 督促患者在平时自己练习, 并在干预过程中检查和督导患者练习的情况; (3)信心疗法: 其宗旨是通过憧憬与语言的力量来帮助癌症患者消除抑郁心理, 增强患者战胜疾病的信心, 从而恢复和增强体内自身的免疫功能. 信心疗法也是由研究人员提前制作音频资料, 在心理干预活动之处练习, 并向患者发放音频资料, 要求在第1周每天坚持练习; (4)腹式呼吸训练: 腹式呼吸

是一种有助于放松的呼吸方式, 通过生物反馈系统中的呼吸助手对患者进行腹式呼吸训练, 每次5 min, 让患者的注意力完全集中到自己的呼吸上, 从而达到放松的目的. 在每次的干预后督促患者在平时坚持腹式呼吸的练习; (5)情绪管理: 其包括认识自己的情绪、情绪和健康的不关系、情绪和癌症及如何管理自己的情绪等方面; (6)认知心理治疗: 包括对疾病的认识、治疗过程、饮食、运动、生活方式等各方面的综合康复指导; (7)音乐疗法心理治疗: 是一种运用音乐来改善人类的生理、心理症状及不当行为的治疗方法. 根据患者的不同情况选择不同的音乐来改善情绪, 增强自我信心, 并具有良好的镇静、镇痛作用; (8)精神分析心理治疗: 对患者的无意识心理过程进行分析, 探讨这些无意识因素是如何影响他们目前的关系、行为模式和心理状态的. 通过对患者生活历史的探索, 探讨他们是如何经历既往的人生而发展变化, 帮助患者更好地应对当下的生活; (9)安思定睡眠仪治疗: 使用经颅微电流刺激疗法(安思定所发出的微量电流类似人体自身的生物电, 不会使人体产生不良反应). 通过低强度微量电流刺激人的大脑, 对异常脑电波进行改善, 以及调节大脑神经递质的分泌, 达到治疗的目的.

**统计学处理** 采用SPSS13.0统计分析软件包进行分析. 实验数据采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示. 计量数据比较采用 $t$ 或 $t'$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 两组患者干预前后心理健康状况的比较** 干预组和对照组干预前的SDS评分明显高于国内常模( $41.88 \pm 10.57$ ), SAS评分亦明显高于国内常模( $37.23 \pm 12.84$ ), 差异有统计学意义,  $P < 0.01$  ( $t = 12.693$ 、 $12.589$ 、 $6.568$ 、 $6.723$ ). 干预后, 干预组的SDS和SAS评分明显低于对照组, 差异有统计学意义, 均 $P < 0.01$  ( $t = 14.980$ 、 $4.705$ ) (表1).

**2.2 两组患者干预后生活质量个维度评分比较** 干预后, 干预组的社会、心理维度评分明显高于对照组, 差异有统计学意义, 均 $P < 0.01$  ( $t = 5.344$ 、 $7.874$ ), 而躯体和功能与症状维度评分两组间差异无统计学意义, 均 $P > 0.05$  ( $t = 1.748$ 、 $0.274$ ) (表2).

**2.3 对照组5 wk前后生活质量及情绪状况的变化** 对对照组被试初测及5 wk后的测评进行比较, 结果对照组5 wk前后生活质量各方面及情绪状况

### ■相关报道

不同干预方法的效果不同, 迄今为止哪种干预方法最有效仍无定论, Faller等的Meta分析显示结构式的心理教育最有效, 而Hannah等的综述指出, 关于癌症患者心理教育干预, 众多研究的结果各异, 而认知行为干预更为有效.

## ■创新盘点

本研究结合本地特点设计了一套心理干预方案。研究采用小组互动的集体干预形式,结合信息提供、认知行为、冥想放松等多种方法,将心理干预运用于中国大陆的结直肠癌患者,通过随机对照临床试验观察心理干预的效果,探讨心理干预对结直肠癌患者生活质量及焦虑抑郁情绪的影响。

表 1 两组患者干预前后心理健康状况的比较 ( $n = 45$ , mean  $\pm$  SD, 分)

分组	SDS		SAS	
	干预前	干预后	干预前	干预后
干预组	62.02 $\pm$ 6.25	44.24 $\pm$ 3.98	49.84 $\pm$ 4.86	44.64 $\pm$ 4.58
对照组	61.84 $\pm$ 5.86	58.13 $\pm$ 4.78	50.13 $\pm$ 4.28	48.39 $\pm$ 4.14
<i>t</i> 值	0.141	14.980	0.300	4.705
<i>P</i> 值	>0.05	<0.01	>0.05	<0.01

SDS: 抑郁自评量表; SAS: 焦虑自评量表。

表 2 两组患者干预后生活质量各维度评分比较 ( $n = 45$ , mean  $\pm$  SD, 分)

分组	躯体	社会	心理	功能与症状
干预组	25.54 $\pm$ 1.28	28.06 $\pm$ 1.45	55.82 $\pm$ 1.75	46.66 $\pm$ 2.14
对照组	25.12 $\pm$ 0.98	26.54 $\pm$ 1.24	53.16 $\pm$ 1.44	46.52 $\pm$ 2.68
<i>t</i> 值	1.748	5.344	7.874	0.274
<i>P</i> 值	>0.05	<0.01	<0.01	>0.05

均无显著性差异( $P>0.05$ ), 因此对照组5 wk后生活质量及焦虑抑郁情绪没有改善。

### 3 讨论

该对照研究的结果证实了结合心理教育、认知行为治疗、放松治疗的心理干预对结直肠癌患者的生活质量和焦虑抑郁情绪方面有积极影响。在干预组中, 被试经过5次心理干预后在总体健康情况、焦虑抑郁情绪及睡眠等方面均有显著改善; 而对照组被试5 wk前后在生活质量各方面及焦虑抑郁情绪没有显著性变化。

本研究中可以看到对照组被试5 wk前后生活质量各方面及焦虑抑郁的评分变化很小, 虽然有研究显示癌症患者术后随着时间的延长, 生活质量会有所提高, 但是在多长时间内有显著性改善及改善的稳定性仍不确定<sup>[11]</sup>; 而心理干预给结直肠癌患者带来积极影响, 在生活质量的各方面都有一个改善趋势, 并且在总体健康情况、睡眠、焦虑情绪、抑郁情绪方面都有显著性改善。本研究的心理干预方法的有效成分可能有: (1)提供信息: 提供结直肠癌相关知识有助于减少患者的不确定感, 从而改善患者情绪, 在我国医患沟通形式紧张, 医生工作量大, 沟通时间很少, 患者诊断治疗及复查阶段, 从医生那里获得的知识相对较少, 对疾病及检查结果不正确的理解会导致患者的不确定感, 产生心理痛苦, 故而被试从干预过程中获得与自己密切

相关的结直肠癌知识, 可以降低不确定感, 减少心理痛苦<sup>[12-14]</sup>; (2)情感支持: 让被试有归属感, 而且问题的普遍性使得成员之间有更多共同的话题。在心理干预的康复座谈过程中, 被试能接受与自己情况很接近的同伴的支持, 也能获得医生的鼓励。有研究显示, 通过心理教育和情感支持能够使癌症患者的行为改变, 养成健康的生活方式, 故而可以改善生活质量<sup>[7]</sup>。同时在康复座谈的过程中, 如果自己的康复经验帮助了同伴, 通过这种利他行为提升了自己的价值感及存在感; (3)信心成分: 通过信心疗法录音来提高癌症患者的抗癌信心, 通过榜样的力量更加增加了患者康复的信心; (4)放松训练: 被试在心理干预中学习放松训练并回家坚持练习, 放松训练对改善睡眠障碍, 放松身心很有益处<sup>[15]</sup>。

本研究设计中的结直肠癌患者心理干预方案虽然取得了一定的成效, 但仍存在很多可以改进的地方。咨询过程中很多癌症患者描述了自己完成主要的临床治疗进入康复期之初的迷茫与不安, 以及自己艰辛的康复之路, 认为对癌症患者的心理干预越早越好, 能缩短患者心理痛苦时间, 有利于康复。

本研究样本量较小, 仍需较大样本研究的验证; 本研究干预被试绝大多数为山东地区的结直肠癌患者, 不能代表全国的结直肠癌患者, 需要进一步的研究验证该心理干预方案是否适用于其他地区的结直肠癌患者。

## 4 参考文献

- 1 Saif MW, Chu E. Biology of colorectal cancer. *Cancer J* 2010; 16: 196-201 [PMID: 20526096 DOI: 10.1097/PPO.0b013e3181e076af]
- 2 Montazeri A. Health-related quality of life in breast cancer patients: a bibliographic review of the literature from 1974 to 2007. *J Exp Clin Cancer Res* 2008; 27: 32 [PMID: 18759983 DOI: 10.1186/1756-9966-27-32]
- 3 任宏轩, 沈丽达. 社会心理因素对癌症的影响. *中国肿瘤* 2005; 14: 639-641
- 4 Osborn RL, Demoncada AC, Feuerstein M. Psychosocial interventions for depression, anxiety, and quality of life in cancer survivors: meta-analyses. *Int J Psychiatry Med* 2006; 36: 13-34 [PMID: 16927576 DOI: 10.2190/EUFN-RV1K-Y3TR-FK0L]
- 5 Linden W, Gergis A. Psychological treatment outcomes for cancer patients: what do meta-analyses tell us about distress reduction? *Psychooncology* 2012; 21: 343-350 [PMID: 21882287 DOI: 10.1002/pon.2035]
- 6 Faller H, Herschbach P. Psychooncological interventions - how successful are they? Wie erfolgreich sind sie? *Nervenheilkunde* 2011; 30: 133-137
- 7 Dale HL, Adair PM, Humphris GM. Systematic review of post-treatment psychosocial and behaviour change interventions for men with cancer. *Psychooncology* 2010; 19: 227-237 [PMID: 19588538 DOI: 10.1002/pon.1598]
- 8 姜宝法, 刘春晓, 崔永春. EORTC QLQ-C30的信度、效度研究. *中国临床心理学杂志* 2005; 13: 31-33
- 9 关丽云, 刘巍. 食管贲门癌患者生活质量的研究-1996-2006年河北医科大学第四医院421例食管贲门癌患者术后生活质量的分析报告. *河北医科大学*, 2007: 1-63
- 10 梁小波, 苏文, 阎秀卿, 白文启, 李佩珍. 对肠造口患者生存质量的初步评价. *大肠肛门病外科杂志* 2002; 8: 54-56
- 11 Holland JC. *Psycho-oncology*. New York: Oxford University Press, 2010: 408-414
- 12 胡根, 俞一峰, 李森, 季凯. 结肠癌、直肠癌患者围术期的焦虑抑郁状况及影响因素分析. *实用临床医药杂志* 2012; 16: 32-35, 40
- 13 吴岭, 沙莉. 心理干预对结直肠癌配偶心理状况的影响. *中国误诊学杂志* 2011; 11: 4828
- 14 郭青, 薛小玲, 韩燕霞, 卢珏, 马芳琴. 癌症患者疾病不确定感的影响因素与干预现状. *解放军护理杂志* 2012; 29: 35-38
- 15 张静, 刘向阳, 余贺一. 放松训练对躯体化障碍的对照研究. *中国健康心理学杂志* 2004; 12: 269-270

## ■同行评价

本研究将心理学与肿瘤临床紧密结合, 设计合理, 有较高参考价值.

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# MiRNA-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的系统评价

谢文群, 谭诗云, 王晓凡

## ■背景资料

大肠癌是重要的全球性公共卫生问题, 尽管大肠癌的病因虽未明确, 但其相关的高危因素渐被认识, 遗传易感性与大肠癌的发生发展密切相关。位于miR-146a前体pre-miRNA茎环结构区域的一个G/C单核苷酸多态性(miR-146a rs2910164)可以导致miR-146a的表达异常, 进而导致肿瘤的发生发展。

谢文群, 谭诗云, 王晓凡, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省武汉市 430060

谢文群, 武汉大学人民医院研究生, 主要从事消化内镜诊治优化的研究。

作者贡献分布: 谢文群及王晓凡对此文所做贡献均等; 此课题由谭诗云教授设计; 文献检索及数据搜集、分析过程由谢文群及王晓凡完成; 本论文写作由谢文群完成。

通讯作者: 谭诗云, 主任医师, 博士生导师, 430060, 湖北省武汉市武昌紫阳路99号, 武汉大学人民医院消化内科。

tanshiyun@medmail.com.cn

电话: 027-88041911-82145

收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-01-02

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-02-28

## Association between miRNA-146a rs2910164 gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: A systematic review

Wen-Qun Xie, Shi-Yun Tan, Xiao-Fan Wang

Wen-Qun Xie, Shi-Yun Tan, Xiao-Fan Wang, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Shi-Yun Tan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University, 99 Wuchang Ziyang Road, Wuhan 430060, Hubei Province, China. tanshiyun@medmail.com.cn

Received: 2013-12-08 Revised: 2014-01-02

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-02-28

## Abstract

**AIM:** To accurately evaluate the association between the miRNA-146a rs2910164G/C polymorphism and susceptibility to colorectal cancer.

**METHODS:** An electronic search of PubMed, Excerpta Medica Database (Embase), Chinese Biomedical Literature Database (CBM), the Cochrane Library, Weipu and Wanfang Database was performed to collect all the publications investigating the association between miR-146a rs2910164G/C polymorphism and risk of colorectal cancer. We then analyzed the differences in miRNA-146a rs2910164G/C genotypes (G vs C, GG vs CC, GG vs GC, GC vs CC, GG + GC vs CC, GG vs GC + CC) between cases and

controls by meta-analysis.

**RESULTS:** Seven studies involving 2978 cases and 3576 controls were found to be eligible for meta-analysis. We summarized the data on the association between miR-146a rs2910164G/C polymorphism and risk of colorectal cancer in the overall population. In the overall analysis, there was no evidence for an association between the miR-146a rs2910164 polymorphism and the risk of colorectal cancer (G vs C: OR = 0.82, 95%CI: 0.52-1.30,  $P = 0.41$ ; GG vs CC: OR = 1.10, 95%CI: 0.72-1.40,  $P = 0.97$ ; GG vs GC: OR = 1.10, 95%CI: 0.81-1.28,  $P = 0.91$ ; GC vs CC: OR = 0.99, 95%CI: 0.70-1.41,  $P = 0.96$ ; GG + GC vs CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39,  $P = 0.99$ ; GG vs GC + CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.81-1.24,  $P = 0.98$ ).

**CONCLUSION:** This meta-analysis demonstrated that the miR-146a rs2910164 polymorphism is not associated with colorectal cancer susceptibility.

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

**Key Words:** MicroRNA; Single nucleotide polymorphisms; Colorectal cancer; Meta-analysis

Xie WQ, Tan SY, Wang XF. Association between miRNA-146a rs2910164 gene polymorphism and susceptibility to colorectal cancer: A systematic review. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(6): 890-897 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.890>

## 摘要

**目的:** 评价miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性的相关性。

**方法:** 全面检索Pubmed、Excerpta Medica Database (Embase)、Chinese Biomedical Literature Database (CBM) and the Cochrane Library、维普、万方数据库, 收集研究miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大

■同行评议者  
王道荣, 主任医师, 江苏省苏北人民医院胃肠外科

肠癌易感性相关性的文献. 对miRNA-146a rs2910164 G/C各基因型的比较模型(G vs C、GG vs CC、GG vs GC、GC vs CC、GG + GC vs CC、GG vs GC + CC)进行定量综合分析.

**结果:** 共纳入7篇文献, 共有大肠癌患者2978例, 健康对照3576例. Meta分析尚未发现miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性具有相关性(G vs C: OR = 0.82, 95%CI: 0.52-1.30,  $P = 0.41$ ; GG vs CC: OR = 1.10, 95%CI: 0.72-1.40,  $P = 0.97$ ; GG vs GC: OR = 1.10, 95%CI: 0.81-1.28,  $P = 0.91$ ; GC vs CC: OR = 0.99, 95%CI: 0.70-1.41,  $P = 0.96$ ; GG + GC vs CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39,  $P = 0.99$ ; GG vs GC + CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.81-1.24,  $P = 0.98$ ).

**结论:** 本研究尚未发现miRNA-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** MiRNA; 基因多态性; 大肠癌; Meta分析

**核心提示:** 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 本次研究首次采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性.

谢文群, 谭诗云, 王晓凡. MiRNA-146a rs2910164 基因多态性与大肠癌易感性的系统评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(6): 890-897 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/890.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i6.890>

## 0 引言

据2011年全球癌症统计显示: 全球每年约有1200000例新发大肠癌病例和608700例死亡病例, 大肠癌的发病率居女性所有恶性肿瘤的第2位; 居男性所有恶性肿瘤的第3位, 其死亡率居分别居女性及男性所有恶性肿瘤死亡率的第3、4位. 大肠癌已成为重要的全球性公共卫生问题<sup>[1,2]</sup>. 尽管大肠癌的病因虽未明确, 但其相关的高危因素渐被认识, 如吸烟、嗜酒、体力活动不足、肥胖及遗传易感性等<sup>[3,4]</sup>. 在这些危险因素中, 遗传易感性与大肠癌的发生发展密切相关<sup>[5]</sup>.

微小RNA(microRNA, miRNA)是存在于真

核细胞当中具有进化保守性的一族非编码小片段RNA, 大小为18-24 bp, 通过与靶基因mRNA的碱基互补配对来影响mRNA的稳定性或抑制其翻译, 实现对蛋白表达的调控<sup>[6]</sup>. MiRNA调控着大约30%的人类基因的转录体<sup>[7]</sup>, 控制着细胞的分化、增殖和程序性细胞死亡等多种重要生理及病理过程<sup>[8]</sup>. 最近研究发现, miRNA具有类似癌基因或抑癌基因的功能<sup>[9,10]</sup>, 并且, miRNA在正常细胞和癌细胞中表达不同, 几乎所有的肿瘤都存在miRNA的表达异常<sup>[11,12]</sup>. miRNA的表达具有组织特异性, 其表达谱与肿瘤的特点、分级相关, 在一些未发现原发灶的肿瘤疾病中miRNA可以用来判断肿瘤组织的来源<sup>[13,14]</sup>. 因此, miRNA对肿瘤的诊断、治疗及预后都有重要意义. 作为最常见且重要的遗传标记, 单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是指DNA序列单个核苷酸的变异, 其在特定的人群中发生率至少为1%. 单核苷酸多态性与多种癌症的病因及预后相关<sup>[15-23]</sup>. 研究发现, 位于miRNA前体(pre-miRNAs)或成熟miRNA中的单核苷酸多态性会导致miRNA表达量及其功能的改变, 最终导致癌症等疾病的发生发展<sup>[24,25]</sup>. MiR-146a位于人类基因组的5q33, 其在多种实体瘤中表达异常. 研究发现, 位于miR-146a前体pre-miRNA茎环结构区域的一个G/C单核苷酸多态性(miR-146a rs2910164)可以导致miR-146a的表达异常, 进而导致肿瘤的发生发展<sup>[26-34]</sup>. 近年来, 国内外对miR-146a rs2910164基因多态性是否与大肠癌的发病有关进行了研究<sup>[35-41]</sup>, 但是, 单个研究间结果不尽一致, 为此, 本研究应用Meta分析的方法对以往研究结果进行定量合并与综合评价, 进一步探讨miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 由2名独立研究者对文献进行系统的检索, 任何分歧都通过双方的讨论达成一致. 以“miR-146a”、“rs2910164”、“基因多态性”和“大肠癌”为主题词检索维普、万方数据资源系统、中国生物医学文献数据库(Chinese Biomedical Literature Database, CBM), 并以“miR-146a”、“rs2910164”、“gene”、“variants”、“alleles”、“mutation”、“polymorphism”和“colorectal cancer”检索Pubmed、Excerpta Medica Database(Embase)、

## ■ 研发前沿

单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 位于miRNA相关基因的单核苷酸多态性可以改变miRNA的表达量及功能, 进而导致肿瘤等疾病的发生. 近年来, 关于miR-146ars2910164基因多态性与大肠癌易感性的单个研究结果不尽一致; 且相关meta分析存在纳入文献较少的缺点.

## ■ 相关报道

Wang等系统评价了miR-146a rs2910164基因多态性与消化系统肿瘤易感性的相关性,本篇报道广泛搜集相关文献,所研究的消化系统肿瘤较全面。

表 1 纳入文献的基本情况

编号	研究	发表年限	种族	样本含量		H-W遗传平衡检验 P值	质量评分
				病例组	对照组		
1	Vinci等 <sup>[35]</sup>	2013	高加索人	160	178	0.590	14
2	Ma等 <sup>[36]</sup>	2013	亚洲人	1147	1203	0.075	15
3	Hezova等 <sup>[37]</sup>	2012	高加索人	197	212	0.410	14
4	Chae等 <sup>[38]</sup>	2013	亚洲人	399	568	0.950	15
5	Hu等 <sup>[39]</sup>	2013	亚洲人	276	373	>0.05	15
6	Min等 <sup>[40]</sup>	2012	亚洲人	446	502	0.443	15
7	Lv等 <sup>[41]</sup>	2013	亚洲人	353	540	0.080	15

the Cochrane Library等数据库,辅以文献追溯和手工检索等方法.对miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性关系的研究报道末次检索为2013-10,未进行语种限定。

## 1.2 方法

1.2.1 文献纳入与排除标准: 纳入标准: (1)关于miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性之间相关性的研究; (2)基于人的病例对照研究; (3)研究对象为病理组织学确诊的大肠癌患者; (4)各文献提供完整的病例组与对照组miR-146a rs 2910164的各基因型频数,可计算比值比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence interval, 95%CI); (5)原始资料为已公开发表的中英文文献. 排除标准: (1)对同一研究重复发表的文献报道,只选取近期发表和结果最完整的文献; (2)未提供充分原始数据的且索取无果; (3)只有摘要而缺乏全文. 当一篇文献对不同种族进行研究时,则将每个种族的研究结果分别进行提取。

1.2.2 数据提取: 由2名独立的研究者对纳入文献的数据进行提取并核对,任何分歧都通过双方讨论达成一致. 提取的主要内容包括第一作者姓名、发表年份、种族、病例组和对照组的样本量、等位基因及各基因型分布频数等。

1.2.3 文献质量评价: 由2名独立的研究者对纳入文献进行质量评价,任何分歧都通过双方讨论达成一致. 评价标准为一组预先设定的标准. 该组标准是从以前的研究中提取的<sup>[42]</sup>,他以传统的流行病学及癌症的遗传问题为基础,该标准从5个方面对每个研究的质量进行评分.每个研究的得分是介于0到18的整数. 等于或大于12表明该文献质量好。

**统计学处理** H-W遗传平衡检验: 对各研究的对照组人群基因型分布进行H-W遗传平衡检验,计算卡方值, $P<0.05$ 为不符合H-W遗传平衡<sup>[43]</sup>。

Meta分析: OR及95%CI作为评价指标,评价miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的相关性. 分别计算每个miR-146a rs2910164 G/C基因模型的合并OR及其95%CI. 用Q检验和I<sup>2</sup>检验探究各研究间的异质性,若 $PQ<0.10$ ,  $I^2>50\%$ ,说明各研究间存在显著异质性,则采用随机效应模型进行数据合并;反之各研究间则不存在显著异质性,用固定效应模型进行数据合并<sup>[44,45]</sup>. 用Begg's漏斗图及Egger's线性回归分析来估计潜在的发表偏倚<sup>[46,47]</sup>,  $P>0.05$ 为不存在发表偏倚。

## 2 结果

2.1 纳入研究的一般情况 初检出相关文献100篇,均为英文文献,经阅读问题及摘要后,剔除93篇文献(36篇为Meta分析, 57篇为研究其他疾病),进一步查找和阅读全文后,剔除2篇文献(均为机制研究),最后通过文献追溯的方法在Meta分析的参考文献中找到2篇符合标准的文献,最终纳入7篇文献[35-41],包含大肠癌患者2978例,健康对照3576例. 纳入研究质量评分均>12,表明纳入研究的质量较好. H-W遗传平衡检验结果显示对照组人群基因型分布符合H-W遗传平衡. 纳入研究的一般情况如表1,文献筛选流程如图1所示。

2.2 Meta分析结果 对纳入研究进行Meta分析,因纳入研究的各基因型均存在显著的异质性( $I^2>50\%$ ),故采用随机效应模型进行数据合并. 各基因型合并OR及其95%CI结果如表2所示: G vs C: OR = 0.82, 95%CI: 0.52-1.30,  $P = 0.41$ ; GG vs CC: OR = 1.10, 95%CI: 0.72-1.40,  $P = 0.97$ ; GG vs GC: OR = 1.10, 95%CI: 0.81-1.28,  $P = 0.91$ ; GC vs CC: OR = 0.99, 95%CI: 0.70-1.41,  $P = 0.96$ ; GG + GC vs CC: OR = 1.00, 95%CI: 0.72-1.39,  $P = 0.99$ ; GG vs GC + CC: OR = 1.00,



表 2 miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的Meta分析

基因模型	OR(95%CI)	P值	I <sup>2</sup> (%)	P(Q test)
G vs C	0.82(0.52-1.30)	0.41	97.0	<0.00001
GG vs CC	1.10(0.72-1.40)	0.97	72.0	0.001
GG vs GC	1.10(0.81-1.28)	0.91	65.0	0.009
GC vs CC	0.99(0.70-1.41)	0.96	84.0	<0.00001
GG + GC vs CC	1.00(0.72-1.39)	0.99	83.0	<0.00001
GG vs GC + CC	1.00(0.72-1.39)	0.98	63.0	0.01

表 3 Egger's线性回归检测发表偏倚结果

分组	P值					
	G vs C	GG vs CC	GG vs GC	GC vs CC	GG + GC vs CC	GG vs GC + CC
总体	0.054	0.656	0.400	0.954	0.953	0.274
亚洲	0.057	0.871	0.529	0.369	0.366	0.729

# ■创新盘点

近年来,关于miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的单个研究结果不尽一致;且相关meta分析存在纳入文献较少的缺点.为此,本文广泛搜集相关文献,系统评价miR-146a rs2910164G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性.

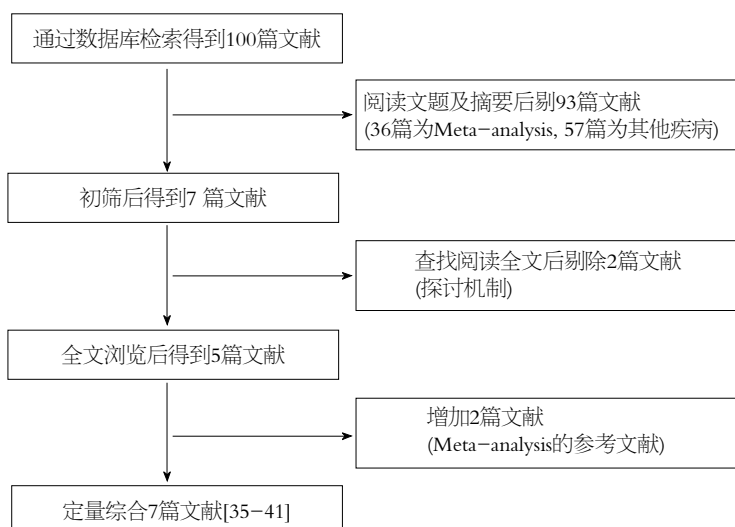


图 1 文献筛选流程.

95%CI: 0.81-1.24,  $P = 0.98$ . 分析结果发现, miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间无关联. 为评估纳入文献的发表偏倚, 做了Begg's漏斗图及Egger's线性回归分析(表3, 图2), miR-146a rs2910164 G/C各基因模型的Egger's线性回归分析结果为 $P$ 值均 $>0.05$ , 表明不存在发表偏倚.

## 3 讨论

本研究对7篇关于miR-146a rs2910164G/C基因多态性与结直肠癌易感性之间相关性的文献进行了Meta分析, 因各研究间存在显著的异质性, 因此, 采用随机效应模型对数据进行合并分析. 结果显示, 本次Meta分析未发现miR-146a

rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性. 亚组分析显示, 在亚洲人群中, 本次研究也未发现发表偏倚检查中发现miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性. 本研究纳入的文献不存在发表偏倚.

SNP是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关. 位于miRNA相关基因的单核苷酸多态性可以改变miRNA的表达量及其与目标mRNA结合的亲和力及特异性, 导致miRNA调控的靶基因mRNA的表达异常, 进而导致肿瘤等疾病的发生. 位于miR-146a前体-pre-miR-146a的单核苷酸多态性rs2910164 G/C与多种肿瘤的发生发展有关. 近年来, 关于

## ■应用要点

单核苷酸多态性 (single nucleotide polymorphism, SNP) 是最常见的基因变异, 他与种族差异、疾病易感性及药物反应差异有关。本次研究首次采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性, 研究尚未发现miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性。

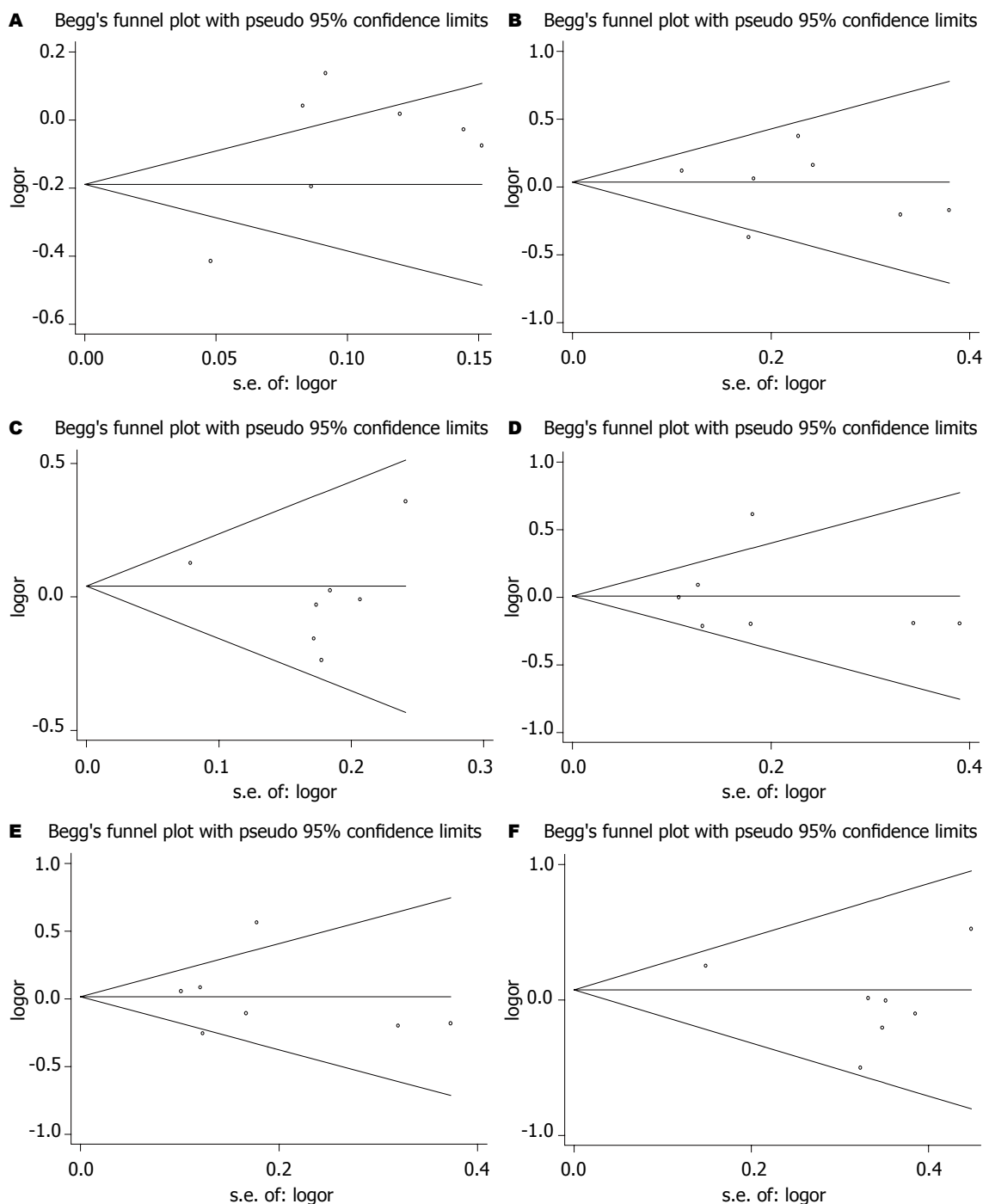


图2 miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性Meta分析发表偏倚结果(总体)。A: G vs C; B: GG vs CC; C: GG vs GC; D: GC vs CC; E: GG + GC vs CC; F: GG vs GC + CC。

miR-146a rs2910164基因多态性与大肠癌易感性的单个研究结果不尽一致; 且相关Meta分析存在纳入文献较少的缺点。为此, 本文广泛搜集相关文献, 系统评价miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性。

本次研究首次采用Meta分析的方法综合评价miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间的相关性, 研究尚未发现miR-146a

rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性之间具有相关性。然而, 本次研究尚存在以下不足: (1)本次研究纳入的文献数量较少; (2)本次研究纳入的文献多是关于亚洲人的研究, 对于其他种族的报道则较少, 由于不同的种族具有不同的遗传背景, 其miR-146a rs2910164 G/C等位基因频率也不相同, 进而对疾病的易感性不同; (3)本次研究尚未考虑基因之间及基因与环境之间

的相互作用的影响。这些因素的存在都会影响本次Meta分析结果的可靠性。这些问题的解决,有赖于开展大样本、多中心、同质性的病例对照研究,将研究结果纳入Meta分析,以便对miR-146a rs2910164 G/C基因多态性与大肠癌易感性的关系做出更合理、可靠的结论。

#### 4 参考文献

- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- Center MM, Jemal A, Smith RA, Ward E. World-wide variations in colorectal cancer. *CA Cancer J Clin* 2009; 59: 366-378 [PMID: 19897840 DOI: 10.3322/caac.20038]
- Schottenfeld D, Beebe-Dimmer JL. Advances in cancer epidemiology: understanding causal mechanisms and the evidence for implementing interventions. *Annu Rev Public Health* 2005; 26: 37-60 [PMID: 15760280 DOI: 10.1146/annurev.publhealth.26.021304.144402]
- Ferrari P, Jenab M, Norat T, Moskal A, Slimani N, Olsen A, Tjønneland A, Overvad K, Jensen MK, Boutron-Ruault MC, Clavel-Chapelon F, Morois S, Rohrmann S, Linseisen J, Boeing H, Bergmann M, Kontopoulou D, Trichopoulou A, Kassapa C, Masala G, Krogh V, Vineis P, Panico S, Tumino R, van Gils CH, Peeters P, Bueno-de-Mesquita HB, Ocké MC, Skeie G, Lund E, Agudo A, Ardanaz E, López DC, Sanchez MJ, Quirós JR, Amiano P, Berglund G, Manjer J, Palmqvist R, Van Guelpen B, Allen N, Key T, Bingham S, Mazuir M, Boffetta P, Kaaks R, Riboli E. Lifetime and baseline alcohol intake and risk of colon and rectal cancers in the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC). *Int J Cancer* 2007; 121: 2065-2072 [PMID: 17640039 DOI: 10.1002/ijc.22966]
- Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 2449-2460 [PMID: 20018966 DOI: 10.1056/NEJMra0804588]
- Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* 2004; 116: 281-297 [PMID: 14744438 DOI: 10.1016/S0092-8674(04)00045-5]
- Lewis BP, Burge CB, Bartel DP. Conserved seed pairing, often flanked by adenosines, indicates that thousands of human genes are microRNA targets. *Cell* 2005; 120: 15-20 [PMID: 15652477 DOI: 10.1016/j.cell.2004.12.035]
- Ambros V. The functions of animal microRNAs. *Nature* 2004; 431: 350-355 [PMID: 15372042 DOI: 10.1038/nature02871]
- Slaby O, Svoboda M, Fabian P, Smerdova T, Knoflickova D, Bednarikova M, Nenutil R, Vyzula R. Altered expression of miR-21, miR-31, miR-143 and miR-145 is related to clinicopathologic features of colorectal cancer. *Oncology* 2007; 72: 397-402 [PMID: 18196926 DOI: 10.1159/000113489]
- Schetter AJ, Leung SY, Sohn JJ, Zanetti KA, Bowman ED, Yanaihara N, Yuen ST, Chan TL, Kwong DL, Au GK, Liu CG, Calin GA, Croce CM, Harris CC. MicroRNA expression profiles associated with prognosis and therapeutic outcome in colon adenocarcinoma. *JAMA* 2008; 299: 425-436 [PMID: 18230780 DOI: 10.1001/jama.299.4.425]
- Heneghan HM, Miller N, Lowery AJ, Sweeney KJ, Newell J, Kerin MJ. Circulating microRNAs as novel minimally invasive biomarkers for breast cancer. *Ann Surg* 2010; 251: 499-505 [PMID: 20134314 DOI: 10.1097/SLA.0b013e3181cc939f]
- Visone R, Croce CM. MiRNAs and cancer. *Am J Pathol* 2009; 174: 1131-1138 [PMID: 19264914 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080794]
- Rosenfeld N, Aharonov R, Meiri E, Rosenwald S, Spector Y, Zepeniuk M, Benjamin H, Shabes N, Tabak S, Levy A, Lebanony D, Goren Y, Silberschein E, Targan N, Ben-Ari A, Gilad S, Sion-Vardy N, Tobar A, Feinmesser M, Kharenko O, Nativ O, Nass D, Perelman M, Yosepovich A, Shalmon B, Polak-Charcon S, Fridman E, Avniel A, Bentwich I, Bentwich Z, Cohen D, Chajut A, Barshack I. MicroRNAs accurately identify cancer tissue origin. *Nat Biotechnol* 2008; 26: 462-469 [PMID: 18362881 DOI: 10.1038/nbt1392]
- Rosenwald S, Gilad S, Benjamin S, Lebanony D, Dromi N, Faerman A, Benjamin H, Tamir R, Ezagouri M, Goren E, Barshack I, Nass D, Tobar A, Feinmesser M, Rosenfeld N, Leizerman I, Ashkenazi K, Spector Y, Chajut A, Aharonov R. Validation of a microRNA-based qRT-PCR test for accurate identification of tumor tissue origin. *Mod Pathol* 2010; 23: 814-823 [PMID: 20348879 DOI: 10.1038/modpathol.2010.57]
- Bloomston M, Frankel WL, Petrocca F, Volinia S, Alder H, Hagan JP, Liu CG, Bhatt D, Taccioli C, Croce CM. MicroRNA expression patterns to differentiate pancreatic adenocarcinoma from normal pancreas and chronic pancreatitis. *JAMA* 2007; 297: 1901-1908 [PMID: 17473300 DOI: 10.1001/jama.297.17.1901]
- Iorio MV, Ferracin M, Liu CG, Veronese A, Spizzo R, Sabbioni S, Magri E, Pedriali M, Fabbri M, Campiglio M, Ménard S, Palazzo JP, Rosenberg A, Musiani P, Volinia S, Nenci I, Calin GA, Querzoli P, Negrini M, Croce CM. MicroRNA gene expression deregulation in human breast cancer. *Cancer Res* 2005; 65: 7065-7070 [PMID: 16103053 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-05-1783]
- Kozaki K, Imoto I, Mogi S, Omura K, Inazawa J. Exploration of tumor-suppressive microRNAs silenced by DNA hypermethylation in oral cancer. *Cancer Res* 2008; 68: 2094-2105 [PMID: 18381414 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-5194]
- Lu J, Getz G, Miska EA, Alvarez-Saavedra E, Lamb J, Peck D, Sweet-Cordero A, Ebert BL, Mak RH, Ferrando AA, Downing JR, Jacks T, Horvitz HR, Golub TR. MicroRNA expression profiles classify human cancers. *Nature* 2005; 435: 834-838 [PMID: 15944708 DOI: 10.1038/nature03702]
- Takamizawa J, Konishi H, Yanagisawa K, Tomida S, Osada H, Endoh H, Harano T, Yatabe Y, Nagino M, Nimura Y, Mitsudomi T, Takahashi T. Reduced expression of the let-7 microRNAs in human lung cancers in association with shortened postoperative survival. *Cancer Res* 2004; 64: 3753-3756 [PMID: 15172979 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0637]
- Tran N, McLean T, Zhang X, Zhao CJ, Thomson JM, O'Brien C, Rose B. MicroRNA expression profiles in head and neck cancer cell lines. *Biochem Biophys*

#### ■同行评价

文章创新性较强,应积极核对相关数据,充实文章的内容。



- Res Commun* 2007; 358: 12-17 [PMID: 17475218 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.03.201]
- 21 Yanaihara N, Caplen N, Bowman E, Seike M, Kumamoto K, Yi M, Stephens RM, Okamoto A, Yokota J, Tanaka T, Calin GA, Liu CG, Croce CM, Harris CC. Unique microRNA molecular profiles in lung cancer diagnosis and prognosis. *Cancer Cell* 2006; 9: 189-198 [PMID: 16530703 DOI: 10.1016/j.ccr.2006.01.025]
  - 22 Liu Z, Li G, Wei S, Niu J, El-Naggar AK, Sturgis EM, Wei Q. Genetic variants in selected pre-microRNA genes and the risk of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Cancer* 2010; 116: 4753-4760 [PMID: 20549817 DOI: 10.1002/cncr.25323]
  - 23 Srivastava K, Srivastava A, Mittal B. Common genetic variants in pre-microRNAs and risk of gallbladder cancer in North Indian population. *J Hum Genet* 2010; 55: 495-499 [PMID: 20520619 DOI: 10.1038/jhg.2010.54]
  - 24 Hu Z, Chen J, Tian T, Zhou X, Gu H, Xu L, Zeng Y, Miao R, Jin G, Ma H, Chen Y, Shen H. Genetic variants of miRNA sequences and non-small cell lung cancer survival. *J Clin Invest* 2008; 118: 2600-2608 [PMID: 18521189]
  - 25 Hu Z, Liang J, Wang Z, Tian T, Zhou X, Chen J, Miao R, Wang Y, Wang X, Shen H. Common genetic variants in pre-microRNAs were associated with increased risk of breast cancer in Chinese women. *Hum Mutat* 2009; 30: 79-84 [PMID: 18634034 DOI: 10.1002/humu.20837]
  - 26 Wang X, Tang S, Le SY, Lu R, Rader JS, Meyers C, Zheng ZM. Aberrant expression of oncogenic and tumor-suppressive microRNAs in cervical cancer is required for cancer cell growth. *PLoS One* 2008; 3: e2557 [PMID: 18596939 DOI: 10.1271/journal.pone.0002557]
  - 27 de la Chapelle A, Jazdzewski K. MicroRNAs in thyroid cancer. *J Clin Endocrinol Metab* 2011; 96: 3326-3336 [PMID: 21865360 DOI: 10.1210/jc.2011-1004]
  - 28 Hou Z, Xie L, Yu L, Qian X, Liu B. MicroRNA-146a is down-regulated in gastric cancer and regulates cell proliferation and apoptosis. *Med Oncol* 2012; 29: 886-892 [PMID: 21347720 DOI: 10.1007/s12032-011-9862-7]
  - 29 Yu J, Li A, Hong SM, Hruban RH, Goggins M. MicroRNA alterations of pancreatic intraepithelial neoplasias. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 981-992 [PMID: 22114139 DOI: 10.1158/1073-0432.CCR-1-2347]
  - 30 Labbaye C, Testa U. The emerging role of MIR-146A in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 13 [PMID: 22453030 DOI: 10.1186/1756-8722-5-13]
  - 31 Jeon HS, Lee YH, Lee SY, Jang JA, Choi YY, Yoo SS, Lee WK, Choi JE, Son JW, Kang YM, Park JY. A common polymorphism in pre-microRNA-146a is associated with lung cancer risk in a Korean population. *Gene* 2014; 534: 66-71 [PMID: 24144839 DOI: 10.1016/j.gene.2013.10.014]
  - 32 Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7269-7274 [PMID: 18474871 DOI: 10.1073/pnas.0802682105]
  - 33 Peng S, Kuang Z, Sheng C, Zhang Y, Xu H, Cheng Q. Association of microRNA-196a-2 gene polymorphism with gastric cancer risk in a Chinese population. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2288-2293 [PMID: 19834808 DOI: 10.1007/s10620-009-1007-x]
  - 34 Chen S, He Y, Ding J, Jiang Y, Jia S, Xia W, Zhao J, Lu M, Gu Z, Gao Y. An insertion/deletion polymorphism in the 3' untranslated region of beta-transducin repeat-containing protein (betaTrCP) is associated with susceptibility for hepatocellular carcinoma in Chinese. *Biochem Biophys Res Commun* 2010; 391: 552-556 [PMID: 19931512 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.11.096]
  - 35 Vinci S, Gelmini S, Mancini I, Malentacchi F, Pazzagli M, Beltrami C, Pinzani P, Orlando C. Genetic and epigenetic factors in regulation of microRNA in colorectal cancers. *Methods* 2013; 59: 138-146 [PMID: 22989523 DOI: 10.1016/j.ymeth.2012.09.002]
  - 36 Ma L, Zhu L, Gu D, Chu H, Tong N, Chen J, Zhang Z, Wang M. A genetic variant in miR-146a modifies colorectal cancer susceptibility in a Chinese population. *Arch Toxicol* 2013; 87: 825-833 [PMID: 23306950 DOI: 10.1007/s00204-012-1004-2]
  - 37 Hezova R, Kovarikova A, Bienertova-Vasku J, Sachlova M, Redova M, Vasku A, Svoboda M, Radova L, Kiss I, Vyzula R, Slaby O. Evaluation of SNPs in miR-196-a2, miR-27a and miR-146a as risk factors of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 2827-2831 [PMID: 22719192 DOI: 10.3748/wjg.v18.i22.2827]
  - 38 Chae YS, Kim JG, Lee SJ, Kang BW, Lee YJ, Park JY, Jeon HS, Park JS, Choi GS. A miR-146a polymorphism (rs2910164) predicts risk of and survival from colorectal cancer. *Anticancer Res* 2013; 33: 3233-3239 [PMID: 23898084]
  - 39 Hu X, Li L, Shang M, Zhou J, Song X, Lu X, Wang J, Ying B, Wang L. Association between microRNA genetic variants and susceptibility to colorectal cancer in Chinese population. *Tumour Biol* 2013 Oct 18. [Epub ahead of print] [PMID: 24136745]
  - 40 Min KT, Kim JW, Jeon YJ, Jang MJ, Chong SY, Oh D, Kim NK. Association of the miR-146aC& gt; G, 149C& gt; T, 196a2C& gt; T, and 499A& gt; G polymorphisms with colorectal cancer in the Korean population. *Mol Carcinog* 2012; 51 Suppl 1: E65-E73 [PMID: 22161766 DOI: 10.1002/mc.21849]
  - 41 Lv M, Dong W, Li L, Zhang L, Su X, Wang L, Gao L, Zhang L. Association between genetic variants in pre-miRNA and colorectal cancer risk in a Chinese population. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 1405-1410 [PMID: 23728616 DOI: 10.1007/s00432-013-1456-7]
  - 42 Wang F, Sun G, Zou Y, Fan L, Song B. Lack of association of miR-146a rs2910164 polymorphism with gastrointestinal cancers: evidence from 10206 subjects. *PLoS One* 2012; 7: e39623 [PMID: 22761848 DOI: 10.1371/journal.pone.0039623]
  - 43 Wigginton JE, Cutler DJ, Abecasis GR. A note on exact tests of Hardy-Weinberg equilibrium. *Am J Hum Genet* 2005; 76: 887-893 [PMID: 15789306]
  - 44 DerSimonian R, Laird N. Meta-analysis in clinical trials. *Control Clin Trials* 1986; 7: 177-188 [PMID: 3802833]
  - 45 Mantel N, Haenszel W. Statistical aspects of the analysis of data from retrospective studies of disease. *J Natl Cancer Inst* 1959; 22: 719-748 [PMID: 13655060]
  - 46 Egger M, Davey Smith G, Schneider M, Minder C. Bias in meta-analysis detected by a simple, graphical

cal test. *BMJ* 1997; 315: 629-634 [PMID: 9310563]  
47 Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics

of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011 年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 多发性骨髓瘤误诊急性胰腺炎1例

王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿

## ■背景资料

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是恶性浆细胞病中最常见的一种类型, 又称骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤或Kahler病。近年来发病率逐年增加, 因为早期临床症状体征不典型, 且可累及全身多组织器官, 极易漏诊和误诊。

王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿, 河北医科大学第二医院消化内科  
河北省石家庄市 050000

王娜, 副教授, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 本文由王娜与齐冉共同完成; 丁倩收集资料; 姜慧卿审核。

通讯作者: 王娜, 副教授, 硕士生导师, 050000, 河北省石家庄市新华区和平安路215号, 河北医科大学第二医院消化科, 河北省消化病研究所, 河北省消化病重点实验室: wangna1975@126.com  
电话: 0311-66002951

收稿日期: 2013-12-28 修回日期: 2014-01-26

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-02-28

## Multiple myeloma misdiagnosed as acute pancreatitis: A cases report

Na Wang, Ran Qi, Qian Ding, Hui-Qing Jiang

Na Wang, Ran Qi, Qian Ding, Hui-Qing Jiang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Hebei Key Laboratory of Gastroenterology, Hebei Institute of Gastroenterology, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Na Wang, Associate Professor, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. wangna1975@126.com

Received: 2013-12-28 Revised: 2014-01-26

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-02-28

## Abstract

As the most common form of malignant plasma cell disease, multiple myeloma is also known as myeloma, plasma cell myeloma or Kahler's disease. The incidence of multiple myeloma has gradually increased in recent years, but the diagnosis is often difficult due to various clinical manifestations and multiple affected organs. In this article, we report a case of multiple myeloma in a patient with abnormal accumulation of plasma cells in bone marrow, elevated level of a monoclonal protein in serum and urine, bone pain, renal injury, anemia, skull fractures and, intriguingly, high level of amylase in blood and urine. Although it was initially misdiagnosed as acute pancreatitis, the patient is finally diagnosed with multiple myeloma. Clinicians will benefit from this case in terms of how to improve diagnosis rate and avoid misdiagnosis.

## ■同行评议者

夏时海, 副教授, 副主任医师, 行政主任, 武警后勤学院附属医院肝胆胰脾科(中心)

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

Key Words: Multiple myeloma; Pancreatitis; Macroamylasemia

Wang N, Qi R, Ding Q, Jiang HQ. Multiple myeloma misdiagnosed as acute pancreatitis: A cases report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(6): 898-900 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/898.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.898>

## 摘要

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是恶性浆细胞病中最常见的一种类型, 又称骨髓瘤、浆细胞骨髓瘤或Kahler病。近年来发病率逐年增加, 因为早期临床症状体征不典型, 且可累及全身多组织器官, 极易漏诊和误诊。本文报道1例患者, 以血、尿淀粉酶明显升高为突出表现, 骨髓涂片及活检结果均示浆细胞增生, 血清和尿出现单克隆M蛋白, 同时伴有骨痛、肾功能损害、贫血、颅骨骨质破坏, 确诊为MM。临床医生应提高对类似病例的认识, 及时行相关检查, 避免误诊。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 多发性骨髓瘤; 胰腺炎; 巨淀粉酶血症

**核心提示:** 多发性骨髓瘤(multiple myeloma)是一种恶性浆细胞病, 因为早期临床症状体征不典型, 可累及全身多组织器官, 极易漏诊和误诊。临床上患者出现淀粉酶明显升高但缺乏典型临床表现且针对胰腺炎治疗效果差时, 应警惕多发性骨髓瘤可能, 及时行骨髓细胞形态学检查、骨骼X线检查、免疫固定电泳, 以防误诊, 尽早诊治。

王娜, 齐冉, 丁倩, 姜慧卿. 多发性骨髓瘤误诊急性胰腺炎1例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(6): 898-900 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/898.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i6.898>

## 0 引言

多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)是一种恶



性浆细胞病,其肿瘤细胞来源于骨髓中的浆细胞,其特征为骨髓浆细胞异常增生伴有单克隆免疫球蛋白或轻链(M蛋白)过度生成,常伴有多发性溶骨性损害、贫血、肾脏损害和感染。以血、尿淀粉酶明显升高为突出表现的病例,临床上报道罕见。现将我院收治的1例以血、尿淀粉酶明显升高为突出表现的多发性骨髓瘤病例报道如下。

## 1 病例报告

患者,女,69岁,因“左上腹疼痛2 mo”于2012-05-26入院。患者2 mo前无明显诱因出现左上腹持续性钝痛,能耐受,向腰背部放射,进食后加重。无恶心、呕吐,有排气、排便,无黏液脓血便,伴发热,体温最高达38.5℃,无发冷寒战,无咳嗽咳痰,无黄疸及皮肤瘙痒,上腹部CT示胰腺未见异常,胆囊多发结石,血淀粉酶7000 U/L。既往10年前患有高血压、糖尿病。有“青霉素、复方氨林巴比妥”过敏史。体格检查: T 38.0℃, P 80次/min, R 20次/min, BP 110/70 mmHg, 神清,皮肤、巩膜无黄染,结膜苍白,全身浅表淋巴结未触及肿大,心肺查体无异常。腹平软,未见胃肠型及蠕动波,肝脾未触及,未触及腹部包块,左上腹轻压痛,无反跳痛及肌紧张,无移动性浊音,肠鸣音弱。辅助检查:血常规:白细胞 $11.1 \times 10^9/L$ ,中性粒细胞82.6%,淋巴细胞百分比15.7%, HGB  $107 g/L$ ,红细胞压积30.4%, PLT  $206 \times 10^9/L$ ;血生化C反应蛋白 141.75 mg/L,乳酸脱氢酶503.0 U/L,  $\alpha$ -羟丁酸脱氢酶420.1 U/L,总蛋白88.7 g/L,球蛋白46.7 g/L,白蛋白/球蛋白0.9,  $\beta_2$ 微球蛋白14.06 mg/L,尿素12.1 mmol/L,肌酐258.4  $\mu\text{mol/L}$ ,尿酸757.0  $\mu\text{mol/L}$ ,钠130.1 mmol/L,氯93.0 mmol/L,总胆固醇6.09 mmol/L,甘油三酯4.78 mmol/L,高密度脂蛋白0.85 mmol/L,余生化指标及凝血常规未见异常;血淀粉酶10542 U/L,尿淀粉酶3755 U/L。入院诊断:(1)急性胰腺炎;(2)胆囊多发结石;(3)高血压3级很高危;(4)2型糖尿病。给予禁食水,抑酸、抑制胰酶分泌及补液支持治疗后患者腹痛缓解,但血淀粉酶10610 U/L,尿淀粉酶2009 U/L,复查上腹CT示胰腺未见异常,后考虑患者高淀粉酶血症与临床表现不符,考虑为非胰源性疾病所致可能,行骨髓涂片及活检结果均示浆细胞明显增生,行流式细胞分析发现部分异常浆细胞;查免疫球蛋白IgG 26.7 g/L, IgA 0.44 g/L, IgM 0.20 g/L;颅骨平片可见多发类圆形低密度区,考虑骨质破坏;24 h尿蛋白

定量5.82 g/24 h;查尿液中本周氏蛋白阳性,血清免疫固定电泳结果为IgG-KAP型M蛋白血症;诊断MM明确,给予VTD方案(吡柔比星10 mg d1-4,地塞米松20 mg d1-4,长春地辛2 mg d1)治疗后,症状较前明显好转,复查肾功正常,血淀粉酶下降至4400 U/L后出院。

## 2 讨论

MM多见于中老年人,近年来发病率出现逐年增加的趋势,因为早期临床症状体征不典型,可累及全身多组织器官,极易漏诊和误诊。最新的2013版《中国多发性骨髓瘤诊治指南》<sup>[1]</sup>确立的有症状骨髓瘤诊断标准(满足全部3条标准):(1)骨髓单克隆浆细胞比例 $\geq 10\%$ 和/或组织活检证明有浆细胞瘤;(2)血清和/或尿出现单克隆M蛋白;(3)骨髓瘤相关靶器官损害(至少一项或多项):校正血清钙 $> 2.65 \text{ mmol/L}$ ,肾功能损害(肌酐 $> 177 \mu\text{mol/L}$ ),贫血(血红蛋白低于正常下限20 g/L或 $< 100 \text{ g/L}$ ),溶骨性破坏,严重的骨质疏松或病理性骨折,其他类型的终末器官损害也偶有发生;若经过治疗证实这些脏器的损害与骨髓瘤相关可进一步支持诊断。

该患者根据(1)骨髓涂片及活检结果均示浆细胞增生,行流式细胞分型发现异常浆细胞,比例10%;(2)尿液中本周氏蛋白阳性,血清免疫固定电泳结果为IgG-KAP型M蛋白血症;(3)伴有骨痛、肾功能损害、贫血、颅骨骨质破坏,且经化疗后有较前明显的好转,多发性骨髓瘤诊断明确。

当血、尿淀粉酶明显升高时,最常见的疾病是胰腺炎,但淀粉酶升高对于胰腺炎诊断的特异度为80%-95%<sup>[2]</sup>。也就是说血淀粉酶升高也可以见于许多非胰源性疾病,例如除胰腺疾病以外的其他消化系统疾病、恶性肿瘤如肺癌、卵巢癌、乳腺癌等疾病中均有出现血淀粉酶升高的报道。该患者症状疑似胰腺炎,但胰腺CT不支持胰腺炎表现,同时针对胰腺炎治疗效果不明显,而经过化疗后各项指标及临床症状均得到改善,故可排除胰腺炎可能。

分析该患者出现高达14590 U/L血淀粉酶的原因,考虑为血清中过多的免疫球蛋白可与淀粉酶结合形成复合物,由于该复合物分子量十分巨大,无法通过肾小球的滤过作用,无法从体内清除,故出现了血淀粉酶显著升高,称为巨淀粉酶血症<sup>[3]</sup>。巨淀粉酶血症还可见于其他浆细胞病、慢性淋巴细胞白血病、华氏巨球蛋白血症等。

## ■ 研发前沿

MM是一种恶性浆细胞病,其特征为骨髓浆细胞异常增生伴有单克隆免疫球蛋白或轻链(M蛋白)过度生成,常伴有多发性溶骨性损害、贫血、肾脏损害和感染。

## ■ 相关报道

MM多见于中老年人,近年来发病率出现逐年增加的趋势,因为早期临床症状体征不典型,可累及全身多组织器官,极易漏诊和误诊。当血、尿淀粉酶明显升高时,最常见的疾病是胰腺炎,但淀粉酶升高对于胰腺炎诊断的特异度为80%-95%,血淀粉酶升高也可以见于许多非胰源性疾病。

### ■同行评价

MM是恶性浆细胞病中最常见的一种类型,早期临床症状体征不典型,极易漏诊和误诊。以巨淀粉酶血症为表现临床上较为少见,对临床工作有一定指导意义。

总结该病例,淀粉酶明显升高但缺乏典型临床表现且针对胰腺炎治疗效果差时,应积极考虑其他可引起淀粉酶升高的疾病。特别是出现以下情况:(1)中老年患者;(2)不明原因的胸背部、腰背部或其他部位的疼痛、骨质疏松甚至病理性骨折,可伴有血钙增高;(3)贫血,伴有不明原因的血沉明显增快;(4)严重的肾功能不全、持续蛋白尿且血压无明显异常;(5)球蛋白增高,白蛋白降低;(6)反复感染,一般抗感染治疗效果差应警惕多发性骨髓瘤可能,及时行骨

髓细胞形态学检查、骨骼X线检查、免疫固定电泳,以防误诊,尽早诊治。

### 3 参考文献

- 1 中国医师协会血液科医师分会, 中华医学会血液学分会, 中国多发性骨髓瘤工作组. 中国多发性骨髓瘤诊治指南(2013年修订). 中华内科杂志 2013, 52: 791-795
- 2 Matull WR, Pereira SP, O'Donohue JW. Biochemical markers of acute pancreatitis. *J Clin Pathol* 2006; 59: 340-344 [PMID: 16567468 DOI: 10.1136/jcp.2002.002923]
- 3 燕东, 刘绍能, 白宇宁, 刘慧敏, 孟淼. 巨淀粉酶血症1例. 现代中西医结合杂志 2012, 8: 2705-2706

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。



《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$  ( $P>0.05$  不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上



角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授  
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白浪 副教授  
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈国忠 主任医师  
广西中医学院第一附属医院消化内科

陈海龙 教授  
大连医科大学附属第一医院院办

陈贻胜 教授  
福建省立医院

崔莲花 副教授  
青岛大学医学院公共卫生系

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院

巩鹏 教授  
大连医科大学附属第一医院普外二科

郝纯毅 主任医师  
北京肿瘤医院肿瘤外科

李君文 研究员  
中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

李孟森 教授  
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李胜 研究员  
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李增山 副教授  
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

林潮双 副教授  
中山大学附属第三医院感染科

刘丽江 教授  
江汉大学医学院病理学

禄韶英 博士  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

茅爱武 教授  
上海同仁医院介入中心

潘阳林 副教授  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

宋新明 教授  
中山大学附属第一医院胃肠外科

田文静 副教授  
哈尔滨医科大学

徐泱 副主任医师  
上海复旦大学附属中山医院

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

袁红霞 研究员  
天津中医药大学

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张进祥 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院

赵春玲 副教授  
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授  
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

郑素军 副教授  
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科

邹小明 教授  
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



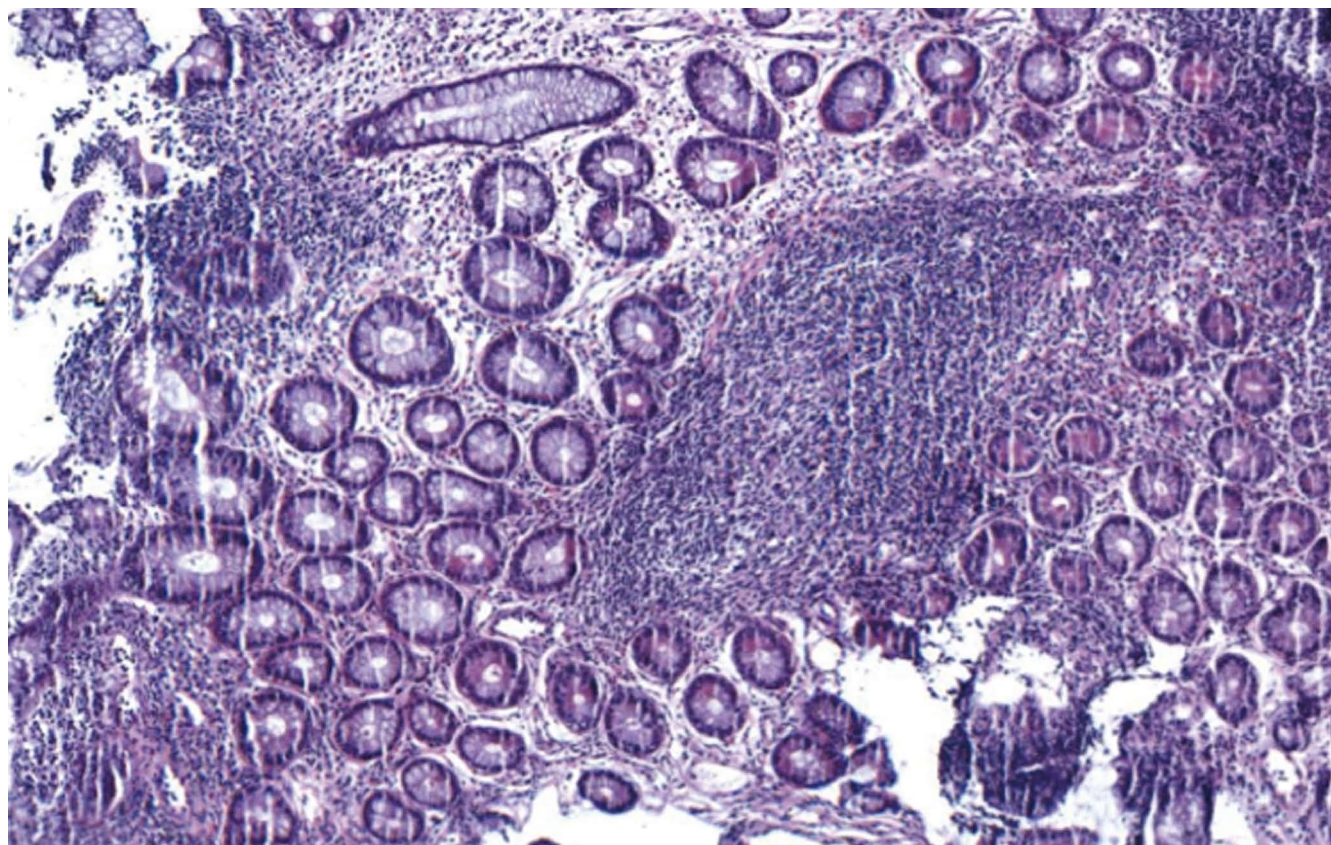


# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2014 年 3 月 8 日 第 22 卷 第 7 期 (Volume 22 Number 7)



**7/2014**

ISSN 1009-3079



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



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

冯志杰主任医师

傅春彬主任医师

甘华田教授

高凌副教授

戈之铮教授

关玉盘教授

关晓辉主任医师

郭晓钟教授

郝建宇教授

郝丽萍副教授

何继满教授

何松教授

洪天配教授

黄培林教授

黄晓东主任医师

黄颖秋教授

黄缘教授

李国忠教授

江米足教授

姜春萌教授

姜慧卿教授

姜相君主任医师

金瑞教授

蓝宇教授

李淑德教授

李瑜元教授

李玉民教授

廖家智副主任医师

林志辉教授

刘冰熔教授

刘凤斌教授

刘改芳主任医师

刘海峰主任医师

刘海林主任医师

刘亮明副教授

陆伦根教授

马红主任医师

马欣主任医师

毛恩强教授

毛高平教授

孟庆华教授

缪应雷主任医师

倪润洲教授

欧希龙副教授

潘秀珍教授

潘阳林副教授

朴云峰教授

秦成勇教授

任粉玉教授

任建林教授

邵先玉教授

沈琳主任医师

沈薇教授

施瑞华教授

宋军副教授

唐世刚教授

田宇彬教授

度必光教授

宛新建副教授

王邦茂教授

王炳元教授

王承党教授

王江滨教授

王俊平教授

王蔚虹教授

王晓艳副教授

夏冰教授

夏时海副教授

徐灿霞教授

徐可树教授

杨建民教授

张国主任医师

姚树坤教授

张国梁主任医师

张军教授

张庆瑜教授

张小晋主任医师

张筱茵副教授

张志强教授

郑培永教授

郑鹏远教授

郑素军副主任医师

郑勇教授

周国雄主任医师

周宇教授

邹晓平主任医师

诸琦教授

于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师

白雪巍副主任医师

白玉作教授

蔡开琳副教授

蔡三军主任医师

曹杰主任医师

陈炳官教授

陈光教授

陈海龙教授

陈积圣教授

陈进宏副主任医师

陈凇教授

陈汝福教授

陈亚军主任医师

陈钟教授

程爱国教授

程树群副教授

崔云甫教授

戴朝六教授

戴冬秋教授

丁义涛教授

杜顺达副教授

房林教授

傅红副教授

傅华群教授

傅思源副教授

傅晓辉副教授

傅志仁主任医师

高毅主任医师

葛海燕教授

巩鹏副教授

谷俊朝主任医师

顾国利副主任医师

顾岩教授

韩天权教授

郝纯毅主任医师

郝立强副教授

何超教授

何向辉教授

何晓顺教授

何裕隆教授

胡安斌副教授

黄志勇教授

季加孚教授

姜卫东教授

姜波健教授

金山主任医师

康春博副主任医师

孔静副教授

黎乐群教授

李革副教授

李国威教授

李华副教授

李华山主任医师

李升平教授

李胜研究员

李涛副主任医师

李文岗教授

李小荣教授

李旭副教授

李永翔教授

李正荣副教授

李志霞教授

李宗芳教授

梁力建教授

刘宝林教授

刘超教授

刘宏鸣副教授

刘建教授

刘亮副主任医师

刘颖斌主任医师

卢军华教授

陆云飞教授

禄韶英副教授

吕凌副教授

吕云福教授

麻勇研究员

齐清会教授

秦春宏副主任医师

秦华东教授

秦环龙教授

秦建民主任医师

邱伟华主任医师

仇毓东教授

崔清波副教授

单云峰副主任医师

沈柏用副教授

施宝民教授

施诚仁教授

施晓雷副主任医师

石毓君研究员

宋新明教授

宋振顺教授

孙诚谊教授

孙文兵教授

孙星副教授

孙学英教授

邵升副教授

谭晓冬教授

汤朝晖副主任医师

汤绍涛教授

唐南洪教授

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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

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

### 消化病理学

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

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014年3月8日 第22卷 第7期 (总第447期)

述 评	901 长链非编码RNA在结直肠癌中的研究进展 陶海波, 万玉香, 邓安梅, 顾宏利
基础研究	907 紫花牡荆素诱导肝星状细胞凋亡的作用机制 田君湘
临床研究	915 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术治疗源于固有肌层食管黏膜下肿瘤的回顾性分析 闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 陈巍峰 920 自噬调控因子beclin1及mTOR在大肠腺瘤癌变过程中的表达及意义 何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博
文献综述	927 乙型肝炎病毒的复制再活化 阮杰, 李海军, 孙殿兴 933 尿酸与非酒精性脂肪肝的相关性 徐小玲, 贾红 939 成年人慢性便秘流行病学的研究现状 赵劭, 谭至柔 945 PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗中的临床应用 陈晓, 周平 951 针刺治疗慢性肛门直肠痛 陆铤, 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江
研究快报	956 <i>H. pylori</i> 对人肝正常细胞L-02的作用及其分子机制 刘丽, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉 963 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化 熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁 969 洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对水通道蛋白AQP3和AQP8的影响 吴霜, 程滢瑞, 周锦勇, 吴本升, 陈玉根, 杨柏霖 975 阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用 吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧 982 MK886对人结肠癌细胞SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响 周娟燕, 唐采白, 陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 费素娟
临床经验	988 超声内镜对早期食管癌术前分期准确性的Meta分析 周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷 1000 胃癌患者血清热休克蛋白27、90的检测 袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔 1005 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价 张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪 1010 伴晚期肝硬化终末期肾脏病患者不同透析治疗的临床效果比较 李娟, 程守斌, 周艳玲 1015 鳞状细胞癌抗原SCCA1在肝细胞癌中的表达及意义 李石磊, 高英堂, 单士岗, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 王毅军 1022 难治性肠易激综合征-腹泻型的相关危险因素 洪霞, 古赛 1027 炎症性肠病的临床病理学特点 古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞 1033 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值 朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞 1037 无症状体检者结肠息肉分布特征1990例 陶文武, 高峰 1042 III期直肠癌患者中临床预后的多因素Logistic回归分析 许进军, 甘宁



病例报告	1047 以特殊症状首发起病的克罗恩病2例 杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	914 《世界华人消化杂志》参考文献 955 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费 981 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1014 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1046 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1050 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号
封面故事	古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞. 炎症性肠病的临床病理学特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1027-1032 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 闫晋利; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范 审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-03-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035 手机: 13901166126

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

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

特别声明

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

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

**March 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 7**

<b>EDITORIAL</b>	901 Long noncoding RNAs in colorectal cancer <i>Tao HB, Wan YX, Deng AM, Yan HL</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	907 Mechanisms underlying casticin induced apoptosis of hepatic stellate cells <i>Tian JX</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	915 Submucosal tunneling endoscopic resection of esophageal submucosal tumors originating from the muscularis propria layer: A retrospective analysis <i>Min H, Chen ZR, Gong F, Wang H, Zhou JD, Chen WF</i> 920 Significance of expression of autophagy related factors beclin1 and mTOR in malignant transformation of colorectal adenoma <i>He S, Wu SH, Hu JL, Wen FF, Sun CB</i>
<b>REVIEW</b>	927 Reactivation of hepatitis B virus <i>Ruan J, Li HJ, Sun DX</i> 933 Correlation between uric acid and nonalcoholic fatty liver disease <i>Xu XL, Jia H</i> 939 Epidemiology of chronic constipation in adults <i>Zhao M, Tan ZR</i> 945 Application of <sup>18</sup> F-FDG PET/CT imaging in stereotactic radiotherapy of colorectal liver metastases <i>Chen X, Zhou P</i> 951 Treatment of chronic anorectal pain by acupuncture <i>Lu T, Xu YH, Ding SQ, Ding YJ</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	956 Effect of <i>Helicobacter pylori</i> infection on growth of normal human liver cells (L-02) <i>Liu L, Huang ZS, Huang YQ, Zhou XH</i> 963 Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis in mice <i>Xiong XF, Liu ZH, Liu WD, Ma NF, Shen Y</i> 969 Expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats <i>Wu S, Cheng YR, Zhou JY, Wu BS, Chen YG, Yang BL</i> 975 17-DMAG protects mice from dextran sulphate sodium induced acute ulcerative colitis <i>Wu L, Wang FY, Lu YK, Liu J, Lu H, Liu C, Chen CY, Li N, Tao H</i> 982 MK886 inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2 <i>Zhou JY, Tang CB, Chen FX, Liu JQ, Lv XT, Fei SJ</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	988 Accuracy of endoscopic ultrasound in preoperative staging of early esophageal cancer: A Meta-analysis <i>Zhou SS, Yan S, Chen WC, Shi DT, Fu T</i> 1000 Detection of serum HSP27 and HSP90 in patients with gastric carcinoma <i>Yuan JM, Liu T, Shen JK, Wang TX</i> 1005 Curative effects of peg-interferon $\alpha$ -2a plus ribavirin and ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C patients <i>Zhang ZM, Yu LF, Li YM, Chen FM, Luo X</i> 1010 Clinical effects of hemodialysis versus peritoneal dialysis in end-stage renal disease patients with advanced cirrhosis <i>Li J, Cheng SB, Zhou YL</i> 1015 Expression of SCCA1 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance <i>Li SL, Gao YT, Shan SG, Liang ZH, Zhai DK, Jing L, Liu T, Du Z, Wang YJ</i> 1022 Risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea <i>Hong X, Gu S</i> 1027 Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease <i>Gulinaer Abulajiang, Sang W, Shi XL, Zhang W, Li XX</i> 1033 Diagnostic value of single balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding <i>Zhu M, Zhang J, Tang J, Mao GP, Ning SB, Jin XW, Li YF</i> 1037 Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects <i>Tao WW, Gao F</i> 1042 Multivariate Logistic regression analysis of prognostic factors for stage III rectal cancer <i>Xu JJ, Gan N</i>

<b>CASE REPORT</b>	1047 Crohn's disease with special symptoms as initial manifestations: Report of two cases <i>Yang ZD, Zhang LY, Wang DY, Yao DP, Fu GJ, Li XH</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Gulinaer Abulajiang, Sang W, Shi XL, Zhang W, Li XX.</i> Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(7): 1027-1032 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Jin-Li Yan</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

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

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** March 8, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

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

### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

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

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

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

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

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035 13901166126

Fax: +86-10-85381893

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

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

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

### SPECIAL STATEMENT

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

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# 长链非编码RNA在结直肠癌中的研究进展

陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利

陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科 上海市 200433

颜宏利, 教授, 主要从事表观遗传学的研究。

作者贡献分布: 本文综述由陶海波与万玉香完成; 颜宏利与邓安梅共同负责审校。

通讯作者: 颜宏利, 教授, 200433, 上海市长海路168号长海医院17号楼1311室, 中国人民解放军第二军医大学长海医院实验诊断科. hongliyan@smmu.edu.cn

电话: 021-31162079

收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-02-14

接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-08

## Long noncoding RNAs in colorectal cancer

Hai-Bo Tao, Yu-Xiang Wan, An-Mei Deng, Hong-Li Yan

Hai-Bo Tao, Yu-Xiang Wan, An-Mei Deng, Hong-Li Yan, Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Correspondence to: Hong-Li Yan, Professor, Department of Laboratory Medicine, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Room 1311, Building 17, Changhai Hospital, 168 Changhai Road, Shanghai 200433, China. hongliyan@smmu.edu.cn

Received: 2013-12-26 Revised: 2014-02-14

Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Long noncoding RNAs (lncRNAs) are broadly defined as RNA molecules greater than 200 bp in length and lacking an open reading frame. Recent studies have demonstrated that lncRNAs are widely involved in the regulation of gene expression network at epigenetic, transcriptional and post-transcriptional levels, which may affect cell growth, proliferation, differentiation, metabolism, apoptosis and other important physiological processes. Abnormal expression of lncRNAs is closely associated with the tumor development, invasion, metastasis and prognosis. The development of colorectal cancer is a multi-factor, multi-step process, and abnormal gene expression may play an important role in this process. This review focuses on the current advances in research of lncRNAs in colorectal cancer, with an aim to provide new clues to clinical prevention, diagnosis and treatment of this malignancy.

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

Key Words: LncRNAs; Colorectal cancer

Tao HB, Wan YX, Deng AM, Yan HL. Long noncoding RNAs in colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 901-906 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/901.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.901>

## 摘要

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)是一类长度超过200个核苷酸但无蛋白质编码功能的RNA分子。近年来许多研究表明其可在表观遗传学、转录及转录后等多个水平参与基因的表达调控,影响细胞的生长发育、增殖、分化、代谢和凋亡等重要生理过程。lncRNA的异常表达与肿瘤的发生、发展、侵袭、转移及预后有着密切的关系。结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程,而基因表达的异常在其中发挥着重要的作用。本文就lncRNA在结直肠癌中的作用及研究进展进行综述,为临床预防、诊断和治疗结直肠癌提供新策略。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: LncRNA; 结直肠癌

**核心提示:** lncRNA可在表观遗传等多个水平参与基因的表达调控,影响细胞的增殖和分化,其异常表达与肿瘤的发生、发展及预后有着密切的关系。结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程,而基因表达的异常在其中发挥着重要的作用。

陶海波, 万玉香, 邓安梅, 颜宏利. 长链非编码RNA在结直肠癌中的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(7): 901-906 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/901.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.901>

## 0 引言

长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)

## ■背景资料

lncRNA是一类长度超过200个核苷酸、具有调控基因表达的作用,但无蛋白质编码功能的RNA分子。lncRNA通过多种调控方式在表观遗传、转录和转录后等多种水平影响细胞的生长发育,参与肿瘤的发生、发展、转移和预后等过程。结直肠癌是常见的消化系统恶性肿瘤之一,近年来随着国人生活水平的提高、饮食习惯的改变、人口的老龄化以及结直肠癌普查的开展,我国结直肠癌的发病率呈明显上升趋势,严重影响人们的健康和生活质量。

## ■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

## ■研究前沿

结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程,基因表达的异常在其中发挥着重要的作用。随着对结直肠癌发病机制研究的不断深入,有望发现对其早期诊断、临床分期、个体化治疗、靶向治疗和预后评估起关键作用的新型分子标志物,而lncRNA在此方面具有非常广阔的研究和应用前景。

是一类长度超过200个核苷酸、具有调控基因表达的作用,但无蛋白质编码功能的RNA分子。lncRNA通过多种调控方式在表观遗传、转录和转录后等多种水平影响细胞的生长发育,参与肿瘤的发生、发展、转移和预后等过程<sup>[1,2]</sup>。结直肠癌是常见的消化系恶性肿瘤之一,近年来随着国人生活水平的提高、饮食习惯的改变、人口的老龄化以及结直肠癌普查的开展,我国结直肠癌的发病率呈明显上升趋势,严重影响人们的健康和生活质量。结直肠癌的发病是一个多因素、多步骤的复杂过程,基因表达的异常在其中发挥着重要的作用<sup>[3]</sup>。随着对结直肠癌发病机制研究的不断深入,有望发现对其早期诊断、临床分期、个体化治疗、靶向治疗和预后评估起关键作用的新型分子标志物,而lncRNA在此方面具有非常广阔的研究和应用前景。

## 1 lncRNA概述

lncRNA是一类长度超过200个核苷酸但无蛋白质编码功能的RNA分子,具有高度保守的空间二级结构,复杂的亚细胞定位,可位于细胞核内,也可位于细胞浆内<sup>[4]</sup>;而且某些lncRNA的表达还具有组织和时空特异性。lncRNA的产生方式有多种,目前认为可能有以下几种方式<sup>[5,6]</sup>:(1)染色体重排;(2)编码蛋白基因结构变化而转变为lncRNA;(3)非编码RNA内部发生串联重复产生相邻的重复序列,即lncRNA;(4)由非编码基因在复制过程中的反移位产生;(5)基因中插入转座子而产生有功能的lncRNA。近年来,越来越多的研究表明lncRNA可通过多种途径调节DNA甲基化、组蛋白修饰、染色质重构和作为miRNA的前体,参与表观遗传沉默、基因的转录和翻译、细胞周期和细胞凋亡等调控过程。

## 2 lncRNA与结直肠癌

越来越多的研究表明lncRNA与结直肠癌的发生发展有着密切的关系,其异常表达可能在肿瘤的发生发展过程中发挥着抑癌基因或促癌基因的作用<sup>[7]</sup>。Pibouin等<sup>[8]</sup>在结肠癌细胞系TC7中发现了lncRNA-OCC-1(overexpressed in colon carcinoma-1)的过表达,通过体外实验证明OCC-1 cDNA可编码数种多肽。lncRNA表达水平上的差异以及某些肿瘤中特异型lncRNA的表达,预示着lncRNA可作为一些肿瘤临床诊断和治疗的新型分子标志物,如lncRNA DD3(PCA3)已被证实可作为前列腺癌高度特异的核算分子标志物,

其特异性高于血清前列腺特异性抗原(prostate specific antigen, PSA)。Gibb等<sup>[9]</sup>研究发现了人类正常组织及癌组织的lncRNA转录谱,认为在肿瘤中普遍存在lncRNA的异常表达。lncRNA的种类繁多、数量庞大、功能广泛,目前在结直肠癌的发病机制中研究较多的种类不多(表1),下面将重点阐述几种常见的lncRNA在结直肠癌中的研究现状。

**2.1 MALAT1与结直肠癌** 肺腺癌转移相关转录子1(metastasis-associated lung adenocarcinoma transcript 1, *MALAT1*)基因定位于11q13.1,全长8.7 kb,在正常人组织中广泛表达,神经组织中表达量最高。其最早是在早期非小细胞肺癌组织中发现的,故因此而得名<sup>[47]</sup>。*MALAT1*基因转录产物的亚细胞定位比较特殊,主要存在于细胞核内,细胞质中分布很少。Wilusz等<sup>[48]</sup>发现MALAT1在转录的过程中可产生一种仅含61个核苷酸的非编码MALAT1相关胞浆小RNA(MALAT1-associated small cytoplasmic RNA, mascRNA),mascRNA可被转运到细胞质中,MALAT1的初级转录产物经过RNA酶剪切可形成mascRNA。由此可见,MALAT1特殊的亚细胞结构定位决定了其在细胞内功能的多样性,主要涉及SR蛋白(serine/arginine rich protein, SR protein)的招募和磷酸化、基因的表达调控、mRNA前体的剪切和修饰以及神经突触的形成等重要生理过程。

近年来诸多研究表明,在结直肠癌、胰腺癌、肝癌和食管癌等多种消化系统肿瘤中均有不同程度的MALAT1异常表达。Xu等<sup>[49]</sup>发现,在*MALAT1*基因的3'端存在一段长约1524个核苷酸的特殊序列,其与结直肠癌细胞SW480、SW620的转移行为直接相关,通过实验证实下调*MALAT1*基因可有效抑制肿瘤细胞的转移。AKAP9蛋白是γ微管蛋白复合体(γTuRCs)的重要成员,在纺锤体的极化过程中起着至关重要的作用,其功能丧失会导致成核失败、中心体与高尔基体复合异常,进而导致肿瘤发生<sup>[50]</sup>。有研究表明AKAP9作为*MALAT1*调控基因表达的一种靶基因,参与了结直肠癌的发生、发展和转移等过程,有望成为临床检测诊断结直肠癌的新型生物标志物和治疗的新靶点。

**2.2 HOTAIR与结直肠癌** HOX转录反义RNA(HOX transcript antisense RNA, HOTAIR)定位于12q13.13,全长2.3 kb,是第一个被发现的具有反式转录调控作用的lncRNA。研究表明,HOTAIR可同时结合在多梳抑制复合体2(polycomb

表 1 结直肠癌组织中常见异常表达的lncRNA

lncRNA	基因位点	长度(kb)	生物学功能	参考文献
CCAT1	8q24.21	2.4	上调c-Myc, 促进肿瘤细胞增殖和迁移	[10-12]
H19	11q15.5	2.3	促癌和抑癌双重功能	[13-20]
HOTAIR	12q13.13	2.3	招募PCR2和LSD1复合体到HOXD, 沉默HOXD, 促癌	[21-27]
MALAT1	11q13.1	8.7	调节内源性靶基因的可变剪接, 表观遗传水平调控基因表达, 促癌	[28-32]
MEG3	14q32.2	1.6-1.8	促进P53基因表达, 抑制肿瘤增殖	[33-37]
OCC-1	12q23.3	1.4	促进细胞增殖, 促癌	[38-40]
PTENP1	9p21	3.9	与miRNA竞争性结合调控细胞的生长发育, 缺失可导致肿瘤发生	[41-43]
UCA1	19p13.12	1.4	影响细胞生长发育, 促进肿瘤侵袭	[44-46]

repressive complex 2, PRC2)和组蛋白去甲基化酶复合体上, 并介导这2种复合体结合到相应特异性的基因组位点, 分别使染色体组蛋白H3第27位赖氨酸三甲基化(histone H3 tri-methylated at lysine 27, H3K27me3)和组蛋白H3第4位赖氨酸二甲基化(histone H3 dimethyl Lys4, H3K4me2), 继而导致基因沉默<sup>[51]</sup>。临床研究表明, 乳腺癌、结肠癌和肝癌等肿瘤组织中HOTAIR的表达水平与肿瘤的转移、复发以及预后紧密相关<sup>[52]</sup>。高表达HOTAIR能够抑制相关肿瘤转移抑制基因的表达, 促进肿瘤的转移和恶变; 而下调HOTAIR的表达则可以降低肿瘤细胞的转移侵袭能力<sup>[53]</sup>。

Kogo等<sup>[54]</sup>对结直肠肿瘤与HOTAIR之间的关系进行了研究, 发现在结直肠癌组织中HOTAIR的表达水平与结直肠癌术后的预后呈正相关。体外实验证实上调HOTAIR的表达量能显著增加结直肠肿瘤细胞的侵袭能力; 此外, 通过基因探针富集分析(gene set enrichment analysis, GSEA)发现, HOTAIR可结合并介导PRC2结合于特定的基因位点而使相关的基因沉默, 加速肿瘤细胞的生长、侵袭和转移。Niinuma等<sup>[55]</sup>研究发现HOTAIR的过表达与胃肠间质瘤的转移有密切关系, 高表达HOTAIR能抑制GIST细胞的侵袭能力, 从而抑制胃肠间质瘤的恶化和转移。以上现象说明HOTAIR基因不仅与上皮细胞来源肿瘤的转移和侵袭能力相关, 而且与间质瘤的侵袭和转移也有密切关系。通过多因素综合分析表明HOTAIR还可作为预测肿瘤患者生存期的独立危险因素, 拓宽了HOTAIR与肿瘤之间的关系。

**2.3 H19与结直肠癌** H19基因定位于人类染色体11p15.5, 全长约2.3 kb, 包含5个外显子和4个内含子, 是一种母源性印迹基因。在H19基因的上游4 kb处有一段区域被称为差异甲基化区(dif-

ferentially methylated domain, DMD), 即印迹控制区(imprinting control region, ICR)<sup>[56]</sup>, 其可参与调控H19基因的表达, H19作为印记基因网络的反式调控者参与调节细胞的生长、发育、增殖、分化和凋亡。近年来, 许多研究表明H19基因的表达异常与食道癌、胃癌、结直肠癌和肝癌等多种消化系肿瘤有关, 其通过多种作用机制在机体内发挥着癌基因和抑癌基因的双重功能<sup>[57]</sup>。

Tsang等<sup>[58]</sup>在结直肠癌的研究中发现, H19基因的促癌作用是通过抑制抑癌基因-视网膜母细胞瘤基因(retinoblastoma, RB)的表达来实现的, 而此过程又与miR-675有着密切的关系, 分析发现H19其实是miR-675的前体, H19通过结合于RB mRNA的3'端非翻译区, 抑制mRNA的翻译, 从而抑制RB基因的表达, 促进肿瘤细胞的生长。由此可见, H19在结直肠癌中发挥了类似癌基因的生物学作用。相反, Yoshimizu等<sup>[59]</sup>在研究小鼠结肠癌、畸胎瘤和肝癌模型时发现, 敲除H19基因后, 肿瘤的生长速度加快, 侵袭转移能力增强, 这表明H19在肿瘤的发生过程中起抑癌基因的作用。最新的研究显示, P53、HIF1- $\alpha$ 和H19之间也存在着一一定的相关性, 通过体外实验证实, 在过表达HIF1- $\alpha$ 的同时抑制P53基因的表达可协同提高肿瘤细胞中H19的表达水平<sup>[57]</sup>。

**2.4 MEG3与结直肠癌** 母系印记表达基因3(maternally expressed gene 3, MEG3)定位于14q32.2, 是第一个被发现具有肿瘤抑制功能的lncRNA。MEG3仅含有10个外显子, 由于剪接方式的不同, 到目前为止共发现12个MEG3表型, 每个表型包含共同的外显子1-3和8-10, 而外显子4-7则有不同的链接方式。在结构上, 12个不同表型的MEG3均具有3个明显的二级结构域; 功能上, MEG3能与cAMP、P53、鼠双微基因2(murine double minute 2, MDM2)和生长分化因子

## ■ 相关报道

Pibouin等在结肠癌细胞系TC7中发现了lncRNA-OCC-1的过表达, 通过体外实验证明OCC-1 cDNA可编码数千种多肽。lncRNA表达水平上的差异以及某些肿瘤中特异型lncRNA的表达, 预示着lncRNA可作为一些肿瘤临床诊断和治疗的新型分子标志物, 如lncRNA DD3(PCA3)已被证实可作为前列腺癌高度特异的核算分子标志物, 其特异性高于血清前列腺特异性抗原。Gibb等研究发现了人类正常组织及癌组织的lncRNA转录谱, 认为在肿瘤中普遍存在lncRNA的异常表达。



## ■创新盘点

本文就lncRNA在结直肠癌中的作用及研究进展进行综述,为临床预防、诊断和治疗结直肠癌提供新策略。较为全面的描述了lncRNA在结直肠癌发生过程中的病理生理作用。有较好的创新性。

15(growth differentiation factor 15, GDF15)相互作用,下调MDM2的水平,减少P53降解,同时增加P53与GDF15启动子的结合,促进细胞增殖抑制剂GDF15的转录和翻译,从而抑制肿瘤的发生和发展<sup>[60]</sup>。

已有研究报道,在结直肠癌、肝癌和神经胶质瘤等多种癌症类型中MEG3存在异常CpG甲基化,导致其表达下调甚至缺失,进而导致细胞和血管异常增生,加速肿瘤的转移和恶变<sup>[61]</sup>。此外,MEG3本身的表达也受到表观遗传学的调控,其表达的下调或缺失与肿瘤的分级和预后也存在强烈的相关性<sup>[62]</sup>。由此可见,MEG3与表观遗传、miRNA之间存在复杂的网络调控关系,而其中的具体调控机制还有待进一步的研究。

## 3 结论

目前对lncRNA在结直肠癌中的研究还比较少,主要集中在lncRNA的表达及功能方面的研究,lncRNA影响肿瘤的发生、发展、转移和凋亡等机制仍不清楚。随着人们对lncRNA与结直肠癌关系研究的不断深入,越来越多的lncRNA会相继被发现,其异常表达对结直肠癌的影响机制也将被一步步揭示,而这些异常表达的lncRNA则可能成为结直肠癌早期诊断的重要检测指标。此外,lncRNA具有天然、无毒性、内源性和多水平调控基因表达等特点,在结直肠癌的分子靶向治疗和药物研发等方面有着巨大的发展空间,有望为恶性肿瘤的预防、诊断、治疗和预后提供新思路,开辟新途径。

## 4 参考文献

- Ernst C, Morton CC. Identification and function of long non-coding RNA. *Front Cell Neurosci* 2013; 7: 168 [PMID: 24106460 DOI: 10.3389/fn-cel.2013.00168]
- Roberts TC, Morris KV, Weinberg MS. Perspectives on the mechanism of transcriptional regulation by long non-coding RNAs. *Epigenetics* 2013 Oct 22. [Epub ahead of print] [PMID: 24149621 DOI: 10.4161/epi.26700]
- Cheatham SW, Gruhl F, Mattick JS, Dinger ME. Long noncoding RNAs and the genetics of cancer. *Br J Cancer* 2013; 108: 2419-2425 [PMID: 23660942 DOI: 10.1038/bjc.2013.233]
- Louro R, Smirnova AS, Verjovski-Almeida S. Long intronic noncoding RNA transcription: expression noise or expression choice? *Genomics* 2009; 93: 291-298 [PMID: 19071207 DOI: 10.1016/j.ygeno.2008.11.009]
- Ponting CP, Oliver PL, Reik W. Evolution and functions of long noncoding RNAs. *Cell* 2009; 136: 629-641 [PMID: 19239885 DOI: 10.1016/j.cell.2009.02.006]
- Shi X, Sun M, Liu H, Yao Y, Song Y. Long non-coding RNAs: a new frontier in the study of human diseases. *Cancer Lett* 2013; 339: 159-166 [PMID: 23791884 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.06.013]
- 邵永富, 蒋孝明, 朱梦颖, 杨芳, 鲁旭文, 郭俊明. 长链非编码RNA在消化系统肿瘤发生中的作用. *中国细胞生物学学报* 2013; 35: 137-140
- Pibouin L, Villaudy J, Ferbus D, Muleris M, Prospéri MT, Remvikos Y, Goubin G. Cloning of the mRNA of overexpression in colon carcinoma-1: a sequence overexpressed in a subset of colon carcinomas. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 133: 55-60 [PMID: 11890990 DOI: 10.1016/s0165-4608(01)00634-3]
- Gibb EA, Enfield KS, Stewart GL, Loneragan KM, Chari R, Ng RT, Zhang L, MacAulay CE, Rosin MP, Lam WL. Long non-coding RNAs are expressed in oral mucosa and altered in oral premalignant lesions. *Oral Oncol* 2011; 47: 1055-1061 [PMID: 21835683 DOI: 10.1016/j.oraloncology.2011.07.008]
- Kam Y, Rubinstein A, Naik S, Djavasov I, Halle D, Ariel I, Gure AO, Stojadinovic A, Pan H, Tsivin V, Nissan A, Yavin E. Detection of a long non-coding RNA (CCAT1) in living cells and human adenocarcinoma of colon tissues using FIT-PNA molecular beacons. *Cancer Lett* 2013 Feb 14. [Epub ahead of print] [PMID: 23416875 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.014]
- Yang F, Xue X, Bi J, Zheng L, Zhi K, Gu Y, Fang G. Long noncoding RNA CCAT1, which could be activated by c-Myc, promotes the progression of gastric carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2013; 139: 437-445 [PMID: 23143645 DOI: 10.1007/s00432-012-1324-x]
- Alaiyan B, Ilyayev N, Stojadinovic A, Izadjoo M, Roistacher M, Pavlov V, Tzivin V, Halle D, Pan H, Trink B, Gure AO, Nissan A. Differential expression of colon cancer associated transcript1 (CCAT1) along the colonic adenoma-carcinoma sequence. *BMC Cancer* 2013; 13: 196 [PMID: 23594791 DOI: 10.1186/1471-2407-13-196]
- Ma N, Zhou L, Zhang Y, Jiang Y, Gao X. Intragenic microRNA and long non-coding RNA: novel potential regulator of IGF2-H19 imprinting region. *Evol Dev* 2014; 16: 1-2 [PMID: 24393462 DOI: 10.1111/ede.12057]
- Monnier P, Martinet C, Pontis J, Stancheva I, Ait-Si-Ali S, Dandolo L. H19 lncRNA controls gene expression of the Imprinted Gene Network by recruiting MBD1. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 20693-20698 [PMID: 24297921 DOI: 10.1073/pnas.1310201110]
- Bi HS, Yang XY, Yuan JH, Yang F, Xu D, Guo YJ, Zhang L, Zhou CC, Wang F, Sun SH. H19 inhibits RNA polymerase II-mediated transcription by disrupting the hnRNP U-actin complex. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1830: 4899-4906 [PMID: 23811339 DOI: 10.1016/j.bbagen.2013.06.026]
- Carrell DT. Aberrant methylation of the H19 imprinting control region may increase the risk of spontaneous abortion. *Epigenomics* 2013; 5: 23-24 [PMID: 23539767 DOI: 10.1371/journal.pone.0081962]
- Chen B, Yu M, Chang Q, Lu Y, Thakur C, Ma D, Yi Z, Chen F. Mdig de-represses H19 large intergenic non-coding RNA (lincRNA) by down-regulating H3K9me3 and heterochromatin. *Oncotarget* 2013; 4: 1427-1437 [PMID: 23965803 DOI: 10.1038/nrg3170]
- Cocchi G, Marsico C, Cosentino A, Spadoni C, Rocca A, De Crescenzo A, Riccio A. Silver-Russell syn-

- drome due to paternal H19/IGF2 hypomethylation in a twin girl born after in vitro fertilization. *Am J Med Genet A* 2013; 161: 2652-2655 [PMID: 24038823 DOI: 10.1002/ajmg.a.36145]
- 19 Feigenberg T, Gofrit ON, Pizov G, Hochberg A, Benshushan A. Expression of the h19 oncofetal gene in premalignant lesions of cervical cancer: a potential targeting approach for development of nonsurgical treatment of high-risk lesions. *ISRN Obstet Gynecol* 2013; 2013: 137509 [PMID: 23984081 DOI: 10.1155/2013/137509]
  - 20 Zhuang M, Gao W, Xu J, Wang P, Shu Y. The long non-coding RNA H19-derived miR-675 modulates human gastric cancer cell proliferation by targeting tumor suppressor RUNX1. *Biochem Biophys Res Commun* 2014 Jan 2. [Epub ahead of print] [PMID: 24388988 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.12.126]
  - 21 Ishibashi M, Kogo R, Shibata K, Sawada G, Takahashi Y, Kurashige J, Akiyoshi S, Sasaki S, Iwaya T, Sudo T, Sugimachi K, Mimori K, Wakabayashi G, Mori M. Clinical significance of the expression of long non-coding RNA HOTAIR in primary hepatocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2013; 29: 946-950 [PMID: 23292722 DOI: 10.3892/or.2012.2219]
  - 22 Sørensen KP, Thomassen M, Tan Q, Bak M, Cold S, Burton M, Larsen MJ, Kruse TA. Long non-coding RNA HOTAIR is an independent prognostic marker of metastasis in estrogen receptor-positive primary breast cancer. *Breast Cancer Res Treat* 2013; 142: 529-536 [PMID: 24258260 DOI: 10.1007/s10549-013-2776-7]
  - 23 Chen FJ, Sun M, Li SQ, Wu QQ, Ji L, Liu ZL, Zhou GZ, Cao G, Jin L, Xie HW, Wang CM, Lv J, De W, Wu M, Cao XF. Upregulation of the long non-coding RNA HOTAIR promotes esophageal squamous cell carcinoma metastasis and poor prognosis. *Mol Carcinog* 2013; 52: 908-915 [PMID: 24151120 DOI: 10.1002/mc.21944]
  - 24 Endo H, Shiroki T, Nakagawa T, Yokoyama M, Tama K, Yamanami H, Fujiya T, Sato I, Yamaguchi K, Tanaka N, Iijima K, Shimosegawa T, Sugamura K, Satoh K. Enhanced expression of long non-coding RNA HOTAIR is associated with the development of gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e77070 [PMID: 24130837 DOI: 10.1371/journal.pone.0077070]
  - 25 He X, Bao W, Li X, Chen Z, Che Q, Wang H, Wan XP. The long non-coding RNA HOTAIR is upregulated in endometrial carcinoma and correlates with poor prognosis. *Int J Mol Med* 2014; 33: 325-332 [PMID: 24285342 DOI: 10.3892/ijmm.2013.1570]
  - 26 Li Z, Li C, Liu C, Yu S, Zhang Y. Expression of the long non-coding RNAs MEG3, HOTAIR, and MALAT-1 in non-functioning pituitary adenomas and their relationship to tumor behavior. *Pituitary* 2014 Jan 28. [Epub ahead of print] [PMID: 24469926 DOI: 10.1007/s11033-013-2852-4]
  - 27 Liu Z, Sun M, Lu K, Liu J, Zhang M, Wu W, De W, Wang Z, Wang R. The long noncoding RNA HOTAIR contributes to cisplatin resistance of human lung adenocarcinoma cells via downregulation of p21(WAF1/CIP1) expression. *PLoS One* 2013; 8: e77293 [PMID: 24155936 DOI: 10.1371/journal.pone.0077293]
  - 28 Gutschner T, Hämmerle M, Diederichs S. MALAT1 -- a paradigm for long noncoding RNA function in cancer. *J Mol Med (Berl)* 2013; 91: 791-801 [PMID: 23529762 DOI: 10.1007/s00109-013-1028-y]
  - 29 Miyagawa R, Tano K, Mizuno R, Nakamura Y, Ijiri K, Rakwal R, Shibato J, Masuo Y, Mayeda A, Hirose T, Akimitsu N. Identification of cis- and trans-acting factors involved in the localization of MALAT-1 noncoding RNA to nuclear speckles. *RNA* 2012; 18: 738-751 [PMID: 22355166 DOI: 10.1261/rna.028639.111]
  - 30 Han Y, Liu Y, Zhang H, Wang T, Diao R, Jiang Z, Gui Y, Cai Z. Hsa-miR-125b suppresses bladder cancer development by down-regulating oncogene SIRT7 and oncogenic long non-coding RNA MALAT1. *FEBS Lett* 2013; 587: 3875-3882 [PMID: 24396870 DOI: 10.1016/j.febslet.2013.10.023]
  - 31 Leucci E, Patella F, Waage J, Holmstrøm K, Lindow M, Porse B, Kauppinen S, Lund AH. microRNA-9 targets the long non-coding RNA MALAT1 for degradation in the nucleus. *Sci Rep* 2013; 3: 2535 [PMID: 23985560 DOI: 10.1038/srep02535]
  - 32 Weber DG, Johnen G, Casjens S, Bryk O, Pesch B, Jöckel KH, Kollmeier J, Brüning T. Evaluation of long noncoding RNA MALAT1 as a candidate blood-based biomarker for the diagnosis of non-small cell lung cancer. *BMC Res Notes* 2013; 6: 518 [PMID: 24313945 DOI: 10.1186/1756-0500-6-518]
  - 33 Braconi C, Kogure T, Valeri N, Huang N, Nuovo G, Costinean S, Negrini M, Miotto E, Croce CM, Patel T. microRNA-29 can regulate expression of the long non-coding RNA gene MEG3 in hepatocellular cancer. *Oncogene* 2011; 30: 4750-4756 [PMID: 21625215 DOI: 10.1038/onc.2011.193]
  - 34 Jia LF, Wei SB, Gan YH, Guo Y, Gong K, Mitchelson K, Cheng J, Yu GY. Expression, Regulation and Roles of MiR-26a and MEG3 in Tongue Squamous Cell Carcinoma. *Int J Cancer* 2013 Dec 16. [Epub ahead of print] [PMID: 24343426 DOI: 10.1002/ijc.28667]
  - 35 Kameswaran V, Bramswig NC, McKenna LB, Penn M, Schug J, Hand NJ, Chen Y, Choi I, Vourekas A, Won KJ, Liu C, Vivek K, Naji A, Friedman JR, Kaestner KH. Epigenetic Regulation of the DLK1-MEG3 MicroRNA Cluster in Human Type 2 Diabetic Islets. *Cell Metab* 2014; 19: 135-145 [PMID: 24374217 DOI: 10.1016/j.cmet.2013.11.016]
  - 36 Qin R, Chen Z, Ding Y, Hao J, Hu J, Guo F. Long non-coding RNA MEG3 inhibits the proliferation of cervical carcinoma cells through the induction of cell cycle arrest and apoptosis. *Neoplasma* 2013; 60: 486-492 [PMID: 23790166 DOI: 10.4149/neo\_2013\_063]
  - 37 Sun M, Xia R, Jin F, Xu T, Liu Z, De W, Liu X. Downregulated long noncoding RNA MEG3 is associated with poor prognosis and promotes cell proliferation in gastric cancer. *Tumour Biol* 2013 Sep 5. [Epub ahead of print] [PMID: 24006224 DOI: 10.1007/s13277-013-1142-z]
  - 38 Chai B, Li JY, Fritze D, Zhang W, Xia Z, Mulholland MW. A novel transcript is up-regulated by fasting in the hypothalamus and enhances insulin signaling. *J Neuroendocrinol* 2013; 25: 292-301 [PMID: 22935015 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2012.02378.x]
  - 39 Hamzeh Y, Sabbaghi S, Ashori A, Abdulkhani A, Soltani F. Improving wet and dry strength properties of recycled old corrugated carton (OCC) pulp using various polymers. *Carbohydr Polym* 2013; 94: 577-583 [PMID: 23544577 DOI: 10.1016/j.carbpol.2013.01.078]
  - 40 Zhao H, Ding Y, Tie B, Sun ZF, Jiang JY, Zhao J,

#### ■应用要点

随着人们对 lncRNA 与结直肠癌关系研究的不断深入,越来越多的 lncRNA 会相继被发现,其异常表达将对结直肠癌的影响机制也将被一步步揭示,而这些异常表达的 lncRNA 则可能成为结直肠癌早期诊断的重要检测指标。此外, lncRNA 具有天然、无毒性、内源性和多水平调控基因表达等特点,在结直肠癌的分子靶向治疗和药物研发等方面有着巨大的发展空间,有望为恶性肿瘤的预防、诊断、治疗和预后提供新思路,开辟新途径。

## ■同行评价

本综述较为全面的描述了lncRNA在结直肠癌发生过程中的病理生理作用。有较好的创新性。

- Lin X, Cui S. miRNA expression pattern associated with prognosis in elderly patients with advanced OPSC and OCC. *Int J Oncol* 2013; 43: 839-849 [PMID: 23787480 DOI: 10.3892/ijo.2013.1988]
- 41 Poliseno L, Salmena L, Zhang J, Carver B, Haveman WJ, Pandolfi PP. A coding-independent function of gene and pseudogene mRNAs regulates tumour biology. *Nature* 2010; 465: 1033-1038 [PMID: 20577206 DOI: 10.1038/nature09144]
- 42 Polisenio L, Haimovic A, Christos PJ, Vega Y Saenz de Miera EC, Shapiro R, Pavlick A, Berman RS, Darvishian F, Osman I. Deletion of PTENP1 pseudogene in human melanoma. *J Invest Dermatol* 2011; 131: 2497-2500 [PMID: 21833010 DOI: 10.1038/jid.2011.232]
- 43 Wang CC, Huai L, Zhang CP, Jia YJ, Li QH, Chen YR, Tian Z, Tang KJ, Xing HY, Wang M, Wang JX. [Study on expression of PTEN gene and its pseudogene PTENP1 in acute leukemia and correlation between them]. *Zhonghua Xueyixue Zazhi* 2012; 33: 896-901 [PMID: 23363743 DOI: 10.1038/scibx.2013.214]
- 44 Tsang WP, Wong TW, Cheung AH, Co CN, Kwok TT. Induction of drug resistance and transformation in human cancer cells by the noncoding RNA CUDR. *RNA* 2007; 13: 890-898 [PMID: 17416635 DOI: 10.1261/rna.359007]
- 45 Fan Y, Shen B, Tan M, Mu X, Qin Y, Zhang F, Liu Y. Long non-coding RNA UCA1 increases chemoresistances of bladder cancer cells by regulating Wnt signaling. *FEBS J* 2014 Feb 5. [Epub ahead of print] [PMID: 24495014 DOI: 10.1111/febs.12737]
- 46 Yang C, Li X, Wang Y, Zhao L, Chen W. Long non-coding RNA UCA1 regulated cell cycle distribution via CREB through PI3-K dependent pathway in bladder carcinoma cells. *Gene* 2012; 496: 8-16 [PMID: 22285928 DOI: 10.1016/j.gene.2012.01.012]
- 47 Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, Tidow N, Brandt B, Buerger H, Bulk E, Thomas M, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22: 8031-8041 [PMID: 12970751 DOI: 10.1038/sj.onc.1206928]
- 48 Wilusz JE, Sunwoo H, Spector DL. Long noncoding RNAs: functional surprises from the RNA world. *Genes Dev* 2009; 23: 1494-1504 [PMID: 19571179 DOI: 10.1101/gad.1800909]
- 49 Xu C, Yang M, Tian J, Wang X, Li Z. MALAT-1: a long non-coding RNA and its important 3' end functional motif in colorectal cancer metastasis. *Int J Oncol* 2011; 39: 169-175 [PMID: 21503572 DOI: 10.3892/ijo.2011.1007]
- 50 谢林英, 胡志燕, 王晓燕, 李祖国. 长非编码MALAT1基因在人鼻咽癌细胞株的表达及生物学意义. *南方医科大学学报* 2013; 33: 692-697
- 51 Tsai MC, Manor O, Wan Y, Mosammamparast N, Wang JK, Lan F, Shi Y, Segal E, Chang HY. Long noncoding RNA as modular scaffold of histone modification complexes. *Science* 2010; 329: 689-693 [PMID: 20616235 DOI: 10.1126/science.1192002]
- 52 Gupta RA, Shah N, Wang KC, Kim J, Horlings HM, Wong DJ, Tsai MC, Hung T, Argani P, Rinn JL, Wang Y, Brzoska P, Kong B, Li R, West RB, van de Vijver MJ, Sukumar S, Chang HY. Long non-coding RNA HOTAIR reprograms chromatin state to promote cancer metastasis. *Nature* 2010; 464: 1071-1076 [PMID: 20393566 DOI: 10.1038/nature08975]
- 53 Kim K, Jutooru I, Chadalapaka G, Johnson G, Frank J, Burghardt R, Kim S, Safe S. HOTAIR is a negative prognostic factor and exhibits pro-oncogenic activity in pancreatic cancer. *Oncogene* 2013; 32: 1616-1625 [PMID: 22614017 DOI: 10.1038/nc.2012.193]
- 54 Kogo R, Shimamura T, Mimori K, Kawahara K, Imoto S, Sudo T, Tanaka F, Shibata K, Suzuki A, Komune S, Miyano S, Mori M. Long noncoding RNA HOTAIR regulates polycomb-dependent chromatin modification and is associated with poor prognosis in colorectal cancers. *Cancer Res* 2011; 71: 6320-6326 [PMID: 21862635 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1021]
- 55 Niinuma T, Suzuki H, Nojima M, Noshio K, Yamamoto H, Takamaru H, Yamamoto E, Maruyama R, Nobuoka T, Miyazaki Y, Nishida T, Bamba T, Kanda T, Ajioka Y, Taguchi T, Okahara S, Takahashi H, Nishida Y, Hosokawa M, Hasegawa T, Tokino T, Hirata K, Imai K, Toyota M, Shinomura Y. Upregulation of miR-196a and HOTAIR drive malignant character in gastrointestinal stromal tumors. *Cancer Res* 2012; 72: 1126-1136 [PMID: 22258453 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1803]
- 56 Yang F, Bi J, Xue X, Zheng L, Zhi K, Hua J, Fang G. Up-regulated long non-coding RNA H19 contributes to proliferation of gastric cancer cells. *FEBS J* 2012; 279: 3159-3165 [PMID: 22776265 DOI: 10.1111/j.1742-4658.2012.08694.x]
- 57 Zhang L, Yang F, Yuan JH, Yuan SX, Zhou WP, Huo XS, Xu D, Bi HS, Wang F, Sun SH. Epigenetic activation of the MiR-200 family contributes to H19-mediated metastasis suppression in hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2013; 34: 577-586 [PMID: 23222811 DOI: 10.1093/carcin/bgs381]
- 58 Tsang WP, Ng EK, Ng SS, Jin H, Yu J, Sung JJ, Kwok TT. Oncofetal H19-derived miR-675 regulates tumor suppressor RB in human colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 350-358 [PMID: 19926638 DOI: 10.1093/carcin/bgp181]
- 59 Yoshimizu T, Miroglio A, Ripoché MA, Gabory A, Vernucci M, Riccio A, Colnot S, Godard C, Terris B, Jammes H, Dandolo L. The H19 locus acts in vivo as a tumor suppressor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 12417-12422 [PMID: 18719115 DOI: 10.1073/pnas.0801540105]
- 60 Zhou Y, Zhang X, Klubanski A. MEG3 noncoding RNA: a tumor suppressor. *J Mol Endocrinol* 2012; 48: R45-R53 [PMID: 22393162 DOI: 10.1530/JME-12-0008]
- 61 Balik V, Srovnal J, Sulla I, Kalita O, Foltanova T, Vaverka M, Hrabalek L, Hajduch M. MEG3: a novel long noncoding potentially tumour-suppressing RNA in meningiomas. *J Neurooncol* 2013; 112: 1-8 [PMID: 23307326 DOI: 10.1007/s11060-012-1038-6]
- 62 Anwar SL, Krech T, Hasemeier B, Schipper E, Schweitzer N, Vogel A, Kreipe H, Lehmann U. Loss of imprinting and allelic switching at the DLK1-MEG3 locus in human hepatocellular carcinoma. *PLoS One* 2012; 7: e49462 [PMID: 23145177 DOI: 10.1371/journal.pone.0049462]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 紫花牡荆素诱导肝星状细胞凋亡的作用机制

田君湘

田君湘, 湘潭市第三人民医院消化内科 湖南省湘潭市 411102

田君湘, 主要从事消化病的临床治疗.

作者贡献分布: 本文由田君湘独立完成.

通讯作者: 田君湘, 主治医师, 411102, 湖南省湘潭市岳塘区板马路20号, 湘潭市第三人民医院消化内科. 373623423@qq.com

收稿日期: 2013-12-20 修回日期: 2014-01-22

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-08

## Mechanisms underlying casticin induced apoptosis of hepatic stellate cells

Jun-Xiang Tian

Jun-Xiang Tian, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Xiangtan City, Xiangtan 411102, Hunan Province, China

Correspondence to: Jun-Xiang Tian, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Third People's Hospital of Xiangtan City, 20 Banma Road, Yuetang District, Xiangtan 411102, Hunan Province, China. 373623423@qq.com

Received: 2013-12-20 Revised: 2014-01-22

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of casticin on apoptosis of hepatic stellate cells (HSCs) *in vitro* and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** Rat HSC-T6 cells were cultured in high-glucose DMEM and then treated with different concentrations of casticin (0, 0.5, 1.0, and 2.0  $\mu\text{mol/L}$ ) for 12, 24 and 48 h. HSC-T6 apoptosis was identified by flow cytometry (FCM) and agarose gel electrophoresis. The mRNA expression of apoptosis-related genes *Fas/FasL* and *Bcl-2* was examined by RT-PCR. The expression of Caspase3 was studied by immunocytochemical staining assay (SABC).

**RESULTS:** Casticin treatment significantly increased the apoptosis of HSC-T6 in a dose- and time-dependent manner compared with the control group ( $P < 0.01$ ). The highest apoptosis rate was observed in HSC-T6 cells treated with 2.0  $\mu\text{mol/L}$  of casticin for 48 h ( $55.70\% \pm 5.56\%$ ). An oligonucleosomal DNA ladder was demonstrated by SABC, indicating DNA break in HSC-T6

cells. The expression of *Fas/FasL* mRNA was increased, while expression of *Bcl-2* mRNA was reduced. After HSC-T6 cells were treated with casticin at concentrations of 0.5, 1.0, and 2.0  $\mu\text{mol/L}$  for 48 h, the positive rates of Caspase3 protein expression were  $12.78\% \pm 0.74\%$ ,  $41.00\% \pm 1.51\%$  and  $71.33\% \pm 2.68\%$ , respectively. Casticin treatment significantly increased Caspase3 protein expression in a dose- and time-dependent manner compared with the control group ( $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** Casticin induced apoptosis of HSC-T6 cells may involve mitochondrial pathways and *Bcl-2* family proteins. Casticin might be a potential Chinese medical component for inhibiting liver fibrosis.

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

**Key Words:** Casticin; Hepatic stellate cell-T6; Apoptotic mechanism; *Fas/FasL*; *Bcl-2*; Caspase3

Tian JX. Mechanisms underlying casticin induced apoptosis of hepatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 907-914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.907>

## 摘要

**目的:** 探讨紫花牡荆素(casticin)促进肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)-T6凋亡的作用机制.

**方法:** 用终浓度为0、0.5、1.0、2.0  $\mu\text{mol/L}$ 的Casticin作用于HSC-T6, 于12、24、48 h后采用MTT法检测HSC-T6增殖抑制率; 24 h后收集各组细胞, 流式细胞术检测细胞周期及凋亡率; DNA琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡; RT-PCR法检测促凋亡基因*FAS/FASL* mRNA及抑凋亡基因*Bcl-2* mRNA的表达; 免疫组织化学法检测凋亡蛋白Caspase3的表达.

**结果:** MTT法检测显示, Casticin对HSC-T6有增殖抑制作用, 并存在浓度和时间依赖关系; 流式细胞仪检测HSC-T6凋亡, 发现2.0  $\mu\text{mol/L}$

## ■背景资料

肝纤维化是肝硬化的必经阶段, 而肝纤维化取决于肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化. 同时人们在研究紫花牡荆素的药理作用时发现其对肝星状的增殖有抑制作用和诱导凋亡作用, 其抗肿瘤方面的作用亦是国内外学者研究的热点和焦点.

## ■同行评议者

李华, 副教授, 中山大学器官移植研究所, 中山大学附属第三医院肝脏移植中心

## ■ 研发前沿

目前尚缺乏确切有效的抗肝纤维化药物,但中药抗肝纤维化展现良好的发展前景,紫花牡荆素为马鞭草科植物的干燥成熟果实-蔓荆子提取物黄酮类化合物的一种,有着广泛的药理作用,关于其抗肝纤维化的作用,国内外研究甚少。

的Casticin作用48 h后, HSC-T6凋亡率达到最大值 $55.70\% \pm 5.56\%$ , 各药物组凋亡率与空白对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。DNA琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡, 显示有特征性的DNA梯度带形成。RT-PCR法检测促凋亡基因*FAS/FASL* mRNA表达明显上调, 而抑凋亡基因*Bcl-2* mRNA的表达下调。免疫组织化学法检测凋亡蛋白Caspase3的表达明显增加, 当Casticin浓度 $2.0 \mu\text{mol/L}$ 作用48 h, 其表达率 $71.33\% \pm 2.68\%$ , 与空白对照组比较, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**结论:** Casticin诱导HSC-T6细胞凋亡的机制可能是通过上调*Fas/FasL*基因表达, 下调*Bcl-2*, 促使线粒体通透性增加, 再激活Caspase3蛋白诱发细胞凋亡。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 紫花牡荆素; 肝星状细胞-T6; 凋亡; *Fas/FasL*; *Bcl-2*; Caspase3

**核心提示:** 紫花牡荆素能过抑制肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)的活化, 通过上调*Fas/FasL*基因表达, 下调*Bcl-2*, 促使线粒体通透性增加, 再激活Caspase3蛋白诱发细胞凋亡。其抑制HSC活化作用与抑制肝纤维化, 进一步抑制肝癌密切相关。

田君湘. 紫花牡荆素诱导肝星状细胞凋亡的作用机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 907-914 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/907.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.907>

## 0 引言

肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)是指过多胶原纤维在肝内沉积, 是各种慢性肝病向肝硬变发展的必经阶段。HF的形成是多种细胞、细胞因子及细胞外基质(extracellular matrix, ECM)相互交错影响的动态变化网络。肝星状细胞(hepatic stellate cell, HSC)被公认为是HF形成网络的核心。HSC正常状态下能合成与分泌少量的ECM, 各种引起肝脏慢性损伤的病因都可激活HSC。活化的HSC可以合成大量的胶原、非胶原性糖蛋白、蛋白多糖等, 并参与胶原酶及其抑制物的合成及调节, 是ECM的主要来源细胞。因此以HSC作为靶点治疗HF成为当前研究热点<sup>[1]</sup>。大量研究已经证实活化HSC数量减少主要通过凋亡途径; 减少活化HSC数量有利于HF逆转; 诱导活化HSC凋亡是抗HF的有效途径; 目前尚缺乏

确切有效的抗HF药物; 中药抗HF展现良好的发展前景<sup>[2-3]</sup>。紫花牡荆素(casticin)为马鞭草科植物的干燥成熟果实-蔓荆子(vitex trifolia L1)提取物黄酮类化合物的一种<sup>[4]</sup>。本实验采用流式细胞仪与DNA琼脂糖凝胶电泳分析, 证实Casticin对HSC增殖抑制和凋亡诱导作用, 同时检测促凋亡基因*FAS*、抑凋亡基因*Bcl-2*与凋亡蛋白酶Caspase3, 揭示Casticin对HSC-T6促凋亡作用的可能机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 肝星状细胞株HSC-T6由上海中医药大学提供, 系SV40转染的大鼠HSC, 具有活化HSC的表型。Casticin购自成都普瑞法科技开发有限公司(纯度 $>98\%$ ); 小牛血清为杭州四季青生物制品有限公司生产; 甲氮甲唑蓝(MTT)购自Sigma公司; 二甲基亚砷(DMSO)为美国Amresco公司产品; *Fas*、*Bcl-2*引物由上海生工合成; 逆转录-多聚酶链反应试剂盒试剂盒购自Promega公司; 兔抗大鼠Caspase3单克隆抗体及SABC免疫组织化学试剂盒购自武汉博士德公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 肝星状细胞株HSC-T6置 $37^{\circ}\text{C}$ 、 $50 \text{ mL/L CO}_2$ 的培养箱中, 用含 $100 \text{ mL/L}$ 小牛血清以及青链霉素各 $100 \text{ kU/L}$ 的DMEM(高糖)培养液培养, 倒置显微镜观察细胞生长情况,  $2.5 \text{ g/L}$ 胰蛋白酶消化传代, 取对数生长期细胞用于实验。

**1.2.2 MTT比色法:** 将Casticin用DMSO助溶, 用基础培养基依次对半稀释成3个梯度的母液, 调整各浓度中DMSO助溶剂质量浓度相同。取对数生长期细胞, 以每孔 $0.2 \text{ mL}$ (约 $0.3 \times 10^4$ 个/孔)接种于96孔板, 培养24 h待细胞贴壁后, 分别加入不同终浓度分别为 $0.5$ 、 $1.0$ 、 $2.0 \mu\text{mol/L}$  Casticin, 对照组加 $100 \mu\text{L}$ 完全培养基, 另设空白对照组(只加培养基, 无细胞)。每个剂量组设5个复孔, 其中DMSO终浓度为 $2.5 \text{ g/L}$ , 将各组细胞继续培养12、24、48 h。在规定时间内, 每孔加入 $20 \mu\text{L}$  MTT( $5 \text{ g/L}$ ), 继续培养4 h后倾去培养液, 加入DMSO  $0.2 \text{ mL/孔}$ , 平板震荡器振荡5 min, 充分溶解蓝紫色颗粒, 空白孔调零, 用酶标仪以 $490 \text{ nm}$ 波长测定各组细胞吸光度( $A$ )值, 细胞增殖抑制率 =  $(1 - \text{实验组平均}A\text{值}/\text{对照组平均}A\text{值}) \times 100\%$ 。重复上述实验5次。

**1.2.3 流式细胞术分析细胞周期及检测凋亡率:** 采用PI荧光染色法。将Casticin作用24 h后的各组培

养瓶内HSC收集于离心管中,贴壁的细胞消化后与原瓶的悬浮细胞混合,1000 r/min离心5 min,弃上清,冷磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.2-7.4)洗涤2次,调整为 $1 \times 10^6$ /mL,预冷700 mL/L乙醇(注意边加边振荡,以免细胞成团),4℃过夜,PBS洗涤2次去除固定液,加200 μL RNA酶,37℃水浴30 min,300目尼龙网过滤,再加800 μL PI染色液混匀,4℃避光染色30 min,每组重复4次,上机检测.采用流式细胞仪对样品进行检测,每次计细胞数6000个,记录激发波长488 nm处红色荧光,流式细胞仪分析不同DNA含量的细胞分布,用分析软件CellQuest检测凋亡率,低于G<sub>1</sub>期的细胞(亚G<sub>1</sub>期)为凋亡细胞,其占细胞总数的比例为凋亡细胞比例.用ModFitLT软件进行处理,计算各周期细胞比例.

1.2.4 琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡:用TBE(1 mmol/L EDTA, pH 8.0, 45 mmol/L Tris-硼酸)缓冲液配制1.8%琼脂糖凝胶.在微波炉内煮沸至琼脂糖溶解,待冷却至60℃时,加入溴化乙锭(10 mg/mL)使其终浓度为0.5 g/L,混匀后灌胶,待胶凝固后放入含TBE电泳液的电泳槽内,使TBE液盖过凝胶,取10-15 μL提取的各组DNA样品液与上样缓冲液(含0.25%溴酚蓝,4%蔗糖)按4:1比例混匀后点样,60 V电泳1 h,用紫外线透射仪观察梯形条带,并摄影.

1.2.5 RT-PCR测定Casticin对HSC-T6基因*Fas* mRNA和*Bcl-2* mRNA表达: *Fas*上游引物为5'-ATCACAAAGGACAGGCAC-3',下游引物为5'-TAGGGTTTCAGGACTTTCA-3',大小364 bp; *Bcl-2*上游引物为5'-CGGGAGGAGCACATTCA-GA-3',下游引物为5'-AGTAGAAGGCAGAC-CAGAC-3', *GAPDH*上游引物为5'-ACCA-CAGTCCATGCCATCAC-3',下游引物为5'-TC-CACCACCCTGTTGCTG-3',大小450 bp,均由上海生工合成.提取细胞总RNA,采用Promega试剂盒逆转录为cDNA.逆转录条件:42℃ 10 min,95℃ 5 min,4℃ 5 min,瞬时离心后4℃保存.-20℃保存.取逆转录产物进行PCR,检测*Fas* mRNA和*Bcl-2* mRNA表达,β-actin为内参照.PCR复合扩增条件:95℃预变性4.5 min,94℃变性60 s,54℃退火60 s,72℃延伸60 s,共35个循环,最后72℃延伸10 min.用Gel-Doc1000型紫外凝胶图像分析仪自带软件分析*Fas*、*Bcl-2*和β-actin的扩增条带,计算*Fas*、*Bcl-2* mRNA表达的抑制率(*survivin* mRNA/β-actin mRNA)为1.

1.2.6 用免疫细胞化学法检测Caspase3蛋白的表

达:蒸馏水洗细胞爬片3 min×3次,0.3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>甲醇液室温浸泡30 min,以灭活内源性过氧化物酶,PBS洗2 min×3次,滴加正常小牛血清,室温下20 min,以封闭非特异性抗原.弃去多余血清,滴加兔抗大鼠Caspase3单克隆抗体,湿盒内4℃夜,PBS洗2 min×3次,滴加生物素化二抗,湿盒内37℃温箱30 min,PBS洗5 min×3次,滴加链霉新合素一过氧化物酶复合物,湿盒内室温苏木素复染,二甲苯透明,中性树脂封片,光镜下观察,阳性细胞为胞膜呈棕黄色.以PBS代替抗大鼠Caspase3抗体作为阴性对照.其结果判断:以16D目镜测微网在400倍放大下计数网格中的阳性细胞数,每例计数10个网格,计算阳性细胞的百分率,并根据每张盖玻片阳性细胞着色深浅计分,无着色为0分(阴性),浅黄色为1分(弱阳性),棕黄色为2分(阳性),棕褐色为3分(强阳性).然后根据两者积分的乘积进行统计分析.

统计学处理 各组实验数据用mean±SD表示,采用SPSS统计软件进行单因素方差分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 MTT 对照组细胞体外生长活跃,经0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin作用12、24、48 h后,HepG2细胞生长均有不同程度地减慢,与阴性对照组比较,不同浓度的Casticin对HSC的增殖抑制率显著升高( $P < 0.01$ )(表1).

2.2 流式细胞仪检测细胞凋亡 用0.5、1.0、2.0 μmol/L共3种浓度的Casticin处理生长良好的肝星状细胞株12、24、48 h,设空白对照组,流式细胞仪检测细胞凋亡率.结果显示,随Casticin作用浓度和时间的增加,凋亡率逐渐升高,呈现量效与时效关系,实验组与空白对照组比较,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ ),实验组之间不同浓度和不同时间比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );空白对照组HSC经培养后也出现凋亡,说明活化细胞可发生自发性凋亡.流式细胞仪检测凋亡图表明在G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期前出现亚二倍体峰即细胞凋亡率,随着药物浓度的增加及作用时间的延长,该峰呈上升趋势(表2,图1,2).

2.3 琼脂糖凝胶电泳检测细胞凋亡 琼脂糖凝胶电泳结果显示,在118 bp外均可见到均匀一致的β-actin基因的条带;各组在364 bp处均可见到*Fas*/*FasL* mRNA表达,空白组HSC弱表达,即不同浓度Casticin处理后,其表达呈剂量依赖性增强(图3A),其中空白组与Casticin组0.5、1.0、2.0

### ■ 相关报道

国内研究表明紫花牡荆素可以促进肺癌细胞的凋亡,而Caspase3的抑制剂zDEVD-FMK抵消其促凋亡作用,并发现其能下调Bcl-xl,下调Bax及清除Bid,从而促进肺癌细胞的凋亡.



## ■创新盘点

本文使用MTT法检测紫花牡荆素对HSC-T6增殖的抑制作用, 流式细胞仪及DNA琼脂糖凝胶电泳法检测HSC-T6凋亡, 同时使用RT-PCR法检测Fas/FasL mRNA和Bcl-2 mRNA的表达情况, 进一步使用免疫组织化学法检测凋亡蛋白Caspase3表达, 从而证实紫花牡荆素能促进HSC-T6的凋亡, 抑制其活化。

表 1 不同浓度Casticin作用于肝星状细胞 12、24、48 h后各组凋亡率( $n=3$ , mean  $\pm$  SD, %)

分组	12 h	24 h	48 h
对照组	2.43 $\pm$ 0.40	4.38 $\pm$ 0.51	5.89 $\pm$ 0.39
0.5 $\mu$ mol/L	11.43 $\pm$ 3.91 <sup>abcd</sup>	20.88 $\pm$ 2.07 <sup>bd</sup>	35.43 $\pm$ 5.04 <sup>bd</sup>
1 $\mu$ mol/L	22.71 $\pm$ 3.56 <sup>ac</sup>	33.39 $\pm$ 3.56	41.95 $\pm$ 3.92
2 $\mu$ mol/L	32.28 $\pm$ 2.44 <sup>ac</sup>	44.32 $\pm$ 3.55	55.70 $\pm$ 5.56

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 24 h; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 48 h; <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 1.0  $\mu$ mol/L组; <sup>d</sup> $P<0.01$  vs 2.0  $\mu$ mol/L组。

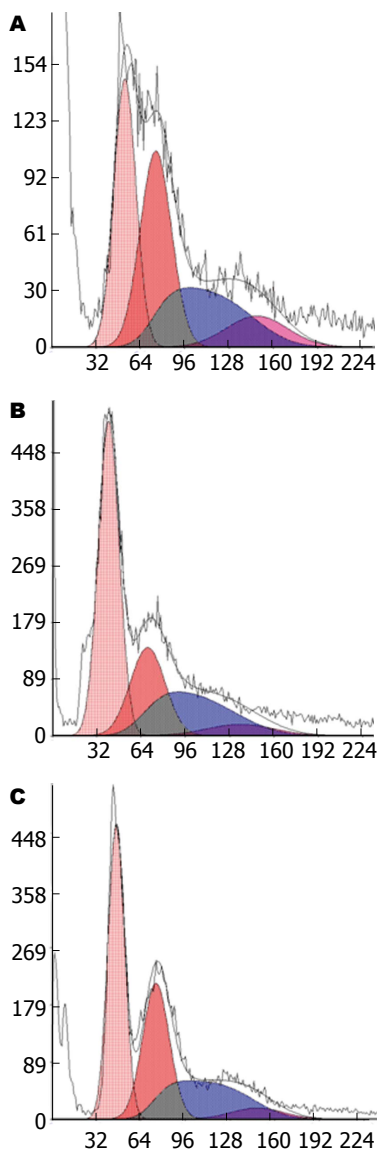


图 1 不同浓度的Casticin作用于肝星状细胞各组凋亡情况。A: 0.5  $\mu$ mol/L; B: 1.0  $\mu$ mol/L; C: 2.0  $\mu$ mol/L。

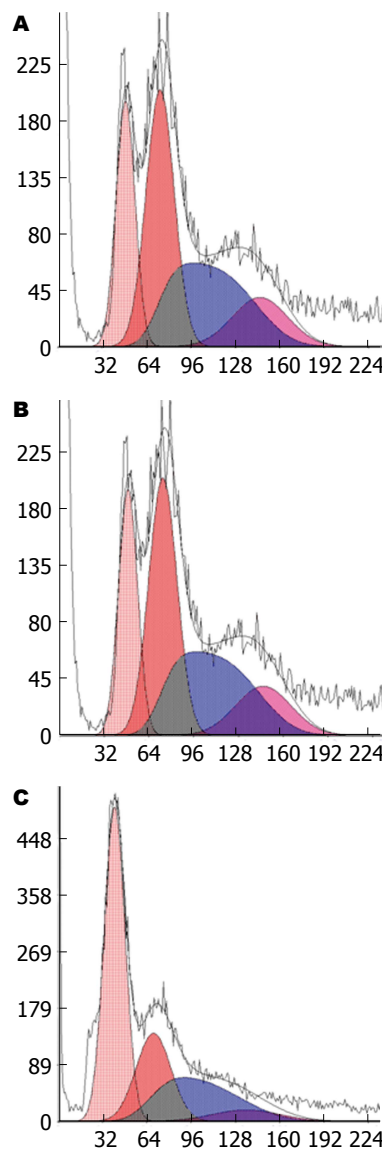


图 2 1.0  $\mu$ mol/L Casticin作用12、24、48 h后肝星状细胞凋亡情况。A: 12 h; B: 24 h; C: 48 h。

$\mu$ mol/L比较均有统计学意义( $P<0.05$ ); 各药物组之间比较均有差异( $P<0.05$ )。

## 2.4 Casticin对HSC促凋亡基因Fas/FasL的影响

2.4.1 不同浓度Casticin对HSC Fas/FasL mRNA表达的影响: 琼脂糖凝胶电泳结果显示, 在118 bp外均可见到均匀一致的 $\beta$ -actin基因的条带; 各组

在364 bp处均可见到Fas/FasL mRNA表达, 空白组HSC弱表达, 即不同浓度Casticin处理后, 其表达呈剂量依赖性增强(图3B), 其中空白组与Casticin 0.5、1.0、2.0  $\mu$ mol/L比较均有统计学意义( $P<0.05$ ); 各药物组之间比较均有差异( $P<0.05$ )。

## 2.4.2 Casticin处理不同时间对HSC Fas/FasL

表 2 不同浓度的Casticin作用肝星状细胞12、24、48 h后各组凋亡率 ( $n=3$ , mean  $\pm$  SD, %)

分组	12 h	24 h	48 h
空白对照	2.47 $\pm$ 0.40	4.38 $\pm$ 0.51	5.89 $\pm$ 0.39
0.5 $\mu$ mol/L	11.43 $\pm$ 3.91 <sup>ae</sup>	20.88 $\pm$ 2.07 <sup>ae</sup>	35.43 $\pm$ 5.04 <sup>ae</sup>
1 $\mu$ mol/L	22.71 $\pm$ 3.56 <sup>ac</sup>	33.39 $\pm$ 3.56 <sup>ac</sup>	41.95 $\pm$ 3.92 <sup>ac</sup>
2 $\mu$ mol/L	32.28 $\pm$ 2.44 <sup>ac</sup>	44.32 $\pm$ 3.55 <sup>a</sup>	55.70 $\pm$ 5.56 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 空白对照组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs 24, 48 h; <sup>e</sup> $P<0.05$  vs 1.0, 2.0  $\mu$ mol/L组。

## ■应用要点

通过研究紫花牡荆素对HSC中Fas/FasL、Bcl-2及凋亡蛋白Caspase3表达的影响, 探讨紫花牡荆素抗肝纤维化的作用机制, 为中药在临床上用于肝纤维化治疗提供理论指导和实验依据。

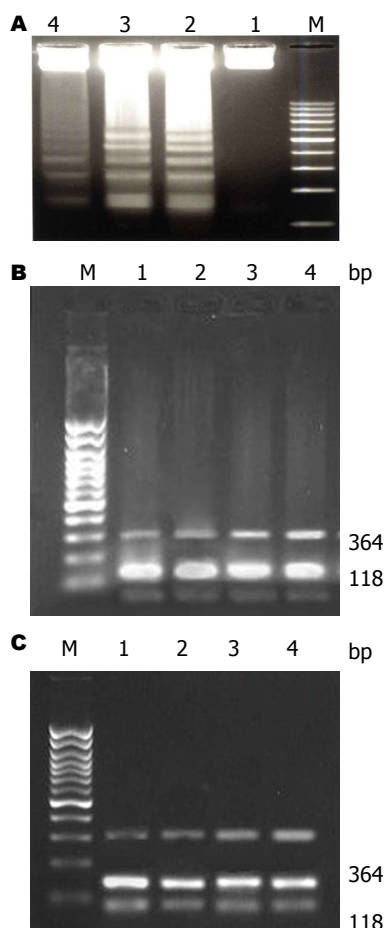


图 3 不同浓度Casticin或1.0  $\mu$ mol/L Casticin处理HSC后Fas/FasL mRNA的表达。A: 不同浓度的Casticin处理HSC后Fas/FasL mRNA的表达。M: 500 bp DNA marker; 1: 空白组; 2: 0.5  $\mu$ mol/L组; 3: 1.0  $\mu$ mol/L组; B: 不同浓度Casticin处理HSC后Fas/FasL mRNA的表达。M: 500 bp DNA marker; 1: 空白组; 2: 0.5  $\mu$ mol/L组; 3: 1.0  $\mu$ mol/L组; C: 1.0  $\mu$ mol/L Casticin处理HSC 12、24、48 h后Fas/FasL mRNA的表达。1: 空白对照组; 2: 12 h组; 3: 24 h组; 4: 48 h组。M: 500 bp DNA marker。HSC: 肝星状细胞。

mRNA的表达的影响: 实验选定1.0  $\mu$ mol/L Casticin作为最佳处理浓度, 观察紫花牡荆素处理HSC不同的时间(12、24、48 h)后, 其对细胞Fas/FasL mRNA水平的影响。实验结果表明细胞Fas/FasL mRNA的表达随时间延长而增强, 呈时间依赖性(图3C)。空白组与不同时间组比较有显著差异( $P<0.05$ )。不同时间组内进行比较有差异( $P<0.05$ )。

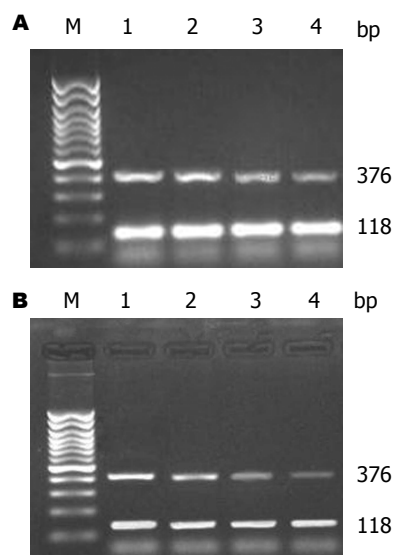


图 4 不同浓度Casticin或1.0  $\mu$ mol/L Casticin不同时间作用于HSC后Bcl-2 mRNA/Bcl-2 mRNA的表达。A: 不同浓度Casticin作用于HSC后Bcl-2 mRNA的表达。M: 500 bp DNA Marker; 1: 空白组; 2: 0.5  $\mu$ mol/L组; 3: 1.0  $\mu$ mol/L组; B: 1.0  $\mu$ mol/L Casticin作用HSC12、24、48 h后Bcl-2 mRNA的表达水平。1: 空白对照组; 2: 12 h组; 3: 24 h组; 4: 48 h组; M: marker。HSC: 肝星状细胞。

## 2.5 Casticin对HSC促凋亡基因Bcl-2的影响

2.5.1 不同浓度Casticin对HSC Bcl-2 mRNA表达的影响: 琼脂糖胶电泳结果显示, 在118 bp处均可见到均匀一致的 $\beta$ -actin基因的条带; 各组在376 bp处均可见到Bcl-2 mRNA表达, 空白组HSC强表态, 不同浓度Casticin处理后, 空白组及Casticin 0.5、1.0、2.0  $\mu$ mol/L之间比较均有统计学意义(均 $P<0.05$ ), 药物组两两比较均有统计学意义( $P<0.05$ )(图4A)。

2.5.2 Casticin处理不同时间对HSC Bcl-2 mRNA的影响: 实验选定1.0  $\mu$ mol/L Casticin作为最佳处理浓度, 观察Casticin处理HSC不同时间(12、24、48 h)后Bcl-2 mRNA表达水平的影响。结果显示, 即随Casticin作用时间延长, 细胞Bcl-2 mRNA表达呈时间依赖性减弱(图4B)。与空白组比较有显著差异( $P<0.05$ ), 不同时间比较均有差异( $P<0.05$ )。

### ■同行评价

肝纤维化是肝硬化的必经阶段,而肝纤维化取决于HSC的活化,目前尚缺乏确切有效的抗肝纤维化药物,中药抗肝纤维化展现良好的发展前景,本文通过研究紫花牡荆素对HSC中Fas/FasL、Bcl-2及凋亡蛋白Caspase3表达的影响,探讨紫花牡荆素抗肝纤维化的作用机制,为紫花牡荆素在临床上用于肝纤维化治疗提供理论指导和实验依据。

表 3 Casticin作用肝星状细胞-T6后各组凋亡蛋白Caspase3的阳性细胞表达率 (mean±SD, %)

分组	12 h	24 h	48 h
空白对照组	2.19 ± 0.51	4.75 ± 0.26	5.75 ± 0.34
20 μmol/L	8.53 ± 0.46 <sup>abc</sup>	9.98 ± 0.55 <sup>a</sup>	12.78 ± 0.73 <sup>a</sup>
40 μmol/L	14.51 ± 0.45 <sup>acegi</sup>	27.43 ± 1.84 <sup>agi</sup>	41.00 ± 1.54 <sup>agi</sup>
60 μmol/L	28.93 ± 2.37 <sup>acde</sup>	39.12 ± 1.19 <sup>a</sup>	71.34 ± 2.68 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>*P*<0.05 vs 空白对照组; <sup>b</sup>*P*<0.05 vs 24 h; <sup>c</sup>*P*<0.05 vs 48 h; <sup>d</sup>*P*<0.05 vs 20 μmol/L组; <sup>e</sup>*P*<0.05 vs 60 μmol/L组。

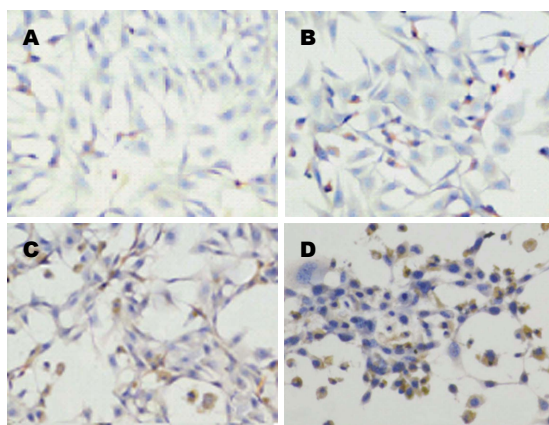


图 5 Casticin作用肝星状细胞-T6后各组凋亡蛋白Caspase3的表达(×400). A: 空白对照组; B: 0.5 μmol/L; C: 1.0 μmol/L; D: 2.0 μmol/L.

**2.6 Casticin对HSC凋亡蛋白Caspase3的影响**  
采用免疫细胞化学法检测凋亡蛋白Caspase3, 0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin处理HSC-T6细胞12、24、48 h后, 细胞爬片的Caspase3蛋白免疫组化染色结果显示: 正常对照片中仅有少量细胞在细胞核中表Caspase3蛋白, 表现为细胞核有棕黄色颗粒沉积, 细胞浆及无阳性染色; 而0.5、1.0、2.0 μmol/L Casticin处理的细胞核中着色逐渐增多(图5); 各组Caspase3阳性率如表3, Caspase3阳性率随Casticin浓度增加及时间的延长逐渐升高, 呈现量效关系. 与空白对照组比较, 均有统计学差异(*P*<0.05). 组间比较*P*<0.01.

### 3 讨论

HSC作为胶原纤维和其他非胶原纤维基质蛋白的主要来源, 其活化、增殖是肝纤维化发生、发展的中心环节<sup>[5]</sup>. 当肝脏损伤使HSC活化后, 活化HSC大量增殖, 合成分泌大量ECM, 并且使组织金属蛋白酶抑制物表达增高, 胶原酶的活性降低, 造成胶原酶降解障碍, ECM大量沉积导致肝纤维化的发生、发展<sup>[6]</sup>. 肝纤维化的损伤因素去除后常能自发逆转, HSC凋亡是此过程的关键HSC由于在肝纤维化发生、发展中的重要

作用, 已成为研究肝纤维化治疗的主要靶细胞<sup>[7]</sup>, 抑制HSC的活化, 促进HSC凋亡是治疗HF的理想途径<sup>[8]</sup>.

大量研究已经证实, 活化HSC数量减少主要通过凋亡途径, 减少活化HSC数量有利于HF逆转, 诱导活化HSC凋亡是抗HF的有效途径, 目前尚缺乏确切有效的抗HF药物, 中药抗HF展现良好的发展前景. 迄今为止, 紫花牡荆素促进HSC株凋亡的作用机制仍不清楚. Casticin为马鞭草科植物的干燥成熟果实-蔓荆子. 提取物黄酮类化合物的一种. 各种黄酮类化合物具有广泛的抗肿瘤作用. 其相对分子质量为374.34 kDa分子式C<sub>19</sub>H<sub>18</sub>O<sub>8</sub>. Casticin具有抗急性炎症<sup>[9]</sup>, 抗菌作用, 雌激素活性<sup>[10]</sup>, 止痛及抑制高催乳素血症, 并且对心血管疾病、呼吸系统也显示出一定的疗效. 目前Casticin抗肿瘤方面的作用是国内外学者研究的热点和焦点<sup>[11,12]</sup>. Casticin诱导HSC凋亡的分子机制不明确, 国内外也无相关的文献报道. 本实验用不同浓度Casticin作用于体外培养的大鼠HSC-T6, 观察HSC凋亡情况. 使用流式细胞分析法结果Casticin诱导HSC凋亡呈时间剂量依赖性, 各药物组凋亡率与空白对照组比较, 均存在统计学差异(*P*<0.05). 当Casticin 2.0 μmol/L作用HSC-T6 48 h, HSC-T6凋亡达到最大值55.70%±5.56%. 琼脂糖凝胶电泳中检测到有特征性DNA梯度带形成, 说明Casticin能引起细胞基因组DNA断裂, 更进一步证明Casticin能诱导体外HSC发生凋亡. 流式细胞术与琼脂糖凝胶电泳法结果表明Casticin可明显促进HSC凋亡, 作用强度呈剂量-时间依赖趋势.

HSC凋亡是一个受基因调控的主动过程, 可能由若干相关基因共同完成. FasL与靶细胞膜上特异的受体Fas结合, 启动凋亡程序, 导致细胞凋亡, 是促细胞凋亡的主要途径. Bcl-2是Bcl家族中的重要成员, Bcl-2基因是重要的凋亡抑制基因, 可影响细胞的生存, 对肿瘤细胞的增生有促进作用<sup>[13]</sup>. Bcl-2基因及其表达蛋白可以抑制多



种组织细胞凋亡, 延长细胞寿命, 被人称为“存活基因”<sup>[14]</sup>。他主要通过自身二聚或与Bax等蛋白形成异二聚体来发挥其调控细胞凋亡的功能。Bcl-2确切抗凋亡机制尚未完全明了, 其可能机制: (1)抑制线粒体释放促凋亡蛋白; (2)抑制促凋亡蛋白bax的细胞毒性; (3)直接的抗氧化作用; (4)影响细胞的跨膜转运, 改变钙离子分布, 调节钙离子激活内切酶和谷氨酰转移酶; (5)Bcl-2阻止p53诱导的细胞凋亡<sup>[11,15-17]</sup>。在多数HCC中Bcl-2高表达, 其阳性率明显高于癌前组织, 且HCC分化越低, Bcl-2表达越高<sup>[18,19]</sup>。Chang等<sup>[20]</sup>用pcDNA3-Bcl-2转染Fas表达阳性的BCL-7404肝癌细胞, 过度表达的Bcl-2抑制了Fas介导的细胞凋亡, 同时发现, 高表达的bax并不能对抗Bcl-2对Fas介导的细胞凋亡的抑制, 而bax是Bcl-2与Fas凋亡途径的一个重要调节物<sup>[9,21]</sup>。同时人们研究紫花牡荆素的抗肿瘤作用过程中显示Bcl-2的下调是诱导肿瘤细胞的凋亡的关键, 若肿瘤细胞内过度表达Bcl-2, 则无法诱导其凋亡<sup>[10]</sup>。

Fas是细胞凋亡信号受体, 当Fas与其特异性配体FasL相结合后, 进一步转导凋亡信号兵诱导细胞凋亡, 其与免疫逃逸机制密切相关, 因此Fas/FasL信号通路可能成为下一个肿瘤治疗目标<sup>[22-24]</sup>。本实验采用RT-PCR检测了促凋亡基因Fas/FasL及抑凋亡基因Bcl-2 mRNA的表达。结果显示药物作用组的HSC-T6细胞Fas/Fas基因表达上调, Bcl-2表达下调, 呈浓度与时间依赖性, 与对照组相比有显著的差异( $P<0.05$ )。Casticin诱导HSC发生凋亡可能是通过作用凋亡基因实现的。Caspase家族在介导细胞凋亡的过程中起着非常重要的作用, 其中Caspase3为关键的执行分子, 是细胞凋亡过程中最主要的终末剪切酶, 他在凋亡信号传导的许多途径中发挥功能<sup>[25,26]</sup>。免疫细胞化学检测表明各药物作用组的HSC-T6细胞对Caspase3蛋白表达增加, 呈时间剂量依赖性, 与空白对照组比较, 均存在统计学差异( $P<0.05$ ), 各药物组间两两比较存在统计学差异( $P<0.05$ )。说明Casticin诱导HSC发生凋亡最终可能是通过Caspase3执行的。本研究结果进一步证实Casticin有诱导HSC-T6细胞凋亡作用, 其机理可能是通过上调促凋亡基因Fas/FasL表达, 下调抑凋亡基因Bcl-2, 促使线粒体通透性增加, 连锁激活Caspase3蛋白诱发细胞凋亡。然而, HSC激活及凋亡机制复杂, 是否存在别的凋亡途径、凋亡基因与凋亡因子参与, 有待进一步研究阐明。

## 4 参考文献

- 1 Saile B, Matthes N, El Armouche H, Neubauer K, Ramadori G. The bcl, NFkappaB and p53/p21WAF1 systems are involved in spontaneous apoptosis and in the anti-apoptotic effect of TGF-beta or TNF-alpha on activated hepatic stellate cells. *Eur J Cell Biol* 2001; 80: 554-561 [PMID: 11561906]
- 2 Neubauer K, Saile B, Ramadori G. Liver fibrosis and altered matrix synthesis. *Can J Gastroenterol* 2001; 15: 187-193 [PMID: 11264572]
- 3 Friedman SL. Liver fibrosis -- from bench to bedside. *J Hepatol* 2003; 38 Suppl 1: S38-S53 [PMID: 12591185 DOI: 10.1016/S0168-8278(02)00429-4]
- 4 Lin S, Zhang H, Han T, Wu JZ, Rahman K, Qin LP. In vivo effect of casticin on acute inflammation. *Zhongxiyi Jiehe Xuebao* 2007; 5: 573-576 [PMID: 17854563 DOI: 10.3736/jcim20070520]
- 5 Iredale JP, Benyon RC, Pickering J, McCullen M, Northrop M, Pawley S, Hovell C, Arthur MJ. Mechanisms of spontaneous resolution of rat liver fibrosis. Hepatic stellate cell apoptosis and reduced hepatic expression of metalloproteinase inhibitors. *J Clin Invest* 1998; 102: 538-549 [PMID: 9691091 DOI: 10.1172/JCI1018]
- 6 Issa R, Williams E, Trim N, Kendall T, Arthur MJ, Reichen J, Benyon RC, Iredale JP. Apoptosis of hepatic stellate cells: involvement in resolution of biliary fibrosis and regulation by soluble growth factors. *Gut* 2001; 48: 548-557 [PMID: 11247901 DOI: 10.1136/gut.48.4.548]
- 7 Gressner AM. The cell biology of liver fibrogenesis - an imbalance of proliferation, growth arrest and apoptosis of myofibroblasts. *Cell Tissue Res* 1998; 292: 447-452 [PMID: 9582401]
- 8 Wu J, Zern MA. Hepatic stellate cells: a target for the treatment of liver fibrosis. *J Gastroenterol* 2000; 35: 665-672 [PMID: 11023037]
- 9 Shen JK, Du HP, Yang M, Wang YG, Jin J. Casticin induces leukemic cell death through apoptosis and mitotic catastrophe. *Ann Hematol* 2009; 88: 743-752 [PMID: 19139893 DOI: 10.1007/s00277-008-0677-3]
- 10 Haïdara K, Zamir L, Shi QW, Batist G. The flavonoid Casticin has multiple mechanisms of tumor cytotoxicity action. *Cancer Lett* 2006; 242: 180-190 [PMID: 16387422 DOI: 10.1016/j.canlet.2005.11.017]
- 11 Kobayakawa J, Sato-Nishimori F, Moriyasu M, Matsukawa Y. G2-M arrest and antimitotic activity mediated by casticin, a flavonoid isolated from Vitis Fructus (Vitis rotundifolia Linne fil.). *Cancer Lett* 2004; 208: 59-64 [PMID: 15105046 DOI: 10.1016/j.canlet.2004.01.012]
- 12 Wang HY, Cai B, Cui CB, Zhang DY, Yang BF. [Vitexicarpin, a flavonoid from Vitex trifolia L., induces apoptosis in K562 cells via mitochondria-controlled apoptotic pathway]. *Yaoxue Xuebao* 2005; 40: 27-31 [PMID: 15881322]
- 13 Moreno A, Figueras A, Lloveras B, Escobedo A, Giera E, Sierra A, Fabra A. Apoptosis in ductal carcinoma in situ of the breast. *Breast J* 2001; 7: 245-248 [PMID: 11678802 DOI: 10.1046/j.1524-4741]
- 14 Zamzami N, Brenner C, Marzo I, Susin SA, Kroemer G. Subcellular and submitochondrial mode of action of Bcl-2-like oncoproteins. *Oncogene* 1998; 16: 2265-2282 [PMID: 9619836 DOI: 10.1038/sj.onc.1201989]
- 15 Shin S, Sung BJ, Cho YS, Kim HJ, Ha NC, Hwang JI, Chung CW, Jung YK, Oh BH. An anti-apoptotic

- protein human survivin is a direct inhibitor of caspase-3 and -7. *Biochemistry* 2001; 40: 1117-1123 [PMID: 11170436 DOI: 10.4161/cc.23407]
- 16 Iwamoto H, Sakai H, Tada S, Nakamuta M, Nawata H. Induction of apoptosis in rat hepatic stellate cells by disruption of integrin-mediated cell adhesion. *J Lab Clin Med* 1999; 134: 83-89 [PMID: 10402063 DOI: 10.1016/S0022-213(99)90057-4]
  - 17 Letsas KP, Frangou-Lazaridis M, Skyrilas A, Tsatsoulis A, Malamou-Mitsi V. Transcription factor-mediated proliferation and apoptosis in benign and malignant thyroid lesions. *Pathol Int* 2005; 55: 694-702 [PMID: 16271081 DOI: 10.1016/S0022-2143(99)90057-4]
  - 18 Rossé T, Olivier R, Monney L, Rager M, Conus S, Fellay I, Jansen B, Borner C. Bcl-2 prolongs cell survival after Bax-induced release of cytochrome c. *Nature* 1998; 391: 496-499 [PMID: 9461218 DOI: 10.1038/35160]
  - 19 Guo XZ, Shao XD, Liu MP, Xu JH, Ren LN, Zhao JJ, Li HY, Wang D. Effect of bax, bcl-2 and bcl-xL on regulating apoptosis in tissues of normal liver and hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 1059-1062 [PMID: 12439925]
  - 20 Chang YC, Xu YH. Expression of Bcl-2 inhibited Fas-mediated apoptosis in human hepatocellular carcinoma BEL-7404 cells. *Cell Res* 2000; 10: 233-242 [PMID: 11032175 DOI: 10.1038/sj.cr.7290052]
  - 21 George J, Banik NL, Ray SK. Bcl-2 siRNA augments taxol mediated apoptotic death in human glioblastoma U138MG and U251MG cells. *Neurochem Res* 2009; 34: 66-78 [PMID: 18357521 DOI: 10.1007/s11064-008-9659-z]
  - 22 Tian J, Pan F, Li J, Ma Y, Cen H, Pan HF, Pan YY, Ye DQ. Association between the FAS/FASL polymorphisms and gastric cancer risk: a meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 945-951 [PMID: 22631677 DOI: 10.7312/JCP.2012.13.3.945]
  - 23 Villa-Morales M, Fernández-Piqueras J. Targeting the Fas/FasL signaling pathway in cancer therapy. *Expert Opin Ther Targets* 2012; 16: 85-101 [PMID: 22239437 DOI: 10.1517/14728222.2011.628937]
  - 24 Suzuki A, Ito T, Kawano H, Hayashida M, Hayasaka Y, Tsutomi Y, Akahane K, Nakano T, Miura M, Shiraki K. Survivin initiates procaspase 3/p21 complex formation as a result of interaction with Cdk4 to resist Fas-mediated cell death. *Oncogene* 2000; 19: 1346-1353 [PMID: 10713676 DOI: 10.1038/sj.onc.1203429]
  - 25 Lei XY, Zhong M, Feng LF, Zhu BY, Tang SS, Liao DF. siRNA-mediated Bcl-2 and Bcl-xL gene silencing sensitizes human hepatoblastoma cells to chemotherapeutic drugs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2007; 34: 450-456 [PMID: 17439414 DOI: 10.1111/j.1440-1681.2007.04593.x]
  - 26 Cheng SQ, Wang WL, Yan W, Li QL, Wang L, Wang WY. Knockdown of survivin gene expression by RNAi induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cell line SMMC-7721. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 756-759 [PMID: 15655839]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术治疗源于固有肌层食管黏膜下肿瘤的回顾性分析

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 陈巍峰

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 南京医科大学附属苏州医院 江苏省苏州市 215001

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 苏州市立医院东区消化内科 江苏省苏州市 215001

周俊东, 苏州市立医院东区肿瘤实验室 江苏省苏州市 215001

陈巍峰, 复旦大学附属中山医院内镜中心 上海市 200032

闵寒, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系肿瘤靶向治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81372433

苏州市科教兴卫基金资助项目, No. SWKQ1026

作者贡献分布: 主要数据分析和文章起草由闵寒完成; 病例选择及操作由闵寒、陈志荣、龚菲、王皓及陈巍峰完成; 课题设计、文章修改和审阅由闵寒、周俊东及陈志荣完成。

通讯作者: 陈志荣, 主任医师, 硕士生导师, 215001, 江苏省苏州市白塔西路16号, 南京医科大学附属苏州医院, 苏州市立医院东区消化内科. czr88188@163.com

电话: 0512-62364012

收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-16

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-08

## Submucosal tunneling endoscopic resection of esophageal submucosal tumors originating from the muscularis propria layer: A retrospective analysis

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Jun-Dong Zhou, Wei-Feng Chen

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Jun-Dong Zhou, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Department of Gastroenterology, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), Suzhou 215001, Jiangsu Province, China

Jun-Dong Zhou, Cancer Laboratory, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), Suzhou 215001, Jiangsu Province, China

Wei-Feng Chen, Endoscopy Center, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81372433; and Suzhou Science and Education Youth Health Foundation, No. SWKQ1026

Correspondence to: Zhi-Rong Chen, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), 16 Baita Road, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China. czr88188@163.com

Received: 2013-11-25 Revised: 2014-01-16

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the safety and efficacy of submucosal tunneling endoscopic resection (STER) for esophageal submucosal tumors (SMTs) originating from the muscularis propria layer.

**METHODS:** Between April 2012 and August 2013, 5 patients with esophageal SMTs originating from the muscularis propria layer were treated by STER. The key steps were as follows: (1) creating a submucosal tunnel to uncover the tumor; (2) resecting the tumor en bloc by endoscopic resection techniques; and (3) closing the mucosal incision site after the tumor was removed.

**RESULTS:** STER was successfully performed in all 5 cases (success rate: 100%). The mean tumor size was 1.6 cm (range, 1.0-2.5 cm). The mean procedure time was 108.6 min (range, 80-138 min). The average hospital stay was 5.8 d (range, 5-7 d). The mean number of clips used was 7 (5-9). Pathological diagnosis of the tumors was leiomyoma (4/5) and mesenchymal tumor (1/5) with lateral and basal resection margins free of tumor tissue. During the procedure, one patient developed subcutaneous emphysema, who recovered after conservative treatment. No residual or recurrent tumors were detected during the 6-mo (4 patients) and 12-mo (1 patient) follow-up period.

**CONCLUSION:** STER seems to be a safe and effective procedure for treatment of esophageal SMTs originating from the muscularis propria layer, but its indications need to be further investigated.

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

**Key Words:** Esophagus submucosal tumors; Submucosal tunneling endoscopic resection; Muscularis propria layer

## ■背景资料

食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)的诊断率逐年上升, 但对于其处理方式存在着较多争议。传统外科治疗创伤较大, 近年来, 各种内镜下手术方式开始应用于食管SMTs治疗。

## ■同行评议者

李小荣, 教授, 中南大学湘雅三医院普外二科



## ■ 研发前沿

内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)切除食管黏膜下肿瘤与其他内镜下切除技术相比,能极大减少并发症的发生率,保障了此类病人的治疗安全,但对于这项技术开展的适应症仍存在争议。

Min H, Chen ZR, Gong F, Wang H, Zhou JD, Chen WF. Submucosal tunneling endoscopic resection of esophageal submucosal tumors originating from the muscularis propria layer: A retrospective analysis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 915-919 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/915.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.915>

## 摘要

**目的:** 回顾性分析内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)治疗来源于固有肌层食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)的安全性和有效性。

**方法:** 选取2012-04/2013-08行STER治疗,来源于固有肌层食管SMTs的患者5例。具体步骤如下:(1)建立黏膜下隧道暴露肿瘤;(2)完整剥离肿瘤;(3)移除肿瘤,关闭隧道口。

**结果:** 采用STER成功切除所有黏膜下肿瘤,完整切除率100%;切除病灶直径1.0-2.5 cm,平均1.6 cm;操作时间80-138 min,平均108.6 min;住院天数5-7 d,平均5.8 d;关闭隧道口用金属钛夹5-9枚,平均7枚。术后病理诊断为平滑肌瘤4例,间叶源性肿瘤1例,切缘均为阴性。发生皮下气肿1例,予保守治疗好转。4例完成6 mo、1例完成12 mo随访,无一例出现病变残留或复发。

**结论:** STER治疗来源于固有肌层的食管SMTs是安全有效的,值得临床推广并需进一步探究其适应症。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 食管黏膜下肿瘤; 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术; 固有肌层

**核心提示:** 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection)技术在切除来源于固有肌层的食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors)有着独特的优势,是安全有效的,但作为一种新技术在适应症的选择上仍需谨慎对待,随着技术的发展和病例数的积累,需要与外科手术方式进行前瞻性对照研究。

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 周俊东, 陈巍峰. 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术治疗源于固有肌层食管黏膜下肿瘤的回顾性分析. *世界华人消化杂志* 2014; 22(7): 915-919 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/915.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.915>

## 0 引言

随着消化内镜技术的发展,特别是超声内镜检

查的普及,食管黏膜下肿瘤(submucosal tumors, SMTs)的诊断率逐年上升<sup>[1-4]</sup>,但对于其处理方式存在着较多争议。鉴于其存在的潜在恶性和误诊可能,目前较多文献倾向于早期切除,但传统外科治疗创伤较大<sup>[5-7]</sup>,近年来,各种内镜下手术方式开始应用于食管SMTs治疗。传统的内镜下技术,如内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)和内镜黏膜下挖除术(endoscopic submucosal excavation, ESE)若发生穿孔后果严重<sup>[3,4,8-12]</sup>。为了能更安全有效地开展治疗,2011年复旦大学附属中山医院首先报道了采用内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunneling endoscopic resection, STER)切除食管SMTs<sup>[13]</sup>。近期相关研究证实与其他内镜下切除技术相比,该技术能极大减少并发症的发生率,保障了此类患者的治疗安全<sup>[14-16]</sup>,但对于这项技术开展的适应症仍存在争议<sup>[17]</sup>。本研究回顾性分析2012-04/2013-08就诊于南京医科大学附属苏州医院消化内科的5例源于固有肌层食管SMTs的STER治疗病例,为临床推广提供参考。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2012-04/2013-08南京医科大学附属苏州医院(苏州市立医院东区)消化内科经胃镜和超声胃镜诊断为食管SMTs患者28例。超声胃镜证实来源于固有肌层的5例,纳入本研究。其中男性3例,女性2例,年龄37-59岁,平均47.2岁。病变位于食管中段3例,下段2例。超声胃镜显示病变来源于浅肌层4例,深肌层1例,病变内部均呈低回声。所有入组病例术前均签署知情同意书及手术同意书,告知可能获得的益处和风险。GIF-Q260胃镜, D-201.11802透明帽, EU-M2000内镜超声系统:微超声探头采用UM-2R(12 MHz)和3R(20 MHz), KD-640L三角刀, KD-620LR HOOK刀, KD-611L IT刀, NM-200L-0423注射针, SD-5L/6L-1圈套器, FD-410LR热活检钳, HX-610-135L金属止血钛夹, 日本Olympus公司。ICC-200高频电切装置和APC2氩离子凝固器, 德国ERBE公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 STER:** 气管插管麻醉后患者轻度左侧卧位,低流量吸氧2-3 L/min,保持呼吸道通畅,并在术前半小时内予以静脉抗生素预防感染。安装透明帽于胃镜头端,具体操作步骤如下:(1)建立黏膜下隧道。在肿瘤近口侧直线距离约5 cm处以2 mL靛胭脂、1 mL肾上腺素和100 mL生理盐水

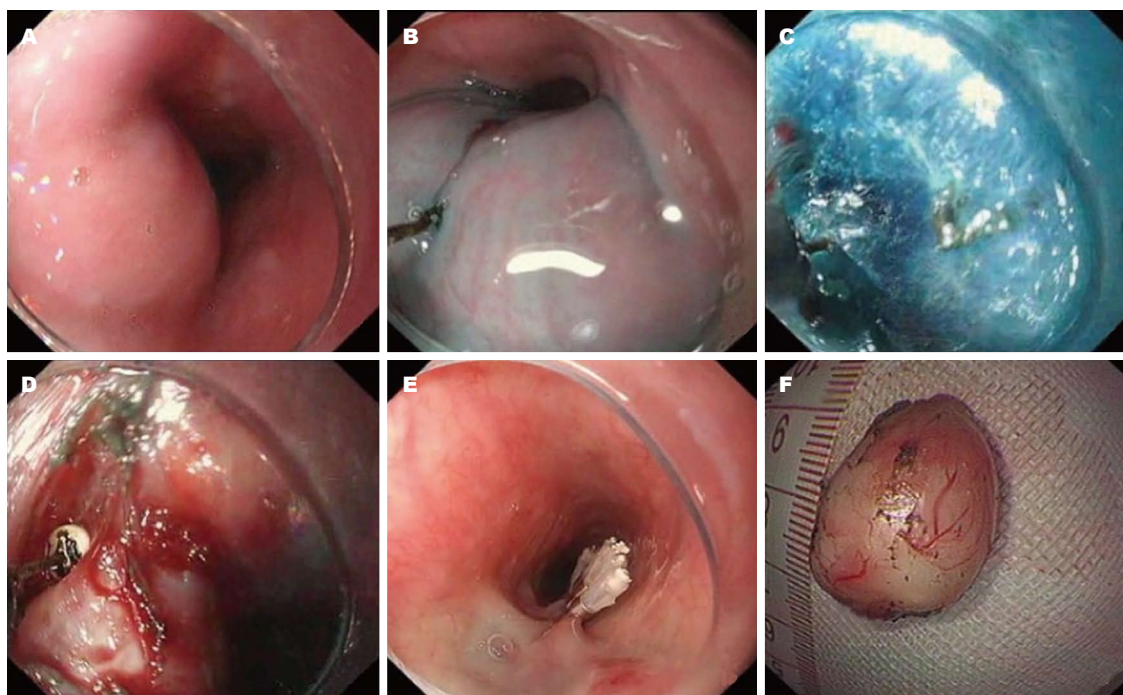


图1 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术操作过程。A: 食管黏膜下肿瘤; B: 黏膜下注射后开隧道口; C: 建立黏膜下隧道; D: 剥离肿瘤; E: 关闭隧道口; F: 切除后肿瘤。

■相关报道  
Choi等认为尽管目前报道STER治疗食管SMTs是安全有效的,但由于缺乏与外科手术方式的对照研究,在选择上仍需要谨慎。

的混合液进行黏膜下注射,黏膜隆起后以三角刀纵形切开约2 cm。内镜借助透明帽沿切口进入黏膜下,反复黏膜下注射并用三角刀逐步分离黏膜下层,在黏膜层和肌层之间建立隧道直至暴露瘤体。建立隧道过程中需反复退出隧道以及时了解病灶位置,避免隧道偏离方向。如无法寻找到瘤体,需要重新读片排除其他原因,必要时中止手术;(2)剥离肿瘤。应用IT刀及Hook刀沿瘤体周围切开,与周围组织分离,完整剥离肿瘤,注意要保持瘤体包膜的完整性,避免损伤食管外膜,术中监测气道压力及颈部有无皮下积气体征;(3)关闭隧道。切除后瘤体以圈套器取出,如瘤体过大无法取出隧道,可扩大隧道口。取出后使用灭菌蒸馏水反复冲洗隧道,以热活检钳电凝或氩离子凝固术处理出血灶和显露的小血管。确认隧道内无出血,将隧道内液体和气体吸尽,退出隧道,直视下用6-10枚钛夹对缝黏膜切口,关闭隧道口。切除后病灶送病理。

1.2.2 术后处理和随访: 术后观察患者有无胸闷、气急,监测血压、脉氧等生命体征。使用质子泵抑制剂、抗生素和止血药。术后禁食1 d,如第2天无不适,可进食流质。术后6、12 mo复查胃镜及超声胃镜,观察创面愈合情况及病变有无残留或复发。

## 2 结果

本研究5例病灶均通过STER成功切除(图1),完整切除率为100%;切除病灶直径为1.0-2.5 cm,平均1.6 cm;操作时间(从黏膜下注射至黏膜隧道切口缝合完成)为80-138 min,平均108.6 min;关闭隧道口所用金属钛夹5-9枚,平均7枚。术后病理诊断为平滑肌瘤4例,间叶源性肿瘤1例(未行免疫组织化学),切缘均为阴性。

术中均有少量出血,出血量50-120 mL,经过电凝和氩离子凝固术均成功止血。1例出现皮下气肿,予以低流量吸氧和抗感染治疗3 d体征消失,行胸片检查无异常。术后无一例出现迟发性消化系出血或纵隔感染,无一例出现隧道内积血或感染。术后第2天患者均能进食流质,住院天数5-7 d,平均5.8 d。4例完成6 mo的随访、1例完成12 mo的随访,切口均愈合良好,未发现病变残留或复发。

## 3 讨论

食管SMTs是一种常见的食管黏膜下肿物,以平滑肌瘤为主。食管SMTs患者一般临床无特殊症状,常经胃镜及超声胃镜诊断。尽管超声胃镜对病变的大小、层次有很高的评估价值<sup>[1-3]</sup>,但目前对于病变良恶性的鉴别尚缺乏有效的无创手



### ■创新盘点

本文不仅对该技术应用的安全性 and 有效性进行了回顾性研究,而且深入地治疗适应症和存在的争议进行了探讨。

段,且存在误诊可能<sup>[18]</sup>,因此目前大都建议尽早切除明确病理<sup>[5,6,15]</sup>。

对于来源于固有肌层食管SMTs的治疗以往一般采用外科手术<sup>[5-7]</sup>,但创伤较大,对于无症状患者风险效益比争论较多。近年来通过内镜技术的发展,可以通过ESD、ESE等技术完成该类病变的内镜下切除<sup>[8-12]</sup>。但由于病变与肌层关系密切,极易发生穿孔,且出现的穿孔创面难以进行有效闭合,后果严重。为了克服一般内镜切除技术的缺点,STER技术由经口内镜下贲门括约肌切断术发展而来<sup>[19-21]</sup>。其通过隧道内剥离病灶,既能完整切除肿瘤,又能通过完整的“黏膜安全瓣”降低术后出现食管瘘和胸腔感染的可能<sup>[13,22-24]</sup>。本研究5例病变均通过STER技术成功切除,完整切除率100%,且无一例术后严重并发症的发生,这一结果和国内外相关研究结果是相符合的<sup>[13-16,25,26]</sup>,说明这项技术对于治疗来源于固有肌层的食管SMTs还是安全有效的。但STER作为一种新兴的内镜技术,发展时间较短,仍存在一些值得继续探究的问题。主要有以下几点:(1)适应症:对于STER的适应症,目前尚没有明确。从现有的临床报道看有以下几点限制:病变大小一般在3 cm以下,如过大只能分片取出,极易发生隧道内种植<sup>[16,17]</sup>。本研究切除病灶直径1.0-2.5 cm,平均1.6 cm,均能完整切除并取出;由于需要在病灶近口侧端约5 cm处建立隧道,所以一般病灶位置以中下段为主,Choi等<sup>[17]</sup>认为病灶位置应低于食管上括约肌下方5 cm;辅助检查提示肿瘤边界清楚,质地均匀;无消化系统外侵犯和胸腹腔转移征象;(2)穿孔的处理:术中如损伤食管外膜或穿孔常出现如皮下气肿、气胸或纵隔气肿等临床症状。现有文献报道发生率约0-16.7%<sup>[15,16,26]</sup>,本项研究中1例出现皮下气肿,可能与术中食管外膜损伤有关。使用CO<sub>2</sub>气泵可以加快气体的吸收,因此CO<sub>2</sub>气泵对于安全开展STER非常重要;(3)出血的估计和处理:对于出血的估计,Kikuchi等<sup>[27]</sup>研究发现超声胃镜对于黏膜下血管的分级可以很好的估计胃ESD术中出血的可能性,是否这也同样适用于食管SMTs还有待进一步研究。对于出血的术中处理,本研究出血量50-120 mL,均成功止血,但有个别报道出血量可达500 mL<sup>[28]</sup>,可能与病变位置有关,但仍需要术中避免和及时处理大血管<sup>[29]</sup>;(4)保持“黏膜安全瓣”的完整性:安全瓣的完整性是该技术开展的核心,如果术中黏膜面发生

破损,病灶无法明确分离,应及时中止手术或尽早采用黏膜缝合技术<sup>[14]</sup>。同时避免为了定位肿瘤而进行的不必要的黏膜面注射和标记等操作,以防造成潜在的穿孔风险。

总之,STER技术在切除来源于固有肌层的食管SMTs有着独特的优势,是安全有效的,但作为一种新技术在适应症的选择上仍需谨慎对待<sup>[17]</sup>。本研究纳入的研究较少,有一定局限性,随着病例数的积累和技术的发展,需要进一步与外科手术方式(如单纯胸腔镜、胃镜联合胸腔镜等)<sup>[30]</sup>进行前瞻性对照研究,并对于远期疗效以及适应症不断探究。

### 4 参考文献

- 1 陈广侠,姜葵,王邦茂,方维丽,刘文天,郑忠青. 超声内镜对上消化道黏膜下隆起型病变的诊断价值. 中国内镜杂志 2012; 18: 55-58
- 2 邹传鑫,谢明,戴绍军,汤绍迁. 超声内镜弹性成像在消化系黏膜下肿瘤诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21: 484-489
- 3 朱薇,辛小敏,郭文,白杨,程天明,姚永莉,智发朝,刘思德. 食管黏膜下肿物的特性以及超声内镜的诊断和治疗意义. 胃肠病学 2013; 18: 163-165
- 4 Landi B, Palazzo L. The role of endosonography in submucosal tumours. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2009; 23: 679-701 [PMID: 19744633 DOI: 10.1016/j.bpg.2009.05.009]
- 5 马超,赵辉,张磊,李运,刘军,李剑锋,王俊. 食管平滑肌瘤的微创手术治疗. 中国微创外科杂志 2004; 4: 23-25
- 6 刘铭,杨康,廖克龙,曾会昌,王明荣. 食管平滑肌瘤的诊断和手术治疗的特点. 第三军医大学学报 2005; 27: 2467-2468
- 7 刘峰,张志庸,李单青,李力. 食管平滑肌瘤的诊断及外科处理. 现代预防医学 2007; 34: 2577-2578
- 8 周平红,姚礼庆,徐美东,陈巍峰,钟芸诗,马黎丽,张轶群,秦新裕. 消化道黏膜下肿瘤的内镜黏膜下挖除术治疗. 中国医疗器械信息 2008; 14: 3-5,9
- 9 孙会会,陈莹,许树长,王志荣,张霞. 内镜黏膜下剥离术在上消化道相关病变的应用. 中国内镜杂志 2012; 18: 799-804
- 10 洪捷敏,林琪,尹雪,张佩翡,沈炜鋈,沃海娜. 内镜黏膜下剥离或挖除术治疗消化道黏膜下肿瘤. 现代实用医学 2013; 25: 260-261, 313
- 11 曾斌,戴勇,廖爱军,石巍. 超声内镜诊断食管黏膜下肿瘤并行内镜下微创治疗的疗效观察. 中国内镜杂志 2012; 18: 942-945
- 12 杨维忠,温必盛,赖雪珍,庞华兰,徐艺华,陈晓莉. 内镜黏膜下挖除术治疗食管固有肌层肿瘤12例. 世界华人消化杂志 2010; 18: 3569-3571
- 13 徐美东,姚礼庆,周平红,蔡明琰,钟芸诗,陈巍峰,张轶群,马丽黎,秦文政,胡健卫,任重,陈世耀. 经黏膜下隧道内镜肿瘤切除术治疗源于固有肌层的上消化道黏膜下肿瘤初探. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 606-610
- 14 Inoue H, Ikeda H, Hosoya T, Onimaru M, Yoshida A, Eleftheriadis N, Maselli R, Kudo S. Submucosal endoscopic tumor resection for subepithelial tumors in the esophagus and cardia. *Endoscopy* 2012; 44: 225-230 [PMID: 22354822 DOI: 10.1055/



- s-0031-1291659]
- 15 Ye LP, Zhang Y, Mao XL, Zhu LH, Zhou XB, He SQ, Chen JY, Jin X. Submucosal tunnelling endoscopic resection for the treatment of esophageal submucosal tumours originating from the muscularis propria layer: an analysis of 15 cases. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 119-123 [PMID: 22989470 DOI: 10.1016/j.dld.2012.08.010]
  - 16 Gong W, Xiong Y, Zhi F, Liu S, Wang A, Jiang B. Preliminary experience of endoscopic submucosal tunnel dissection for upper gastrointestinal submucosal tumors. *Endoscopy* 2012; 44: 231-235 [PMID: 22354823 DOI: 10.1055/s-0031-1291720]
  - 17 Choi HS, Chun HJ. Usefulness of tunnel dissection for upper gastrointestinal submucosal tumors. *Endoscopy* 2012; 44: 801; author replies 802, 803 [PMID: 22833027 DOI: 10.1055/s-0032-1309845]
  - 18 贾国葆, 周艳, 吴亮, 黄智铭. 食管间叶源性肿瘤的胃镜、超声内镜、免疫组织化学和临床病理特征. *中华消化杂志* 2013; 33: 507-512
  - 19 Inoue H, Minami H, Kobayashi Y, Sato Y, Kaga M, Suzuki M, Satodate H, Odaka N, Itoh H, Kudo S. Peroral endoscopic myotomy (POEM) for esophageal achalasia. *Endoscopy* 2010; 42: 265-271 [PMID: 20354937 DOI: 10.1055/s-0029-1244080]
  - 20 王爽, 刘冰熔. 贲门失弛缓症的研究进展. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 75-81
  - 21 彭芊芊, 戴文华, 王伟飞, 岳辉. 经黏膜下隧道内镜肿瘤切除术在食管肿瘤治疗中的进展. *中华消化内镜杂志* 2013; 30: 478-480
  - 22 Sumiyama K, Gostout CJ, Rajan E, Bakken TA, Knipschild MA. Transesophageal mediastinoscopy by submucosal endoscopy with mucosal flap safety valve technique. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 679-683 [PMID: 17383463]
  - 23 Sumiyama K, Tajiri H, Gostout CJ. Submucosal endoscopy with mucosal flap safety valve (SEMF) technique: a safe access method into the peritoneal cavity and mediastinum. *Minim Invasive Ther Allied Technol* 2008; 17: 365-369 [PMID: 18972253 DOI: 10.1080/13645700802528512]
  - 24 Khashab MA, Saxena P, Valeshabad AK, Chavez YH, Zhang F, Akshintala V, Aguila G, Inoue H, Pasricha PJ, Neuhaus H, Kalloo AN. Novel technique for submucosal tunneling and endoscopic resection of submucosal tumors (with video). *Gastrointest Endosc* 2013; 77: 646-648 [PMID: 23352498 DOI: 10.1016/j.gie.2012.11.011]
  - 25 徐进康, 陆喜荣, 徐宏伟, 许邹华. 经黏膜下隧道内镜切除术治疗食管黏膜下肿瘤5例临床分析. *胃肠病学* 2012; 17: 678-680
  - 26 焦春花, 杨树平, 李学良, 丁静, 许迎红, 陶桂, 陈莉, 张道权, 何湘. 经黏膜下隧道内镜切除术治疗食管中下段黏膜下肿瘤的初步探索. *中华医学杂志* 2013; 93: 2388-2391
  - 27 Kikuchi D, Iizuka T, Hoteya S, Yamashita S, Nakamura M, Kuroki Y, Mitani T, Fujimoto A, Matsui A, Nishida N, Yahagi N. Usefulness of endoscopic ultrasound for the prediction of intraoperative bleeding of endoscopic submucosal dissection for gastric neoplasms. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 68-72 [PMID: 21175796 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06412.x]
  - 28 徐美东, 陆巍, 李全林, 周平红, 钟芸诗, 陈巍峰, 张轶群, 姚礼庆. 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术在胃固有肌层肿瘤中的应用与评价. *中华胃肠外科杂志* 2012; 15: 671-674
  - 29 Yoshida N, Naito Y, Kugai M, Inoue K, Wakabayashi N, Yagi N, Yanagisawa A, Yoshikawa T. Efficient hemostatic method for endoscopic submucosal dissection of colorectal tumors. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 4180-4186 [PMID: 20806436]
  - 30 钟芸诗, 时强, 郭卫刚, 任重, 陈涛, 姚礼庆. 胸腔镜辅助下隧道内镜切除食管固有肌层肿瘤. *中华胃肠外科杂志* 2012; 15: 404-405

# ■同行评价

本文为微创治疗食管固有肌层肿瘤的推广应用提供了一定的临床研究依据。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 自噬调控因子beclin1及mTOR在大肠腺瘤癌变过程中的表达及意义

何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博

## ■背景资料

目前,自噬作为一种新的程序性死亡方式受到越来越多的关注,而随着结直肠癌的发病率不断增高,深入探讨自噬与结直肠癌发病机制之间的关系,为结直肠癌的有效防治提供新的方向,具有重要的社会意义。

何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博, 滨州医学院病理学教研室 山东省滨州市 256603

何双,在读硕士,主要从事消化系统肿瘤的研究。

山东省科技攻关基金资助项目, No. 2010GSF10259

作者贡献分布: 本课题由何双与吴淑华设计; 研究过程由何双、胡金龙、温菲菲及孙晨博共同操作完成; 研究所用试剂由吴淑华提供; 切片阅片与结果判读由吴淑华、何双及胡金龙完成; 本论文写作由何双完成。

通讯作者: 吴淑华, 教授, 主任医师, 研究生导师, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院病理科。

wsh6108@126.com

电话: 0543-3258654

收稿日期: 2013-12-31 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-08

## Significance of expression of autophagy related factors beclin1 and mTOR in malignant transformation of colorectal adenoma

Shuang He, Shu-Hua Wu, Jin-Long Hu, Fei-Fei Wen, Chen-Bo Sun

Shuang He, Shu-Hua Wu, Jin-Long Hu, Fei-Fei Wen, Chen-Bo Sun, Department of Pathology, Binzhou Medical University, Binzhou 256603, Shandong Province, China  
Supported by: Scientific and Technological Project of Shandong Province, No. 2010GSF10259

Correspondence to: Shu-Hua Wu, Professor, Chief Physician, Department of Pathology, 661 Huanghe Er Road, Binzhou 256603, Shandong Province, China. wsh6108@126.com

Received: 2013-12-31 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the significance of expression of autophagy regulatory molecules beclin1 and mTOR in the malignant transformation of colorectal adenoma.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to detect the expression of beclin1, mTOR and LC3-B in 30 cases of normal colorectal mucosa, 60 cases of low-grade intraepithelial neoplasia (LGIN), 60 cases of high-grade intraepithelial neoplasia (HGIN) and 80 cases of colorectal carcinoma.

**RESULTS:** The expression of both beclin1 and LC3-B in colorectal cancer was significantly higher than that in LGIN and normal mucosa ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in the expression of beclin1 between colorectal cancer and HGIN ( $P > 0.05$ ). The expression of mTOR in colorectal cancer was significantly higher than that in normal mucosa, LGIN and HGIN ( $P < 0.05$ ), but no significant difference was found between LGIN and HGIN. In colorectal cancer, the expression of both beclin1 and LC3-B was related to tumor size; the expression of mTOR was associated with tumor size and depth of invasion; the expression of beclin1, mTOR and LC3-B in LGIN and HGIN was not related to clinicopathologic characteristics. There was a positive correlation between the expression of beclin1 and LC3-B in LGIN, HGIN and colorectal carcinoma ( $r = 0.390, 0.306, 0.443, P < 0.05$ ). The expression of mTOR was not related to that of LC3-B in LGIN, but mTOR expression was positively associated with LC3-B expression in both HGIN and colorectal cancer ( $r = 0.284, 0.223, P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Autophagy may play a critical role in the malignant transformation of colorectal adenoma.

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

**Key Words:** Adenoma transformation; Autophagy; Beclin1; mTOR; LC3-B

He S, Wu SH, Hu JL, Wen FF, Sun CB. Significance of expression of autophagy related factors beclin1 and mTOR in malignant transformation of colorectal adenoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 920-926 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/920.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.920>

## 摘要

**目的:** 研究自噬相关因子beclin1、mTOR及LC3-B在大肠腺瘤癌变过程中的表达差异,并

■同行评议者  
李革, 副教授, 延边大学附属医院

探讨与临床病理因素之间的相关性。

**方法:** 采用免疫组织化学方法, 在结直肠60例低级别上皮内瘤变腺瘤(low-grade intraepithelial neoplasia, LGIN)、60例高级别上皮内瘤变腺瘤(high-grade intraepithelial neoplasia, HGIN)、80例腺瘤癌变组织及30例正常黏膜组织中检测beclin1、mTOR及LC3-B的表达, 并分析其相关性以及与临床病理因素的关系。

**结果:** (1)beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组中的表达明显高于LGIN组及正常肠黏膜( $P<0.05$ ), 但与HGIN组无差别( $P>0.05$ ), mTOR在腺瘤癌变组中的表达高于其他3组( $P<0.05$ ), 在HGIN与LGIN组中的表达无统计学意义( $P>0.05$ ), 但均高于正常肠黏膜组( $P<0.05$ ); (2)在腺瘤癌变组中, beclin1与LC3-B表达与肿瘤的大小有关, mTOR及表达与肿瘤的大小及浸润有关, 而在LGIN腺瘤组与HGIN腺瘤组三者与各临床病理因素无相关性; (3)beclin1与LC3-B两者在LGIN腺瘤组、HGIN腺瘤组及腺瘤癌变组中的表达均呈正相关( $r = 0.390$ 、 $r = 0.306$ 、 $r = 0.443$ ,  $P<0.05$ ); mTOR与LC3-B在HGIN腺瘤组及腺瘤癌变组中的表达呈正相关( $r = 0.284$ 、 $r = 0.223$ ,  $P<0.05$ ), 而在LGIN腺瘤组中无相关。

**结论:** 自噬及其调控因子beclin1、mTOR可能在大肠腺瘤恶性转化中发挥重要作用, 与腺瘤癌变进展密切相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 腺瘤癌变; 自噬; Beclin1; mTOR; LC3-B

**核心提示:** 本文应用免疫组织化学的方法检测beclin1、mTOR及LC3-B在腺瘤-腺癌序列中的表达, 有助于阐释在腺瘤癌变过程的不同阶段中自噬发挥的重要作用, 且通过相关性分析, 有助于阐明自噬调控过程的优势靶点, 为进一步的临床应用提供理论基础。

何双, 吴淑华, 胡金龙, 温菲菲, 孙晨博. 自噬调控因子beclin1及mTOR在大肠腺瘤癌变过程中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 920-926 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/920.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.920>

## 0 引言

结直肠癌, 又称大肠癌, 是人类常见的恶性肿瘤之一. 研究表明大多数大肠癌来自腺瘤的恶变, 其中由腺瘤演变为腺癌的过程约10-15年<sup>[1]</sup>. 因

此, 研究大肠腺瘤演变为癌的演进过程及其机制, 对于早期预测腺瘤恶变, 有效防止腺瘤恶变, 具有重要的临床意义. 近年来发现肿瘤的发生不仅与细胞的增殖、凋亡有关, 并且与细胞的自噬有关, 自噬作为一种新的程序性细胞死亡方式其生物学意义以及与肿瘤的关系受到越来越多关注<sup>[2-6]</sup>. 研究表明在大肠癌、食管癌、乳腺癌、肺癌、胰腺癌等多种肿瘤中都存在不同程度的自噬现象<sup>[7-11]</sup>. 本研究应用免疫组织化学的方法, 在结直肠正常黏膜、低级别上皮内瘤变腺瘤(low-grade intraepithelial neoplasia, LGIN)、高级别上皮内瘤变腺瘤(high-grade intraepithelial neoplasia, HGIN)及腺瘤癌变病例中同步检测自噬关键因子beclin1、mTOR及LC3-B的表达情况, 探讨自噬及其调控因子beclin1与mTOR在结直肠腺瘤癌变发生发展中所发挥的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-01/2012-08于滨州医学院附属医院病理科肠镜、手术切除的LGIN 60例, HGIN 60例, 腺瘤癌变病例80例, 正常结直肠黏膜(距肿瘤旁 $\geq 5$  cm)30例. 根据2010年消化系统肿瘤WHO分类标准<sup>[1]</sup>, 所选病例切片由2位资深病理专家重新阅片分类, 其中所选LGIN及HGIN病例均为管状腺瘤, 腺瘤癌变组病例为在同一肿瘤中存在浸润性结直肠癌和管状腺瘤, 或是先前存在的管状腺瘤转变为浸润性结直肠癌病例. 所有病例均为首次发现, 术前未经放疗及化疗. LGIN组、HGIN组与腺瘤癌变组的平均年龄分别为50.4、57.6和61.8岁. 全部标本均经40 g/L中性甲醛固定, 石蜡包埋, 4  $\mu$ m连续切片. beclin1兔多克隆抗体购自abcam公司(ab55878), 稀释浓度为1:150. mTOR兔多克隆抗体购自abcam公司(ab2723), 稀释浓度为1:200. LC3-B鼠单克隆抗体购自Santa Cruz公司(sc-271625), 稀释浓度为1:50. 柠檬酸, 通用型二抗及DAB显色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司. beclin1、mTOR及LC3-B的阳性对照分别为绒癌、睾丸癌及正常脑组织, 均采用PBS代替一抗作为阴性对照。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学:** 采用EnVision法免疫组织化学步骤进行. 操作方法如下: 将4  $\mu$ m厚石蜡切片经二甲苯, 梯度乙醇脱蜡至水后, 进行柠檬酸修复(热修复2 min), 滴加一抗, 4  $^{\circ}$ C过夜. PBS洗涤后, 滴加通用型二抗, 37  $^{\circ}$ C孵育30 min, DAB

## ■研究前沿

研究表明, 自噬在肿瘤发生发展中发挥着双重作用. 一方面, 自噬能保护及促进肿瘤细胞生存扩散; 另一方面, 自噬又能抑制其发展和转移, 及杀伤肿瘤细胞. 因此, 明确自噬在不同类型肿瘤及同一肿瘤不同发展阶段中发挥的作用, 成为亟待研究的问题。



## ■相关报道

研究表明在大肠癌、食管癌、乳腺癌、胰腺癌等多种肿瘤中都存在不同程度的自噬现象。自噬与凋亡共存于同一细胞中,两者相互拮抗或促进,相互制衡,受到一些相同因子的共同调控和影响。

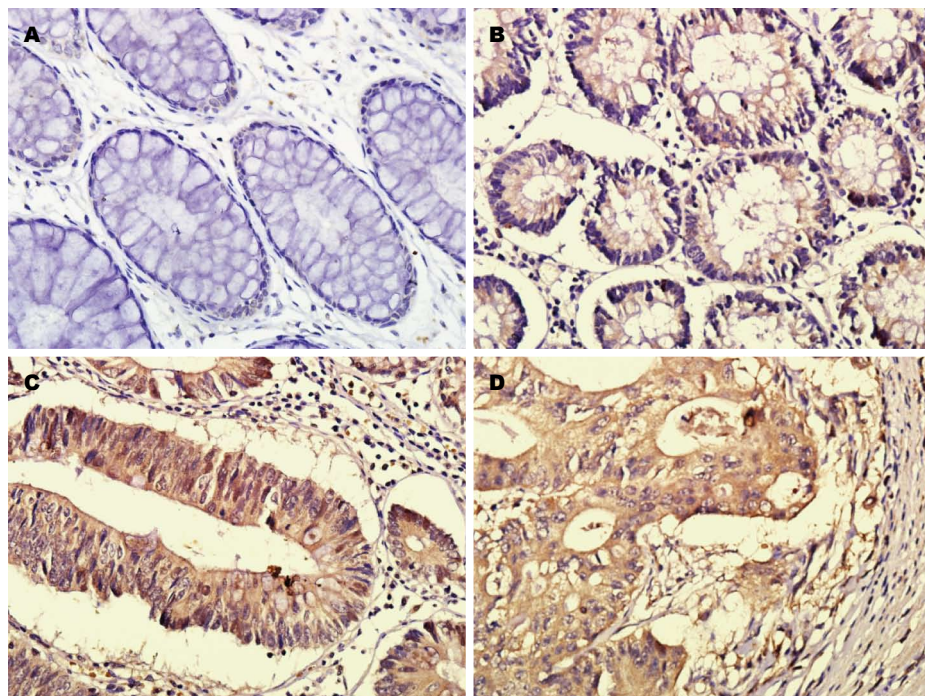


图1 beclin1在不同病变组织中表达(免疫组织化学EnVision法, ×400)。A: 正常大肠黏膜组beclin1呈阴性表达; B: LGIN组beclin1呈阳性表达; C: HGIN组beclin1呈强阳性表达; D: 腺瘤癌变组beclin1呈强阳性表达。LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤。

表1 beclin1, mTOR与LC3-B在不同病变组织中的阳性表达n(%)

分组	n	beclin1	mTOR	LC3-B
正常组	30	1(3.3)	4(13.3)	2(6.6)
LGIN组	60	27(45.0)	19(31.7)	21(35.0)
HGIN组	60	41(68.3)	24(40.0)	37(61.7)
腺瘤癌变组	80	60(75.0)	45(56.3)	53(66.3)

LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤。

显色(beclin、mTOR显色时间为2 min, LC3-B显色时间为3 min), 苏木素复染后, 盐酸乙醇分化, 脱水后中性树脂封片。

1.2.2 结果判定: beclin1、mTOR和LC3-B阳性时为细胞质黄色-棕褐色颗粒。采用染色强度与阳性细胞的百分率相结合的判定标准。染色强度: 不着色为0分, 淡黄色1分, 棕黄色2分, 黄褐色3分。阳性细胞所占百分比: 阳性细胞数<5%计为0分, 5%-30%计为1分, 31%-60%计为2分, ≥60%计为3分。两者乘积为染色总分, 阴性(-): 0分, 弱阳性(+): 1-4分, 中度阳性(++): 5-8分, 强阳性(+++): 9-12分。

统计学处理 使用SPSS18.0统计软件, 不同分组间蛋白的表达差异及各蛋白与临床病理因素之间的关系采用 $\chi^2$ 检验; 不同分组间蛋白之间

的表达相关性采用Spearman相关性分析,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 beclin1、mTOR与LC3-B在不同病变组织中的表达情况 beclin1、mTOR与LC3-B在正常肠黏膜, LGIN组、HGIN组及腺瘤癌变组中呈不同程度的阳性表达(图1-3, 阳性表达率如表1)。经多组二分类资料两两卡方检验比较, beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组、HGIN组、LGIN组中的表达高于正常肠黏膜组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 在HGIN组与腺瘤癌变组中其表达差异无统计学意义; mTOR在腺瘤癌变组中的表达高于其他3组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 在HGIN组与LGIN组, 表达差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 但均高于正常肠黏膜组( $P<0.05$ )。

2.2 beclin1、mTOR及LC3-B在不同病变组织中的表达与临床病理因素之间的关系 beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组中的表达与肿瘤的大小有关, 其中长径≥5 cm的肿瘤中高表达, 而与性别、年龄、分化程度、TNM分期等特征无关; mTOR与肿瘤的大小及浸润深度相关, 在长径≥5 cm以及侵及外膜的腺癌中高表达, 而与性别、年龄、分化、有无淋巴转移等均无关(表2)。

beclin1、mTOR和LC3-B在LGIN组与HGIN



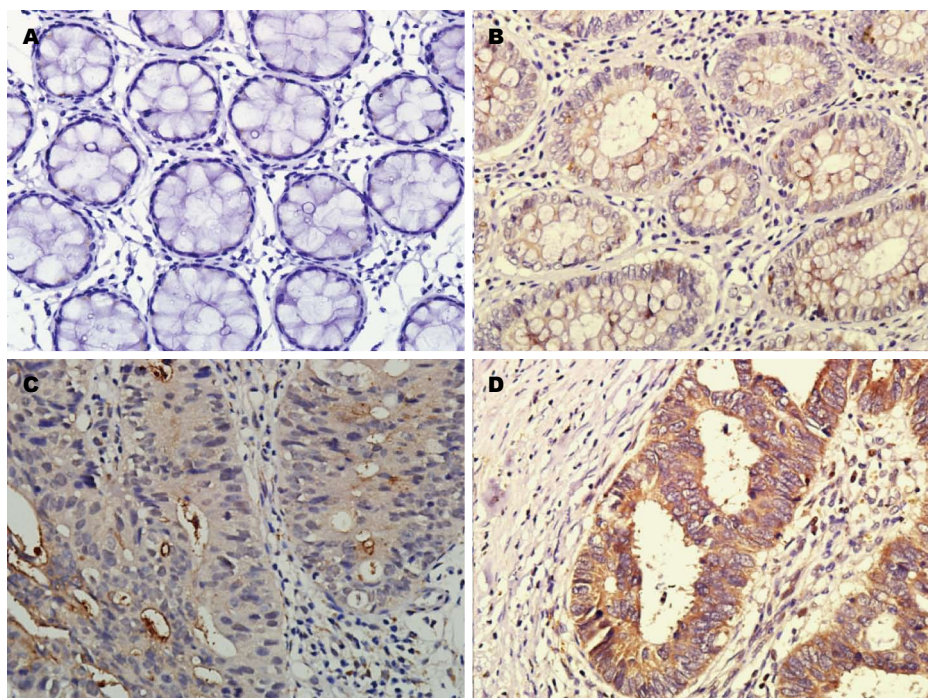


图 2 mTOR在不同病变组织中表达(免疫组织化学EnVision法×400). A: 正常大肠黏膜组mTOR呈阴性表达; B: LGIN组mTOR呈阳性表达; C: HGIN组mTOR呈阳性表达; D: 腺瘤癌变组mTOR呈强阳性表达. LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

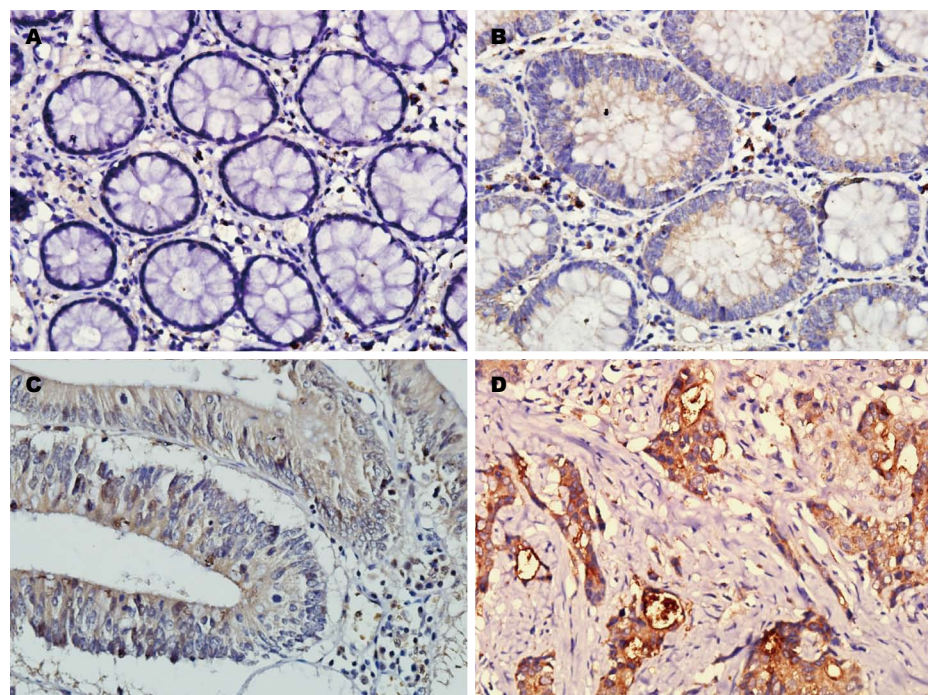


图 3 LC3-B在不同病变组织中表达(免疫组织化学EnVision法×400). A: 正常大肠黏膜组LC3-B呈阴性表达; B: LGIN组LC3-B呈阳性表达; C: HGIN组LC3-B呈阳性表达; D: 腺瘤癌变组LC3-B呈强阳性表达. LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

组中, 与性别、年龄、直径、部位、数目等均无关.

2.3 在不同病变组织中beclin1、mTOR与LC3-B表达的相关性 Beclin1与LC3-B两者在LGIN组、HGIN组及腺瘤癌变组中的表达均呈正相关( $r$

$= 0.390$ 、 $r = 0.306$ 、 $r = 0.443$ ,  $P < 0.05$ ). mTOR与LC3-B在高级别腺瘤组及腺瘤癌变组中的表达呈正相关( $r = 0.284$ 、 $r = 0.223$ ,  $P < 0.05$ ), 而在LGIN中无相关. beclin1与mTOR两者在LGIN组、HGIN组及腺瘤癌变组中的表达均呈正相关

#### ■创新盘点

本文在腺瘤-腺癌序列不同阶段中检测beclin1、mTOR及LC3-B的表达情况, 探讨自噬及其调控因子在结直肠癌发生发展中发挥的作用, 并探讨自噬过程中其调控因子beclin1及mTOR之间的关系.

## ■同行评价

本文有一定的创新性和科学性, 实验设计合理, 结果可信, 对临床研究结直肠癌的发生发展有一定的参考意义.

表 2 腺瘤癌变组中beclin1、mTOR与LC3-B的表达与在临床病理因素的相关性

临床病理因素	n	Beclin1(+)	P值	mTOR(+)	P值	LC3-B(+)	P值
年龄(岁)			0.696		0.755		0.571
<60	35	27		19		22	
≥60	45	33		26		31	
性别			0.660		0.263		0.962
男	59	45		31		39	
女	21	15		14		14	
肿瘤长径(cm)			0.012		0.001		0.017
<5	31	19		10		23	
≥5	49	42		35		45	
肿瘤部位			0.897		0.413		0.817
结肠	43	32		26		28	
直肠	37	28		19		25	
分化程度			0.967		0.171		0.134
高分化	44	33		29		26	
中低分化	36	27		20		27	
浸润深度			0.433		0.015		0.655
未达外膜	10	6		1		6	
外膜	50	38		45		47	
淋巴结转移			0.145		0.164		0.456
无转移	49	34		32		34	
转移	31	26		18		19	
TNM分期			0.895		0.553		0.456
I + II 期	49	37		32		49	
III + IV 期	31	21		18		31	

表 3 beclin1、mTOR与LC3-B在结直肠不同病变组织中表达的相关性

分组	n	beclin1与LC3-B		mTOR与LC3-B		beclin1与mTOR	
		r值	P值	r值	P值	r值	P值
LGIN组	60	0.390	0.002	0.252	0.052	0.465	0.001
HGIN组	60	0.306	0.017	0.284	0.028	0.503	0.000
腺瘤癌变组	80	0.443	0.000	0.223	0.047	0.248	0.033

LGIN: 低级别上皮内瘤变腺瘤; HGIN: 高级别上皮内瘤变腺瘤.

( $r = 0.465$ 、 $r = 0.503$ 、 $r = 0.248$ ,  $P < 0.05$ )(表3).

## 3 讨论

自噬是以胞质内出现双层膜结构包裹长寿命蛋白和细胞器的自噬体为特征的细胞“自我消化”的一系列生化过程<sup>[2,3]</sup>. 研究表明, 自噬活性异常与肿瘤的发生发展密切相关<sup>[5,12]</sup>. 一方面, 自噬能在不利生存环境中提高肿瘤细胞对应激的耐受能力, 维持其生存; 另一方面, 自噬又能在肿瘤发展的不同阶段抑制其发展和转移, 过度的自噬能诱导细胞的自噬性细胞死亡, 杀伤肿瘤细胞<sup>[3,13]</sup>.

LC3-B是自噬发生过程的一种关键蛋白, 定位于前自噬泡和自噬泡膜表面, 被认为是自噬活动的特异性标志<sup>[10]</sup>. beclin1既是一种候选的抑癌基因, 在细胞的生长、凋亡、细胞自噬等方面起着桥梁作用<sup>[14-16]</sup>, 又是参与自噬的特异性基因, 是自噬发生的正性调控分子. beclin1与LC3-B在绝大多数人类恶性肿瘤如卵巢癌, 肺癌, 乳腺癌, 胰腺癌<sup>[7,8]</sup>等表达缺失, 但是在食管癌、胃癌、浸润性大肠癌<sup>[9-11]</sup>等肿瘤中呈高表达. Qu等<sup>[17]</sup>发现beclin1<sup>+/+</sup>杂合缺失的鼠的自发性肿瘤的发生率升高, 且自噬活性明显下降. 目前beclin1及LC3-B在大肠腺瘤癌变过程不同病变



组织中的表达及其相关性尚不清楚. 本实验发现, 在腺瘤癌变过程中, beclin1、LC3-B的表达不仅与肿瘤的进展程度呈正相关, 并且在病变的不同阶段两者均呈正相关. Beclin1与LC3-B在腺瘤癌变组中的表达明显高于LGIN及正常肠黏膜, 但与HGIN无差别, 提示在腺瘤-腺癌序列过程中存在beclin1基因的活化, 并促进了自噬的发生, 参与了肿瘤的发生发展. 其机制可能为在肿瘤发生的早期, 肿瘤由良性向恶性的转变过程中, beclin1基因活化, 诱导了肿瘤细胞自噬现象的发生, 增强了肿瘤细胞抵御不利生存因素影响的能力<sup>[11,18]</sup>, 推动正常肠黏膜向LGIN-HGIN转化, 使细胞进入去分化的状态. 本实验同时发现在腺瘤癌变组中, beclin1与LC3-B在直径>5 cm的病变组中呈高表达, 但与肿瘤的分化程度, 浸润深度及淋巴转移等均无相关. 该结果提示, 在肿瘤的进展阶段, 随肿瘤的不断生长, 体积变大, 肿瘤中央区域开始出现缺血缺氧, 自噬水平被持续激活, 导致肿瘤细胞因过度自我消耗而死亡. 此时, 自噬作为一种程序性死亡方式, 杀伤肿瘤细胞<sup>[19,20]</sup>, 在一定程度上抑制了肿瘤发展.

mTOR作为一种癌基因, 不仅在调节细胞增殖和凋亡方面具有重要作用, 而且在自噬诱导阶段发挥负性调控作用, 被称为自噬作用的门控分子<sup>[21]</sup>. 研究表明mTOR在肺癌、肝癌、乳腺癌、大肠癌和子宫内膜癌等中均存在mTOR的高表达和持续活化<sup>[22-24]</sup>. Narita等<sup>[25]</sup>发现, 使用mTOR抑制剂能增加LC3-B的表达. 本研究发现, mTOR不仅在腺瘤癌变组中的表达高于其他3组( $P<0.05$ ), 而且在HGIN与LGIN组中的表达均高于正常肠黏膜组( $P<0.05$ ). 同时, 相关性分析结果显示mTOR与LC3-B在HGIN与腺瘤癌变组中, 呈正相关的趋势. 本实验结果显示, 在腺瘤-腺癌序列中, 自噬调控基因mTOR对自噬现象的抑制作用效果不显著. 而mTOR在腺瘤癌变过程中表达增高, 可以提高细胞增殖活性, 抑制凋亡, 增加细胞由G<sub>1</sub>期向S期转换<sup>[21]</sup>, 在正常肠黏膜向LGIN以及HGIN向腺癌的恶性转变过程中, 发挥一定的推动作用. 在腺瘤癌变组中, mTOR在侵及外膜的肿瘤中高表达, 表明mTOR不仅参与了结直肠癌的发生, 还参与了其浸润、进展.

beclin1与mTOR作为正向和负向调节细胞自噬的因子, 二者之间的关系目前尚不清楚. 本研究在结直肠腺瘤癌变过程中发现beclin1与mTOR表达同时升高, 且呈正相关关系, 而自噬发生的标记分子LC3-B表达亦升高. 表明在此

过程中, beclin1发挥了对自噬的促进作用, 而mTOR对自噬的抑制作用未占主导地位. 我们认为, 自噬的调控途径中Class I P13K与Class III P13K发挥重要作用, beclin1与mTOR分属于这两条不同的途径, 两者在腺瘤癌变过程中所表现出的正相关, 可能为二者分别伴随PI3K/AKT/mTOR通路与Class III P13K/beclin1复合物的增高而增高<sup>[26-30]</sup>. 然而beclin1与mTOR之间是否存在某种交互作用和相互影响, 有待进一步研究. 自噬的调控机制十分复杂, 目前尚未研究清楚, 在结直肠腺瘤癌变过程中beclin1与mTOR同时增高的相关分子机制, 还需进一步深入研究.

细胞的自噬现象贯穿于细胞生长的全过程, 其对细胞的作用具有两面性, 既可以为细胞生存创造有利条件, 又能诱发自噬性细胞死亡, 促进细胞凋亡. 本研究提示, 自噬在结直肠腺瘤癌变早期促进了肿瘤的发生与恶化, 而在肿瘤晚期阶段, 持续活化的自噬则诱导自噬性细胞死亡, 杀伤肿瘤细胞. 进一步阐明自噬对结直肠腺瘤癌变过程发挥作用的分子机制, 有助于揭示肿瘤发生、发展的规律, 并能指导肿瘤的临床诊治.

#### 4 参考文献

- 1 周晓军, 樊祥山. 解读2010年消化系统肿瘤WHO分类(I). 临床与实验病理学杂志 2011; 27: 341-346
- 2 Klionsky DJ. Autophagy revisited: a conversation with Christian de Duve. *Autophagy* 2008; 4: 740-743 [PMID: 18567941]
- 3 Yang Z, Klionsky DJ. Eaten alive: a history of macroautophagy. *Nat Cell Biol* 2010; 12: 814-822 [PMID: 20811353 DOI: 10.1038/ncb0910-814]
- 4 Eskelinen EL, Saftig P. Autophagy: a lysosomal degradation pathway with a central role in health and disease. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 664-673 [PMID: 18706940]
- 5 Guo JY, Xia B, White E. Autophagy-mediated tumor promotion. *Cell* 2013; 155: 1216-1219 [PMID: 24315093 DOI: 10.1016/j.cell.2013.11.019]
- 6 Fantin VR, Abraham RT. Self-eating limits EGFR-dependent tumor growth. *Cell* 2013; 154: 1184-1186 [PMID: 24034240 DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.040]
- 7 Gong C, Bauvy C, Tonelli G, Yue W, Deloménie C, Nicolas V, Zhu Y, Domergue V, Marin-Esteban V, Tharinger H, Delbos L, Gary-Gouy H, Morel AP, Ghavami S, Song E, Codogno P, Mehrpour M. Beclin 1 and autophagy are required for the tumorigenicity of breast cancer stem-like/progenitor cells. *Oncogene* 2013; 32: 2261-2272, 2261-2272 [PMID: 22733132 DOI: 10.1038/onc.2012.252]
- 8 Fujii S, Mitsunaga S, Yamazaki M, Hasebe T, Ishii G, Kojima M, Kinoshita T, Ueno T, Esumi H, Ochiai A. Autophagy is activated in pancreatic cancer cells and correlates with poor patient outcome. *Cancer Sci* 2008; 99: 1813-1819 [PMID: 18616529 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00893.x]

- 9 Múzes G, Tulassay Z, Sipos F. Interplay of autophagy and innate immunity in Crohn's disease: a key immunobiologic feature. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 4447-4454 [PMID: 23901219]
- 10 Yoshioka A, Miyata H, Doki Y, Yamasaki M, Sohma I, Gotoh K, Takiguchi S, Fujiwara Y, Uchiyama Y, Monden M. LC3, an autophagosome marker, is highly expressed in gastrointestinal cancers. *Int J Oncol* 2008; 33: 461-468 [PMID: 18695874 DOI: 10.3892/ijo.00000028]
- 11 Sato K, Tsuchihara K, Fujii S, Sugiyama M, Goya T, Atomi Y, Ueno T, Ochiai A, Esumi H. Autophagy is activated in colorectal cancer cells and contributes to the tolerance to nutrient deprivation. *Cancer Res* 2007; 67: 9677-9684 [PMID: 17942897 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-1462]
- 12 Shoji-Kawata S, Sumpter R, Leveno M, Campbell GR, Zou Z, Kinch L, Wilkins AD, Sun Q, Pallau K, MacDuff D, Huerta C, Virgin HW, Helms JB, Eerland R, Tooze SA, Xavier R, Lenschow DJ, Yamamoto A, King D, Lichtarge O, Grishin NV, Spector SA, Kaloyanova DV, Levine B. Identification of a candidate therapeutic autophagy-inducing peptide. *Nature* 2013; 494: 201-206 [PMID: 23364696]
- 13 Yang SY, Winslet MC. Dual role of autophagy in colon cancer cell survival. *Ann Surg Oncol* 2011; 18 Suppl 3: S239 [PMID: 21603870]
- 14 He C, Levine B. The Beclin 1 interactome. *Curr Opin Cell Biol* 2010; 22: 140-149 [PMID: 20097051 DOI: 10.1016/j.ceb.2010.01.001]
- 15 Wei Y, Zou Z, Becker N, Anderson M, Sumpter R, Xiao G, Kinch L, Koduru P, Christudass CS, Veltri RW, Grishin NV, Peyton M, Minna J, Bhagat G, Levine B. EGFR-mediated Beclin 1 phosphorylation in autophagy suppression, tumor progression, and tumor chemoresistance. *Cell* 2013; 154: 1269-1284 [PMID: 24034250 DOI: 10.1016/j.cell.2013.08.015]
- 16 Guo GF, Jiang WQ, Zhang B, Cai YC, Xu RH, Chen XX, Wang F, Xia LP. Autophagy-related proteins Beclin-1 and LC3 predict cetuximab efficacy in advanced colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4779-4786 [PMID: 22147978]
- 17 Qu X, Yu J, Bhagat G, Furuya N, Hibshoosh H, Troxel A, Rosen J, Eskelinen EL, Mizushima N, Ohsumi Y, Cattoretti G, Levine B. Promotion of tumorigenesis by heterozygous disruption of the beclin 1 autophagy gene. *J Clin Invest* 2003; 112: 1809-1820 [PMID: 14638851 DOI: 10.1172/JCI200320039]
- 18 Liang C, Feng P, Ku B, Dotan I, Canaani D, Oh BH, Jung JU. Autophagic and tumour suppressor activity of a novel Beclin1-binding protein UVRAG. *Nat Cell Biol* 2006; 8: 688-699 [PMID: 16799551]
- 19 Kang R, Zeh HJ, Lotze MT, Tang D. The Beclin 1 network regulates autophagy and apoptosis. *Cell Death Differ* 2011; 18: 571-580 [PMID: 21311563 DOI: 10.1038/cdd.2010.191]
- 20 Yu L, Alva A, Su H, Dutt P, Freundt E, Welsh S, Baehrecke EH, Lenardo MJ. Regulation of an ATG7-beclin 1 program of autophagic cell death by caspase-8. *Science* 2004; 304: 1500-1502 [PMID: 15131264]
- 21 Mirzoeva OK, Hann B, Hom YK, Debnath J, Aftab D, Shokat K, Korn WM. Autophagy suppression promotes apoptotic cell death in response to inhibition of the PI3K-mTOR pathway in pancreatic adenocarcinoma. *J Mol Med (Berl)* 2011; 89: 877-889 [PMID: 21678117 DOI: 10.1007/s00109-011-0774-y]
- 22 Efeyan A, Zoncu R, Chang S, Gumper I, Snitkin H, Wolfson RL, Kirak O, Sabatini DD, Sabatini DM. Regulation of mTORC1 by the Rag GTPases is necessary for neonatal autophagy and survival. *Nature* 2013; 493: 679-683 [PMID: 23263183 DOI: 10.1038/nature11745]
- 23 Bao XX, Xie BS, Li Q, Li XP, Wei LH, Wang JL. Nifedipine induced autophagy through Beclin1 and mTOR pathway in endometrial carcinoma cells. *Chin Med J (Engl)* 2012; 125: 3120-3126 [PMID: 22932192]
- 24 Kim DD, Eng C. The promise of mTOR inhibitors in the treatment of colorectal cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 2012; 21: 1775-1788 [PMID: 22978346 DOI: 10.1517/13543784.2012.721353]
- 25 Narita M, Young AR, Arakawa S, Samarajiwa SA, Nakashima T, Yoshida S, Hong S, Berry LS, Reichelt S, Ferreira M, Tavaré S, Inoki K, Shimizu S, Narita M. Spatial coupling of mTOR and autophagy augments secretory phenotypes. *Science* 2011; 332: 966-970 [PMID: 21512002 DOI: 10.1126/science.1205407]
- 26 Johnson SM, Gulhati P, Rampy BA, Han Y, Rychachou PG, Doan HQ, Weiss HL, Evers BM. Novel expression patterns of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway components in colorectal cancer. *J Am Coll Surg* 2010; 210: 767-776, 776-778 [PMID: 20421047 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2009.12.008]
- 27 Pandurangan AK. Potential targets for prevention of colorectal cancer: a focus on PI3K/Akt/mTOR and Wnt pathways. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 2201-2205 [PMID: 23725112]
- 28 Zhu BS, Yu LY, Zhao K, Wu YY, Cheng XL, Wu Y, Zhong FY, Gong W, Chen Q, Xing CG. Effects of small interfering RNA inhibit Class I phosphoinositide 3-kinase on human gastric cancer cells. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1760-1769 [PMID: 23555164]
- 29 高向前, 吴淑华, 李扬扬, 曹璋, 纪洪. 结直肠癌与不同上皮内瘤变腺瘤中PI3Kp110 $\beta$ 的表达及临床意义. 临床与实验病理学杂志 2012; 28: 518-521
- 30 孟晓, 吴淑华, 李扬扬, 田东. PI3Kp110不同亚单位在结直肠腺瘤癌变中的表达及相关性. 世界华人消化杂志 2013; 21: 661-666

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 乙型肝炎病毒的复制再活化

阮杰, 李海军, 孙殿兴

阮杰, 李海军, 孙殿兴, 白求恩国际和平医院全军肝病中心  
河北省石家庄市 050082

阮杰, 主要从事乙型肝炎病毒分子生物学的研究。

作者贡献分布: 本文综述由阮杰完成; 李海军与孙殿兴审核。

通讯作者: 孙殿兴, 主任医师, 050082, 河北省石家庄市桥西区  
中山西路398号, 白求恩国际和平医院全军肝病中心。

sundianxing@hotmail.com

收稿日期: 2013-12-19 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

## Reactivation of hepatitis B virus

Jie Ruan, Hai-Jun Li, Dian-Xing Sun

Jie Ruan, Hai-Jun Li, Dian-Xing Sun, Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital, Shijiazhuang 050082, Hebei Province, China

Correspondence to: Dian-Xing Sun, Chief Physician, Liver Disease Diagnosis and Treatment Center of PLA, Bethune International Peace Hospital, 398 Zhongshan West Road, Shijiazhuang 050082, Qiaoxi District, Hebei Province, China. sundianxing@hotmail.com

Received: 2013-12-19 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Reactivation of hepatitis B is characterized by the abrupt recurrence or the rise of hepatitis B virus (HBV) DNA in the serum of patients with previously inactive or resolved HBV infection, which frequently occurs during or after cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy; however, most of these cases are subclinical and only detected until activated liver disease. Several randomized controlled trials have shown that HBV reactivation can be prevented by antiviral prophylaxis. Thus, patients who are to receive cytotoxic chemotherapy or immunosuppressive therapy should be screened for present and previous hepatitis B infection, and hepatitis B surface antigen positive patients should receive antiviral prophylaxis.

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

Key Words: Hepatitis B virus; Chemotherapy; Immunosuppressive; Nucleoside analogues

Ruan J, Li HJ, Sun DX. Reactivation of hepatitis B virus. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 927-932 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/927.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.927>

## 摘要

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制再活化是指非活动性或已治愈的HBV感染患者血清中HBV DNA再度出现或升高, 这一现象常发生在应用化疗药物或者免疫抑制剂治疗期间或之后, 然而大多数病例临床症状并不明显, 直至发展为活动性肝炎时才被发现。一些随机对照试验建议通过口服抗病毒药物, 可有效预防HBV复制再活化的发生。因此, 接受化疗药物或者免疫抑制剂治疗的患者均应筛查是否有现症或者既往HBV感染, 若乙型肝炎表面抗原阳性, 就应该接受抗病毒药物治疗。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 乙型肝炎病毒; 化疗; 免疫抑制剂; 核苷类似物

**核心提示:** 在接受免疫抑制剂或者化疗药物治疗的乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染患者中, HBV复制再活化是其共同的并发症, 通过口服核苷类似物可有效预防HBV复制再活化的发生。

阮杰, 李海军, 孙殿兴. 乙型肝炎病毒的复制再活化. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 927-932 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/927.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.927>

## 0 引言

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染可动态划分为4个特征性阶段, 这个过程单向进行, 依赖于病毒自身、肝细胞和宿主免疫系统之间相互作用<sup>[1]</sup>。若打破这一平衡, 那么就有可能改变HBV慢性感染自然史并且有可能出现HBV复制再活化。

HBV复制再活化的特征性标志是非活动性或已治愈的HBV感染患者血清中HBV DNA

## ■背景资料

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)复制再活化常发生在应用化疗药物或者免疫抑制剂治疗期间或之后, 可导致急性肝炎, 甚至发展成急性肝衰竭, 使接受化疗或者免疫抑制剂治疗的患者疗程中断, 对患者的预后极其不利。大多数病例临床症状并不明显, 直至发展为活动性肝炎时才被发现。通过口服抗病毒药物可有效预防HBV复制再活化的发生。

## ■同行评议者

杨江华, 副教授, 皖南医学院弋矶山医院感染科



## ■ 研发前沿

关于HBV复制再活化发生的机制还不明确,目前认为是由多种因素相互作用的结果,包括宿主、病毒以及治疗因素。然而体外实验证明,一些化疗药物或者免疫抑制剂可直接促进HepG2.2.15细胞分泌HBV DNA,这一现象的分子生物学机制也在研究之中。

再度出现或升高,常常伴随肝脏炎症活动,这种现象可自发形成,但多数是由于应用化疗药物、免疫抑制剂或者免疫功能低下所引起,可导致急性肝炎,甚至发展成急性肝衰竭或者死亡<sup>[2-5]</sup>。然而,大多数病例临床症状并不明显,或者直至发展为活动性肝炎时才被发现。Wands等<sup>[6]</sup>描述了2种独立的临床情况:(1)乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阳性患者血清HBsAg滴度增高;(2)乙型肝炎表面抗原阴性但乙型肝炎表面抗体(hepatitis B surface antibody, 抗-HBs)和乙型肝炎核心抗体(hepatitis B core antibody, 抗-HBc)阳性患者血清中抗-HBs水平下降并且再次出现HBsAg(血清转换逆转)。

HBV复制再活化常常导致接受化疗或者免疫抑制剂治疗的患者疗程中断,这对患者的预后极其不利,但可通过口服抗病毒药物进行预防<sup>[5]</sup>。再活化也显示了HBV的基本特征,尽管有病毒清除的证据,但可使HBV维持长期的隐匿性复制。HBV复制再活化不易识别,其复杂的病毒学和生物学特征使得直到出现临床症状才被重视,这就需要HBV复制再活化有一个广泛的认识。

## 1 HBV复制再活化的病毒学和临床特征

典型的HBV复制再活化可分为3个阶段<sup>[7]</sup>:(1)HBV复制增强;(2)出现肝脏损伤;(3)恢复。

HBV复制再活化起始于HBV复制的增强,这一现象很快出现在应用免疫抑制剂或抗肿瘤药物之后。通过检测血清中HBV DNA,可评估HBV复制的水平。在乙型肝炎e抗原(hepatitis B e antigen, HBeAg)阴性患者中,这一现象也会出现。当免疫抑制剂停药或减量并且出现肝细胞损伤或发生肝脏炎症时,第2阶段也即将开始,主要表现为血清转氨酶水平升高,一些严重的病例会出现明显的症状,期间,HBV DNA水平开始下降。在第3阶段,HBV复制再活化开始恢复,主要表现为肝脏损伤消退和HBV血清标志物回落至基线水平。

然而,并不是所有的患者都遵循这3个阶段。一些病例中,HBV DNA可升至很高水平,但是没有证据表明出现免疫重建和肝脏损伤,患者转氨酶水平正常,他们大多数是维持免疫抑制的患者,如器官、骨髓移植<sup>[8,9]</sup>,而另外一些病例中,肝脏炎症持续并最终发展为慢性肝炎<sup>[7]</sup>。

## 2 HBV复制再活化的风险因素

HBV复制再活化是多种因素相互作用的结果,

包括宿主、病毒以及治疗因素,多因素分析显示:男性<sup>[10]</sup>、青年<sup>[10]</sup>、化疗前丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)水平<sup>[11]</sup>、化疗前HBeAg或HBV DNA阳性<sup>[12]</sup>均可增加再活化风险。另一个影响HBV复制再活化的风险因素是疾病的类型,淋巴瘤患者的风险高于实体肿瘤患者,这也许是由于血液系统疾病自身导致高水平的免疫抑制,或者是化疗在血液恶性肿瘤中的应用<sup>[10]</sup>,而且如果联用皮质激素,发生再活化以及肝炎甚至重症肝炎的风险也将增加<sup>[13]</sup>。

早期研究认为化疗前病毒水平并不能预测HBV复制再活化<sup>[10,14,15]</sup>,但是通过对接受常规剂量和高剂量化疗药物的患者进行研究发现,化疗前高HBV复制水平能增加其发生的可能性<sup>[16]</sup>。肝内cccDNA(covalently closed circular DNA)对HBV复制再活化也有重要的临床意义<sup>[17]</sup>,研究证明HBV可在已治愈患者的肝脏或者外周血单核细胞中继续保持复制能力<sup>[18,19]</sup>。

## 3 发生HBV复制再活化的情形

HBV复制再活化可发生在多种情况下,当病毒发生突变产生耐药性或突然停用抗病毒药物时,病毒复制会突然增强<sup>[20,21]</sup>;轻微或非活动性HBV感染患者应用免疫抑制剂或者发生免疫缺陷也可发生<sup>[22,23]</sup>;癌症以及血液系统恶性肿瘤患者应用化疗药物<sup>[24,25]</sup>;自身免疫性疾病患者应用免疫调节剂<sup>[26]</sup>;器官移植,如心、肺、肾<sup>[8,27,28]</sup>,尤其是发生在骨髓<sup>[9]</sup>或者肝移植<sup>[29,30]</sup>,均可导致HBV复制再活化。

3.1 癌症患者应用化疗药物后HBV复制再活化  
癌症患者应用抗肿瘤药物可引起HBV复制再活化<sup>[3,31]</sup>,这一情形在使用皮质激素以及蒽环类药物时更容易出现<sup>[10,12,13]</sup>,也许是由于HBV DNA含有糖皮质激素反应元件<sup>[32]</sup>,体外实验也证明,蒽环类药物可刺激HepG2.2.15细胞分泌HBV DNA<sup>[33]</sup>。蒽环类药物和皮质激素常用于血液系统肿瘤和乳腺癌的治疗,这也解释了为什么这些患者经常发生这一现象<sup>[13,14]</sup>。一项前瞻性研究发现超过60%的HBV复制再活化发生在接受化疗的HBsAg阳性患者<sup>[2]</sup>。肝内cccDNA是病毒复制的关键,可用于预测接受化疗的HBsAg阳性患者HBV复制再活化<sup>[17]</sup>。在HBsAg阴性而抗-HBc或抗-HBs阳性并且接受化疗的患者中,也可以发生这一现象。来自台湾的一项研究发现6%的HBsAg阴性B细胞淋巴瘤患者发生HBV复制再活化<sup>[34]</sup>。

3.2 良性疾病应用免疫抑制剂后HBV复制再活化 HBV复制再活化不仅限于接受化疗药物治疗的癌症患者, HBsAg或者抗-HBc阳性并且患有自身免疫性疾病的患者在接受单一免疫抑制药物治疗后也能诱导HBV复制和肝炎活动, 尽管其发生率低于应用化疗药物治疗的癌症患者<sup>[26]</sup>. 在应用硫唑嘌呤和皮质激素的患者中, HBV复制再活化并不常见, 但是有长期应用甲氨蝶呤诱导HBV复制的报道<sup>[35,36]</sup>. 很少有文献指出单独使用皮质激素可致HBV复制再活化, 更多的病例发生在应用更强效的免疫抑制剂之后, 如抗肿瘤坏死因子 $\alpha$ (英夫利昔单抗)<sup>[26]</sup>, 已有很多关于Still病、Crohn病、类风湿性关节炎和强直性脊柱炎应用英夫利昔单抗之后导致HBV复制再活化的报道<sup>[26,37-39]</sup>.

3.3 器官移植与HBV复制再活化 实体器官移植通常需要长期使用免疫抑制剂, 所以这些患者很容易发生HBV复制再活化. 在应用抗病毒药物进行预防之前, 肾脏移植患者再活化发生率可达50%至94%<sup>[27,28,40]</sup>, 心脏移植后再活化发生率同样较高<sup>[8]</sup>. 肝移植时, 如果器官供体HBsAg阳性, 更多情况是抗-HBc阳性, 而受体HBsAg阴性, 也能够发生HBV复制再活化. 有许多非HBV感染患者在接受抗-HBc阳性而HBsAg阴性供肝者肝脏之后发生HBV复制再活化的病例<sup>[29,41]</sup>. 这些病例说明HBV感染可以是隐匿性的, 并且可以在感染已恢复的患者肝脏中保持复制能力<sup>[18,19]</sup>. 正因为如此, 抗-HBc阳性供体血清中即使没有HBsAg, 其肝脏也不能被用于肝移植, 除非接受肝移植的患者感染HBV或者同意接受长期抗病毒药物治疗<sup>[42]</sup>.

3.4 骨髓移植与HBV复制再活化 也有一些接受骨髓移植后发生HBV复制再活化的病例. 典型的同种异体骨髓移植术中, 受体骨髓被高剂量的化疗药物去除, 然后被注入的供体骨髓所取代, 因此常发生很强的免疫抑制. HBV复制再活化通常发生在接受骨髓移植并且HBsAg阳性的患者<sup>[43]</sup>. 另外, 血清转换逆转也常发生, 但经常不被察觉<sup>[9,44]</sup>. 一项回顾性研究发现, 血清中抗-HBc阳性而HBsAg阴性的患者在接受骨髓移植术后有很高的几率再次出现HBV DNA和HBsAg, 来自德国的6例患者中有3例发生(50%)<sup>[44]</sup>, 而来自日本的14例患者中有7例发生(50%)<sup>[9]</sup>. 一系列研究证明, 骨髓移植患者抗-HBs活性逐渐丧失, 移植术后1-3年抗体下降到不被检出水平. 随着抗-HBs逐渐下降, HBV DNA再次出现而且

不断增加, 血清中也将再次出现HBsAg. 因此, 建议接受骨髓移植的患者检查HBsAg、抗-HBs和抗-HBc, 若阳性建议接受抗病毒药物治疗.

#### 4 HBV复制再活化的治疗及预防

干扰素, 具有抗病毒和免疫调节双重作用. 然而, 由于其通过扩大免疫介导的肝细胞损伤增加化疗期间发生致命性肝炎的可能性, 限制了干扰素的使用.

核苷类似物, 可抑制HBV复制, 目前用于治疗慢性HBV感染的主要药物. 一些临床对照试验<sup>[45]</sup>和Meta分析<sup>[46,47]</sup>显示, 接受化疗药物治疗的患者若应用核苷类似物进行预防, 可降低HBV复制再活化、肝炎的发生率以及HBV相关肝损伤的死亡率.

这里有两个关于HBsAg阳性并且接受化疗药物治疗的恶性淋巴瘤患者用拉米夫定预防HBV复制再活化的前瞻性、随机对照试验, 这两项研究均来自亚洲, 一项来自香港<sup>[48]</sup>, 一项来自台湾<sup>[45]</sup>, 研究对象均为HBsAg阳性并且接受化疗药物治疗的淋巴瘤患者. 来自香港研究随机选择30例入组患者给予预防性拉米夫定(接收化疗药物治疗前1 wk开始应用, 100 mg/d, 化疗药物治疗结束后6 wk停用). 再活化标准是血清HBV DNA水平升高10倍, 肝炎标准是ALT水平上升3倍. 对照组15例患者中有8例发生再活化(53%), 这15例患者均未给予拉米夫定预防性治疗. 8例再活化患者中有7例发生肝炎(88%), 其中2例为黄疸型肝炎(25%), 有1例死亡(12%).

来自台湾的研究在设计上与香港的研究相似, 在这个多中心试验中, 52例新近诊断并且HBsAg阳性的非霍奇金淋巴瘤患者随机给予预防性或者治疗性拉米夫定. 预防组在化疗药物治疗前1 wk开始口服拉米夫定(100 mg/d), 并持续至化疗完成后2 mo. 治疗组在治疗期间若血清ALT水平升高即给予拉米夫定治疗. 接受拉米夫定预防性治疗的26例患者中, 仅有3例发生HBV复制再活化, 而对照组25例患者中有14例发生. 对照组中发生HBV复制再活化的患者中部分发生肝炎, 发生率为82%, 其中5例患者为黄疸型肝炎. 相反, 预防组中发生HBV复制再活化的患者肝脏炎症轻微, 没有1例为黄疸型肝炎. 发生HBV复制再活化的患者中有2例尽管应用拉米夫定治疗, 但是发现为隐匿性拉米夫定耐药, 而且在治疗之前未被发现. 更重要的是, 在治疗之后, HBV复制再活化和肝炎常常停止, 这一现象

#### ■ 相关报道

乙型肝炎表面抗原(hepatitis B surface antigen, HBsAg)阴性而抗乙型肝炎核心抗体(hepatitis B core antibody, 抗-HBc)阳性, 甚至乙型肝炎表面抗体(hepatitis B surface antibody, 抗-HBs)阳性的患者应用化疗药物或者免疫抑制剂后, 也能够发生HBV复制再活化, 血清中将再次出现HBsAg和HBV DNA, 研究也证明HBV可在已治愈患者的肝细胞中继续保持复制能力, 说明肝内cccDNA对HBV复制再活化有重要的临床意义.

## ■创新盘点

HBsAg阳性患者在接受化疗药物或者免疫抑制剂后,有很高的风险发展成为HBV复制再活化,然而抗HBs阳性患者在应用化疗药物或者免疫抑制剂后,也能够发生HBV复制再活化,体外实验也证明,一些化疗药物或者免疫抑制剂可直接诱导HBV DNA复制增强,说明HBV DNA自身因素在HBV复制再活化中扮演重要角色。

在预防组中发生率为19%,在治疗组中发生率为14%。另外,也观察到在预防性治疗之后发生HBV复制再活化的病例中,3例患者最终发展为黄疸型肝炎,并且2例死于肝衰竭。

这些研究清晰地证明,预防性应用拉米夫定可降低HBV复制再活化以及肝炎的发生率;来自台湾的试验有更加严密的设计和随访,显示通过预防性应用拉米夫定并不能完全阻断HBV复制再活化,也许是因为拉米夫定耐药,而且持续口服拉米夫定至停止化疗后2 mo不能完全阻止HBV复制再活化延迟发生。

其他一些HBV复制再活化高发生风险的情形,如骨髓移植、实体器官移植、HIV感染、自身免疫性疾病应用免疫调节剂,虽然没有关于抗病毒预防的前瞻性研究,但是一些病例显示,如果给予预防性治疗,可减少HBV复制再活化的发生<sup>[26,49,50]</sup>。来自亚洲、欧洲以及北美的专家也一致建议,在有HBV复制再活化风险的情况下,应该使用抗病毒药物预防<sup>[51-54]</sup>。

## 5 结论

在接受免疫抑制剂或者化疗药物治疗的HBV感染患者中,HBV复制再活化是其共同的并发症。所有接受化疗,以及接受免疫抑制剂或者器官移植治疗的患者均应筛选是否有现症或者既往HBV感染(HBsAg、抗HBc)。如果HBsAg阳性,就应该评估是否有抗HBV治疗的适应症,如果发现应该去治疗,那么在开始应用化疗药物或者免疫抑制剂之前就开始给予口服抗HBV药物,这一治疗方案应该持续至整个化疗药物治疗期间。如果是非活动性HBsAg携带状态或者HBV免疫耐受期,在化疗或者免疫抑制剂治疗之前也应该接受抗病毒预防。血清中抗HBc阳性而HBsAg阴性的患者,如果进行器官移植或者使用更加强效、疗程更长的化疗药物和免疫抑制剂,也应该考虑抗病毒预防。

大量关于预防性使用拉米夫定的研究推荐抗病毒预防应持续至化疗完成后1-2 mo。接受骨髓移植或抗T淋巴细胞或抗B淋巴细胞治疗的患者,还有那些化疗前高病毒滴度的患者,抗病毒治疗也应延长。通常免疫抑制剂是长期使用,那么抗病毒预防也应与其相伴随。

核苷类似物的预防性治疗已极大地降低了HBV复制再活化的发生率和总死亡率。然而,并不是所有接受化疗药物或者免疫抑制剂治疗的患者都发展为HBV复制再活化,并且拉米夫定

治疗也有其潜在的缺点,长期使用核苷类似物的患者有很高耐药发生率。

目前,对于HBV复制再活化的机制已有较好的认识,一些新型抗病毒药物的使用,如:恩替卡韦、替诺福韦,也希望有助于改善接受化疗而且HBV血清学标志物阳性癌症患者的预后。

## 6 参考文献

- 1 Ganem D, Prince AM. Hepatitis B virus infection-natural history and clinical consequences. *N Engl J Med* 2004; 350: 1118-1129 [PMID: 15014185 DOI: 10.1056/NEJMra031087]
- 2 Kohrt HE, Ouyang DL, Keefe EB. Systematic review: lamivudine prophylaxis for chemotherapy-induced reactivation of chronic hepatitis B virus infection. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1003-1016 [PMID: 16984494 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.03081.x]
- 3 Ikeda M. Reactivation of hepatitis B virus in patients receiving chemotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2013; 43: 8-16 [PMID: 23183929 DOI: 10.1093/jcco/hys191]
- 4 Hwang JP, Lok AS. Management of patients with hepatitis B who require immunosuppressive therapy. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013 Nov 19. [Epub ahead of print] [PMID: 24247262 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.216]
- 5 Oketani M, Ido A, Uto H, Tsubouchi H. Prevention of hepatitis B virus reactivation in patients receiving immunosuppressive therapy or chemotherapy. *Hepatol Res* 2012; 42: 627-636 [PMID: 22686858 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2012.00998.x]
- 6 Wands JR, Chura CM, Roll FJ, Maddrey WC. Serial studies of hepatitis-associated antigen and antibody in patients receiving antitumor chemotherapy for myeloproliferative and lymphoproliferative disorders. *Gastroenterology* 1975; 68: 105-112 [PMID: 1054319]
- 7 Hoofnagle JH. Reactivation of hepatitis B. *Hepatology* 2009; 49: S156-S165 [PMID: 19399803 DOI: 10.1002/hep.22945]
- 8 Ko WJ, Chou NK, Hsu RB, Chen YS, Wang SS, Chu SH, Lai MY. Hepatitis B virus infection in heart transplant recipients in a hepatitis B endemic area. *J Heart Lung Transplant* 2001; 20: 865-875 [PMID: 11502409]
- 9 Onozawa M, Hashino S, Izumiyama K, Kahata K, Chuma M, Mori A, Kondo T, Toyoshima N, Ota S, Kobayashi S, Hige S, Toubai T, Tanaka J, Imamura M, Asaka M. Progressive disappearance of anti-hepatitis B surface antigen antibody and reverse seroconversion after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with previous hepatitis B virus infection. *Transplantation* 2005; 79: 616-619 [PMID: 15753855]
- 10 Yeo W, Chan PK, Zhong S, Ho WM, Steinberg JL, Tam JS, Hui P, Leung NW, Zee B, Johnson PJ. Frequency of hepatitis B virus reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy: a prospective study of 626 patients with identification of risk factors. *J Med Virol* 2000; 62: 299-307 [PMID: 11055239]
- 11 Yeo W, Lam KC, Zee B, Chan PS, Mo FK, Ho WM, Wong WL, Leung TW, Chan AT, Ma B, Mok TS,



- Johnson PJ. Hepatitis B reactivation in patients with hepatocellular carcinoma undergoing systemic chemotherapy. *Ann Oncol* 2004; 15: 1661-1666 [PMID: 15520068 DOI: 10.1093/annonc/mdh430]
- 12 Yeo W, Zee B, Zhong S, Chan PK, Wong WL, Ho WM, Lam KC, Johnson PJ. Comprehensive analysis of risk factors associating with Hepatitis B virus (HBV) reactivation in cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *Br J Cancer* 2004; 90: 1306-1311 [PMID: 15054446 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601699]
  - 13 Cheng AL, Hsiung CA, Su IJ, Chen PJ, Chang MC, Tsao CJ, Kao WY, Uen WC, Hsu CH, Tien HF, Chao TY, Chen LT, Whang-Peng J. Steroid-free chemotherapy decreases risk of hepatitis B virus (HBV) reactivation in HBV-carriers with lymphoma. *Hepatology* 2003; 37: 1320-1328 [PMID: 12774010 DOI: 10.1053/jhep.2003.50220]
  - 14 Yeo W, Chan PK, Hui P, Ho WM, Lam KC, Kwan WH, Zhong S, Johnson PJ. Hepatitis B virus reactivation in breast cancer patients receiving cytotoxic chemotherapy: a prospective study. *J Med Virol* 2003; 70: 553-561 [PMID: 12794717 DOI: 10.1002/jmv.10430]
  - 15 Jang JW, Choi JY, Bae SH, Kim CW, Yoon SK, Cho SH, Yang JM, Ahn BM, Lee CD, Lee YS, Chung KW, Sun HS. Transarterial chemo-lipiodolization can reactivate hepatitis B virus replication in patients with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 41: 427-435 [PMID: 15336446 DOI: 10.1016/j.jhep.2004.05.014]
  - 16 Zhong S, Yeo W, Schroder C, Chan PK, Wong WL, Ho WM, Mo F, Zee B, Johnson PJ. High hepatitis B virus (HBV) DNA viral load is an important risk factor for HBV reactivation in breast cancer patients undergoing cytotoxic chemotherapy. *J Viral Hepat* 2004; 11: 55-59 [PMID: 14738558]
  - 17 Hui CK, Bowden S, Jackson K, Au WY, Fong DY, Lie AK, Chim CS, Liang R, Lau GK. Clinical significance of intrahepatic hepatitis B virus covalently closed circular DNA in chronic hepatitis B patients who received cytotoxic chemotherapy. *Blood* 2005; 105: 2616-2617 [PMID: 15746088 DOI: 10.1182/blood-2004-09-3402]
  - 18 Rehmann B, Ferrari C, Pasquinelli C, Chisari FV. The hepatitis B virus persists for decades after patients' recovery from acute viral hepatitis despite active maintenance of a cytotoxic T-lymphocyte response. *Nat Med* 1996; 2: 1104-1108 [PMID: 8837608]
  - 19 Catterall AP, Murray-Lyon IM, Zuckerman AJ, Harrison TJ. Southern hybridisation analysis of HBV DNA in peripheral blood leucocytes and of different cell types: changes during the natural history and with interferon-alpha therapy in patients with hepatitis B virus infection. *J Med Virol* 1994; 43: 269-275 [PMID: 7931189]
  - 20 Zoulim F, Locarnini S. Optimal management of chronic hepatitis B patients with treatment failure and antiviral drug resistance. *Liver Int* 2013; 33 Suppl 1: 116-124 [PMID: 23286855 DOI: 10.1111/liv.12069]
  - 21 Seang S, Thibault V, Valantin MA, Katlama C. Adjustment of antiretroviral regimen may lead to HBV reactivation even in patients with past HBV infection serological profile. *J Infect Chemother* 2013; 19: 987-989 [PMID: 23380971 DOI: 10.1007/s10156-013-0560-6]
  - 22 Lok AS, Ward JW, Perrillo RP, McMahon BJ, Liang TJ. Reactivation of hepatitis B during immunosuppressive therapy: potentially fatal yet preventable. *Ann Intern Med* 2012; 156: 743-745 [PMID: 22586011 DOI: 10.7326/0003-4819-156-10-201205150-00013]
  - 23 Wijaya I, Hasan I. Reactivation of hepatitis B virus associated with chemotherapy and immunosuppressive agent. *Acta Med Indones* 2013; 45: 61-66 [PMID: 23585411]
  - 24 Tsutsumi Y, Kawamura T, Saitoh S, Yamada M, Obara S, Miura T, Kanamori H, Tanaka J, Asaka M, Imamura M, Masauzi N. Hepatitis B virus reactivation in a case of non-Hodgkin's lymphoma treated with chemotherapy and rituximab: necessity of prophylaxis for hepatitis B virus reactivation in rituximab therapy. *Leuk Lymphoma* 2004; 45: 627-629 [PMID: 15160930]
  - 25 Ling WH, Soe PP, Pang AS, Lee SC. Hepatitis B virus reactivation risk varies with different chemotherapy regimens commonly used in solid tumours. *Br J Cancer* 2013; 108: 1931-1935 [PMID: 23652302 DOI: 10.1038/bjc.2013.225]
  - 26 Esteve M, Saro C, González-Huix F, Suarez F, Forné M, Viver JM. Chronic hepatitis B reactivation following infliximab therapy in Crohn's disease patients: need for primary prophylaxis. *Gut* 2004; 53: 1363-1365 [PMID: 15306601 DOI: 10.1136/gut.2004.040675]
  - 27 Marcellin P, Giostra E, Martinot-Peignoux M, Lorient MA, Jaegle ML, Wolf P, Degott C, Degos F, Benhamou JP. Redevelopment of hepatitis B surface antigen after renal transplantation. *Gastroenterology* 1991; 100: 1432-1434 [PMID: 2013388]
  - 28 Chen GD, Gu JL, Qiu J, Chen LZ. Outcomes and risk factors for hepatitis B virus (HBV) reactivation after kidney transplantation in occult HBV carriers. *Transpl Infect Dis* 2013; 15: 300-305 [PMID: 23473005 DOI: 10.1111/tid.12065]
  - 29 Dehghani SM, Taghavi SA, Geramizadeh B, Nikeghbalian S, Derakhshan N, Malekpour A, Malek-Hosseini SA. Hepatitis B recurrence after liver transplantation: a single center experiences and review the literature. *Hepat Mon* 2013; 13: e6609 [PMID: 23483668 DOI: 10.5812/hepatmon.6609]
  - 30 Na GH, Kim DG, Han JH, Kim EY, Lee SH, Hong TH, You YK, Choi JY. Prevention and risk factors of hepatitis B recurrence after living donor liver transplantation. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 151-156 [PMID: 24117684 DOI: 10.1111/jgh.12403]
  - 31 Saitta C, Musolino C, Marabello G, Martino D, Leonardi MS, Pollicino T, Altavilla G, Raimondo G. Risk of occult hepatitis B virus infection reactivation in patients with solid tumours undergoing chemotherapy. *Dig Liver Dis* 2013; 45: 683-686 [PMID: 23490344 DOI: 10.1016/j.dld.2013.01.022]
  - 32 Tur-Kaspa R, Burk RD, Shaul Y, Shafritz DA. Hepatitis B virus DNA contains a glucocorticoid-responsive element. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1986; 83: 1627-1631 [PMID: 3006059]
  - 33 Hsu CH, Hsu HC, Chen HL, Gao M, Yeh PY, Chen PJ, Cheng AL. Doxorubicin activates hepatitis B virus (HBV) replication in HBV-harboring hepatoblastoma cells. A possible novel mechanism of HBV reactivation in HBV carriers receiving systemic chemotherapy. *Anticancer Res* 2004; 24: 3035-3040 [PMID: 15517913]
  - 34 Chen MH, Hsiao LT, Chiou TJ, Liu JH, Gau JP, Teng HW, Wang WS, Chao TC, Yen CC, Chen PM. High

## ■应用要点

核苷类似物的预防性治疗已极大地降低了HBV复制再活化的发生率和总死亡率。然而,并不是所有接受化疗药物或者免疫抑制剂治疗的患者都发展为HBV复制再活化,并且核苷类似物治疗也有其潜在的缺点,长期使用核苷类似物的患者有很高耐药发生率。

# 同行评价

本文综述HBV感染者使用化疗药物或者免疫抑制剂治疗后再活化现象,对临床工作有一定指导意义。

- prevalence of occult hepatitis B virus infection in patients with B cell non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2008; 87: 475-480 [PMID: 18327583 DOI: 10.1007/s00277-008-0469-9]
- 35 Mok MY, Ng WL, Yuen MF, Wong RW, Lau CS. Safety of disease modifying anti-rheumatic agents in rheumatoid arthritis patients with chronic viral hepatitis. *Clin Exp Rheumatol* 2000; 18: 363-368 [PMID: 10895374]
- 36 Ito S, Nakazono K, Murasawa A, Mita Y, Hata K, Saito N, Kikuchi M, Yoshida K, Nakano M, Gejyo F. Development of fulminant hepatitis B (precore variant mutant type) after the discontinuation of low-dose methotrexate therapy in a rheumatoid arthritis patient. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 339-342 [PMID: 11229464 DOI: 10.1002/1529-0131(200102)44]
- 37 Michel M, Duvoux C, Hezode C, Cherqui D. Fulminant hepatitis after infliximab in a patient with hepatitis B virus treated for an adult onset still's disease. *J Rheumatol* 2003; 30: 1624-1625 [PMID: 12858469]
- 38 Ostuni P, Botsios C, Punzi L, Sfriso P, Todesco S. Hepatitis B reactivation in a chronic hepatitis B surface antigen carrier with rheumatoid arthritis treated with infliximab and low dose methotrexate. *Ann Rheum Dis* 2003; 62: 686-687 [PMID: 12810441]
- 39 Wendling D, Auge B, Bettinger D, Lohse A, Le Huede G, Bresson-Hadni S, Toussirot E, Miguet JP, Herbein G, Di Martino V. Reactivation of a latent precore mutant hepatitis B virus related chronic hepatitis during infliximab treatment for severe spondyloarthropathy. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 788-789 [PMID: 15834064 DOI: 10.1136/ard.2004.031187]
- 40 Park SK, Yang WS, Lee YS, Jung HH, Chang JW, Choi HJ, Han DJ, Park JS. Outcome of renal transplantation in hepatitis B surface antigen-positive patients after introduction of lamivudine. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16: 2222-2228 [PMID: 11682671]
- 41 Prieto M, Gómez MD, Berenguer M, Córdoba J, Rayón JM, Pastor M, García-Herola A, Nicolás D, Carrasco D, Orbis JF, Mir J, Berenguer J. De novo hepatitis B after liver transplantation from hepatitis B core antibody-positive donors in an area with high prevalence of anti-HBc positivity in the donor population. *Liver Transpl* 2001; 7: 51-58 [PMID: 11150423 DOI: 10.1053/jlts.2001.20786]
- 42 Terrault N. Management of hepatitis B virus infection in liver transplant recipients: prospects and challenges. *Clin Transplant* 2000; 14 Suppl 2: 39-43 [PMID: 10965963]
- 43 Hsiao LT, Chiou TJ, Liu JH, Chu CJ, Lin YC, Chao TC, Wang WS, Yen CC, Yang MH, Tzeng CH, Chen PM. Extended lamivudine therapy against hepatitis B virus infection in hematopoietic stem cell transplant recipients. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 84-94 [PMID: 16399572 DOI: 10.1016/j.bbmt.2005.09.001]
- 44 Knöll A, Boehm S, Hahn J, Holler E, Jilg W. Reactivation of resolved hepatitis B virus infection after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2004; 33: 925-929 [PMID: 15004543 DOI: 10.1038/sj.bmt.1704457]
- 45 Hsu C, Hsiung CA, Su IJ, Hwang WS, Wang MC, Lin SF, Lin TH, Hsiao HH, Young JH, Chang MC, Liao YM, Li CC, Wu HB, Tien HF, Chao TY, Liu TW, Cheng AL, Chen PJ. A revisit of prophylactic lamivudine for chemotherapy-associated hepatitis B reactivation in non-Hodgkin's lymphoma: a randomized trial. *Hepatology* 2008; 47: 844-853 [PMID: 18302293 DOI: 10.1002/hep.22106]
- 46 Loomba R, Rowley A, Wesley R, Liang TJ, Hoofnagle JH, Pucino F, Csako G. Systematic review: the effect of preventive lamivudine on hepatitis B reactivation during chemotherapy. *Ann Intern Med* 2008; 148: 519-528 [PMID: 18378948]
- 47 Katz LH, Fraser A, Gafter-Gvili A, Leibovici L, Tur-Kaspa R. Lamivudine prevents reactivation of hepatitis B and reduces mortality in immunosuppressed patients: systematic review and meta-analysis. *J Viral Hepat* 2008; 15: 89-102 [PMID: 18184191 DOI: 10.1111/j.1365-2893.2007.00902.x]
- 48 Lau GK, Yiu HH, Fong DY, Cheng HC, Au WY, Lai LS, Cheung M, Zhang HY, Lie A, Ngan R, Liang R. Early is superior to deferred preemptive lamivudine therapy for hepatitis B patients undergoing chemotherapy. *Gastroenterology* 2003; 125: 1742-1749 [PMID: 14724827]
- 49 Hui CK, Lie A, Au WY, Ma SY, Leung YH, Zhang HY, Sun J, Cheung WW, Chim CS, Kwong YL, Liang R, Lau GK. Effectiveness of prophylactic Anti-HBV therapy in allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with HBsAg positive donors. *Am J Transplant* 2005; 5: 1437-1445 [PMID: 15888052 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2005.00887.x]
- 50 Tsutsumi Y, Tanaka J, Kawamura T, Miura T, Kanamori H, Obara S, Asaka M, Imamura M, Masauzi N. Possible efficacy of lamivudine treatment to prevent hepatitis B virus reactivation due to rituximab therapy in a patient with non-Hodgkin's lymphoma. *Ann Hematol* 2004; 83: 58-60 [PMID: 14513286 DOI: 10.1007/s00277-003-0748-4]
- 51 Weinbaum CM, Mast EE, Ward JW. Recommendations for identification and public health management of persons with chronic hepatitis B virus infection. *Hepatology* 2009; 49: S35-S44 [PMID: 19399812 DOI: 10.1002/hep.22882]
- 52 Liaw YF, Leung N, Kao JH, Piratvisuth T, Gane E, Han KH, Guan R, Lau GK, Locarnini S. Asian-Pacific consensus statement on the management of chronic hepatitis B: a 2008 update. *Hepatol Int* 2008; 2: 263-283 [PMID: 19669255 DOI: 10.1007/s12072-008-9080-3]
- 53 Lok AS, McMahon BJ. Chronic hepatitis B: update 2009. *Hepatology* 2009; 50: 661-662 [PMID: 19714720 DOI: 10.1002/hep.23190]
- 54 European Association For The Study Of The Liver. EASL clinical practice guidelines: Management of chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2012; 57: 167-185 [PMID: 22436845 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.010]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 尿酸与非酒精性脂肪肝的相关性

徐小玲, 贾红

徐小玲, 泸州医学院附属医院消化内科 四川省泸州市 646000  
徐小玲, 贾红, 泸州医学院循证医学中心 四川省泸州市 646000  
贾红, 泸州医学院流行病学与统计学教研室 四川省泸州市 646000  
徐小玲, 主要从事代谢性疾病的防治。  
达能营养中心膳食营养研究与宣教基金资助项目, No. DIC 2013-03  
作者贡献分布: 本文综述由徐小玲完成; 贾红审校。  
通讯作者: 贾红, 教授, 646000, 四川省泸州市忠山路319号, 泸州医学院流行病学与统计学教研室, jhong\_lz@163.com  
收稿日期: 2014-01-01 修回日期: 2014-01-14  
接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-08

## Correlation between uric acid and nonalcoholic fatty liver disease

Xiao-Ling Xu, Hong Jia

Xiao-Ling Xu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Xiao-Ling Xu, Hong Jia, Evidence-based Medical Center of Luzhou Medical School, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Hong Jia, Epidemiology and Statistics, Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan Province, China  
Supported by: Danone Nutrition Center Dietary Nutrition Research and Education Fund, No. DIC2013-03  
Correspondence to: Hong Jia, Professor, Epidemiology and Statistics, Luzhou Medical College, 319 Zhongshan Road, Luzhou 646000, Sichuan Province, China. jhong\_lz@163.com  
Received: 2014-01-01 Revised: 2014-01-14  
Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Uric acid (UA) is the end product of purine metabolism and serum uric acid (SUA) level is maintained by the balance between uric acid production and excretion. With the increase in the number of liver disease patients around the world, the number of studies about UA and nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) is also increasing. According to these studies, high SUA is closely related to the occurrence and development of NAFLD. Therefore, a further understanding of the relationship between UA and NAFLD will be helpful for NAFLD diagnosis and treatment. In this paper, we review the relationship between UA and NAFLD.

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

**Key Words:** Uric acid; Nonalcoholic fatty liver disease; Insulin resistance; Oxidative stress

Xu XL, Jia H. Correlation between uric acid and nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 933-938 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/933.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.933>

## 摘要

尿酸(uric acid, UA)是嘌呤在肝脏的最终代谢产物,产生和排泄共同维持着人体血清尿酸的平衡。随着世界各国肝脏疾病患者数量的增加,近期关于UA与非酒精性脂肪肝(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的研究日益增多。据研究显示高血清尿酸(serum uric acid, SUA)与NAFLD的发生与发展密切相关,因此对UA和NAFLD关系的深入研究将会为NAFLD的诊断和治疗提供一个崭新的平台。本文对近几年国内外关于UA与NAFLD的研究进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 尿酸; 非酒精性脂肪肝; 胰岛素抵抗; 氧化应激

**核心提示:** 尿酸(uric acid, UA)在非酒精性脂肪肝(non alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生机制的某些环节中起到一定的作用,目前主要的假说是“二次打击学说”,然而UA是NAFLD的危险因素,或UA本身就是其发生机制的一个组成部分现阶段尚不明确。但是各国研究结果明确显示,UA浓度增高导致NAFLD的患病率增加,肝脏损害程度加重。

徐小玲, 贾红. 尿酸与非酒精性脂肪肝的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 933-938 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/933.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.933>

## 0 引言

非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种慢性肝脏疾病<sup>[1]</sup>。随着人们生活

## ■背景资料

随着世界各国肝脏疾病患者数量的增加,尤其是非酒精性脂肪肝(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的增多,各国研究者对其进行了大量的流行病学研究,结果显示NAFLD患者中尿酸含量较高,故认为尿酸可能与NAFLD的发生有密切关系,并具有一定的临床意义。

## ■同行评议者

迟宝荣, 教授, 吉林大学第一医院消化内科



## ■ 研究前沿

尿酸(uric acid, UA)是嘌呤在肝脏的最终代谢产物,其作用于NAFLD发生的某些环节,增高与NAFLD的发生和发展密切相关。UA在人体血液中的某个浓度范围,可以警示或减少NAFLD的发生还有待进一步研究。此外,UA是NAFLD的危险因素,或UA本身就是其发生机制的一个组成部分尚不明确,仍需进一步研究。

水平的提高,正如不断增加的流行性代谢疾病,如肥胖、胰岛素抵抗和代谢综合征(metabolic syndrome, MS)等<sup>[2]</sup>, NAFLD成为一个新兴且棘手问题,而且其患病率在未来将不断增加。国内研究显示NAFLD在成人中的患病率约15%<sup>[3]</sup>,国外相关研究显示在美国等西方国家NAFLD患病率约20%-30%<sup>[4,5]</sup>,且与患者生存率和死亡率密切相关<sup>[4]</sup>。Xu等<sup>[6]</sup>报道非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)的死亡率超过30%。Edmison等<sup>[7]</sup>研究显示NASH患者中,15%-20%发展为肝硬化,而在这些发展为肝硬化的患者中,30%-40%死于肝脏相关的疾病。NAFLD的死亡率除了与肝硬化有关,还与其增加了心血管疾病发生的风险有关<sup>[8]</sup>。近年来,NAFLD与胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、氧化应激、代谢综合征等相关的研究屡见不鲜,但越来越多的研究显示SUA作为一个新颖的危险因素,其浓度升高与NAFLD的发生和进展相关<sup>[9-11]</sup>。本文就UA与NAFLD的关系进行简单综述。

## 1 非酒精性脂肪肝

根据酒精摄入水平,脂肪肝分为酒精性脂肪肝(alcoholic fatty liver disease, AFLD)和NAFLD<sup>[12]</sup>[无饮酒史或饮酒折合乙醇量<140 g/wk(女性<70 g/wk)<sup>[13]</sup>。在病理生理学的范畴,NAFLD不只是一种单纯的肝脏疾病,而是一个多方面的生理和生化事件,包括基因<sup>[14]</sup>、环境<sup>[15]</sup>、新陈代谢<sup>[16]</sup>和压力相关因素<sup>[17]</sup>,尤其与全身代谢紊乱密切相关,但是确切的危险因素尚未被完全阐明。2002年美国肝脏疾病研究学会NASH专题会认为NAFLD是一种遗传-环境-代谢应激相关性疾病,是MS在肝脏的表现<sup>[18]</sup>。故NAFLD被定义为是一种与IR及遗传易感性相关的代谢应激性肝脏损伤<sup>[18]</sup>,其由一系列的病理类型组成,包括非酒精性单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、NASH及其相关肝硬化<sup>[5]</sup>。

## 2 尿酸的代谢机制

UA是细胞新陈代谢及食物中嘌呤核苷酸的代谢终产物,其通过嘌呤脱氢酶或氧化酶降解嘌呤形成。人体每天产生的UA总量2/3-3/4经肾脏由尿液排泄,其余经肝胆系统排入肠道,被肠道菌群分解。后者是肾功衰时尿酸排泄的主要途径。肾脏清除尿酸包括远曲小管的滤过、重吸收、肾小管的分泌和分泌后再吸收4个部分。有研究表明,尿酸的分泌和重吸收是通过离子交

换转运系统来实现的。UA的生成和排泄维持着人体内SUA的平衡<sup>[19]</sup>,生成增多或清除减少都会导致SUA浓度增高。前者包括外源性嘌呤摄入过多、内源性嘌呤产生过多以及嘌呤代谢增加;后者包括:(1)各种原因导致的肾小球滤过率下降;(2)肾小管对UA重吸收增加;(3)乳酸或酮酸抑制离子交换转运系统,使肾小管分泌尿酸被抑制。血清尿酸浓度由UA的合成、分泌、再吸收决定,而这些可能与代谢因素、肾脏因素及遗传变异相关<sup>[20]</sup>。Onat等<sup>[21]</sup>研究表明高尿酸血症常见于中央型肥胖和高甘油三酯血症等代谢综合征或其组成部分患者身上。

## 3 UA与NAFLD的关系

近几年,国内外对UA与NAFLD两者的关系进行了大量研究,主要是流行病学研究。SUA浓度采用生化仪检测,而NAFLD诊断标准则采用《非酒精性脂肪性肝病诊疗指南》(2010年修订版)<sup>[13]</sup>。尽管肝活检是诊断NAFLD及其分级的金标准,然而近期研究和临床实践中却采用一个实用而可靠的方法-超声<sup>[22,23]</sup>,其使用形态学检查来诊断NAFLD,不是因为其无创、便捷而被广泛采用,而是因为它检测肝脂肪变形的精确度能被大家认可,且新的诊断标准巩固了超声诊断该疾病的效能<sup>[20,24]</sup>。Saverymuttu等<sup>[25]</sup>报道,超声诊断肝脂肪变性的准确度在94%以上,精确度在84%以上。

近几年许多国家(如中国、美国、韩国等)对UA与NAFLD发生和发展的相关性进行了流行病学研究,主要是横断面研究。研究人群包括高尿酸血症患者、NAFLD或非NAFLD的成年人、伴或不伴2型糖尿病者、2-17岁儿童和青少年及绝经前和绝经后妇女等。辛国秋等<sup>[26]</sup>对246例NAFL者和246例年龄匹配的门诊健康体检排除脂肪肝者进行研究,所纳入的158例高尿酸血症患者中,NAFL 114例,占该组总病例数的46.34%;无NAFL 39例,占该组病例总病例数17.89%。将所有研究对象SUA值四分位处理(1: 男性≤334 mol/L, 女性≤272 mol/L; 2: 男性335-381 mol/L, 女性273-311 mol/L; 3: 男性382-425 mol/L, 女性312-356 mol/L; 4: 男性≥426 mol/L, 女性≥357 mol/L), NAFL患病率依次为11.91%、27.74%、47.67%、85.04%,后三组患病率分别是第1组(SUA浓度最低)的2.33倍、4.00倍和7.14倍。NAFLD组中SUA平均浓度为376.52 μmol/L±12.63 μmol/L, 非NAFLD

组中SUA平均浓度为 $323.49 \mu\text{mol/L} \pm 12.95 \mu\text{mol/L}$ 。从以上结果可看出NAFLD中SUA水平较非NAFLD高, 且随UA水平增高, NAFLD患病率成倍增长。Logistic回归分析证明高尿酸血症(hyperuricemic, HUA)是NAFLD的独立危险因素。秦恩等<sup>[27]</sup>通过对36000例18岁以上人群调查显示, HUA的总患病率为18.17%, 而NAFLD患者HUA为39.41%, 且身体质量指数(body mass index, BMI)、甘油三酯(triglyceride, TG)、胆固醇(cholesterol, TC)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate amino transferase, AST)、肌酐(serum creatinine, Scr)等随SUA的升高而递增, HDL-C随SUA的升高而递减, 故认为HUA与NAFLD的发生和发展有显著关系, 并与代谢紊乱密切相关。Xu等<sup>[9]</sup>对6890例平均年龄44.4岁非NAFLD的中国人进行的为期3年横断面研究, 也是据SUA水平将被研究者分为5组(男性: 1,  $\leq 295 \text{ mmol/L}$ ; 2, 296-332 mmol/L; 3, 333-367 mmol/L; 4, 368-409 mmol/L; 5,  $>410 \text{ mmol/L}$ ; 女性: 1,  $\leq 205 \text{ mmol/L}$ ; 2, 206-232 mmol/L; 3, 233-262 mmol/L; 4, 263-298 mmol/L; 5,  $>299 \text{ mmol/L}$ ), 通过观察基线水平的SUA与NAFLD的发病率在分级和剂量效应中发现, 3年中NAFLD的累积发病率在5组中分别为7.2%、9.5%、11.5%、13.8%和17.2%。基线水平的SUA和NAFLD的发生成正相关, 其余4组和第1组相比, NAFLD的风险比分别是1.32、1.60、1.92和2.34。这些结果表明SUA水平是一个独立危险NAFLD发生的因素, 且随着其水平提高其发生风险增加。该研究中COX风险评估结果也证实了SUA浓度是NAFLD发生的独立危险因素。Ryu等<sup>[10]</sup>对5741例20-59岁无脂肪肝及引起肝脏疾病主要危险因素的韩国男人进行的纵向研究结果显示, 在控制了BMI和大量的代谢因素情况下, 增高血清尿酸水平是超声诊断的脂肪肝的一个危险因素。当尿酸作为一个持续变量, 其每增高1 mg/dL, 脂肪肝的风险比为1.11。Hwang等<sup>[11]</sup>对9019例韩国人进行横断面研究, 结果显示最高尿酸组与最低组相比, NAFLD发生的相对危险度(odds ratio, OR)值男性为1.46, 女性为2.13。故认为即使在正常范围内增加SUA浓度也与NAFLD的发生有独立的联系。Lee等<sup>[28]</sup>对4954例平均年龄在40.0岁 $\pm 5.9$ 岁的无肝脏疾病的韩国的回顾性队列研究中, 多变量分析结果表明SUA水平和NAFLD的发展成正相关。Sirota等<sup>[29]</sup>对10732例美国非2

型糖尿病的成年人的代表性样本进行横断面研究, 研究结果显示男性、高血压和中心型肥胖者为主具有较高尿酸水平, 而这些人群同时也具有较高的甘油三酯, 较低的HDL-C, 较高的IR以及较低的估算的肾小球率过滤。按UA水平和性别将被研究者各分为4组(男性:  $\leq 5.2 \text{ mg/dL}$ , 5.3-6.0 mg/dL, 6.1-6.9 mg/dL, 和 $>6.9 \text{ mg/dL}$ ; 女性:  $\leq 3.7 \text{ mg/dL}$ , 3.8-4.5 mg/dL, 4.6-5.3 mg/dL, 和 $>5.3 \text{ mg/dL}$ ), 即使UA在正常范围内, 随其浓度增加, 超声诊断的脂肪肝总患病率由27.3%上升到46.6%。回归分析结果显示在没有控制混杂因素的情况下, SUA浓度每增长1.0 mg/dL NAFLD的风险增加38%。故提出UA浓度升高是超声诊断的NAFLD的独立危险因素, 且NAFLD损害严重程度随尿酸的增高而加重。Petta等<sup>[30]</sup>对166例依从性好的NAFLD患者进行研究显示在单变量分析中, 高BMI、大腰围、高血糖和胰岛素水平、高尿酸水平、高尿酸血症等导致中重度的脂肪变性; 多变量logistic回归分析表明, 即使只有高稳态模型评估法(homeostasis model assessment, HOMA)高尿酸血症和小叶炎症, 三者仍然具有显著关系。在多变量分析中, 用连续变量UA替代分类变量高尿酸血症, 所得到的结果相似。李明珍等<sup>[31]</sup>在对1007例伴有或不伴有2型糖尿病NAFLD住院患者的回顾性分析中, 发现伴NAFLD组较不伴NAFLD组年龄低、2型糖尿病病程短, 其BMI、SUA、ALT、AST均升高, 而AST/ALT、尿酸清除率均降低。经统计学分析, SUA水平和NAFLD间有统计学关联, 且NAFLD发生风险随SUA水平升高而增加, 趋势差异有统计学意义( $P<0.05$ )。Moon<sup>[32]</sup>研究结果表明, 在绝经后妇女中, NAFLD患者UA高于非NAFLD, 但在绝经前妇女中无此现象。在绝经前妇女中, UA在有无代谢综合征的人群中无差别, 在控制年龄的情况下, 绝经后妇女UA在有代谢综合征的人群较高。雌激素的影响可能解释这种差别。Vos等<sup>[33]</sup>在对2-17岁儿童及青少年的研究中发现, 患有NAFLD的儿童及青少年含糖饮料的消费比较低, 而尿酸可能会影响身体总糖类的消耗, 故认为尿酸与NASH有显著联系, 但仍需进一步证实。此外, 部分研究者还论证了在健康成年人中SUA水平是NAFLD的一个独立危险因素以及其被作为评估NAFLD一个补充措施<sup>[34,35]</sup>。综上所述研究结果显示NAFLD患者SUA水平较健康者高; SUA水平增高是NAFLD发生的危险因素, 在较高SUA水平, NAFLD的患病率增加, 且随SUA水

#### ■ 相关报道

Sirota等研究显示, 即使UA在正常范围内, NAFLD的患病率随其浓度增高而增加, 且肝脏损害严重程度也随其增高而加重。这是近几年各国研究的热点。

### ■创新盘点

本文就UA在人体血液中的浓度与NAFLD的发生和发展相关性着手,综述了各国对UA与NAFLD相关性研究的大样本流行病学调查研究,分析UA浓度增高与NAFLD发生和发展的密切联系,以及从机制反面进一步证实这种相关性。

平的增高而增加。但这些研究大多是横断面研究,不能强有力地说明SUA和NAFLD之间的因果关系,故需要进一步的队列研究及动物或细胞实验加以证明。

### 4 UA与NAFLD相互作用的机制

NAFLD是一个多方面的生理和生化事件,包括基因、环境、新陈代谢和压力相关因素,但在近年研究中发现HUA与NAFLD的发生和进程相关。现阶段对UA和NAFLD关系最可信的解释为Day等<sup>[36]</sup>提出的“二次打击”学说。在这个理论中,IR导致脂肪在肝脏中的储积和肝脂肪变是第一次“打击”。由于IR、过度炎症反应、饮酒和肥胖等,使得肝细胞对炎症反应和损伤因素的易感性增高,更易受到进一步的损害。IR促进外周脂肪组织分解,促使游离脂肪酸流入肝脏<sup>[37]</sup>;同时,NAFLD患者肝细胞中脂肪沉积,脂肪酸合成增加,进而葡萄糖-6-磷酸酶(glucose-6-phosphatase, G-6-Pase)活性增高,肝糖异生增强,同时胰岛素对G-6-Pase抑制减少,导致IR,如此恶性循环。任习芳等<sup>[38]</sup>研究发现,单纯NAFL组存在肥胖、血清转氨酶、血脂代谢、空腹血糖及胰岛素敏感性异常,当其合并T2DM后,血清转氨酶、血脂进一步升高,IR程度加剧。

几乎所有的NAFL患者都存在肝脏的IR,且其严重程度与NAFL的发展和预后有关<sup>[39]</sup>。IR导致脂肪在肝细胞内沉积主要通过以下两个途径:脂质过多症和高胰岛素血症。IR使血清FFA增多,增多的FFA导致肝细胞线粒体氧化超载,由此增加了肝细胞内脂肪酸的储存<sup>[40]</sup>。此外,动物实验证明FFA在肝脏中被合成甘油三酯,或在线粒体、过氧化物酶体或微粒体中被氧化,而氧化产物是有害物质,其能引起肝脏的损伤,导致后续的肝硬化<sup>[7]</sup>;同时,增多的FFA又可通过抑制胰岛素的信号传导并减少胰岛素的清除,加重IR。此外,高胰岛素血症和IR促进肝脏合成TG,当肝中合成TG速度超过了分泌TG入血的速度时,便出现肝中TG堆积,参与形成脂肪肝。

氧化应激促使脂质过氧化和炎症反应形成第二次“打击”,这两种应激源对NAFLD的发生和进展有重要作用。UA反应细胞的更新速度,在细胞外环境中具有抗氧化作用,可能对疾病有一定的保护作用<sup>[41,42]</sup>;当其进入细胞内作用于特定的转运蛋白,具有促炎作用,同时具有促氧化作用,诱导炎症因子和生长因子的释放<sup>[43,44]</sup>。UA作为促炎因子是炎症反应过程的一部分,且

增高白介素-6(interleukin-6, IL-6)和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等水平<sup>[45]</sup>,诱导肝脏炎症反应、肝细胞变性坏死、肝纤维化发生<sup>[46]</sup>。氧化应激所导致的SUA水平增高则是代谢紊乱的反映。

NALDA导致SUA增高的原因如下:IR可使氧化应激增强,进而促进尿酸合成<sup>[38]</sup>;IR可引起肾素-血管紧张素系统亢进,血管紧张素II产生增多,其可降低肾血流量,减少尿酸排泄;在肾脏中,UA与钠离子有共同的转运系统,胰岛素可通过减少钠-氢交换而减少钠离子的排泄水平从而减少UA的排泄<sup>[47]</sup>;IR可导致NAFLD产生,而NAFLD可使IR程度加剧,故可推测NAFLD可导致SUA增高。此外,NAFLD患者中TG增加,TG合成增加将加速SUA的生产和积累<sup>[48]</sup>。李雨浓<sup>[49]</sup>研究指出在NAFLD患者血清中TG的含量高于非NAFLD,梁勇前等<sup>[50]</sup>研究结果与其相同。

总之,UA和NAFLD相互作用,而IR是代谢综合征的主要发病机制,也是发生NAFLD的起始因子及中心环节,其在这个恶性循环中起着重要作用。

### 5 结论

SUA与NAFLD的关系复杂,通过近几年的研究,正常范围内HUA与NAFLD的发生有密切关系已明确,且HUA可能与NAFLD的严重程度相关,但UA是NAFLD的危险因素,或UA本身就是其发生机制的一个组成部分还尚无定论。部分研究虽已证明SUA与NAFLD发生和进展的关系,但没有量化二者之间的关系;此外,尿酸控制在什么范围能减少FALDA的发生,这个水平的UA的身体其他系统有无损伤,暂无研究。故将来仍需要进一步的流行病学研究及实验研究来验证。UA和NAFLD的相关研究大多是人口基数较大的横断面研究,而队列研究较少,故二者之间的因果尚不清楚。未来还需要大量的研究进一步证明两者之间更深层次的关系,以便临床中运用对尿酸的检查来筛查和随访NAFLD患者,找到新的途径治疗和延缓NAFLD的进程。

### 6 参考文献

- 1 申红,王曼曼,曾龙驿,舒阔,穆攀伟. 2型糖尿病合并非酒精性脂肪肝与血清尿酸的关系. 内蒙古中医药 2012; 31: 86-87
- 2 Gu D, Reynolds K, Wu X, Chen J, Duan X, Reynolds RF, Whelton PK, He J. Prevalence of the metabolic syndrome and overweight among adults in China. *Lancet* 2005; 365: 1398-1405 [PMID: 15836888 DOI:



- 10.1016/S0140-6736(05)66375-1]
- 3 Fan JG, Farrell GC. Epidemiology of non-alcoholic fatty liver disease in China. *J Hepatol* 2009; 50: 204-210 [PMID: 19014878 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.10.010]
- 4 Adams LA, Lymp JF, St Sauver J, Sanderson SO, Lindor KD, Feldstein A, Angulo P. The natural history of nonalcoholic fatty liver disease: a population-based cohort study. *Gastroenterology* 2005; 129: 113-121 [PMID: 16012941]
- 5 Angulo P. Nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2002; 346: 1221-1231 [PMID: 11961152 DOI: 10.1056/NEJMra011775]
- 6 Xu C, Yu C, Ma H, Xu L, Miao M, Li Y. Prevalence and risk factors for the development of nonalcoholic fatty liver disease in a nonobese Chinese population: the Zhejiang Zhenhai Study. *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 1299-1304 [PMID: 23567356 DOI: 10.1038/ajg.2013.104]
- 7 Edmison J, McCullough AJ. Pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis: human data. *Clin Liver Dis* 2007; 11: 75-104, ix [PMID: 17544973 DOI: 10.1016/j.cld.2007.02.011]
- 8 Targher G, Day CP, Bonora E. Risk of cardiovascular disease in patients with nonalcoholic fatty liver disease. *N Engl J Med* 2010; 363: 1341-1350 [PMID: 20879883 DOI: 10.1056/NEJMra0912063]
- 9 Xu C, Yu C, Xu L, Miao M, Li Y. High serum uric acid increases the risk for nonalcoholic fatty liver disease: a prospective observational study. *PLoS One* 2010; 5: e11578 [PMID: 20644649 DOI: 10.1371/journal.pone.0011578.]
- 10 Ryu S, Chang Y, Kim SG, Cho J, Guallar E. Serum uric acid levels predict incident nonalcoholic fatty liver disease in healthy Korean men. *Metabolism* 2011; 60: 860-866 [PMID: 20863537 DOI: 10.1016/j.metabol.2010.08.005]
- 11 Hwang IC, Suh SY, Suh AR, Ahn HY. The relationship between normal serum uric acid and nonalcoholic fatty liver disease. *J Korean Med Sci* 2011; 26: 386-391 [PMID: 21394307 DOI: 10.3346/jkms.2011.26.3.386.]
- 12 张华捷, 庄辉, 刘学恩. 脂肪肝的流行病学研究进展. *中华流行病学杂志* 2004; 25: 630-632
- 13 范建高. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南(2010年修订版). *现代医药卫生* 2011; 27: 641-644
- 14 Browning JD, Szczepaniak LS, Dobbins R, Nuremberg P, Horton JD, Cohen JC, Grundy SM, Hobbs HH. Prevalence of hepatic steatosis in an urban population in the United States: impact of ethnicity. *Hepatology* 2004; 40: 1387-1395 [PMID: 15565570 DOI: 10.1002/hep.20466]
- 15 Suzuki A, Lindor K, St Saver J, Lymp J, Mendes F, Muto A, Okada T, Angulo P. Effect of changes on body weight and lifestyle in nonalcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2005; 43: 1060-1066 [PMID: 16140415 DOI: 10.1016/j.jhep.2005.06.008]
- 16 Hamaguchi M, Kojima T, Takeda N, Nakagawa T, Taniguchi H, Fujii K, Omatsu T, Nakajima T, Sarui H, Shimazaki M, Kato T, Okuda J, Ida K. The metabolic syndrome as a predictor of nonalcoholic fatty liver disease. *Ann Intern Med* 2005; 143: 722-728 [PMID: 16287793 DOI: 10.7326/0003-4819-143-10-200511150-00009]
- 17 Roskams T, Yang SQ, Koteish A, Durnez A, DeVos R, Huang X, Achten R, Verslype C, Diehl AM. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Pathol* 2003; 163: 1301-1311 [PMID: 14507639 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63489-X]
- 18 Neuschwander-Tetri BA, Caldwell SH. Nonalcoholic steatohepatitis: summary of an AASLD Single Topic Conference. *Hepatology* 2003; 37: 1202-1219 [PMID: 12717402 DOI: 10.1053/jhep.2003.50193]
- 19 Álvarez-Lario B, Macarrón-Vicente J. Uric acid and evolution. *Rheumatology (Oxford)* 2010; 49: 2010-2015 [PMID: 20627967 DOI: 10.1093/rheumatology/keq204]
- 20 de Oliveira EP, Burini RC. High plasma uric acid concentration: causes and consequences. *Diabetol Metab Syndr* 2012; 4: 12 [PMID: 22475652 DOI: 10.1186/1758-5996-4-12.]
- 21 Onat A, Uyarel H, Hergenç G, Karabulut A, Albayrak S, Sari I, Yazici M, Keleş I. Serum uric acid is a determinant of metabolic syndrome in a population-based study. *Am J Hypertens* 2006; 19: 1055-1062 [PMID: 17027827 DOI: 10.1016/j.amjhyper.2006.02.014]
- 22 de Alwis NM, Day CP. Non-alcoholic fatty liver disease: the mist gradually clears. *J Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S104-S112 [PMID: 18304679 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.009]
- 23 Vuppalanchi R, Chalasani N. Nonalcoholic fatty liver disease and nonalcoholic steatohepatitis: Selected practical issues in their evaluation and management. *Hepatology* 2009; 49: 306-317 [PMID: 19065650 DOI: 10.1002/hep.22603.]
- 24 Hamaguchi M, Kojima T, Itoh Y, Harano Y, Fujii K, Nakajima T, Kato T, Takeda N, Okuda J, Ida K, Kawahito Y, Yoshikawa T, Okanoue T. The severity of ultrasonographic findings in nonalcoholic fatty liver disease reflects the metabolic syndrome and visceral fat accumulation. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2708-2715 [PMID: 17894848 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01526.x]
- 25 Saverymuttu SH, Joseph AE, Maxwell JD. Ultrasound scanning in the detection of hepatic fibrosis and steatosis. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1986; 292: 13-15 [PMID: 3080046 DOI: 10.1136/bmj.292.6512.13]
- 26 辛国秋, 唐悦, 唐先富. 血清尿酸水平与非酒精性脂肪肝发病的相关性研究. *西南国防医药* 2010; 20: 1295-1297
- 27 秦慧, 马秀英, 周婷, 张帆, 吴琴琴, 曾莉, 杨英, 黄燕, 邹天富, 李李, 王佑娟. 成人非酒精性脂肪肝与高尿酸血症关系的研究. *华西医学* 2012; 27: 226-229
- 28 Lee JW, Cho YK, Ryan M, Kim H, Lee SW, Chang E, Joo KJ, Kim JT, Kim BS, Sung KC. Serum uric Acid as a predictor for the development of nonalcoholic Fatty liver disease in apparently healthy subjects: a 5-year retrospective cohort study. *Gut Liver* 2010; 4: 378-383 [PMID: 20981217 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.3.378]
- 29 Sirota JC, McFann K, Targher G, Johnson RJ, Chonchol M, Jalal DI. Elevated serum uric acid levels are associated with non-alcoholic fatty liver disease independently of metabolic syndrome features in the United States: Liver ultrasound data from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Metabolism* 2013; 62: 392-399 [PMID: 23036645 DOI: 10.1016/j.metabol.2012.08.013.]
- 30 Petta S, Cammà C, Cabibi D, Di Marco V, Craxì A. Hyperuricemia is associated with histological liver damage in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 757-766 [PMID: 21790685 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04788.x]

## ■应用要点

UA 浓度增高与 NAFLD 发生和发展密切相关, 对二者相关性进一步的验证因果关系的队列研究以及量化指标的实验室研究, 以便临床中运用对 UA 的检查来筛查和随访 NAFLD 患者, 找到新的途径治疗和延缓 NAFLD 的进程。

## ■同行评价

本文综述了UA和NAFLD相关性的流行病学研究和实验室研究,从大样本的调查结果和机制两方面全面分析了UA和NAFLD的关系,在临床上对NAFLD的筛查和治疗将提供一种新方法,以便减少其发病率和延缓其肝功能恶化的进程。

- 31 李明珍, 郝久营, 孙丽荣. 2型糖尿病患者血尿酸水平与非酒精性脂肪肝的相关性研究. *中华内分泌代谢杂志* 2012; 28: 215-216
- 32 Moon SS. Relationship between serum uric acid level and nonalcoholic fatty liver disease in pre- and postmenopausal women. *Ann Nutr Metab* 2013; 62: 158-163 [PMID: 23406781 DOI: 10.1159/000346202]
- 33 Vos MB, Colvin R, Belt P, Molleston JP, Murray KF, Rosenthal P, Schwimmer JB, Tonascia J, Unalp A, Lavine JE. Correlation of vitamin E, uric acid, and diet composition with histologic features of pediatric NAFLD. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2012; 54: 90-96 [PMID: 22197855 DOI: 10.1097/MPG.0b013e318229da1a.]
- 34 Lee YJ, Lee HR, Lee JH, Shin YH, Shim JY. Association between serum uric acid and non-alcoholic fatty liver disease in Korean adults. *Clin Chem Lab Med* 2010; 48: 175-180 [PMID: 19961393 DOI: 10.1515/CCLM.2010.037]
- 35 Li Y, Xu C, Yu C, Xu L, Miao M. Association of serum uric acid level with non-alcoholic fatty liver disease: a cross-sectional study. *J Hepatol* 2009; 50: 1029-1034 [PMID: 19299029 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.11.021]
- 36 Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102 DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70599-2]
- 37 Cardoso AS, Gonzaga NC, Medeiros CC, Carvalho DF. Association of uric acid levels with components of metabolic syndrome and non-alcoholic fatty liver disease in overweight or obese children and adolescents. *J Pediatr (Rio J)* 2013; 89: 412-418 [PMID: 23791233 DOI: 10.1016/j.jped.2012.12.008]
- 38 任习芳, 艾耀伟, 潘志红, 刘修莉, 陈畅, 龚发良. 非酒精性脂肪肝血尿酸水平与胰岛素抵抗的相关性. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 2410-2413
- 39 王广华, 刑象斌. 非酒精性脂肪肝发病机制研究进展. *中国康复理论与实践* 2004; 10: 243-244
- 40 蔡葵, 何玉怡. 非酒精性脂肪肝与脂代谢紊乱及胰岛素抵抗的关系. *江西医学检验* 2006; 24: 335-336
- 41 Ames BN, Cathcart R, Schwiers E, Hochstein P. Uric acid provides an antioxidant defense in humans against oxidant- and radical-caused aging and cancer: a hypothesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1981; 78: 6858-6862 [PMID: 6947260 DOI: 10.1073/pnas.78.11.6858]
- 42 Stocker R, Keaney JF. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381-1478 [PMID: 15383655]
- 43 Kang DH, Han L, Ouyang X, Kahn AM, Kanellis J, Li P, Feng L, Nakagawa T, Watanabe S, Hosoyamada M, Endou H, Lipkowitz M, Abramson R, Mu W, Johnson RJ. Uric acid causes vascular smooth muscle cell proliferation by entering cells via a functional urate transporter. *Am J Nephrol* 2005; 25: 425-433 [PMID: 16113518]
- 44 Kanellis J, Watanabe S, Li JH, Kang DH, Li P, Nakagawa T, Wamsley A, Sheikh-Hamad D, Lan HY, Feng L, Johnson RJ. Uric acid stimulates monocyte chemoattractant protein-1 production in vascular smooth muscle cells via mitogen-activated protein kinase and cyclooxygenase-2. *Hypertension* 2003; 41: 1287-1293 [PMID: 12743010 DOI: 10.1161/01.HYP.0000072820.07472.3B]
- 45 Amin KA, Kamel HH, Abd Eltawab MA. The relation of high fat diet, metabolic disturbances and brain oxidative dysfunction: modulation by hydroxy citric acid. *Lipids Health Dis* 2011; 10: 74 [PMID: 21569551 DOI: 10.1186/1476-511X-10-74]
- 46 阎彩凤, 向红丁, 平凡, 陈伟. 不同类型非酒精性脂肪肝与糖脂代谢的相关分析. *中国慢性病预防与控制* 2006; 14: 345-348
- 47 赵莹莹, 郝久营, 李凤敏, 刘春梅, 李明珍, 孙丽荣. 伴非酒精性脂肪肝的2型糖尿病患者的临床特点及与血尿酸水平的关系. *中国慢性病预防与控制* 2011; 19: 57-59
- 48 Choi SS, Diehl AM. Hepatic triglyceride synthesis and nonalcoholic fatty liver disease. *Curr Opin Lipidol* 2008; 19: 295-300 [PMID: 18460922 DOI: 10.1097/MOL.0b013e3282ff5e55]
- 49 李雨浓. 非酒精性脂肪性肝病与尿酸关系的探讨. *中国医学创新* 2012; 9: 3-5
- 50 梁勇前, 陈容平, 杨锐, 胡德龙, 张桦. 非酒精性脂肪性肝病相关危险因素分析. *广东医学* 2013; 34: 1855-1856

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 成年人慢性便秘流行病学的研究现状

赵 励, 谭至柔

赵励, 谭至柔, 广西医科大学第一附属医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

赵励, 在读硕士, 主要从事胃肠动力障碍性疾病的研究.

广西自然科学基金资助项目, No. 2010GXNSFA013143

作者贡献分布: 本文综述由赵励完成; 谭至柔审核.

通讯作者: 谭至柔, 主任医师, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市青秀区双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院消化内科. zhirout@126.com

电话: 0771-5356501

收稿日期: 2013-11-09 修回日期: 2014-01-17

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-08

## Epidemiology of chronic constipation in adults

Mai Zhao, Zhi-Rou Tan

Mai Zhao, Zhi-Rou Tan, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: Natural Science Foundation of Guangxi, No. 2010GXNSFA013143

Correspondence to: Zhi-Rou Tan, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Qinxu District, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. zhirout@126.com

Received: 2013-11-09 Revised: 2014-01-17

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Chronic constipation is a common gastrointestinal motility disorder worldwide, having a significant impact on quality of life and affecting both physical and emotional health. The development of economy and the improvement in living standards have led to an increase in the incidence of constipation, which has aroused the concern of the medical staff and patients. At present, there have been only scattered data about chronic constipation in adults. This review aims to elucidate the epidemiology of chronic constipation in adults.

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

Key Words: Chronic constipation; Epidemiology

Zhao M, Tan ZR. Epidemiology of chronic constipation in

adults. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 939-944  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/939.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.939>

## 摘要

慢性便秘是世界范围内常见的胃肠动力疾病, 其影响着人们的生活及其身心健康. 随着经济的发展, 人们生活水平的提高, 因便秘而就诊的患者越来越多, 越发引起医务人员及患者的关注. 目前文献报道关于成年人慢性便秘的流行病学资料较零散, 本文通过复习国内外相关文献, 对成年人慢性便秘的流行病学研究现状作一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 慢性便秘; 流行病学

**核心提示:** 慢性便秘(chronic constipation, CC)在国内外均有着较高的患病率, 性别、年龄、社会经济地位、文化程度、职业、精神心理因素、体质质量指数等与便秘密切相关, 但由于研究对象、研究方法、样本量及诊断标准等缺乏统一标准, 难以得到CC真实的流行病学资料.

赵励, 谭至柔. 成年人慢性便秘流行病学的研究现状. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 939-944 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/939.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.939>

## 0 引言

便秘(constipation)是一种常见的病症, 主要表现为排便次数每周少于3次、粪便干硬和/或排便困难. 排便困难包括排便费力、排出困难、排便不尽感、排便费时及需手法协助排便<sup>[1,2]</sup>. 慢性便秘(chronic constipation, CC)是指便秘的病程至少为6 mo. 对于大多数患者, 便秘是一种令人烦恼, 但并不威胁生命或导致衰弱的疾病; 但对某些患者群体, 比如老年人, 便秘是一个严重的健康问题. 随着经济的发展、生态环境的恶化、生活节奏的加快及饮食习惯的改变等因素影响, CC的患病率逐步上升. 2003年我国在江西

## ■背景资料

随着人们生活水平的提高, 便秘患者的就医意识逐步增强, 引起医务人员的重视. 当前, 关于便秘的流行病学资料较零散, 不利于人们对该疾病的认识.

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属盛京医院



## ■ 研发前沿

本文阐述了成年人慢性便秘的总体患病率和年龄、性别、地区分布的特点,并对慢性便秘的危险因素及相关因素进行了分析。

南昌召开了全国便秘专题研讨会,制定了中国慢性便秘诊治流程;随着罗马III标准的制定,中华医学会在2007年修订了“中国慢性便秘的诊治指南”。近年来,CC的危害及治疗逐步得到重视,对CC的研究逐步深入。2013年中华医学会再次对“指南”进行相关修订,对便秘的定义、诊断、治疗等进行了修改,增加了特殊人群便秘的治疗原则及便秘治疗药物的循证医学依据等。目前关于成年人的慢性便秘的流行病学资料较零散,本文通过复习国内外相关文献,对成年人CC的流行病学研究现状简要综述。

## 1 慢性便秘的总体患病率

由于便秘病因复杂、临床症状的个体差异性大、各研究单位对诊断标准程度的把握不同以及调查内容缺乏统一性,流行病学方面的报道结果各不相同。一项系统评价资料显示,世界各地报道的成年人慢性便秘的患病率在2.5%-79%之间<sup>[3]</sup>,最高的患病率(79%)为芬兰针对长期住院老人的调查结果。Peppas等<sup>[4]</sup>对欧洲及大洋洲人群便秘的系统评价资料指出,21份研究中超过半数显示患病率为8%-26%,长期住院的男性老人患病率高达81%。有资料显示北美CC的患病率为1.9%-27.2%,均数为14.8%<sup>[5]</sup>,诊断标准包括自述症状及罗马标准。加拿大报道的结果为2%-27%<sup>[6]</sup>。而在亚洲地区,伊朗的便秘患病率波动在1.4%-37.0%,功能性便秘(functional constipation, FC)患病率为2.4%-11.2%,最高的患病率(37%)发生在医务人员中<sup>[7]</sup>。韩国普通人群患病率分别为3%-9%<sup>[8,9]</sup>。目前文献所报道我国成年人普通人群便秘的患病率为3.19%-11.6%<sup>[10-14]</sup>。其中,向国春等<sup>[10]</sup>对重庆18岁以上社区人群使用罗马II标准调查结果为3.19%,而患病率11.6%为阚志超等使用自定义便秘诊断调查所得结果<sup>[14]</sup>。国内对功能性便秘的研究亦较多,一项多地区大样本的调查显示,FC患病率为6%<sup>[15]</sup>;上海地区18岁以上普通人群的FC患病率为2.9%<sup>[16]</sup>;Lu等<sup>[17]</sup>对台湾地区调查结果显示,FC患病率为8.5%,其中便秘型肠易激综合征患病率为2.7%;香港的FC患病率较大陆高,为14.3%<sup>[18]</sup>。

## 2 慢性便秘的年龄分布

国外大部分研究认为CC的患病率与年龄有关。Sanchez等<sup>[6]</sup>的研究指出,CC的患病率随着年龄的增长而升高,65岁以后尤为明显。一项对美国Hammond城市调查显示,50岁以后,便秘患病

率随着年龄增长缓慢递增,70岁以后,患病率显著上升<sup>[5]</sup>。在我国也有一系列关于老年人便秘的报道,其结果与国外基本一致。李增金等<sup>[19]</sup>对北京部分地区60岁以上老年人进行调查,结果显示总患病率为20.3%,60、65、70岁组与85岁组比分别为 $P<0.025$ 、 $P<0.025$ 、 $P=0.05$ 。南昌市的调查结果显示,≥60岁组患病率为8.3%,显著高于其他年龄各年龄组( $P<0.001$ )<sup>[20]</sup>。针对我国多地区的功能性便秘流行病学调查显示,60-80岁的个体患FC的可能性与30-39岁的个体相比存在明显差异,年龄大者更容易患FC<sup>[15]</sup>。目前尚缺乏对年龄的统一分类方法,有不少文献指出,年龄与便秘患病率无相关性<sup>[21-24]</sup>,年龄分组组距大可能是影响因素之一<sup>[24]</sup>。

## 3 慢性便秘的地区分布

根据目前报道的流行病学调查结果,CC的患病率地区之间有很大差异。其可能与便秘的诊断标准、调查的对象及不同年龄段选取等因素有关。Mugie等<sup>[3]</sup>报道世界各地成年人CC患病率为2.5%-79.0%;包括未成年人的统计数据:欧洲为0.7%-79.0%(中位数19.2%),大洋洲4.4%-30.7%(中位数19.7%),亚洲11.4%-32.9%(中位数10.8%),北美3.2%-45.0%(中位数16%),南美洲26.8%-28.0%,南非为29.2%。总体来看,亚洲与欧洲、大洋洲及北美洲相比,CC患病率最低。在我国,调查显示便秘的发生有明显的地域性。于普林等<sup>[25]</sup>对全国6个城市(北京、上海、广州、成都、西安、沈阳)≥60岁老年人便秘情况进行调查,结果显示北方地区患病率明显高于南方(17.5% vs 7.0%,  $P<0.01$ )。便秘的患病率还显示出城乡差别,农村患病率明显高于城市<sup>[12,17,19,26,27]</sup>,但也有少数研究显示不同结果。西安的调查结果为城市患病率(16.8%)高于农村(10.2%)<sup>[28]</sup>,沧州的结果为城市居民的便秘患病率14.5%,明显高于农村居民7.4%<sup>[29]</sup>。朱兰等<sup>[30]</sup>对全国七省(市)18984例成年女性进行功能性便秘的调查显示,城市女性FC患病率为15.2%,农村为10.4%,两地患病率差异有统计学意义。

## 4 慢性便秘的性别分布

绝大多数调查研究显示,女性CC的患病率高于男性。多数调查表明女性与男性的CC患病率比值为1.01-3.77<sup>[5,31]</sup>。墨西哥的一项Meta分析资料显示,男女的便秘患病率比例为1:3<sup>[32]</sup>。美国的调查结果显示女性总体患病率为16%,明显高

于男性的12%<sup>[33]</sup>. 国内1项多地区大样本调查研究显示, 功能性便秘女性患病率为8%, 明显高于男性的4%,  $P < 0.001$ <sup>[15]</sup>. 郭晓峰等<sup>[34]</sup>对北京地区成年人慢性便秘的调查表明男女患病率之比为1:4.59( $\chi^2 = 55.33$ ,  $P < 0.001$ ); 南昌市的调查结果表明女性患病率3.88%显著高于男性的2.16%( $P = 0.004$ ), 男女之比为1:1.8<sup>[20]</sup>. 左振魁等<sup>[35]</sup>对郑州市区8个居民小区采用罗马III标准进行调查, 年龄范围2-92岁, 结果显示女性CC患病率21.32%, 明显高于男性的15.05%, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). 一项针对北京多家医院消化内科门诊就诊的CC患者进行调查, CC患者中女性人数为男性的3.04倍, 在重度便秘CC患者中女性为男性的2.78倍<sup>[36]</sup>. 但有少数研究认为性别与CC的患病率无明显相关<sup>[11,12,21]</sup>. 熊理守等<sup>[12]</sup>对广东社区人群进行的一项调查显示, 男性患病率为3.6%, 女性患病率为4.4%, 差异无显著性( $P = 0.217$ ). 虽然在儿童便秘的研究中有文献报道男童患病率比女童高<sup>[37,38]</sup>, 但在成人便秘中尚未有类似报道.

## 5 慢性便秘的危险因素及相关因素

**5.1 性别** 以上已述女性为便秘的危险因素, 但造成CC患病率的性别差异的机制尚不明确, 可能的原因有很多. 不同性别患者就诊的意愿及是否愿意接受调查可能存在差异, 女性可能更能意识到并愿意诉说自己的症状. 加拿大一项调查显示, 通过多元回归分析, 在过去3 mo中, 自述有便秘症状的女性CC患者更愿意选择去医院就诊( $OR = 2.47$ ,  $P < 0.01$ ), 且远远高于男性患者(35.6% vs 19.5%,  $P < 0.05$ )<sup>[39]</sup>. 目前普遍认为孕激素的增加会减慢小肠及结肠转运, 导致月经周期中黄体期及妊娠期间便秘的发生. 有研究显示患有CC的女性, 与对照组对比, 常有孕激素受体过度表达<sup>[40]</sup>. 另外, 盆底功能障碍被认为是女性CC的高危因素之一, 长期用力排便亦可导致盆底功能障碍, 如压力性尿失禁、盆底器官脱垂等. 研究显示有症状的盆腔脏器脱垂的患者梗阻性便秘患病率明显高于没有脏器脱垂者<sup>[41,42]</sup>. 女性妊娠及分娩过程会造成对盆底组织的损失, 以及盆腔手术所致的盆底神经肌肉受损, 都是导致女性便秘的重要原因. 有研究显示, 盆腔手术及产程延长均是便秘的独立影响因素<sup>[43]</sup>.

**5.2 文化程度** 不少国外学者认为文化程度的高低与便秘的患病率呈负相关<sup>[44,45]</sup>, 亦有文献提出CC的患病率随受教育程度的增加而上升<sup>[33]</sup>. 国

内关于这方面的文献报道较少, 但调查结果呈现出与国外的结果基本一致, 各家结论各不相同. 熊理守等<sup>[12]</sup>对广东社区人群慢性便秘的调查显示, CC的患病率随着文化程度的升高而下降, Logistic回归分析结果显示文盲或小学文化是CC的危险因素( $OR = 2.16$ , 95%CI: 1.24-3.76). 天津市成年人慢性便秘的调查结果小学文化程度者CC患病率明显高于其他患者( $\chi^2 = 11.421$ ,  $P < 0.001$ ), 有显著差异<sup>[14]</sup>. 广州市的调查显示, 大学或以上文化者便秘患病率为4.1%, 中学文化者为3.6%, 小学或低于小学文化者为3.3%, 但三者间比较无显著性差异( $\chi^2 = 0.617$ ,  $P = 0.735$ )<sup>[46]</sup>. 也有不同结果. 沈峰等<sup>[16]</sup>对上海市社区成年居民功能性便秘进行调查, 结果显示高等教育组的患病率显著高于其他组( $\chi^2 = 27.604$ ,  $P = 0.000$ ). 造成各家调查结论不相一致的原因尚不明确, 可能与各家使用的CC诊断标准、所属地区、饮食习惯及生活方式等不同有关.

**5.3 社会经济地位** 国外有不少关于社会经济地位对CC患病率的影响, 认为经济地位的高低与便秘患病率呈负相关<sup>[44,47-49]</sup>. Bytzer等<sup>[47]</sup>对澳大利亚25-64岁成年人的调查中, 根据自定义便秘标准, 将调查对象经济地位分为5个等级, 经济地位由高到低的各阶层患病率分别为6.3%、8.7%、9.6%、10.3%、10.2%. 但国内尚未有这方面的文献报道.

**5.4 职业** 目前有不少关于职业与慢性便秘之间关系的文献, 以国内多见, 但因职业的多样性、调查内容的不统一, 各文献报道的结果不一. 阙志超等<sup>[14]</sup>对天津市的研究显示, 军人及警察CC患病率为21.3%, 显著高于其他行业人员. 北京地区的研究显示无业和离退休人员的患病率最高, 其次为工人、干部和知识分子<sup>[34]</sup>. 南昌和合肥地区的研究亦认为无业和离退休人员患病率最高, 差异有统计学意义<sup>[20,50]</sup>. 对广东社区成年人的调查中显示无业者和农民的患病率最高<sup>[12]</sup>, 但未提到差异是否有统计学意义. 杭州市城区的调查结果提示学生和医护人员的患病率最高, 分别为22.92%和28.57%, 商人最低(6.67%)<sup>[51]</sup>. 郑州市的调查结果与杭州市的相一致, 认为医护人员(28.57%)、干部(22.49%)、学生(21.33%)便秘患病率最高<sup>[35]</sup>. 总之, 各家报道均显示CC与职业之间有相关性. 其中, 表明无业人员及离退休人员CC的患病率最高的研究最多, 其次为学生及医护人员. 其原因可能与老年人CC患病率高、不良生活方式及工作学习压力大等因素有关.

## ■ 相关报道

Mugie等综述世界范围儿童和成年人便秘的患病率及其相关因素, 认为性别、年龄、社会经济地位和受教育程度在不同程度上影响了便秘的患病率.

## ■创新盘点

本文系统地阐述成年人慢性便秘的流行病学特点。

**5.5 生活方式和饮食习惯** 现报道中,关于生活方式和饮食习惯与慢性便秘的关系意见不一。饮食方面,进食较少的纤维素食物、少渣饮食、进食量少、液体摄入减少、饮用较多咖啡会增加便秘的发生<sup>[3,52-54]</sup>。魏柏等<sup>[55]</sup>认为相对于大量饮水者而言,饮水少成为便秘危险因素的OR值为1.780,饮水多少对便秘的影响有明显差异性。郑州市和合肥地区的调查均显示,嗜食辛辣饮食是慢性便秘发生的危险因素<sup>[35,50]</sup>。也有不同意见。有研究指出饮水量、粗细粮、蔬菜、鱼虾、肉、牛奶、豆制品及服用抗生素和非甾体抗炎药与便秘的发生无显著关系<sup>[11,20,34,50]</sup>。六安市及南昌市的调查均显示,喜食生蔬菜和肥肉和进食量大可降低便秘发生的危险性<sup>[11,20]</sup>。但也有文献报道纤维素的摄入及增加膳食纤维无助改善便秘情况<sup>[56]</sup>。生活方式方面,长时间静坐被认为是便秘的危险因素<sup>[17,50]</sup>,体育运动少者更容易患便秘<sup>[44]</sup>。但亦有报道指出,增加运动量有助于改善便秘<sup>[57]</sup>。

**5.6 精神心理因素** 精神心理因素是影响胃肠功能的重要因素,精神心理异常与胃肠功能性疾病相关联已是不争的事实。众多研究认为,焦虑、抑郁及生活不良事件是便秘的危险因素。Cheng等<sup>[18]</sup>的研究发现,便秘患者焦虑、抑郁积分明显高于对照组,且在女性患者更多见。上海市的调查显示焦虑及失眠是功能性便秘的危险因素,OR值分别为2.83、2.443<sup>[16]</sup>。唐伟等<sup>[11]</sup>的研究表明,慢性便秘患者焦虑自评量表及抑郁自评量表积分与对照组相比, $P$ 均 $<0.001$ ,差异有显著性。北京市的调查提出,经常精神紧张、工作疲劳、情绪不好,或曾受过重大的精神打击与便秘的发生相关联,是便秘的危险因素<sup>[34]</sup>。但是,便秘亦可作为一种躯体化症状伴随焦虑和/或抑郁等精神心理障碍的发生而出现,目前关于两者间的因果关系尚无定论。便秘可能是精神心理障碍的一个躯体化症状,亦可能是便秘导致或加重精神心理障碍。

**5.7 其他** 影响CC的因素有很多,除上述因素外,目前研究较多的还有便秘家族史、体质指数(body mass index, BMI)、烟酒史、居住环境等。较多的研究指出,有阳性便秘家族史的人群比无家族史的人群发生便秘的可能性明显升高<sup>[11,15,50]</sup>。杭州市的调查结果表明,有阳性便秘家族史是便秘的危险因素,其OR值为4.070<sup>[51]</sup>。此在儿童的慢性便秘研究中更为常见,可能与遗传因素及生活环境等有关。关于BMI与便秘

的研究亦不少,现认为在体质量超标的情况下,BMI与便秘患病率呈负相关<sup>[3,15]</sup>。广东省的调查提出,身体质量指数偏低者更倾向于发生慢性便秘,BMI $<18.5\text{ kg/m}^2$ 时的OR值为2.15,95%CI: 1.12-3.02<sup>[12]</sup>。朱兰等<sup>[30]</sup>的调查显示腰围 $\geq 80\text{ cm}$ 是成年女性功能性便秘发生的保护因素,肥胖者出现便秘的可能性更低。烟酒史对便秘的影响亦是一个研究热点,但多数研究认为烟酒史与便秘的患病率无明显相关<sup>[3,17,35]</sup>。但国内有研究提出,女性吸烟大于10支/d是慢性便秘的危险因素,OR值为4.81, $P=0.001$ ,而男性无论吸烟与否或多少都与便秘无关<sup>[34]</sup>。此为少数人的观点。另外,尚有研究提出,居住环境影响便秘的发生,生活在人口密集的社区可能增加便秘发生的风险<sup>[58]</sup>。除此之外,既往有肠道感染史、妊娠、腹部手术史、降压调脂药物的使用等均为慢性便秘的危险因素<sup>[30,35,50]</sup>。

## 6 结论

慢性便秘是世界范围内的一种常见病,其在国内外均有着较高的患病率。由于CC的临床表现及病因多样性、发病机制复杂,目前尚缺乏诊断CC的统一标准。目前在全球范围有较多关于CC的流行病学研究报道,但由于研究对象、研究方法、样本量及诊断标准等不一致,难以得到真实的CC的流行病资料。近年来,随着人们对CC的认识加深,因CC而就诊的患者越来越多,其占用的医疗资源愈加不容忽视。2013年中国慢性便秘诊治指南提出,慢性便秘的诊断主要基于症状,可借鉴罗马III标准中功能性便秘诊断标准,再次修订了CC的分级诊治流程。此对今后慢性便秘的流行病调查、诊断、治疗等有着重要指导意义。

## 7 参考文献

- 1 Gallegos-Orozco JF, Foxx-Orenstein AE, Sterler SM, Stoa JM. Chronic constipation in the elderly. *Am J Gastroenterol* 2012; 107: 18-25; quiz 26 [PMID: 21989145 DOI: 10.1038/ajg.2011.349]
- 2 Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.03.008]
- 3 Mugie SM, Benninga MA, Di Lorenzo C. Epidemiology of constipation in children and adults: a systematic review. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2011; 25: 3-18 [PMID: 21382575 DOI: 10.1016/j.bpg.2010.12.010]
- 4 Peppas G, Alexiou VG, Mourtoukou E, Falagas ME. Epidemiology of constipation in Europe and Oceania: a systematic review. *BMC Gastroenterol* 2008; 8: 5



- [PMID: 18269746 DOI: 10.1186/1471-230X-8-5]
- 5 Higgins PD, Johanson JF. Epidemiology of constipation in North America: a systematic review. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 750-759 [PMID: 15089911 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.04114.x]
- 6 Sanchez MI, Bercik P. Epidemiology and burden of chronic constipation. *Can J Gastroenterol* 2011; 25 Suppl B: 11B-15B [PMID: 22114752]
- 7 Iraj N, Keshteli AH, Sadeghpour S, Daneshpajouhnejad P, Fazel M, Adibi P. Constipation in Iran: SEPAHAN Systematic Review No. 5. *Int J Prev Med* 2012; 3: S34-S41 [PMID: 22826768]
- 8 Jeong JJ, Choi MG, Cho YS, Lee SG, Oh JH, Park JM, Cho YK, Lee IS, Kim SW, Han SW, Choi KY, Chung IS. Chronic gastrointestinal symptoms and quality of life in the Korean population. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 6388-6394 [PMID: 19009657 DOI: 10.3748/wjg.14.6388]
- 9 Jun DW, Park HY, Lee OY, Lee HL, Yoon BC, Choi HS, Hahm JS, Lee MH, Lee DH, Kee CS. A population-based study on bowel habits in a Korean community: prevalence of functional constipation and self-reported constipation. *Dig Dis Sci* 2006; 51: 1471-1477 [PMID: 16832618 DOI: 10.1007/s10620-006-9087-3]
- 10 向国春, 龙庆林, 刘利, 孙英姿, 房殿春. 重庆市人群便秘患病率流行病学研究. *重庆医学* 2004; 33: 1541-1541
- 11 唐伟, 王巧民, 李明忠, 陈久红, 张旭. 六安市慢性便秘流行病学调查. *安徽医药* 2008; 12: 426-429
- 12 熊理守, 陈曼湖, 陈惠新. 广东省社区人群慢性便秘的流行病学研究. *中华消化杂志* 2004; 24: 488-491
- 13 郭晓峰, 柯美云, 潘国宗, 韩少梅, 方秀才, 鲁素彩, 郭慧平. 北京地区成人慢性便秘整群, 分层, 随机流行病学调查及其相关因素分析. *中华消化杂志* 2002; 22: 637-638
- 14 阙志超, 姚宏昌, 龙治平, 刘之武, 韩玉山, 张志广, 王东旭, 杨强, 丁刚. 天津市成年人慢性便秘调查及相关因素分析. *中华消化杂志* 2004; 24: 612-614
- 15 Zhao YF, Ma XQ, Wang R, Yan XY, Li ZS, Zou DW, He J. Epidemiology of functional constipation and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome: the Systematic Investigation of Gastrointestinal Diseases in China (SILC). *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1020-1029 [PMID: 21848795 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04809.x]
- 16 沈峰, 周惠清, 陈光榆, 范建高, 宗春华, 王志坚, 张颖, 李定国. 上海市社区成年居民功能性便秘的流行病学调查. *中华流行病学杂志* 2012; 33: 296-300
- 17 Lu CL, Chang FY, Chen CY, Luo JC, Lee SD. Significance of Rome II-defined functional constipation in Taiwan and comparison with constipation-predominant irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 429-438 [PMID: 16842471 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2006.02949.x]
- 18 Cheng C, Chan AO, Hui WM, Lam SK. Coping strategies, illness perception, anxiety and depression of patients with idiopathic constipation: a population-based study. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 319-326 [PMID: 12895216 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01663.x]
- 19 李增金, 于普林, 时秋宽, 姜中央, 褚德法, 吕锡珠. 北京市部分地区城乡老年人便秘的现状调查. *中国老年学杂志* 2000; 20: 1-2
- 20 吕农华, 谢勇, 黄德强, 王崇文, 袁兆康, 胡锦涛, 李钢生, 熊文坚. 南昌市部分人群中慢性便秘的流行病学调查分析. *中国实用内科杂志* 2005; 25: 236-237
- 21 Chang JY, Locke GR, Schleck CD, Zinsmeister AR, Talley NJ. Risk factors for chronic constipation and a possible role of analgesics. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 905-911 [PMID: 17988275 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00974.x]
- 22 Wald A, Mueller-Lissner S, Kamm MA, Hinkel U, Richter E, Schuijt C, Mandel KG. Survey of laxative use by adults with self-defined constipation in South America and Asia: a comparison of six countries. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 274-284 [PMID: 19832728 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2009.04169.x]
- 23 Garrigues V, Gálvez C, Ortiz V, Ponce M, Nos P, Ponce J. Prevalence of constipation: agreement among several criteria and evaluation of the diagnostic accuracy of qualifying symptoms and self-reported definition in a population-based survey in Spain. *Am J Epidemiol* 2004; 159: 520-526 [PMID: 14977649 DOI: 10.1093/aje/kwh072]
- 24 Drossman DA, Li Z, Andruzzi E, Temple RD, Talley NJ, Thompson WG, Whitehead WE, Janssens J, Funch-Jensen P, Corazziari E. U.S. household survey of functional gastrointestinal disorders. Prevalence, sociodemography, and health impact. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1569-1580 [PMID: 8359066 DOI: 10.1007/BF01303162]
- 25 于普林, 李增金, 郑宏, 朱汉民, 李玺, 何钦成, 王静思, 袁凯瑜, 姜中央, 段春波. 老年人便秘流行病学特点的初步分析. *中华老年医学杂志* 2001; 20: 132-134
- 26 史红, 韩斐, 周铭心. 新疆汉族和少数民族居民慢性功能性便秘患病情况流行病学调查分析. *时珍国医国药* 2009; 20: 1872-1873
- 27 王静思, 李幼平. 成都城乡几种常见老年病流行病学调查. *中国慢性病预防与控制* 1999; 7: 267-269
- 28 李玺, 王学良. 西安城乡几种常见老年病流行病学调查. *西安医科大学学报* 1998; 19: 609-612
- 29 李梅岭, 何洪芹, 陈信, 王文进, 王健莉, 张曼丽. 沧州城乡居民便秘的流行病学调查. *现代预防医学* 2011; 38: 603-605.
- 30 朱兰, 郎景和, 王静怡, 韩少梅, 徐涛, 刘春燕, 李琳, 柯美云. 七省(市)城乡成年女性功能性便秘的流行病学调查. *中华医学杂志* 2009; 89: 2513-2515
- 31 Irvine EJ, Ferrazzi S, Pare P, Thompson WG, Rance L. Health-related quality of life in functional GI disorders: focus on constipation and resource utilization. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1986-1993 [PMID: 12190165 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05843.x]
- 32 Remes Troche JM, Remes Troche JM, Tamayo de la Cuesta JL, Raña Garibay R, Huerta Iga F, Suarez Morán E, Schmulson M. [Guidelines for diagnosis and treatment of constipation in Mexico. A) Epidemiology (meta-analysis of the prevalence), pathophysiology and classification]. *Rev Gastroenterol Mex* 2011; 76: 126-132 [PMID: 21724488]
- 33 Stewart WF, Liberman JN, Sandler RS, Woods MS, Stenham A, Chee E, Lipton RB, Farup CE. Epidemiology of constipation (EPOC) study in the United States: relation of clinical subtypes to sociodemographic features. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 3530-3540 [PMID: 10606315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01642.x]
- 34 郭晓峰, 柯美云, 潘国宗. 北京地区成年人慢性便秘流行病学调查及其相关因素分析. *基础医学与临床* 2001; 21: 106-107
- 35 左振魁, 韩佳瑞. 郑州市区居民便秘流行病学调查. *中国肛肠病杂志* 2012; 32: 50-52
- 36 吴嘉媛, 刘晓红, 刘巍, 柯美云, 方秀右. 女性慢性便秘的特点分析: 多中心横断面临床调查. *中华医学杂志*

**■应用要点**

综述国内外目前对慢性便秘流行病学特点的各家观点, 为防治便秘提供参考资料, 对临床治疗便秘有指导意义。

## ■同行评价

该课题针对便秘进行流行病学研究及综述,材料详尽,数据及统计分析客观,结果可信,结论可靠,有临床指导意义。

- 2009; 89: 1255-1258
- 37 Del Ciampo IR, Galvão LC, Del Ciampo LA, Fernandes MI. [Prevalence of chronic constipation in children at a primary health care unit]. *J Pediatr* (Rio J) 2002; 78: 497-502 [PMID: 14647731 DOI: 10.1590/S0021-75572002000600010]
- 38 Loening-Baucke V. Chronic constipation in children. *Gastroenterology* 1993; 105: 1557-1564 [PMID: 8224663 DOI: 10.1016/0016-5085(93)90166-A]
- 39 Pare P, Ferrazzi S, Thompson WG, Irvine EJ, Rance L. An epidemiological survey of constipation in canada: definitions, rates, demographics, and predictors of health care seeking. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 3130-3137 [PMID: 11721760 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.05259.x]
- 40 Xiao ZL, Pricolo V, Biancani P, Behar J. Role of progesterone signaling in the regulation of G-protein levels in female chronic constipation. *Gastroenterology* 2005; 128: 667-675 [PMID: 15765402 DOI: 10.1053/j.gastro.2004.12.001]
- 41 Varma MG, Hart SL, Brown JS, Creasman JM, Van Den Eeden SK, Thom DH. Obstructive defecation in middle-aged women. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 2702-2709 [PMID: 18340532 DOI: 10.1007/s10620-008-0226-x]
- 42 Chen GD, Hu SW, Chen YC, Lin TL, Lin LY. Prevalence and correlations of anal incontinence and constipation in Taiwanese women. *Neurourol Urodyn* 2003; 22: 664-669 [PMID: 14595611 DOI: 10.1002/nau.10067]
- 43 Perry CP. Relationship of gynecologic surgery to constipation. *J Am Assoc Gynecol Laparosc* 1999; 6: 75-78 [PMID: 9971856 DOI: 10.1016/S1074-3804(99)80045-0]
- 44 Wald A, Scarpignato C, Mueller-Lissner S, Kamm MA, Hinkel U, Helfrich I, Schuijt C, Mandel KG. A multinational survey of prevalence and patterns of laxative use among adults with self-defined constipation. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 28: 917-930 [PMID: 18644012 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2008.03806.x]
- 45 Howell SC, Quine S, Talley NJ. Low social class is linked to upper gastrointestinal symptoms in an Australian sample of urban adults. *Scand J Gastroenterol* 2006; 41: 657-666 [PMID: 16716963 DOI: 10.1080/00365520500442567]
- 46 尉秀清, 陈曼湖. 广州市居民功能性便秘流行病学调查. *胃肠病学和肝病杂志* 2001; 10: 150-151
- 47 Bytzer P, Howell S, Leemon M, Young LJ, Jones MP, Talley NJ. Low socioeconomic class is a risk factor for upper and lower gastrointestinal symptoms: a population based study in 15 000 Australian adults. *Gut* 2001; 49: 66-72 [PMID: 11413112 DOI: 10.1136/gut.49.1.66]
- 48 Wolfson CR, Barker JC, Mitteness LS. Constipation in the daily lives of frail elderly people. *Arch Fam Med* 1993; 2: 853-858 [PMID: 8111515 DOI: 10.1001/archfam.2.8.853]
- 49 Sandler RS, Jordan MC, Shelton BJ. Demographic and dietary determinants of constipation in the US population. *Am J Public Health* 1990; 80: 185-189 [PMID: 2297063 DOI: 10.2105/AJPH.80.2.185]
- 50 叶飞, 王巧民, 胡莹. 合肥地区部分健康体检人群慢性便秘调查及相关因素分析. *安徽医学* 2011; 32: 251-253
- 51 刘智勇, 杨关根, 沈忠, 何文英, 何芳, 袁玥. 杭州市城区便秘流行病学调查. *中华消化杂志* 2004; 24: 435-436
- 52 Lindberg G, Hamid SS, Malferttheiner P, Thomsen OO, Fernandez LB, Garisch J, Thomson A, Goh KL, Tandon R, Fedail S, Wong BC, Khan AG, Krabshuis JH, LeMair A. World Gastroenterology Organisation global guideline: Constipation--a global perspective. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 483-487 [PMID: 21666546 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31820fb914]
- 53 López Cara MA, Tárraga López PJ, Cerdán Oliver M, Ocaña López JM, Celada Rodríguez A, Solera Albero J, Palomino Medina MA. Constipation in the population over 50 years of age in Albacete province. *Rev Esp Enferm Dig* 2006; 98: 449-459 [PMID: 16948544 DOI: 10.4321/S1130-01082006000600006]
- 54 熊理守, 王艺霖, 陈曼湖. 慢性便秘的定义和流行病学. *临床消化病杂志* 2013; 25: 230-235
- 55 魏柏, 余保平. 大学生便秘情况的流行病学调查及危险因素分析. *胃肠病学和肝病杂志* 2006; 15: 167-169.
- 56 Voderholzer WA, Schatke W, Mühlendorfer BE, Klauser AG, Birkner B, Müller-Lissner SA. Clinical response to dietary fiber treatment of chronic constipation. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 95-98 [PMID: 8995945]
- 57 Tuteja AK, Talley NJ, Joos SK, Woehl JV, Hickam DH. Is constipation associated with decreased physical activity in normally active subjects? *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 124-129 [PMID: 15654791 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.40516.x]
- 58 Murakami K, Okubo H, Sasaki S. Dietary intake in relation to self-reported constipation among Japanese women aged 18-20 years. *Eur J Clin Nutr* 2006; 60: 650-657 [PMID: 16340942 DOI: 10.1038/sj.ejcn.1602365]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗中的临床应用

陈晓, 周平

陈晓, 周平, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科 北京市 100142

陈晓, 在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文综述由陈晓完成; 周平审核。

通讯作者: 周平, 副教授, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院肿瘤放疗科。

zhouping4946@163.com

收稿日期: 2013-05-06 修回日期: 2014-01-04

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

## Application of $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT imaging in stereotactic radiotherapy of colorectal liver metastases

Xiao Chen, Ping Zhou

Xiao Chen, Ping Zhou, Department of Radiation Oncology, the General Hospital of the Air Force, PLA, Beijing 100142, China

Correspondence to: Ping Zhou, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Radiation Oncology, the General Hospital of the Air Force, PLA, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zhouping4946@163.com

Received: 2013-05-06 Revised: 2014-01-04

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Colorectal cancer (CRC) is a common digestive malignant tumor. Liver metastasis is a frequent event in CRC patients. Although there has been a consensus about the treatment of CRC primary tumor, the treatment of CRC liver metastasis is in great dispute. Emerging recommendation is that CRC liver metastases do not absolutely indicate systemic metastasis, so patients with CRC liver metastases should be treated appropriately. A good therapeutic effect can enhance the curative effect and life quality. This article is intended to discuss the application of PET/CT in the precise radiotherapy of colorectal liver metastases.

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

Key Words: Colorectal cancer; Liver metastases; Stereotactic radiotherapy; PET/CT

Chen X, Zhou P. Application of  $^{18}\text{F}$ -FDG PET/CT imaging in stereotactic radiotherapy of colorectal liver metastases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 945-950 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/945.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.945>

## 摘要

结直肠癌是消化系统常见恶性肿瘤之一, 极易发生肝转移, 针对其原发灶的治疗日臻完善, 肝转移灶的治疗却存在较大争议, 现已证实结直肠癌发生肝转移并不等同于全身性播散, 治疗效果良好可显著延长患者生存、提高生活质量, 本文旨在总结结直肠癌肝转移病灶治疗手段的同时重点阐述放射治疗作为局部治疗手段的独具优势及PET/CT在精确放疗中的临床应用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 结直肠癌; 肝转移; 立体定向放射治疗; PET/CT

**核心提示:** 结直肠癌肝转移并不等同于全身性播散, 肝转移局部控制可显著延长患者生存、改善生活质量, PET/CT精确定位结合中国特色体部伽马刀( $\gamma$ -SBRT)治疗结直肠癌肝转移病灶效果好, 是一种值得期待的治疗方案。

陈晓, 周平. PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗中的临床应用. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 945-950 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/945.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.945>

## 0 引言

结直肠癌是消化系统常见的恶性肿瘤之一, 发病率在所有肿瘤中占第3位<sup>[1]</sup>, 据统计, 2008年全球新发病例数超过120万例, 死亡人数高达60万例<sup>[2]</sup>. 在我国结直肠癌的发病率及死亡率仅次于肺、胃、肝癌, 高居第4位, 患病人数正在逐年增加, 近几年, 每年约有10万例死于结直肠癌, 目前对于结直肠癌原发灶的治疗日臻完善与规范. 由

## ■背景资料

结直肠癌在我国高发, 肝转移是影响其生存、生活质量的关键因素, 本文旨在论述结直肠癌肝转移病灶治疗手段的同时重点阐述放射治疗作为局部治疗手段的独具优势及PET/CT在精确放疗中的临床应用。

## ■同行评议者

李革, 副教授, 延边大学附属医院



## ■研发前沿

国内外文献均已证实立体定向放射治疗针对肝转移病灶效果良好;但肝脏呼吸动度大、病灶有一定隐匿性,目前常用CT、MRI、PET/CT、PET/MRI等技术行放疗定位,各有利弊,合理选择放疗定位技术、明确病变靶区勾画范围尤为重要。

于结直肠癌极易发生肝转移,而对肝转移病灶治疗方法的选择却存较大争议<sup>[3]</sup>,全身治疗以化疗及生物靶向治疗为主,而以氟尿嘧啶为基础,联合伊立替康或奥沙利铂成为主要化疗方案。2012年结直肠癌NCCN指南更新,明确指出XELOX方案作为结直肠癌辅助化疗1类推荐方案,卡培他滨凭借其确切的疗效和良好的耐受性,单药方案提升至早期直肠癌同步放化疗1类推荐,并成为指南优选方案,对不能耐受大剂量化疗的晚期肠癌患者亦为推荐方案之一。生物靶向治疗方面也有蓬勃发展,2012年FDA批准Regorafenib和afibercept两款新药用于转移性结肠直肠癌的治疗,期间更有研究表明,即使疾病进展,使用贝伐单抗仍有生存获益。2012年ASCO会议报道的VELOUR研究III期临床试验表明预先应用贝伐单抗治疗伊立替康阿柏西普治疗奥沙利铂失败后转移性结直肠癌患者的总生存及无进展生存期可有显著受益。TML研究III期对随机分组的820例患者分别给予化疗联合/不联合贝伐单抗治疗,结果发现贝伐单抗可改善总体生存(11.2 mo vs 9.8 mo),说明贝伐单抗联合二线治疗方案有获益潜力,而且抗VEGF相关性不良反应不会随贝伐单抗治疗的延续而增加。此外,CORRECT试验将760例对标准方案无效的患者纳入研究,随机分为瑞格非尼(regorafenib)组和安慰剂组,发现瑞格非尼使得患者总生存得到改善(6.5 mo vs 5 mo, HR = 0.79, 95%CI: 0.66-0.94,  $P = 0.0038$ ),其最常见的不良反应疲劳、腹泻等可以耐受。总之,这些靶向药物为既往治疗失败的晚期结直肠癌患者提供了新的选择。另一方面,有大量研究表明,早期发现并根治结直肠癌肝转移病灶,可明显改善患者生存及生活质量,目前肝转移病灶的局部治疗手段主要包括手术、放疗、射频消融等。其中随着放疗设备的改善,定位技术的提高,放疗方案的精进,放疗效果的显著,放疗毒性的降低,使得结直肠癌肝转移病灶的放射治疗逐渐被人们所接受,2011年《NCCN结直肠癌临床实践指南》新增款目,指出对于肝脏或者肺转移病灶数目不多者,应该将放射治疗考虑在内,并推荐使用三维适形放疗、调强放疗、立体定向放射治疗。立体定向放射技术(stereotactic body radiotherapy)治疗结直肠癌全身转移病灶国内外均有报道,Ernst-Stecken等<sup>[4]</sup>、Lee等<sup>[5]</sup>、Rusthoven等<sup>[6-8]</sup>采用SBRT治疗肺转移癌在降低肺放射性损伤的同时提高了局控率和生存率,Chawla

等<sup>[9]</sup>2009使用SBRT治疗肾上腺转移瘤在良好疗效的同时未见2级或以上毒性。Kang等<sup>[10]</sup>使用中位剂量42 Gy治疗结直肠癌单器官转移病灶,3-5年局控率达到66%和24%急性1-2级毒性反应59例中发生24例,晚期4级毒性反应发生2例(3%)。与2001年Herfarth等<sup>[11]</sup>报道的疗效和毒性相比,2010年斯坦福大学的Goodman等<sup>[12]</sup>采用SBRT技术将26例肝肿瘤患者的40个病灶(19例为肝转移病灶)治疗起始剂量18 Gy,以4 Gy递增至30 Gy,中位随访时间17 mo,局部控制率77%,2年存活率50.4%,无1例出现剂量限制性毒性,其中9例出现1级急性反应,1例2级急性毒性反应,2例晚期胃肠道毒性,在提高疗效的同时降低毒性反应。可见SBRT治疗结直肠癌肝转移疗效好、毒性低。伽马刀属中国自主研发产品,极具中国特色,是一种填充式三维适形放疗技术,放大镜原理聚焦射线后在肿瘤中心形成高剂量区域,根据肿瘤深度和大小调整高剂量区域位置并决策单靶点/多靶点拟合,形成环环递增的高剂量靶区,其剂量分布有梯度大,衰减快的显著特点,使得正常组织受量较少<sup>[13]</sup>,疗效好。对于伽马刀这种精确放疗而言,定位方式的选择尤其关键,本文旨在总结结直肠癌肝转移病灶局部治疗手段的同时重点阐述PET/CT在精确放疗中的应用。

## 1 结直肠癌肝转移病灶“不得不治”

肝脏是消化系恶性肿瘤最常见的转移部位,是结直肠癌转移的第一站,多为结直肠癌原发病灶→肝静脉→肝脏→肺等这一转移模式<sup>[14]</sup>,有研究表明,结直肠癌患者超过25%确诊时伴发肝转移,通常3年内另有20%的患者会出现异时性肝转移<sup>[15]</sup>,至少50%的患者5年内出现肝转移。若肝转移瘤得不到治疗,患者1年生存率约31%,2年生存率约7.9%,4年生存率约0.9%<sup>[16,17]</sup>,相反若能得到有效治疗,肿瘤完全切除是绝对预后预测因子,日本一系列研究表明若能局部控制,其5年生存率为51%;另外一597例行结直肠癌肝转移灶的根治性切除研究报道其5年生存率为33%,10年生存率为24%,60例存活的患者中57例无瘤生存<sup>[18]</sup>。可见目前手术是结直肠癌肝转移主要治疗手段,可是一旦出现肝转移只有8%-27%的患者可能有手术机会,未能手术的其5年生存率接近0%<sup>[16,19]</sup>,转移病灶的发生和发展往往是主要致死原因。过去认为肝转移患者已属晚期,未予积极治疗,多数患者短期内死亡,

现已证实结直肠癌发生肝转移并不等同于全身性播散, 多数病例在一定时间内仅限于肝脏转移, 而且治疗效果良好可显著延长患者生存, 并能减少肝转移致腹水、肝区疼痛等生存质量下降。虽然经过化疗其中位生存时间可从6-12 mo提高到20 mo<sup>[20-24]</sup>, 但仍不能让人满意。所以我们应积极的研发针对肝转移病灶的先进的治疗措施。值得注意的是乳腺癌、胃癌、胆囊癌、胰腺癌、泌尿生殖系统肿瘤、黑色素瘤、肉瘤等肝转移病灶的切除并没取得理想的效果, 是否积极治疗存有争议, 其中机制仍不明确。

## 2 新的治疗手段“层出不穷”

近些年来, 随着人们对肝转移病灶了解的不断深入, 涌现出很多针对肝转移病灶的微创治疗方法, 如射频消融<sup>[25]</sup>、局部冷冻等, 使肝转移患者生存有所提高。随着现在放疗器械及技术的进步, 使放射治疗对于肝转移瘤的局部控制体现其独到优势, 逐渐成为一种可靠的临床治疗手段。复习国内外关于肝脏肿瘤放射治疗的文献报道, 肝癌现代放射治疗主要包括3DCRT、IMRT、IGRT和质子放疗。Kim等<sup>[26]</sup>对10例不宜手术的结直肠癌肝转移患者行三维适形放疗, 其3年生存率达40%, 局部控制率达60%, 研究表明其对小病灶的局控率要优于大病灶。王俊杰等人在实行放射性粒子组之间永久置入治疗肝转移癌方面也进行了深入的研究并取得了良好的疗效<sup>[27]</sup>, Cianni等<sup>[28]</sup>对41例结直肠癌肝转移患者进行钇-90的选择性内放射治疗(SIR-Spheres), 随访可见2例CR, 17例PR, 14例SD, 8例PD, 中位生存时间达354 d, 中位无进展生存时间279 d。

## 3 立体定向放射治疗“独树一帜”

众所周知, 肝脏属放射敏感器官, 常规放疗受正常肝组织耐量限制而达不到理想疗效, 立体定向放射治疗(stereotactic body radiation therapy, SBRT)弥补了常规放疗这一缺陷。在实现病灶最大治疗剂量的同时有效的保护周围正常组织。一项前瞻性的临床 I / II 期研究表明立体定向放射治疗原发性及转移性肝癌术后的126例患者其生活质量有所降低, 但这一暂时性的下降不能确定其临床意义, 6 mo后其生活质量水平恢复正常, 进一步表明总体缓和效益是值得期待的<sup>[29]</sup>。体部 $\gamma$ 刀是一种三维适形填充式放疗技术, 根据肿瘤深度, 调整高剂量点位置, 使射线聚焦后肿瘤中心位于高剂量区域, 平衡肿瘤体

积大小, 评估后采用单靶点或多靶点拟合方式, 形成一个环环紧扣的高剂量靶区分布, 其剂量分布特点类似于粒子植入, 治疗计划优化以后可使周边正常组织的受照范围小, 受照剂量低, 50%剂量线定义为处方剂量, 使靶区内剂量分布变化梯度增大、肿瘤中心区可获得更高剂量<sup>[30]</sup>, 这一优势使伽马刀实现立体定向放射治疗从而进入肝转移病灶治疗领域。同时有研究表明, 对于慢增殖肿瘤(如结直肠癌等), SBRT的生物学效应是常规分次放疗的3倍, 通过控制呼吸运动, 暴露的正常组织进一步减少, 更加有利于疗效的提高<sup>[26]</sup>。

## 4 目前定位手段CT“一家独大”

立体定向放射治疗由于其射线聚焦原理需要精确定位, 国产伽马刀在这一方面略有缺陷, 大多采用CT模拟定位实现, 欧洲使用SBRT治疗肺癌的建议中指出, 应结合PET-CT等先进手段进一步提供高放射剂量及精度而提高疗效并保护周围正常组织<sup>[31]</sup>。Wang等<sup>[32]</sup>研究表明通过“变形算法”等手段提高疗效及保护正常组织。Guckenberger等<sup>[33]</sup>认为二维或三维适形方法并不能满足保护正常组织的需要, 并提出现代放射治疗技术的规划和使用要在审视和使用这些技术的理论和临床数据支持的情况下, 不遗余力的提高正常组织的保护。可见运用先进技术和器械实现放射治疗的精准是全世界的共同目标。

## 5 合理采用PET/CT定位及治疗“福泽一方”

PET/CT在消化系肿瘤诊断及疗效观察中的临床价值很高, 有研究表明<sup>18</sup>FDG PET/CT可以灵敏的检测高代谢胃癌原发灶, 其敏感性可达94%, 平均标准摄取值(standardized uptake value, SUV)7.0(0.9-27.7), 除外实质较少的黏液腺癌和印戒细胞癌(其常表现低摄取或无摄取); <sup>18</sup>FDG PET/CT显像可以显示胰腺肿瘤的位置、大小、形态, 并根据病灶对<sup>18</sup>F-DG的浓聚程度鉴别良恶性, 有资料显示<sup>18</sup>F-DG PET/CT显像对胰腺癌诊断的灵敏度介于71%-100%, 平均(中位数)82%; 准确性介于85%-93%; 可见<sup>18</sup>F-DG PET/CT显像对消化系统肿瘤临床分期、判断预后、观察疗效及检测复发具有重要临床价值。<sup>18</sup>F-DG PET/CT还可以很好地判断结直肠癌肝转移情况, 灵敏度和特异性可分别达到90%和85%。过去结直肠癌的分期通常在外科医生进行腹部探查和病理医生对手术标本进行检查之后进行,

### ■ 相关报道

随着对结直肠癌肝转移机制理解的不断深入, 针对肝转移病灶的局部治疗手段层出不穷, 肝脏有其特性, 怎样选择合理治疗方法是争论焦点之一。异病同治、同病异治, 怎样实现真正的个体化治疗从而使患者最大获益是主要研究方向。



### ■创新盘点

本文就有关PET/CT在消化系统肿瘤诊断及治疗进行相关综述,客观总结各种治疗手段在结直肠癌肝转移病灶中的临床应用,结合自身研究成果,引用国内外文献支持,有一定的临床意义,科学性及可读性较强。

内镜检查和CT一直作为首选。但由于CT和超声由于结构分辨率有限,经常低估肝转移灶的发生<sup>[34]</sup>。在精确放疗主导的今天略显不足,欧洲及北美很多肿瘤放疗中心已采用PET/CT定位技术实现精确靶区勾画,我国于金明院士也早已提出“生物靶区”这一概念,复习目前文献,利用PET/CT定位实现放射治疗多以3DCRT、IMRT在头颈部、肺部肿瘤的应用为主而且使用广泛。中国特色伽马刀实现SBRT的PET/CT定位技术罕见报道。经过大量临床实践,我们体会其主要优势表现在以下方面:提供的信息要明显多于单独使用CT或单独使用PET,比较准确的鉴别PET图像中生理性与病理性放射性摄取,从而提高了病变的诊断能力,对恶性病灶的准确定位,可以为治疗提供更准确的参考信息,对手术清扫范围、放疗照射范围的界定也有很大帮助。<sup>18</sup>F-DG PET/CT对肝原发,特别是肝细胞肝癌的检出率低,但其对肝转移病灶检出率高,当转移瘤>1 cm时其检出率约为97%<sup>[35]</sup>。目前研究表明:螺旋CT以不同层厚扫描不同形状静止物体能较好体现真实体积;快速螺旋CT扫描运动物体三维重建后其体积具有随机性,同扫描时相,物体形状等有关;建议在肺癌放疗定位实践中多次扫描(至少3次)融合体积代表内靶区(ITV);其中PET生物影像能更全面反映运动物体的轨迹,能够较好地代表放射治疗计划中的ITV<sup>[36]</sup>,足见PET/CT在放疗领域应用前景广泛。PET/CT图像可指导医生GTV的勾画,在保证了PET/CT融合图像与定位图像的相对一致,减少了融合图像的误差的情况下取得良好效果<sup>[37]</sup>。我国学者对PET/CT在放射治疗定位中的应用也进行了探索,取得了一定的进展<sup>[38-40]</sup>。国外亦有采用此种方式实现局部推量的临床应用<sup>[41]</sup>。空军总医院夏廷毅等采用全身伽马刀立体定向放射治疗52例胰腺癌的原发灶的完全缓解率(complete response, CR)19.2%,部分缓解率(partial response, PR)69.2%,总有效率(CR+PR)88.4%。II-IV期1、2年总生存率分别为56.5%和23.1%。II期1、2年生存率分别为76.9%和46.7%;已超过外科手术切除的效果,明显改善了胰腺癌的局控率和生存率,建立了中国模式的全身 $\gamma$ -刀治疗胰腺癌的临床规范,在现代肿瘤放疗技术治疗胰腺癌方面取得重大进步。与此同时,在临床工作中还开展了结直肠癌肝转移病灶的伽马刀治疗,均提示疗效显著<sup>[13,30]</sup>,体部伽马刀作为中国特色的立体定向放射治疗技术,以大剂量、小分割的现

代肿瘤放射治疗模式,通过PET/CT精确定位,达到结直肠癌肝转移病灶根治性放疗,同时实现了多病灶的同步化治疗,提高治疗效果、缩短治疗时间,改善患者预后,在考虑肿瘤自身放射生物学因素外有效地保护了周围正常组织器官及其功能。实施规范化结直肠癌肝转移病灶根治放疗期间结合肿瘤组织学及生物学特性,利用合理的定位方式,在保护正常组织的基础上,尽可能给予肝转移病灶毁灭性打击。为今后真正实现肿瘤的个体化放疗奠定了一定的基础,为放射治疗的组织学、生物学计量模式改进提供了一定的依据。可见PET/CT精确定位在结直肠癌肝转移病灶立体定向放射治疗值得临床推广应用。

PET/CT在消化系统肿瘤诊断及疗效观察中的临床价值很高,主要表现在以下3个方面:提供的信息要明显多于单独使用CT或单独使用PET,比较准确的鉴别PET图像中生理性与病理性放射性摄取,从而提高了病变的诊断能力,对恶性病灶的准确定位,可以为治疗提供更准确的参考信息,对手术清扫范围、放疗照射范围的界定也有很大帮助。<sup>18</sup>F-DG PET/CT对肝原发,特别是肝细胞肝癌的检出率低,但其对肝转移病灶检出率高,当转移瘤>1 cm时其检出率约为97%<sup>[26]</sup>。目前研究表明:螺旋CT以不同层厚扫描不同形状静止物体能较好体现真实体积;快速螺旋CT扫描运动物体三维重建后其体积具有随机性,同扫描时相,物体形状等有关;建议在肺癌放疗定位实践中多次扫描(至少3次)融合体积代表ITV;其中PET生物影像能更全面反映运动物体的轨迹,能够较好地代表放射治疗计划中的内靶区(ITV)<sup>[31]</sup>,足见PET/CT在放疗领域应用前景广泛<sup>[42]</sup>。PET/CT图像可指导医生GTV的勾画,在保证了PET/CT融合图像与定位图像的相对一致,减少了融合图像的误差的情况下取得良好效果<sup>[32]</sup>。我国学者对PET/CT在放射治疗定位中的应用也进行了探索,取得了一定的进展<sup>[43-45]</sup>。国外亦有采用此种方式实现局部推量的临床应用<sup>[46]</sup>。PET/CT定位结合SBRT治疗肺癌、宫颈癌等屡见报道<sup>[47-49]</sup>,但治疗结直肠癌肝转移病灶并不多见。我们期待PET/CT精确定位指导立体定向放射治疗结直肠癌肝转移这种治疗手段有更多的数据支持,以期能为以PET/CT精确定位为依托,立体定向治疗为手段,治疗结直肠癌肝转移提供新的临床策略。



## 6 结论

肝脏是结直肠癌常见转移部位, 在治疗原发灶的同时应对肝转移病灶的诊治予以重视, 其治疗效果直接决定了患者生存及生活质量, 在全身治疗得到迅猛发展的同时, 针对肝转移灶的治疗日新月异, SBRT显现了一定的优势, 在目前CT定位主导放疗的今天, 合理采用PET/CT可减少损伤、提高疗效。可见, PET/CT精确定位结合中国特色的体部伽马刀( $\gamma$ -SBRT)治疗结直肠癌肝转移病灶不失为一种值得期待的治疗方案。此外, 需要更多的数据支持及临床研究探索其肝转移机制, 以期最终实现真正意义上的个体化治疗。

## 7 参考文献

- Jemal A, Murray T, Ward E, Samuels A, Tiwari RC, Ghafoor A, Feuer EJ, Thun MJ. Cancer statistics, 2005. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 10-30 [PMID: 15661684 DOI: 10.3322/canjclin.55.1.10]
- Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 许剑民, 钟芸诗. 结直肠癌肝转移外科治疗争议与共识. *中国实用外科杂志* 2011; 31: 991-993
- Ernst-Stecken A, Lambrecht U, Mueller R, Sauer R, Grabenbauer G. Hypofractionated stereotactic radiotherapy for primary and secondary intrapulmonary tumors: first results of a phase I/II study. *Strahlenther Onkol* 2006; 182: 696-702 [PMID: 17149575]
- Le QT, Loo BW, Ho A, Cotrutz C, Koong AC, Wakelee H, Kee ST, Constantinescu D, Whyte RI, Donington J. Results of a phase I dose-escalation study using single-fraction stereotactic radiotherapy for lung tumors. *J Thorac Oncol* 2006; 1: 802-809 [PMID: 17409963]
- Rusthoven KE, Hammerman SF, Kavanagh BD, Birtwhistle MJ, Stares M, Camidge DR. Is there a role for consolidative stereotactic body radiation therapy following first-line systemic therapy for metastatic lung cancer? A patterns-of-failure analysis. *Acta Oncol* 2009; 48: 578-583 [PMID: 19373699 DOI: 10.1080/02841860802662722]
- Rusthoven KE, Kavanagh BD, Burri SH, Chen C, Cardenes H, Chidel MA, Pugh TJ, Kane M, Gaspar LE, Scheffer TE. Multi-institutional phase I/II trial of stereotactic body radiation therapy for lung metastases. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1579-1584 [PMID: 19255320 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.6386]
- Rusthoven KE, Kavanagh BD, Cardenes H, Stieber VW, Burri SH, Feigenberg SJ, Chidel MA, Pugh TJ, Franklin W, Kane M, Gaspar LE, Scheffer TE. Multi-institutional phase I/II trial of stereotactic body radiation therapy for liver metastases. *J Clin Oncol* 2009; 27: 1572-1578 [PMID: 19255321 DOI: 10.1200/JCO.2008.19.6329]
- Chawla S, Chen Y, Katz AW, Muhs AG, Philip A, Okunieff P, Milano MT. Stereotactic body radiotherapy for treatment of adrenal metastases. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 71-75 [PMID: 19250766 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.10.079]
- Kang JK, Kim MS, Kim JH, Yoo SY, Cho CK, Yang KM, Yoo HJ, Seo YS, Lee DH, Kang HJ, Kim YH, Shin US. Oligometastases confined one organ from colorectal cancer treated by SBRT. *Clin Exp Metastasis* 2010; 27: 273-278 [PMID: 20373133 DOI: 10.1007/s10585-010-9325-0]
- Herfarth KK, Debus J, Lohr F, Bahner ML, Rhein B, Fritz P, Höss A, Schlegel W, Wannenmacher MF. Stereotactic single-dose radiation therapy of liver tumors: results of a phase I/II trial. *J Clin Oncol* 2001; 19: 164-170 [PMID: 11134209]
- Goodman KA, Wiegner EA, Maturen KE, Zhang Z, Mo Q, Yang G, Gibbs IC, Fisher GA, Koong AC. Dose-escalation study of single-fraction stereotactic body radiotherapy for liver malignancies. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 78: 486-493 [PMID: 20350791 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.08.020]
- 夏廷毅. X( $\gamma$ )线立体定向放射治疗临床应用规范和治疗进展. *中国癌症杂志* 2006; 16: 454-458
- 殷蔚伯. 肿瘤放射治疗学(第四版). 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 1207-1208
- W.斯凯波奇[德], R.S.布瑞斯利[德]. 胃肠与肝脏肿瘤. 北京: 上海科技中国中医药出版社, 2006: 346-347
- McKay A, Dixon E, Taylor M. Current role of radiofrequency ablation for the treatment of colorectal liver metastases. *Br J Surg* 2006; 93: 1192-1201 [PMID: 16983740 DOI: 10.1002/bjs.5581]
- Wood TF, Rose DM, Chung M, Allegra DP, Foshag LJ, Bilchik AJ. Radiofrequency ablation of 231 unresectable hepatic tumors: indications, limitations, and complications. *Ann Surg Oncol* 2000; 7: 593-600 [PMID: 11005558 DOI: 10.1007/BF02725339]
- Biasco G, Derenzini E, Grazi G, Ercolani G, Ravaioli M, Pantaleo MA, Brandi G. Treatment of hepatic metastases from colorectal cancer: many doubts, some certainties. *Cancer Treat Rev* 2006; 32: 214-228 [PMID: 16546323]
- Saltz LB. Metastatic colorectal cancer: is there one standard approach? *Oncology (Williston Park)* 2005; 19: 1147-1154; discussion 1154, 1147-1154; 1160 [PMID: 16255132]
- W.斯凯波奇[德], R.S.布瑞斯利[德]. 胃肠与肝脏肿瘤. 北京: 上海科技中国中医药出版社, 2006: 353-356
- Fong Y, Fortner J, Sun RL, Brennan MF, Blumgart LH. Clinical score for predicting recurrence after hepatic resection for metastatic colorectal cancer: analysis of 1001 consecutive cases. *Ann Surg* 1999; 230: 309-318; discussion 318-321 [PMID: 10493478]
- Jaffe BM, Donegan WL, Watson F, Spratt JS. Factors influencing survival in patients with untreated hepatic metastases. *Surg Gynecol Obstet* 1968; 127: 1-11 [PMID: 5657778]
- Bengmark S, Hafström L. The natural history of primary and secondary malignant tumors of the liver. I. The prognosis for patients with hepatic metastases from colonic and rectal carcinoma by laparotomy. *Cancer* 1969; 23: 198-202 [PMID: 5763253 DOI: 10.1002/1097-0142(196901)23]
- Chang AE, Schneider PD, Sugarbaker PH, Simpson C, Culnane M, Steinberg SM. A prospective randomized trial of regional versus systemic continuous 5-fluorodeoxyuridine chemotherapy in the treatment of colorectal liver metastases. *Ann Surg*

## ■应用要点

论证结直肠癌肝转移病灶不同治疗手段的同时重点阐述放射治疗作为局部治疗手段的独具优势, 及PET/CT在精确放疗中的临床应用。利用 $\gamma$ -SBRT治疗结直肠癌肝转移病灶, 可在高局控的同时改善患者生存, 其中剂量分割模式的选择尤为重要, 国内外对于结直肠癌肝转移病灶SBRT时分次剂量及总剂量仍存较大争议, 可见剂量学参数的优化仍需循证医学证据支持。

## ■同行评价

本文分析合理, 条理分明, 有临床意义, 科学性及可读性较强。

- 1987; 206: 685-693 [PMID: 2961314]
- 25 Cunningham D, Pyrhönen S, James RD, Punt CJ, Hickish TF, Heikkilä R, Johannesen TB, Starkhammar H, Topham CA, Awad L, Jacques C, Herait P. Randomised trial of irinotecan plus supportive care versus supportive care alone after fluorouracil failure for patients with metastatic colorectal cancer. *Lancet* 1998; 352: 1413-1418 [PMID: 9807987 DOI: 10.1016/S0140-6736(98)02309-5]
- 26 Kim MS, Kang JK, Cho CK, Choi CW, Seo YS, Hwang DY, Moon SM, Kang HJ, Kim YH, Kim MS, Oh N. Three-fraction stereotactic body radiation therapy for isolated liver recurrence from colorectal cancer. *Tumori* 2009; 95: 449-454 [PMID: 19856655]
- 27 王俊杰. 放射性粒子组织间永久植入治疗肝转移癌. 癌症进展 2009; 7: 286-290
- 28 Cianni R, Urigo C, Notarianni E, Saltarelli A, Salvatori R, Pasqualini V, Dornbusch T, Cortesi E. Selective internal radiation therapy with SIR-spheres for the treatment of unresectable colorectal hepatic metastases. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2009; 32: 1179-1186 [PMID: 19680720 DOI: 10.1007/s00270-009-9658-8]
- 29 Ringash J, Lockwood G, Lee M, Kim J, Dinniwell R, Brierley J, Dawson LA. Stereotactic Body Radiotherapy for Liver Malignancies: Prospective QOL Results. *International Journal of Radiation Oncology Biology Physics* 2008; 72: S499-S500 [DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.06.1460]
- 30 夏廷毅. X(γ)线立体定向放射治疗临床应用规范和诊疗进展. 中国癌症杂志 2006; 16: 454-458
- 31 De Ruyscher D, Faivre-Finn C, Nestle U, Hurkmans CW, Le Péchoux C, Price A, Senan S. European Organisation for Research and Treatment of Cancer recommendations for planning and delivery of high-dose, high-precision radiotherapy for lung cancer. *J Clin Oncol* 2010; 28: 5301-5310 [PMID: 21079134]
- 32 Wang H, Garden AS, Zhang L, Wei X, Ahamad A, Kuban DA, Komaki R, O'Daniel J, Zhang Y, Mohan R, Dong L. Performance evaluation of automatic anatomy segmentation algorithm on repeat or four-dimensional computed tomography images using deformable image registration method. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 210-219 [PMID: 18722272 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.05.008]
- 33 Guckenberger M, Sweeney RA. Reduced Normal Tissue Doses Through Advanced Technology. Re-irradiation: New Frontiers, Springer Berlin Heidelberg, 2011: 59-84 [DOI: 10.1007/174\_2010\_78]
- 34 黄定九. 内科疾病影像学内镜图谱. 上海: 上海科学技术出版社, 2011: 221-224
- 35 王荣福. PET/CT肿瘤诊断学. 北京: 北京大学出版社, 2008: 233-251
- 36 李承军, 徐利明. 肺癌放疗中活动靶区常规CT定位和PET/CT定位的模式研究比较. 中国医学物理学杂志 2011; 28: 2743-2749
- 37 李建国, 聂青, 康静波, 张丽萍, 齐文杰. PET/CT在体部γ刀定位中应用体会. 医疗卫生装备 2009; 30: 86-86
- 38 吕晓彦, 汪延明, 田军, 赵修义, 贡海, 袁光辉, 屈伟强. PET-CT在三维适形放射治疗晚期胰腺癌中的应用. 现代肿瘤医学 2011; 19: 1610-1614
- 39 任宝志, 钟立松, 袁建军, 张仟仕, 陶星. 18FDG PET/CT定位三维适形放疗结合介入治疗原发性肝癌的疗效和预后分析. 现代肿瘤医学 2011; 19: 504-507
- 40 王学涛, 于金明, 杨国仁, 等. PET-CT同机融合精度验证及在放疗靶区勾画中的应用. 中华放射肿瘤学杂志 2005; 14: 204-207
- 41 Møller DS, Khalil AA, Knap MM, Muren LP, Hoffmann L. A planning study of radiotherapy dose escalation of PET-active tumour volumes in non-small cell lung cancer patients. *Acta Oncol* 2011; 50: 883-888 [PMID: 21767188 DOI: 10.3109/0284186X.2011.581694]
- 42 王冬青, 李宝生, 陈进琥, 孙洪福, 卢洁, 郑劲松. PET/CT融合图像对Ⅲ期非小细胞肺癌精确放疗靶区和计划的影响. 中华临床医师杂志·电子版 2011; 5: 221-226
- 43 蔡亮, 张伟, 陈跃, 黄占文. 18F-FDG PET/CT与MRI在评价鼻咽癌颅底骨转移中的价值. 重庆医学 2011; 40: 771-773
- 44 胡学锋, 黄国森, 张良运, 冯彦林, 谭春明. PET/CT确定非小细胞肺癌三维适形放疗靶区的临床研究. 实用肿瘤学杂志 2011; 25: 29-32
- 45 任宝志, 钟立松, 袁建军, 张仟仕, 周玉霞, 陶星. 18FDG PET/CT定位三维适形放疗联合化疗对复发性直肠癌的疗效和预后分析. 西部医学 2010; 22: 2236-2238
- 46 Zaidi H, El Naqa I. PET-guided delineation of radiation therapy treatment volumes: a survey of image segmentation techniques. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2010; 37: 2165-2187 [PMID: 20336455 DOI: 10.1007/s00259-010-1423-3]
- 47 Chang JY, Dong L, Liu H, Starkschall G, Balter P, Mohan R, Liao Z, Cox JD, Komaki R. Image-guided radiation therapy for non-small cell lung cancer. *J Thorac Oncol* 2008; 3: 177-186 [PMID: 18303441 DOI: 10.1097/JTO.0b013e3181622bdd]
- 48 Yen TC, See LC, Chang TC, Huang KG, Ng KK, Tang SG, Chang YC, Hsueh S, Tsai CS, Hong JH, Lin CT, Chao A, Ma SY, Lin WJ, Fu YK, Fan CC, Lai CH. Defining the priority of using 18F-FDG PET for recurrent cervical cancer. *J Nucl Med* 2004; 45: 1632-1639 [PMID: 15471826]
- 49 Wang X, Xu F, Wei Y. [Advances of precise radiotherapy for lung cancer]. *Zhongguo Feiai Zazhi* 2011; 14: 894-899 [PMID: 22104227 DOI: 10.3779/j.issn.1009-3419.2011.11.12]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 针刺治疗慢性肛门直肠痛

陆 钺, 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江

陆钺, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029

薛雅红, 丁曙晴, 丁义江, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科 江苏省南京市 210001

陆钺, 南京中医药大学在读硕士研究生, 主要从事肛肠疾病方面的学习和研究。

2012南京市医学科技发展基金资助项目, No. YKK12142

作者贡献分布: 文献查阅、分析及论文写作由陆钺、薛雅红及丁曙晴完成; 丁义江审校。

通讯作者: 丁义江, 教授, 主任医师, 博士生导师, 210001, 江苏省南京市秦淮区金陵路1号, 南京中医药大学第三附属医院肛肠科。tzxhlt@sina.com

电话: 025-52276742

收稿日期: 2013-11-26 修回日期: 2014-01-12

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-08

Lu T, Xue YH, Ding SQ, Ding YJ. Treatment of chronic anorectal pain by acupuncture. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 951-955 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/951.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.951>

## 摘要

慢性肛门直肠痛是临床常见的功能性疾病, 目前对该功能性疾病的诊断和治疗仍然存在困难。其中针刺治疗具有一定的优势, 本文就针刺治疗慢性肛门直肠痛的研究进展进行综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 针刺; 镇痛; 慢性肛门直肠痛

**核心提示:** 功能性肛门直肠痛患病率逐渐增多, 且严重影响患者的生活质量。本文在文献研究的基础上总结目前治疗慢性肛门直肠痛的方法, 同时提出针刺治疗慢性肛门直肠痛的优势, 为针刺治疗慢性肛门直肠痛提供更多的依据。

陆钺, 薛雅红, 丁曙晴, 丁义江. 针刺治疗慢性肛门直肠痛. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 951-955 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/951.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.951>

## 0 引言

疼痛是一种不愉快的主观感觉, 至今尚无特异性的生理指标反映疼痛程度。鉴于疼痛给患者造成的多方面损害, 国际疼痛协会已经将疼痛作为呼吸、脉搏、血压、体温之外的第5生命体征<sup>[1]</sup>。对于疼痛的论述, 祖国医学很早就有记载, 《内经》中论述较多, 其中《举痛论》就是关于痛证的专题论著, 对疼痛的病因及产生的机制作了较详尽的探讨<sup>[2,3]</sup>。临床上慢性肛门直肠痛是一种常见得疼痛性疾病。功能性肛门直肠痛(functional anorectal pain, FARP)是发生在肛门和/或直肠的非器质性的特发性疼痛。根据功能性胃肠疾病(functional gastrointestinal disorders, FGIDs)罗马III诊断标准<sup>[4]</sup>, FARP包括慢性肛门痛和痉挛性肛门痛, 前者又分为肛提肌综

## ■背景资料

慢性肛门直肠痛是临床常见的功能性疾病, 目前对该功能性疾病的诊断和治疗仍然存在困难。目前临床发现, 针刺治疗具有一定优势。

■同行评议者  
王富春, 教授, 长春中医药大学

## Treatment of chronic anorectal pain by acupuncture

Ting Lu, Ya-Hong Xue, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding

Ting Lu, Department of TCM Surgery, the First School of Clinical Medicine, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Ya-Hong Xue, Shu-Qing Ding, Yi-Jiang Ding, National Medical Center for Colorectal Disease, the Third Affiliated Hospital, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China

Supported by: the 2011 Nanjing Medical Science and Technology Development Fund, No. YKK12142

Correspondence to: Yi-Jiang Ding, Professor, Chief Physician, Department of Anorectal Surgery, Nanjing Hospital of Traditional Chinese Medicine, 1 Jinling Road, Qinhua District, Nanjing 210001, Jiangsu Province, China. tzxhlt@sina.com

Received: 2013-11-26 Revised: 2014-01-12

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Chronic anorectal pain is a common functional anorectal disease. Currently, there are still some difficulties in diagnosing and treating this disease. Acupuncture has advantages in treating chronic anorectal pain. This article will summarize the progress in treatment of chronic anorectal pain by acupuncture.

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

Key Words: Acupuncture; Analgesia; Chronic anorectal pain



## ■研究前沿

针刺治疗慢性肛门直肠痛,从现代医学角度来说,主要从基因、分子、神经解剖结构、心理调节等多方面发挥疗效,从中医角度来说,通过通调气血、移神宁心、舒筋活络等不同角度进行。其治疗理论需要进一步的探讨,相关方法及选穴有待进一步规范。

合征和非特异性肛门直肠痛。国外大样本流行病学研究显示, FARP患病率为7.7%, 以女性多见<sup>[5]</sup>。FARP严重影响患者的生活质量, 一项研究表明11.5%的患者因疼痛而不能工作或学习<sup>[6]</sup>。本文主要讨论上述罗马III中所定义的慢性肛门直肠痛。

## 1 慢性肛门直肠痛病因

造成肛门直肠慢性疼痛原因有很多种, 在排除先天性缺陷, 局部的炎症以及各种肿瘤后, 目前主要认为的病因有盆底肌张力增高、边缘系统障碍、脑-肠轴调节异常以及神经系统疾病和术后疼痛。功能性肛门直肠痛与心理因素也有很重要的联系, 很多报道表明肛门直肠痛和心理因素包括精神压力、紧张和焦虑有关有着很大的关系, 因此对肛门直肠痛患者进行心理评估很重要。此外, 国外相关研究还指出, FARP与阴部神经病变<sup>[7]</sup>、肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)<sup>[8]</sup>、严重盆底器官脱垂、血管痉挛、肛提肌肌腱炎症<sup>[9]</sup>等因素有关。

**1.1 盆底肌张力增高** 现代医学目前认为盆底肌功能异常、盆底肌张力增高是引起FARP的主要原因。FARP患者常表现为肛管压力增高, 肌电活动增强<sup>[10]</sup>。随着对盆底的整体性认识, 肛门直肠痛属于盆底痛(泌尿生殖道、肛门直肠)的范畴, 盆底肌过度活动是引起慢性盆底痛的重要原因<sup>[11]</sup>。

**1.2 边缘系统障碍** Fenton<sup>[12]</sup>提出了边缘系统相关盆底痛假说: 边缘系统障碍会增加盆底器官疼痛感觉的传入, 引起盆底肌肉传出神经异常, 传出刺激又引起盆底肌持续收缩, 从而引起疼痛。

**1.3 脑-肠轴调节异常** 随着医学模式的改变、神经胃肠病学的发展及对脑-肠轴研究的不断深入, 社会心理因素在FGIDs发病过程中的作用已被不断重视。Drossman<sup>[13]</sup>提出了生物-心理-社会模式, 心理社会因素(生活压力、精神状态、社会支持等)可以直接导致疼痛, 也可以通过脑-肠轴引起胃肠生理学改变(动力、感觉等)而出现。躯体化、行为冲动、焦虑等都是引起疼痛的潜在因素。

## 2 慢性肛门直肠痛的治疗

FARP的诊断主要基于特殊的临床症状, 缺乏肛门直肠和盆底的病理生理学检查。临床首先通过一些检查, 如肛门直肠指诊、乙状结肠镜、排粪造影、超声、骨盆MRI, 排除引起疼痛的其

他原因(克罗恩病、肛裂、肿瘤、慢性炎症、子宫内膜异位症等, 涉及妇科、泌尿等多学科)。诊断还必须符合功能性胃肠疾病罗马III标准。目前可使用疼痛量表、盆底表面肌电评估等协助FARP的诊断。

对于FARP的治疗, 目前国内外主要治疗方法有物理治疗、口服及外用药物治疗、局部注射治疗、生物反馈治疗、骶神经刺激(sacral never stimulation, SNS)治疗、心理治疗, 以及中药、针灸治疗。通过减轻盆底肌肉张力、减少血管炎性物质等, 从肌肉、血管、神经、心理等多方面减轻疼痛。而中医多从调节情志、舒筋活络、活血化瘀等方面进行, 具体如下。

**2.1 物理治疗** (1)温水坐浴: 40℃的温水坐浴可以有效降低肛管静息压, 缓解疼痛<sup>[14]</sup>; (2)扩肛疗法: 采用手指扩肛模拟排便, 或插入栓剂的方法使肛门扩张, 括约肌松弛, 从而缓解疼痛; (3)局部按摩: 手指按摩肛提肌可以缓解疼痛<sup>[15]</sup>, Riot等<sup>[16]</sup>对101例肛提肌综合征(levator ani syndrome, LAS)患者采用尾骨肌按摩结合伴随的盆底关节功能障碍物理治疗, 72% LAS患者经过1-2个疗程后症状缓解; (4)肌肉电刺激疗法(electro galvanic muscle stimulation, EGS): 多位学者对EGS治疗LAS作了相关研究, 但没有一个属于对照研究, EGS治疗有效率在40%-91%<sup>[17]</sup>之间。

**2.2 口服及外用药物治疗** (1)口服药: 钙离子拮抗剂是临床上应用较为广泛的一类药, 硝苯地平、地尔硫卓<sup>[18]</sup>可以有效地降低内括约肌压力, 成功地缓解疼痛; 此外, 解痉药、止痛药、抗抑郁药也可治疗; (2)外用药: 局部涂抹0.3%硝酸甘油软膏的方法可以缓解疼痛, 且不会有严重的不良反应<sup>[19]</sup>; (3)吸入药: 曾有报导吸入沙丁胺醇是缓解患者剧烈疼痛的一种有效方法<sup>[20]</sup>。

**2.3 局部注射治疗** 通过在肛门不同部位注射药物, 如肉毒菌素、利多卡因等, 阻滞局部神经, 使肛门肌肉放松, 从而缓解疼痛。Katsinelos等<sup>[21]</sup>使用肛门括约肌内注射肉毒菌素A的方法治疗, 患者在治疗2 mo后疼痛症状明显减轻, 而且没有出现肛门失禁等不良反应。Takano<sup>[7]</sup>采用2%利多卡因10 mL和1.25 mg乙酸倍他米松在阴部神经分布区域内的触痛点进行神经阻滞治疗68例PF患者, 进行短期(8 wk)和长期(平均10年零3 mo)临床疗效观察, 结果显示短期组总有效率为90%, 长期组总有效率为70%。

**2.4 生物反馈治疗** 生物反馈疗法是应用电子仪器将人们意识不到的肌电、脑电、皮温、心

率、血压等体内变化转变为可以被人察觉的视听信号,通过医生指导和自我训练,让患者根据这些信号,学会控制自身不随意功能的治疗和训练方法,患者通过这种“动作-反馈-学习-再动作”的过程,逐步纠正自身的功能障碍。生物反馈疗法(biofeedback, BF)已广泛的应用于功能性肛门直肠疾病的治疗。Ger等<sup>[22]</sup>采用电刺激、生物反馈及骶尾神经阻滞治疗肛门直肠痛,治疗15 mo,随访2-36 mo, BF治疗组43%患者症状缓解,明显优于电刺激组(38%)和神经阻滞组(18%)。丁康<sup>[23]</sup>采用针灸结合生物反馈治疗功能性肛门直肠痛28例,发现远期疗效明显,而且提出生物反馈对神经和血管功能都有所改善。

**2.5 骶神经刺激治疗** 是利用介入技术将一种短脉冲刺激电流连续施加于特定的骶神经,人为激活兴奋性或抑制性神经通路,干扰异常的骶神经反射弧,进而影响与调节膀胱、尿道括约肌及盆底等骶神经支配的效应器官的行为,起到“神经调节”的作用。骶神经刺激最早从20世纪40年代开始,主要用于神经源性尿失禁治疗,后逐步应用于便秘、大便失禁的治疗。骶神经刺激治疗FAP的研究处于起步阶段,一项多中心、前瞻性研究指出SNS是能改善患者疼痛,提高生活质量<sup>[24]</sup>。

**2.6 心理治疗** FARP患者常伴随不同程度的心理问题, Carter<sup>[25]</sup>的研究发现, 500例慢性盆底痛患者中80%有心理问题,抑郁是引起疼痛最主要的原因。因此FARP的治疗应多学科合作,介入心理治疗,对于很大一部分轻度患者详细的解释和耐心的安慰可以充分有效地控制症状;若语言开导不能明显地转变患者的思想,适当使用抗抑郁、焦虑药物协助改善症状。

**2.7 中医治疗** 中医认为本病病因有情志失调、气滞血虚、中气不足等,临床多采用中药,从疏肝解郁、活血化瘀、补益中气等方面治疗。滕友荣<sup>[26]</sup>以甘麦汤为基础加减来行气解郁化痰、清肝泻火治疗本病40例,取得较好的疗效。杨向东等<sup>[27]</sup>通过补益中气治疗临床主要表现为坠胀的慢性肛门直肠痛患者58例,有效率较高。有些学者采用中药结合针刺,并配合心理疏导综合治疗慢性肛门直肠痛,大部分患者症状减轻明显<sup>[28]</sup>。

### 3 针刺治疗慢性肛门直肠痛

从丰富的针灸学文献和大量的临床实践总结资料来看,针灸具有良好的镇痛效果。如临床常见

的头痛、胃痛、胁痛、腹痛、腰痛、三叉神经痛、坐骨神经痛、痛经、手术后疼痛等,针灸都有良好的镇痛作用。针刺麻醉就是在针灸具有良好的镇痛作用基础上发展起来的,针刺并不是起到完全麻醉的作用,而是提高痛阈,即镇痛作用。由于针刺具有提高痛阈的作用,故增加了疼痛的耐受力,降低了疼痛的敏感性。针刺治疗慢性肛门直肠痛,从现代医学角度来说,主要基于针刺镇痛的机制,从基因、分子、神经解剖结构、内分泌、心理调节等多方面发挥疗效<sup>[29-37]</sup>。针刺不仅能使神经体液和免疫系统发生显著变化,还可以使刺激部位的皮肤、肌肉、乃至内脏器官的血流量和血流速度明显增加<sup>[38]</sup>,通过促进局部微循环,调节微血管的自律活动,改善微循环形态与血流动力学状况,使得针刺局部与远隔部位的血流量与血流速度发生良性变化,使病灶组织的血氧供应量增加,体液代谢加速,消除局部致痛因子,从而达到消除疼痛症状的目的。此外,针刺还可以调节交感神经的兴奋性,从而达到促进血液循环与镇痛作用<sup>[39]</sup>。从祖国医学角度来说,中医称肛门为“魄门”、“篡”,为“五脏使”,与多条经络相关:“督脉者,……其络循阴器,合篡间,绕篡后,别绕臀,……。”;“足太阳之正,别入于膂中,其一道下尻五寸,别入于肛……。”;“肾足少阴之脉:……,出膂内廉,上股内后廉,贯脊,属肾,络膀胱……。”可见,肛门部出现异常症状多与督脉、膀胱经、肾经有着密切的联系<sup>[40,41]</sup>。临床上针刺治疗慢性肛门直肠痛,常根据患者病情及整体情况遵循循经远道选穴、局部选穴、对症选穴等原则,从通调气血、移神宁心、舒筋活络等不同角度进行。

**3.1 通调气血** 针刺镇痛的机理是疏通经络、调和气血、排除气血的运行障碍。他主要是通过两种途径来实现,一是纠正和消除产生疼痛的病理因素,二是阻断痛觉的不良循环。这两者相辅相成,共同发挥作用<sup>[42]</sup>。周志杰等<sup>[43]</sup>针刺治疗肛门直肠神经痛145例,取穴:长强、大肠俞、秩边、合谷、委中,结果治愈90例,总有效率93.1%。曹建葆<sup>[44]</sup>通过针灸八髎穴治疗盆底疾病取得了良好的治疗效果。薛雅红<sup>[45]</sup>针刺八髎穴、长强,配合神庭、百会、神道、命门等督脉相关穴位以通督调神有较好的疗效。此外,长强作为治疗肛门疾病的要穴,临床上有些学者采用长强穴注射封闭治疗肛门直肠痛,可取得显著的疗效<sup>[46]</sup>。

#### ■相关报道

目前慢性肛门直肠痛的治疗中应用较多的是生物反馈和骶神经刺激,对于针灸治疗的应用相关报道较少,且偏于机制研究方面。

## ■创新盘点

在文献研究的基础上总结目前治疗慢性肛门直肠痛的方法, 进一步提出针刺治疗慢性肛门直肠痛的优势, 为针刺治疗慢性肛门直肠痛提供更多的依据。

3.2 移神宁心 一些患者对针灸存在畏惧心理或缺乏信任度, 对针灸疗效有一定影响, 应加强医患沟通, 在针灸治疗疼痛性疾病时应加内关、神门等穴以调心、宁心、移神, 从而达到有效的止痛目的<sup>[30]</sup>。肖哲等<sup>[47]</sup>以局部取穴(长强、会阴)为主, 辨证分型治疗肛门直肠神经官能症, 指出肝经湿热症, 治宜清热利湿, 配以太冲、大敦; 肝郁燥火症, 治宜清热润燥、疏肝解郁, 配以期门、三阴交、昆仑、太冲<sup>[48]</sup>; 阴虚脏燥症, 治宜滋养阴液、安神定志, 配以太溪、三阴交、神门; 心脾两虚症, 治宜补养心脾、养心安神, 配合脾俞、心俞、神门; 心阴不足症, 治宜滋阴清热、养心安神, 配以心俞、三阴交、太溪。

3.3 舒筋活络 经筋的功能并不仅仅是“主束骨而利关节”, 更重要的作用应该是概括脏腑本身内外的被膜和内膜、附着于脏腑表面的神经、血管和淋巴管、脏腑与脏腑、脏腑与体腔相互联系的各种组织的功能和作用。经筋的功能, 在外束筋骨而利关节、保护体腔内脏; 在内支撑脏腑保持一定位置、体积和容量。正因为经筋的这种分布特点, 决定了他在针刺镇痛和针刺麻醉中具有重要的临床实践应用价值<sup>[49]</sup>。

## 4 结论

针刺镇痛作为祖国传统医学的精华, 在中医理论的指导下, 结合现代医学的研究成果, 针刺治疗慢性肛门直肠痛的临床研究和应用有一定的前景, 但需要从不同的角度优化其治疗方案, 相信在不久的将来, 针刺镇痛治疗慢性肛门直肠痛会为改善疼痛患者的生活质量、提高疗效, 为治疗慢性肛门直肠痛提供新的途径。

## 5 参考文献

- 赵欣, 于布为. 疼痛机制研究进展. 上海医学 2007; 06: 462-465
- 南京中医学院医经教研组. 黄帝内经素问译释. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 1981: 4
- 滕杨, 刘峻. 内经对疼痛机制的认识. 中国临床康复 2005; 24: 191
- Bharucha AE, Wald A, Enck P, Rao S. Functional anorectal disorders. *Gastroenterology* 2006; 130: 1510-1518 [PMID: 16678564 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.064]
- Boyce PM, Talley NJ, Burke C, Koloski NA. Epidemiology of the functional gastrointestinal disorders diagnosed according to Rome II criteria: an Australian population-based study. *Intern Med J* 2006; 36: 28-36 [PMID: 16409310 DOI: 10.1111/j.1445-5994.2006.01006.x]
- Drossman DA, Li Z, Andruzzi E, Temple RD, Talley NJ, Thompson WG, Whitehead WE, Janssens J, Funch-Jensen P, Corazziari E. U.S. householder

- survey of functional gastrointestinal disorders. Prevalence, sociodemography, and health impact. *Dig Dis Sci* 1993; 38: 1569-1580 [PMID: 8359066 DOI: 10.1007/BF01303162]
- Takano M. Proctalgia fugax: caused by pudendal neuropathy? *Dis Colon Rectum* 2005; 48: 114-120 [PMID: 15690667 DOI: 10.1007/s10350-004-0736-3]
- Atkin GK, Suliman A, Vaizey CJ. Patient characteristics and treatment outcome in functional anorectal pain. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 870-875 [PMID: 21654255 DOI: 10.1007/DCR.0b013e318217586f]
- 陈少明, 于庆环. 肛肠病并发肛门直肠神经官能症. 圳中西医结合杂志 2002; 12: 366-367
- Santoro GA, Wiczorek AP, Bartram CI. *Pelvic Floor Disorders*. 1st ed. Italy: Springer Verlag, 2010
- Baranowski AP, Abrams P, Fall M. *Urogenital Pain in Clinical Practice*. New York: Informa Healthcare USA, Inc, 2008
- Fenton BW. Limbic associated pelvic pain: a hypothesis to explain the diagnostic relationships and features of patients with chronic pelvic pain. *Med Hypotheses* 2007; 69: 282-286 [PMID: 17292560 DOI: 10.1016/j.mehy.2006.12.025]
- Drossman DA. The functional gastrointestinal disorders and the Rome III process. *Gastroenterology* 2006; 130: 1377-1390 [PMID: 16678553 DOI: 10.1136/gut.45.2008.ii1]
- Ng CL. Levator ani syndrome - a case study and literature review. *Aust Fam Physician* 2007; 36: 449-452 [PMID: 17565405]
- Oyama IA, Rejba A, Lukban JC, Fletcher E, Kellogg-Spadt S, Holzberg AS, Whitmore KE. Modified Thiele massage as therapeutic intervention for female patients with interstitial cystitis and high-tone pelvic floor dysfunction. *Urology* 2004; 64: 862-865 [PMID: 15533464 DOI: 10.1016/j.urology.2004.06.065]
- Riot FM, Goudet P, Mouraux JP, Cougard P. [Levator ani syndrome, functional intestinal disorders and articular abnormalities of the pelvis, the place of osteopathic treatment]. *Presse Med* 2004; 33: 852-857 [PMID: 15387381]
- Hull TL, Milsom JW, Church J, Oakley J, Lavery I, Fazio V. Electrogalvanic stimulation for levator syndrome: how effective is it in the long-term? *Dis Colon Rectum* 1993; 36: 731-733 [PMID: 8348859 DOI: 10.1007/BF02048360]
- Boquet J, Moore N, Lhuintre JP, Boismare F. Diltiazem for proctalgia fugax. *Lancet* 1986; 1: 1493 [PMID: 2873295 DOI: 10.1016/S0140-6736(86)91521-7]
- Lowenstein B, Cataldo PA. Treatment of proctalgia fugax with topical nitroglycerin: report of a case. *Dis Colon Rectum* 1998; 41: 667-668 [PMID: 9593256 DOI: 10.1007/BF02235281]
- Wright JE. Inhaled salbutamol for proctalgia fugax. *Lancet* 1985; 2: 659-660 [PMID: 2863643 DOI: 10.1016/S0140-6736(85)90018-2]
- Katsinelos P, Kalomenopoulou M, Christodoulou K, Katsiba D, Tsolkas P, Pilpilidis I, Papagiannis A, Kapitsinis I, Vasiliadis I, Souparis T. Treatment of proctalgia fugax with botulinum A toxin. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001; 13: 1371-1373 [PMID: 11692065 DOI: 10.1097/00042737-200111000-00017]
- Ger GC, Wexner SD, Jorge JM, Lee E, Amaranath LA, Heymen S, Nogueras JJ, Jagelman DG. Evaluation and treatment of chronic intractable rectal pain-a frustrating endeavor. *Dis Colon Rectum* 1993; 36:



- 139-145 [PMID: 8425417 DOI: 10.1007/BF02051169]
- 23 丁康. 针刺结合生物反馈治疗62例功能性肛门直肠痛疗效观察. 中医药信息 2013; 30: 294-297
- 24 江从舟. 肛门直肠痛辨治体会. 江西中医药 1999; 30: 30
- 25 Carter JE. Surgical treatment for chronic pelvic pain. *JSLs* 1998; 2: 129-139 [PMID: 9876726]
- 26 滕友荣. 半甘汤治疗肛门直肠神经官能症. 中国社区医师 2002; 18: 39
- 27 杨向东, 赵向东, 岳朝驰, 陈小朝. 玄参汤加减治疗以肛门坠胀为主症的肛门直肠神经官能症58例. 结直肠肛门外科 2008; 14: 413
- 28 贺瑞清, 黄五臣. 综合疗法治疗肛门直肠神经官能症18例. 现代中西医结合杂志 2006; 15: 1513-1514
- 29 韩建中. 针刺镇痛的分子生物学机理初探. 江苏中医药 2002; 23: 27-28
- 30 王跃秀. 针刺镇痛机制的研究进展. 北京中医 2004; 23: 52-55
- 31 童基均, 朱丹华, 陈裕泉, 陈华德. 基于边缘频谱分析的针灸镇痛效果研究. 浙江大学学报工学版 2009; 43: 1214-1217
- 32 王沉. 针刺镇痛与免疫机制关系的研究. 辽宁中医杂志 2001; 28: 171-172
- 33 米晓峰, 王维峰. 针刺镇痛的机理及取穴原则探讨. 山西中医 2005; 21: 42-43
- 34 张吉, 张宁. 针刺镇痛机制的探讨. 中国针灸 2007; 27: 72-75
- 35 Zhou M, wang X R. Advances of studies on mechanisms of electroacupuncture analgesia. *World Journal of Acupuncture-moxibustion* 2007; 17: 24-30
- 36 Wang SM, Kain ZN, White P. Acupuncture analgesia: I. The scientific basis. *Anesth Analg* 2008; 106: 602-610 [PMID: 18227322]
- 37 刘慧荣, 黄臻, 吴焕淦. 针刺治疗疼痛的现状. 现代康复 2001; 5: 10-13
- 38 Sandberg M, Lindberg LG, Gerdle B. Peripheral effects of needle stimulation (acupuncture) on skin and muscle blood flow in fibromyalgia. *Eur J Pain* 2004; 8: 163-171 [PMID: 14987626 DOI: 10.1016/S1090-3801(03)00090-9]
- 39 Sandberg M, Lundeborg T, Lindberg LG, Gerdle B. Effects of acupuncture on skin and muscle blood flow in healthy subjects. *Eur J Appl Physiol* 2003; 90: 114-119 [PMID: 12827364 DOI: 10.1007/s00421-003-0825-3]
- 40 荣文舟. 现代中医肛肠病学. 第1版. 北京: 科学技术文献出版社, 2000: 301
- 41 黄仕荣. 针刺促微循环镇痛机制研究与思考. 中国中医药信息杂志 2006; 13: 97-99
- 42 李连洁. 针灸治疗疼痛病证的临床探索. 光明中医 2009; 24: 1738-1739
- 43 周志杰, 周勇, 张福会. 针刺治疗肛门直肠神经痛145例. 中国针灸 2002; 22: 768
- 44 曹建葆. 针灸八髎穴在盆底疾病中的应用举隅. 江苏中医药 2012; (5): 58-59
- 45 薛雅红. 针刺结合生物反馈治疗功能性肛门直肠痛机理的基础与临床研究. 南京中医药大学, 2010
- 46 张西平, 刘鑫. 长强穴封闭治疗肛门直肠神经官能症48例. 河南中医 2002; 22: 50
- 47 肖哲, 李灵晓. 针刺治疗肛门直肠神经官能症6例. 中国民间疗法 2007; 15: 10
- 48 周鹏, 赵仓焕, 马晓明. 从肝论治针刺镇痛. 辽宁中医杂志 2006; 33: 944-945
- 49 吴焕淦, 张仁, 口锁堂, 刘立公, 施征. 从经筋理论探讨针刺麻醉. 上海针灸杂志 2006; 25: 40-43

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# *H. pylori*对人肝正常细胞L-02的作用及其分子机制

刘丽, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉

## ■背景资料

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是一种世界范围内常见的慢性感染, 可导致不同的临床疾病, 我国是*H. pylori*感染较严重的国家之一, 亦是肝癌高发区, 研究表明*H. pylori*感染和肝病有相关性, 具体机制未明, 引起了部分学者的研究兴趣。

刘丽, 黄赞松, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021

黄赞松, 周喜汉, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院 消化内科 广西壮族自治区百色市 533000

黄衍强, 右江民族医学院微生物免疫学教研室 广西壮族自治区百色市 533000

刘丽, 在读硕士, 主要从事肝癌基础和临床研究。

广西自然科学基金资助项目, No. 桂科自0542119

广西教育厅重点课题基金资助项目, No. 桂教研重201202ZD078

广西医疗卫生重点科研课题基金资助项目, No. 桂卫重200887

作者贡献分布: 课题由黄赞松与黄衍强设计; 研究过程、数据处理、文章撰写及文献查阅由刘丽完成; 初稿修改由黄衍强完成; 终稿修改与审校由黄赞松与周喜汉负责。

通讯作者: 黄赞松, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 533000, 广西壮族自治区百色市城东路98号, 右江民族医学院消化疾病研究所附属医院消化内科. huangzansong@hotmail.com  
电话: 0776-2846532

收稿日期: 2014-01-17 修回日期: 2014-02-02

接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-08

## Effect of *Helicobacter pylori* infection on growth of normal human liver cells (L-02)

Li Liu, Zan-Song Huang, Yan-Qiang Huang, Xi-Han Zhou

Li Liu, Zan-Song Huang, Graduate College, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Zan-Song Huang, Xi-Han Zhou, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Yan-Qiang Huang, Department of Microbiology and Immunology, Youjiang Medical College for Nationalities, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 0542119; the Key Education Department Projects of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 201202ZD078; the Key Medical Scientific Research Foundation of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. 200887

Correspondence to: Zan-Song Huang, Professor, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Youjiang Medical College for Nationalities, 98 Chengxiang Road, Baise 533000, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. huangzansong@hotmail.com

Received: 2014-01-17 Revised: 2014-02-02

Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection on the growth of human

normal liver cell line-02 (L-02) and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** L-02 cells and *H. pylori* strains were cultured in vitro. CagA<sup>+</sup> and CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strains were identified by PCR. After L-02 cells were incubated with different densities of CagA<sup>+</sup> and CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strains for 24 h, MTT assay was used to detect the inhibition rate of L-02 cells, and the expression of transforming growth factor-beta type I (TβR I) in L-02 cells was detected by real-time PCR. Cells without *H. pylori* infection were used as a negative control group.

**RESULTS:** Both CagA<sup>+</sup> and CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strains significantly inhibited L-02 cell growth in a dose-dependent manner compared with the control group ( $P < 0.05$ ). At the same concentration, CagA<sup>+</sup> *H. pylori* strain had a more significant inhibitory effect on L-02 cell growth than CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strain ( $10^1$  CFU/mL:  $10.96 \pm 0.231$  vs  $4.47 \pm 0.289$ ;  $10^2$  CFU/mL:  $25.31 \pm 0.398$  vs  $5.51 \pm 0.168$ ;  $10^3$  CFU/mL:  $33.13 \pm 0.312$  vs  $10.33 \pm 0.213$ ;  $10^4$  CFU/mL:  $54.57 \pm 0.245$  vs  $17.12 \pm 0.309$ ;  $10^5$  CFU/mL:  $79.45 \pm 0.402$  vs  $25.83 \pm 0.337$ ;  $10^6$  CFU/mL:  $90.21 \pm 0.271$  vs  $32.35 \pm 0.178$ ;  $t < 0.05$  for all). Both CagA<sup>+</sup> and CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strains significantly increased the expression of TβR I in a dose-dependent manner compared with the control group. At the same concentration, CagA<sup>+</sup> *H. pylori* strain increased the expression of TβR I more significantly than CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strain ( $10^1$  CFU/mL:  $1.65 \pm 0.101$  vs  $1.11 \pm 0.110$ ;  $10^2$  CFU/mL:  $2.77 \pm 0.198$  vs  $1.20 \pm 0.203$ ;  $10^3$  CFU/mL:  $4.59 \pm 0.112$  vs  $1.59 \pm 0.134$ ;  $10^4$  CFU/mL:  $5.47 \pm 0.145$  vs  $1.99 \pm 0.331$ ;  $10^5$  CFU/mL:  $7.45 \pm 0.102$  vs  $2.65 \pm 0.268$ ;  $10^6$  CFU/mL:  $8.57 \pm 0.221$  vs  $4.57 \pm 0.161$ ;  $t < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** *H. pylori* infection inhibits the growth of L-02 cells in a dose-dependent manner, and the inhibitory effect of CagA<sup>+</sup> *H. pylori* strain was stronger than that of CagA<sup>-</sup> *H. pylori* strain. *H. pylori* infection increases the expression of TβR I in L-02 cells in a dose-dependent manner, and CagA<sup>+</sup> *H. pylori* strain increases the expression of TβR I more significantly. These findings suggest that *H. pylori* strain inhibits

## ■同行评议者

李瑜元, 教授, 主任医师, 广州市第一人民医院内科

L-02 cell proliferation possibly by altering the expression of T $\beta$ R I and disturbing the TGF- $\beta$ 1/Smad signal transduction pathway.

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

**Key Words:** *Helicobacter pylori*; CagA; L-02 cells; Transforming growth factor-beta type I

Liu L, Huang ZS, Huang YQ, Zhou XH. Effect of *Helicobacter pylori* infection on growth of normal human liver cells (L-02). *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 956-962 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/956.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.956>

## 摘要

**目的:** 研究幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)对人肝正常细胞L-02(human normal liver cell line-02)的作用及转化生长因子 $\beta$ 受体I(transforming growth factor-beta type I, T $\beta$ R I)基因表达的影响。

**方法:** 体外培养L-02细胞、*H. pylori*; PCR法鉴定CagA<sup>+</sup>*H. pylori*和CagA<sup>-</sup>*H. pylori*, 采用不同浓度的CagA<sup>+</sup>*H. pylori*和CagA<sup>-</sup>*H. pylori*作用于L-02细胞24 h, 并设不加*H. pylori*的L-02细胞为阴性对照组; MTT法检测L-02细胞抑制率, 通过Real-time PCR法检测各组T $\beta$ R I基因的表达。

**结果:** MTT法结果显示, 随着CagA<sup>+</sup>*H. pylori*、CagA<sup>-</sup>*H. pylori*浓度升高, 对L-02细胞的抑制作用增强, 与阴性对照组相比, 差别均有统计学意义( $P < 0.05$ ); 在同一浓度, CagA<sup>+</sup>*H. pylori*对细胞的抑制作用较CagA<sup>-</sup>*H. pylori*明显, 两组抑制率(%)分别为 $10^1$  CFU/mL组 $10.960 \pm 0.231$  vs  $4.470 \pm 0.289$ ;  $10^2$  CFU/mL组 $25.310 \pm 0.398$  vs  $5.510 \pm 0.168$ ;  $10^3$  CFU/mL组 $33.130 \pm 0.312$  vs  $10.330 \pm 0.213$ ;  $10^4$  CFU/mL组 $54.570 \pm 0.245$  vs  $17.120 \pm 0.309$ ;  $10^5$  CFU/mL组 $79.450 \pm 0.402$  vs  $25.830 \pm 0.337$ ;  $10^6$  CFU/mL组 $90.210 \pm 0.271$  vs  $32.350 \pm 0.178$ , 各组比较均 $t < 0.05$ ; Real-time PCR法检测中, 随着CagA<sup>+</sup>*H. pylori*、CagA<sup>-</sup>*H. pylori*浓度升高, T $\beta$ R I表达逐渐升高, 在同一浓度, CagA<sup>+</sup>*H. pylori*促T $\beta$ R I表达作用较CagA<sup>-</sup>*H. pylori*明显, 两组T $\beta$ R I相对表达量分别为 $10^1$  CFU/mL组 $1.65 \pm 0.101$  vs  $1.110 \pm 0.110$ ;  $10^2$  CFU/mL组 $2.770 \pm 0.198$  vs  $1.200 \pm 0.203$ ;  $10^3$  CFU/mL组 $4.590 \pm 0.112$  vs  $1.590 \pm 0.134$ ;  $10^4$  CFU/mL组 $5.470 \pm 0.145$  vs  $1.990 \pm 0.331$ ;  $10^5$  CFU/mL组 $7.450 \pm 0.102$  vs  $2.650 \pm 0.268$ ;  $10^6$  CFU/mL组 $8.570$

$\pm 0.221$  vs  $4.570 \pm 0.161$ , 各组比较均 $t < 0.05$ 。

**结论:** *H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞具有抑制作用并与浓度相关, 菌液浓度越高, 抑制细胞增殖作用明显, CagA<sup>+</sup>*H. pylori*的抑制作用比CagA<sup>-</sup>*H. pylori*强。*H. pylori*对L-02细胞作用后T $\beta$ R I基因表达增高并与浓度相关, CagA<sup>+</sup>*H. pylori*的影响比CagA<sup>-</sup>*H. pylori*大。*H. pylori*对L-02细胞抑制作用的可能机制是通过T $\beta$ R I基因表达改变干扰转化生长因子- $\beta$ 1/Smads信号通路传导而影响其生长。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 幽门螺杆菌; CagA; L-02细胞; 转化生长因子 $\beta$ 受体 I

**核心提示:** 现代分子生物学研究发现转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ )/Smads信号通路在肝纤维化、肝炎、肝硬化、肝癌等过程中扮演着重要角色, 是目前分子生物学的研究热点之一。本文研究发现幽门螺杆菌可通过调节转化生长因子 $\beta$ 受体I(transforming growth factor-beta type I, T $\beta$ R I)基因表达干扰TGF- $\beta$ 1/Smads信号通路传导可能是其抑制L-02细胞生长的分子机制之一。

刘丽, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. *H. pylori* 对人肝正常细胞L-02的作用及其分子机制. *世界华人消化杂志* 2014; 22(7): 956-962 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/956.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.956>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)有多种致病因子, 其中特征性致病因子细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A, CagA)是其致病机制研究热点, 研究表明低浓度CagA<sup>+</sup>*H. pylori*可促进肿瘤细胞增殖, 高浓度时则起抑制作用<sup>[1]</sup>, 新近的研究发现*H. pylori*与肝癌有相关性<sup>[2-6]</sup>, 是目前研究热点之一, 但具体机制未明。

转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ )/Smads信号通路广泛参与哺乳动物的各种病理生理过程, 转化生长因子 $\beta$ 受体I(transforming growth factor-beta type I, T $\beta$ R I)作为TGF- $\beta$ 信号通路所必须的受体, 在TGF- $\beta$ 信号传导、生物学效应等方面起重要作用。

我们的实验研究(另文报道)发现低浓度CagA<sup>+</sup>*H. pylori*具有促进肝癌细胞HepG2生长的作用, 高浓度CagA<sup>+</sup>*H. pylori*细胞毒明显, 对HepG2细胞则具有较强的细胞杀伤作用。目前关

## ■ 研发前沿

CagA作为*H. pylori*致病毒力因子的研究热点, 能干扰多种信号通路, 破坏细胞增殖与凋亡平衡, 与肝病的发生发展是否有相关性, 仍需要综合多方面研究来评价。



## ■相关报道

陈仁等研究发现CagA<sup>+</sup> *H. pylori*对人肝癌细胞HepG2细胞具有细胞毒作用, CagA<sup>-</sup> *H. pylori*对HepG2细胞生长无影响; 而Boon-yanuqomol等研究发现低浓度CagA<sup>+</sup> *H. pylori*、CagA<sup>-</sup> *H. pylori*可以促进肿瘤细胞增殖, 高浓度CagA<sup>+</sup> *H. pylori*、CagA<sup>-</sup> *H. pylori*抑制肿瘤细胞生长, CagA<sup>+</sup> *H. pylori*作用均比CagA<sup>-</sup> *H. pylori*强。

于*H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞的作用及作用分子机制研究较少, 本实验采用不同浓度CagA<sup>+</sup> *H. pylori*、CagA<sup>-</sup> *H. pylori*感染人肝正常细胞L-02细胞后观察两者对细胞增殖的影响, 并采用RT-PCR技术检测*TβR I* mRNA表达水平, 探讨*H. pylori*对正常肝细胞的作用及其作用的可能分子机制, 为进一步研究*H. pylori*与TGF-β/Smads信号通路对肝细胞的作用提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人正常肝细胞株L-02细胞购自中科院上海细胞库, 并由本实验中心传代、保存<sup>[7]</sup>。选择2012-02/2012-06在右江民族医学院附属医院胃镜室行胃镜检查并经病理诊断为胃癌、胃溃疡、胃炎患者共45例, 用胃镜活检钳采集患者胃黏膜, 进行*H. pylori*培养, 菌株经*H. pylori*快速诊断实验、过氧化氢酶实验和尿素酶实验进行鉴定<sup>[8]</sup>。改良型1640培养基(Hyclone公司), PBS缓冲液、胰酶(含0.25% EDTA)四甲基偶氮唑蓝(MTT)、二甲基亚砷(DMSO)(北京索莱宝科技有限公司), 胎牛血清(FBS, 美国GIBICO公司), CagA<sup>+</sup>基因<sup>[8]</sup>、内参β-actin基因引物(Invitrogen公司合成), *TβR I*基因引物(宝生物工程(大连)有限公司设计合成)(表1), TRIzol试剂(Invitrogen公司), Prime Script RT reagent Kit With gDNA Eraser (Perfect Real Time)(RR047A)逆转录试剂盒(TaKaRa公司), Super Real PreMix Plus(SYBR Green)(FP205-02)荧光定量预混试剂增强版试剂盒(TianGen公司)。CO<sub>2</sub>恒温培养箱MCO-18AIC(日本SANYO), 倒置显微镜(德国Leica)普通PCR仪(BIO-RAD), Real-time PCR IQ5(BIO-RAD), 紫外分光光度计(BIO-RAD)。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** L-02细胞培养于含10%FBS的改良型1640培养基(以下简称培养液)中, 置于饱和湿度、37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 2-3 d更换培养液1次, 胰酶(含0.25% EDTA)消化, 常规传代, 取对数生长期细胞进行实验。

**1.2.2 细菌鉴定、培养及菌液制备:** 参照文献<sup>[8]</sup>鉴定CagA<sup>+</sup> *H. pylori*和CagA<sup>-</sup> *H. pylori*, 分别培养后收集细菌, 用PBS缓冲液洗下菌落, 紫外分光光度计检测细菌浓度, 用培养液将菌液稀释为1.0×10<sup>6</sup> CFU/mL, 并做连续5次10倍稀释, 即1.0×10<sup>5</sup>、1.0×10<sup>4</sup>、1.0×10<sup>3</sup>、1.0×10<sup>2</sup>、1.0×10<sup>1</sup> CFU/mL。

**1.2.3 MTT法检测细胞增殖抑制率:** 取5×10<sup>3</sup>个

细胞接种于96孔板, 培养24 h后换无血清的培养液同步化处理24 h, 加入制备好的不同浓度菌液, 并设空白对照组(加等量培养液)及阴性对照组(有细胞、培养液、无菌液), 每组5个复孔, 培养24 h后, 加20 μL的5 mg/mL MTT, 继续培养4 h后弃含菌液, 加150 μL DMSO, 37℃恒温震荡10 min, 待结晶完全溶解, 在酶标仪上测定490 nm波长吸光度(absorbance, A)值, 取平均值。计算细胞增殖抑制率。公式: 细胞抑制率(inhibition rate, RI) = (对照组A值-实验组A值)/对照组A值×100%。

**1.2.4 细菌与细胞共孵育:** 调整L-02细胞浓度为1×10<sup>6</sup>个/mL, 接种到50 mL的细胞培养瓶里, 使细胞分布均匀, 置于饱和湿度、37℃、5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24 h后, 弃去原培养液, 各加入配备好的不同浓度上述菌液, 每个浓度重复3次, 作用时间为24 h。阴性对照组不加细菌, 只加等量培养液。

**1.2.5 细胞总RNA提取及逆转录反应:** 采用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 取检验合格的RNA进行逆转录反应。按PrimeScript RT reagent Kit With gDNA Eraser (Perfect Real Time)(RR047A)逆转录试剂盒说明制备cDNA。

**1.2.6 Real-time PCR法扩增*TβR I*基因:** 以cDNA为模板, β-actin为内参对照进行Real-time PCR扩增。*TβR I*基因、β-actin基因引物如表1。反应体系如下: 2×SuperReal PreMix Plus 12.5 μL, 上、下游引物(浓度10 μmol/L)各0.75 μL, cDNA(稀释4倍)1 μL, 50×ROX Reference Dye 1 μL, RNase Free dH<sub>2</sub>O 9 μL, 总体积25 μL。反应条件: 预变性95℃ 15 min 1个反应循环, 95℃ 10 s, 53.9℃ 30 s共40个反应循环, 55℃-95℃ 30 s共81个反应循环, PCR扩增结束后, 分析仪即显示标准曲线、扩增曲线和溶解曲线。按公式: 扩增倍数 = 2<sup>-ΔΔC<sub>t</sub></sup>, 计算扩增倍数。每次反应均设置空白对照。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件对数据进行分析处理; 各组计量资料数据用mean±SD表示, 两组均数比较采用*t*检验, 多组均数间比较采用单因素方差分析(one-way ANOVA)、两两比较采用SNK法, *P*<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 细菌和细胞共孵育** 正常情况下, L-02细胞在倒置显微镜下观察呈多边形, 贴壁生长, 轮廓清晰, 生长旺盛, 偶见漂浮细胞。不同浓度的CagA<sup>+</sup> *H. pylori*菌液作用于L-02细胞24 h后, L-02细胞

表 1 *CagA*<sup>+</sup>、*TβR I*、*β-actin* 基因引物序列

基因	引物序列	扩增长度(bp)
<i>CagA</i> <sup>+</sup>	上游5'-ATAATGCTAAATAGACAACCTTGAGCGA-3'	297
	下游5'-TTAGAATAATCAACAACATCACGCCAT-3'	
<i>TβR I</i>	上游5'-GCAGTAAGACATGATTCAGCCACAG-3'	190
	下游5'-CAATGGAACATCGTCGAGCAA-3'	
<i>β-actin</i>	上游5'-AAAAGCCACCCCACTTCTCT-3'	221
	下游5'-GACCAAAAGCCTTCATACATCTCA-3'	

## ■ 创新盘点

国内外未见有关于 *H. pylori* 对 L-02 细胞的作用及其分子机制这样的研究报道, 本研究发现 *H. pylori* 对人肝正常细胞 L-02 细胞具有抑制作用并与浓度相关, 菌液浓度越高, 抑制细胞增殖作用明显, *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori* 比 *CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 作用强, *H. pylori* 对 L-02 细胞作用后 *TβR I* 基因表达增高并与浓度相关, *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori* 比 *CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 影响大。

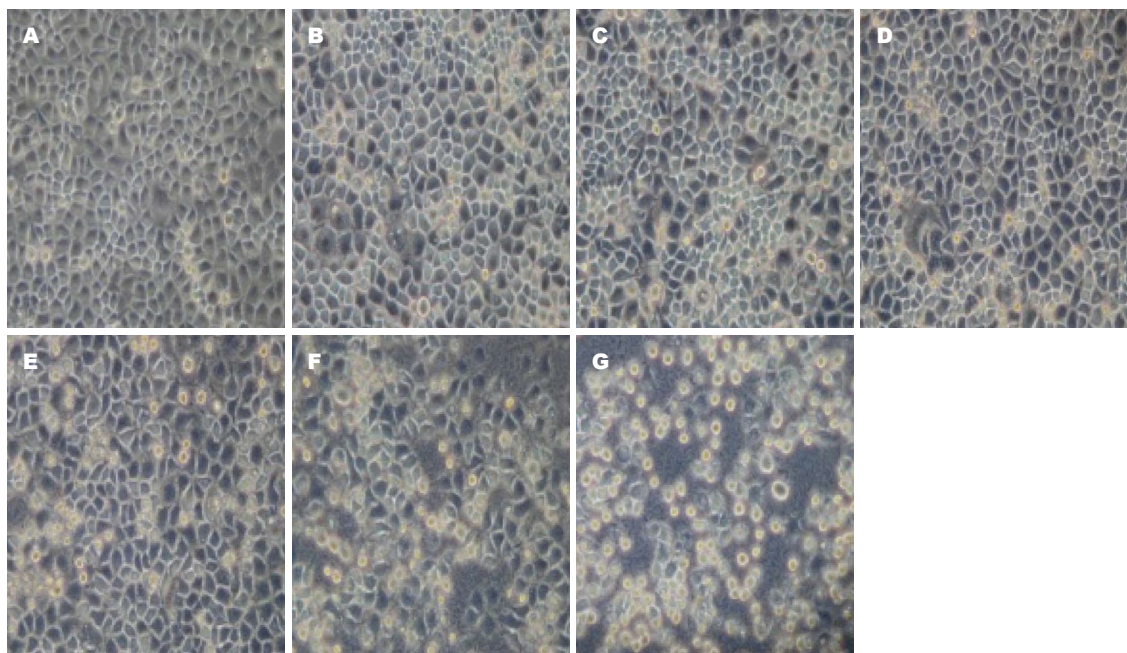


图 1 *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori* 作用 24 h 前后 L-02 细胞形态变化 ( $\times 200$ )。A: 阴性对照组; B:  $1.0 \times 10^1$  CFU/mL 组; C:  $1.0 \times 10^2$  CFU/mL 组; D:  $1.0 \times 10^3$  CFU/mL 组; E:  $1.0 \times 10^4$  CFU/mL 组; F:  $1.0 \times 10^5$  CFU/mL 组; G:  $1.0 \times 10^6$  CFU/mL 组。 *H. pylori*: 幽门螺杆菌。

从贴壁的多边形逐渐变为圆形, 折光性减弱, 随着菌液浓度升高, 细胞从瓶壁上脱落, 贴壁细胞逐渐减少, 悬浮细胞增多, 并在细胞周围出现细胞碎片, 细胞形态学的改变与菌液浓度呈正相关(图1)。 *CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 作用下的 L-02 细胞有类似形态改变, 在同一浓度, *CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 的作用比 *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori* 轻(图2)。

**2.2 *H. pylori* 对 L-02 细胞增殖的抑制作用** *H. pylori* 对 L-02 细胞增殖的抑制作用呈浓度依赖, 随着 *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori*、*CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 浓度升高, 对 L-02 细胞的抑制作用增强, 各组与对照组相比, 差别均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ); 在同一浓度, *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori* 对细胞的抑制作用较 *CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 强, 各组相比差别均有统计学意义 ( $t < 0.05$ )(表2)。

**2.3 *TβR I* mRNA 在 L-02 细胞中表达水平** Real-time PCR 结果显示: 随着 *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori*、*CagA*<sup>-</sup>

*H. pylori* 浓度升高, *TβR I* 表达逐渐升高, 在同一浓度, *CagA*<sup>+</sup> *H. pylori* 促 *TβR I* 表达作用较 *CagA*<sup>-</sup> *H. pylori* 明显, 两组 *TβR I* 相对表达量比较差别有统计学意义 ( $t < 0.05$ )(表2)。

### 3 讨论

*CagA* 蛋白是一种具有强抗原性的亲水性外膜蛋白, 是 *H. pylori* 重要的毒力因子之一<sup>[9]</sup>, 被列为来自细菌的癌蛋白<sup>[10]</sup>, 他由 *H. pylori* 致病岛 CagPAI 上的 *CagA* 基因编码, 经 IV 型分泌系统注入宿主细胞, 定位在质膜表面, 通过磷酸化与非磷酸化的方式与宿主细胞涉及调控细胞生长和运动的多种蛋白相互作用, 并且干扰多种信号通路<sup>[11-13]</sup>, 破坏细胞增殖与凋亡平衡, 导致细胞功能异常, 刺激产生炎症因子, 引起黏膜免疫损伤<sup>[14]</sup>, 相关研究表明该基因敲除可使 *H. pylori* 对细胞增殖的抑制作用消失<sup>[15,16]</sup>, 此外还在介导细胞骨架重



## ■应用要点

近年来, 人们就 *H. pylori* 致肝病机制开展的研究中取得了不少成果, 本文就 CagA<sup>+</sup> *H. pylori*、CagA<sup>-</sup> *H. pylori* 对 L-02 细胞作用及 TβR I 表达进行研究, 为 *H. pylori* 与肝脏致病提供新实验依据。

表 2 *H. pylori* 对 L-02 细胞的作用及 TβR I 的相对表达量

菌液浓度(CFU/mL)	CagA <sup>+</sup> <i>H. pylori</i>		CagA <sup>-</sup> <i>H. pylori</i>	
	抑制率(%)	TβR I 相对表达量	抑制率(%)	TβR I 相对表达量
对照组	0.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000	0.000 ± 0.000	1.000 ± 0.000
1.0 × 10 <sup>1</sup>	10.960 ± 0.231	1.650 ± 0.101	4.470 ± 0.289	1.110 ± 0.110
1.0 × 10 <sup>2</sup>	25.310 ± 0.398	2.770 ± 0.198	5.510 ± 0.168	1.200 ± 0.203
1.0 × 10 <sup>3</sup>	33.130 ± 0.312	4.590 ± 0.112	10.330 ± 0.213	1.590 ± 0.134
1.0 × 10 <sup>4</sup>	54.570 ± 0.245	5.470 ± 0.145	17.120 ± 0.309	1.990 ± 0.331
1.0 × 10 <sup>5</sup>	79.450 ± 0.402	7.450 ± 0.102	25.830 ± 0.337	2.650 ± 0.268
1.0 × 10 <sup>6</sup>	90.210 ± 0.271	8.570 ± 0.221	32.350 ± 0.178	4.570 ± 0.161

*H. pylori*: 幽门螺杆菌; TβR I: 转化生长因子β受体 I。

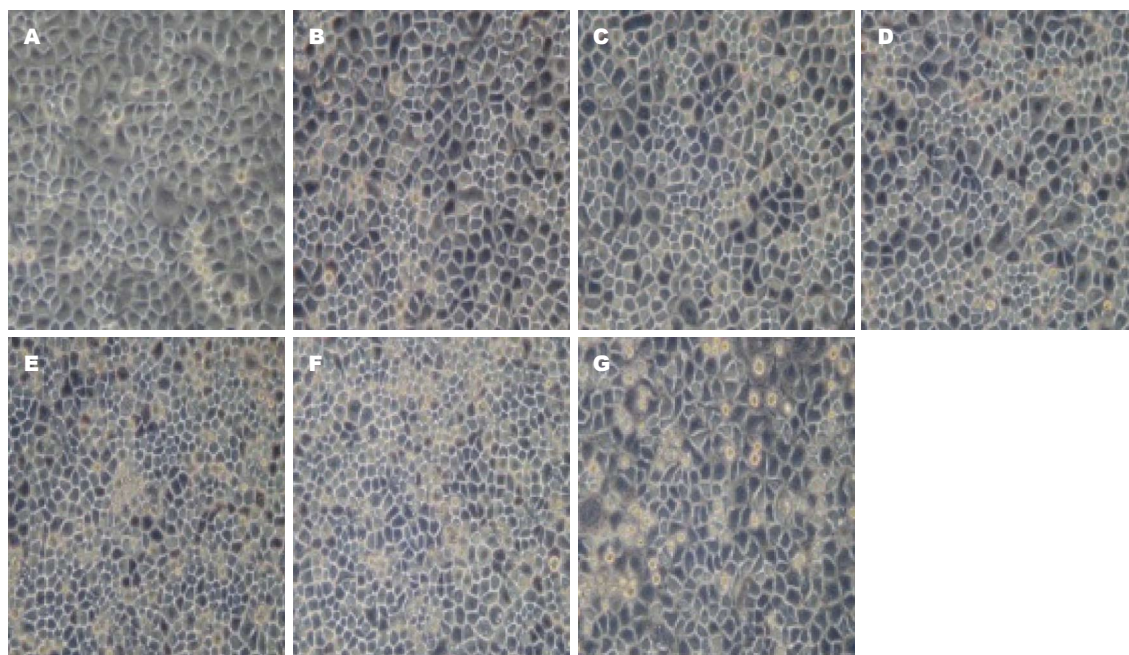


图 2 CagA<sup>-</sup> *H. pylori* 作用 24 h 前后 L-02 细胞形态变化 (× 200). A: 阴性对照组; B: 1.0 × 10<sup>1</sup> CFU/mL 组; C: 1.0 × 10<sup>2</sup> CFU/mL 组; D: 1.0 × 10<sup>3</sup> CFU/mL 组; E: 1.0 × 10<sup>4</sup> CFU/mL 组; F: 1.0 × 10<sup>5</sup> CFU/mL 组; G: 1.0 × 10<sup>6</sup> CFU/mL 组. *H. pylori*: 幽门螺杆菌。

排、浸润和程序化/反程序化死亡中起关键作用<sup>[17,18]</sup>。

TGF-β/Smads 信号通路生物学效应的发挥要通过其受体及下游信号分子 Smads, 几乎所有的细胞表面都有 TGF-β 受体, 目前与 TGF-β/Smads 信号通路相关的受体有 TβR I、TβR II、TβRIII, TβR I 不能单独与 TGF-β 自由结合, TβR II 能够单独结合 TGF-β, 一般是活化的 TGF-β 首先和 TβR II 结合后构象发生改变, 才能被 TβR I 识别并与之结合形成异四聚体, 由 TβR II 将 TβR I 彻底活化, TβR I 活化是整个通路的起点. TβR I 表达异常, 则会导致信号通路异常, 生物学效应发生变化. 已有研究表明 CagA<sup>+</sup> *H. pylori* 可以激活 NF-κB 信号通路、Wnt/β-连环蛋

白(β-catenin)信号通路等<sup>[11-13]</sup>, 目前 *H. pylori* 与 TGF-β/Smads 信号通路之间有无关联, 尚无相关报道, 我们的研究旨在通过 CagA<sup>+</sup> *H. pylori*、CagA<sup>-</sup> *H. pylori* 感染 L-02 细胞后观察细胞增殖情况及检测 TβR I 表达量的变化, 以了解 *H. pylori* 对肝细胞的作用以及与 TGF-β/Smads 信号通路之间有无关系。

L-02 细胞为人肝正常细胞株, 其生物学特性和细胞状态相对稳定, 细胞周期短、繁殖快、繁殖传代时间长(可达 60 多代)<sup>[19]</sup>, 本实验采用体外培养 L-02 细胞, MTT 法检测不同浓度的 CagA<sup>+</sup> *H. pylori*、CagA<sup>-</sup> *H. pylori* 对 L-02 细胞增殖作用的影响, 发现 *H. pylori* 对 L-02 细胞增殖的抑制作用呈浓度依赖, 随着 *H. pylori* 浓度升高, 对 L-02



细胞的抑制作用增强;在同一浓度,  $\text{CagA}^+$  *H. pylori*对细胞的抑制作用较 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*强,此实验现象说明*H. pylori*感染可以诱导正常肝细胞增殖紊乱而引发细胞病变,既往有研究表明,  $\text{CagA}$ 是抑制细胞增殖所必须的因子<sup>[20]</sup>,陈仁等<sup>[21]</sup>研究发现 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*不影响肝癌细胞HepG2生长,而 $\text{CagA}^+$  *H. pylori*对HepG2细胞具有明显的体外细胞毒作用,毒性与 $\text{CagA}^+$  *H. pylori*浓度和作用时间呈正相关。但多项实验与临床研究表明*H. pylori*感染致病不是一种因素作用的结果,而是其多种致病因素整体作用及细菌与宿主细胞相互影响的综合结局<sup>[22-26]</sup>。

$\text{CagA}^+$  *H. pylori*、 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*感染L-02细胞24 h后,通过Real-time PCR法检测*TβR I*基因的表达情况,结果显示随着 $\text{CagA}^+$  *H. pylori*、 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*浓度升高, *TβR I*表达逐渐上调升高;在同一浓度,两组*TβR I*相对表达量比较 $t < 0.05$ 。说明 $\text{CagA}^+$  *H. pylori*促*TβR I*表达作用较 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*明显,这提示*H. pylori*可能通过调节*TβR I*的表达而影响TGF-β/Smads信号通路,  $\text{CagA}$ 在其中有着举足轻重的作用,张亚南等<sup>[27]</sup>研究提示*CagA*基因是诱导细胞表达IL-8 mRNA的重要因子,但并非是唯一因素,验证了*H. pylori*感染宿主致病机制的复杂性。菌株之间毒力因子基因差异会影响*H. pylori*感染宿主导致的疾病<sup>[28]</sup>,至于 $\text{CagA}^+$  *H. pylori*、 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*作用机制是否存在差别,仍须进一步研究。

总之, *H. pylori*对人肝正常细胞L-02细胞具有抑制作用并与浓度相关,菌液浓度越高,抑制L-02细胞增殖作用明显。 $\text{CagA}^+$  *H. pylori*抑制细胞的作用比 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*强。*H. pylori*对L-02细胞作用后*TβR I*基因表达增高并与浓度相关,  $\text{CagA}^+$  *H. pylori*的影响比 $\text{CagA}^-$  *H. pylori*大。*H. pylori*对L-02细胞抑制作用的可能机制是通过*TβR I*基因表达改变干扰TGF-β1/Smads信号通路传导而影响其生长。*H. pylori*处理前后对L-02细胞的作用,涉及细胞增殖、凋亡;基因表达调控;信号传导等众多关键事件,作用过程复杂,其确切作用和分子机制仍需进一步实验和临床观察研究与证实。

#### 4 参考文献

- Boonyanugomol W, Chomvarin C, Baik SC, Song JY, Hahnvajanawong C, Kim KM, Cho MJ, Lee WK, Kang HL, Rhee KH, Sripa B. Role of cagA-positive *Helicobacter pylori* on cell proliferation, apoptosis, and inflammation in biliary cells. *Dig Dis Sci* 2011;

- 56: 1682-1692 [PMID: 21181444 DOI: 10.1007/s10620-010-1512-y]
- 孙东明, 崔群, 强新. 原发性肝癌组织中螺杆菌相关基因的检测. *齐鲁医学杂志* 2009; 24: 391-396
- 覃月秋, 黄赞松. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌研究进展. *右江民族医学院学报* 2011; 33: 514-515
- 张福星, 张思宇, 苏国强, 陈燕凌, 林旭. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌侵袭转移的关系. *临床肿瘤学杂志* 2010; 15: 123-126
- 陈仁, 陈小苹, 林炳亮, 曹会娟, 林秋雄. 肝癌患者肝组织中螺杆菌感染研究. *南方医科大学学报* 2010; 30: 1028-1030
- 覃月秋, 黄赞松. 幽门螺杆菌感染与原发性肝癌相关性研究. *中国医药科学* 2011; 1: 47-49
- 向发良, 黄赞松, 黄衍强, 周喜汉. 苦参素对人肝正常细胞L02影响的实验研究. *右江民族医学院学报* 2013; 35: 6-9
- 黄衍强, 欧平, 周喜汉, 黄赞松, 李晓华, 岑朝.  $\text{CagA}$ 及*VacA*幽门螺杆菌对克拉霉素的耐药性突变分析. *山东医药* 2010; 50: 37-39
- Al-Ghoul L, Wessler S, Hundertmark T, Krüger S, Fischer W, Wunder C, Haas R, Roessner A, Nauermann M. Analysis of the type IV secretion system-dependent cell motility of *Helicobacter pylori*-infected epithelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 860-866 [PMID: 15336542 DOI: 10.1016/j.bbrc.2004.07.199]
- 管张燕.  $\text{cagA}$ 转基因小鼠模型的建立及致病机制的初步研究. 中国人民解放军军事医学科学院, 2011
- Tomimori K, Uema E, Teruya H, Ishikawa C, Okudaira T, Senba M, Yamamoto K, Matsuyama T, Kinjo F, Fujita J, Mori N. *Helicobacter pylori* induces CCL20 expression. *Infect Immun* 2007; 75: 5223-5232 [PMID: 17724069 DOI: 10.1128/IAI.00731-07]
- Franco AT, Israel DA, Washington MK, Krishna U, Fox JG, Rogers AB, Neish AS, Collier-Hyams L, Perez-Perez GI, Hatakeyama M, Whitehead R, Gaus K, O'Brien DP, Romero-Gallo J, Peek RM. Activation of beta-catenin by carcinogenic *Helicobacter pylori*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005; 102: 10646-10651 [PMID: 16027366 DOI: 10.1073/pnas.0504927102]
- Murata-Kamiya N, Kurashima Y, Teishikata Y, Yamahashi Y, Saito Y, Higashi H, Aburatani H, Akiyama T, Peek RM, Azuma T, Hatakeyama M. *Helicobacter pylori*  $\text{CagA}$  interacts with E-cadherin and deregulates the beta-catenin signal that promotes intestinal transdifferentiation in gastric epithelial cells. *Oncogene* 2007; 26: 4617-4626 [PMID: 17237808 DOI: 10.1038/sj.onc.1210251]
- 潘小炎, 黄赞松, 王小谷, 覃志坚, 李壮, 陶箭. 幽门螺杆菌*CagA*相关胃炎与IL-8、IL-6及TNF-α关系的探讨. *广西医科大学学报* 2003; 20: 39-41
- 黄志刚. 幽门螺杆菌细胞毒素相关基因A蛋白( $\text{CagA}$ )致病的分子机制研究. 郑州大学, 2007
- 黄赞松, 唐国都, 王超. 幽门螺杆菌毒力因子基础与临床研究进展. *右江民族医学院学报* 2003; 25: 122-124
- Tatemichi M, Hamada GS, Nishimoto IN, Kowalski LP, Iriya K, Rodrigues JJ, Tsugane S. Ethnic difference in serology of *Helicobacter pylori*  $\text{CagA}$  between Japanese and non-Japanese Brazilians for non-cardia gastric cancer. *Cancer Sci* 2003; 94: 64-69 [PMID: 12708476]
- Deguchi R, Mine T, Miwa T, Takagi A. [ $\text{cag PAI}$  and gastric carcinogenesis-association with p53 gene mutation]. *Nihon Rinsho* 2003; 61: 41-45 [PMID: 12607313 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2003.tb01353.x]

#### ■同行评价

本文内容新颖, 条理清晰, 研究目的明确, 研究设计科学, 方法先进, 结果可靠, 具有一定的可读性、科学性和临床应用的价值。

- 19 么崇正, 唐伟松, 高维生, 栗岩, Poston G. 正常肝细胞传代培养和生物学特性研究. 中华外科杂志 1992; 30: 475-477
- 20 黄志刚, 宋春花, 范清堂, 段广才. 幽门螺杆菌CagA基因对胃癌细胞影响. 中国公共卫生 2007; 22: 463-465
- 21 陈仁, 范学工, 黄燕, 李宁, 陈朝晖. 幽门螺杆菌对肝癌细胞HepG2的体外细胞毒作用. 癌症 2004; 23: 44-49
- 22 Schneider N, Krishna U, Romero-Gallo J, Israel DA, Piazzuelo MB, Camargo MC, Sicinski LA, Schneider BG, Correa P, Peek RM. Role of Helicobacter pylori CagA molecular variations in induction of host phenotypes with carcinogenic potential. *J Infect Dis* 2009; 199: 1218-1221 [PMID: 19278338 DOI: 10.1086/597416]
- 23 Kitadai Y. Cancer-stromal cell interaction and tumor angiogenesis in gastric cancer. *Cancer Microenviron* 2010; 3: 109-116 [PMID: 20020278 DOI: 10.1007/s12307-009-0032-9]
- 24 Li WQ, Zhang L, Ma JL, Zhang Y, Li JY, Pan KF, You WC. Association between genetic polymorphisms of DNA base excision repair genes and evolution of precancerous gastric lesions in a Chinese population. *Carcinogenesis* 2009; 30: 500-505 [PMID: 19147860 DOI: 10.1093/carcin/bgp018]
- 25 Peleteiro B, Lunet N, Barros R, La Vecchia C, Barros H. Factors contributing to the underestimation of Helicobacter pylori-associated gastric cancer risk in a high-prevalence population. *Cancer Causes Control* 2010; 21: 1257-1264 [PMID: 20373011 DOI: 10.1007/s10552-010-9553-2]
- 26 Hsu PI, Hwang IR, Cittelly D, Lai KH, El-Zimaity HM, Gutierrez O, Kim JG, Osato MS, Graham DY, Yamaoka Y. Clinical presentation in relation to diversity within the Helicobacter pylori cag pathogenicity island. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 2231-2238 [PMID: 12358238]
- 27 张亚南, 黄柳桓, 康熙雄. 幽门螺杆菌毒力蛋白CagA诱导AGS细胞IL-8 mRNA表达的研究. 中国实验诊断学 2012; 16: 571-574
- 28 黄赞松, 唐国都, 王超, 李素艳, 姜海行. 广西人上消化道疾病患者幽门螺杆菌cagA基因检测及其临床意义. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1831-1834

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化

熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁

熊喜峰, 刘志河, 沈雁, 暨南大学医学院附属广州市红十字会医院 广东省广州市 510220

熊喜峰, 刘志河, 沈雁, 广州市创伤外科研究所 广东省广州市 510220

刘文丹, 广州医科大学第四医院肿瘤血液内科 广东省广州市 511440

马宁芳, 广州医科大学基础学院组织学与胚胎学教研室 广东省广州市 510182

熊喜峰, 硕士, 研究实习员, 主要从事消化系统疾病发生机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81272222

广东省科技计划基金资助项目, No. 2011B031300026

作者贡献分布: 熊喜峰与刘志河对此文所作贡献均等; 此课题由熊喜峰、刘志河、刘文丹、马宁芳及沈雁设计; 研究过程由熊喜峰、刘志河、刘文丹、马宁芳及沈雁操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由刘文丹提供; 数据分析由熊喜峰与沈雁完成; 本论文写作由熊喜峰、刘志河及马宁芳完成。

通讯作者: 刘志河, 研究员, 510220, 广州市海珠区同福中路396号, 广州市创伤外科研究所. zliu0731@163.com

电话: 020-34403732

收稿日期: 2013-11-25 修回日期: 2014-01-02

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

## Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis in mice

Xi-Feng Xiong, Zhi-He Liu, Wen-Dan Liu,  
Ning-Fang Ma, Yan Shen

Xi-Feng Xiong, Zhi-He Liu, Yan Shen, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Jinan University, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China

Xi-Feng Xiong, Zhi-He Liu, Yan Shen, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China

Wen-Dan Liu, Department of Hematological Oncology, the Fourth Affiliated Hospital of Guangzhou Medical University, Guangzhou 511440, Guangdong Province, China

Ning-Fang Ma, Department of Histology and Embryology, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510182, Guangdong Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272222; and Guangdong Province Science and Technology Plan Projects, No. 2011B031300026

Correspondence to: Zhi-He Liu, Researcher, Guangzhou Institute of Traumatic Surgery, Guangzhou Red Cross Hospital, Medical College, Jinan University, 396 Tongfu Middle Road, Haizhu District, Guangzhou 510220, Guangdong Province, China. zliu0731@163.com

Received: 2013-11-25 Revised: 2014-01-02

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To assess the application of virtual touch

tissue quantification (VTQ) in the diagnosis of liver fibrosis in mice.

**METHODS:** Forty male mice were randomly divided into control, CCl<sub>4</sub>-1 wk, CCl<sub>4</sub>-4 wk and CCl<sub>4</sub>-8 wk groups. At different time points, VTQ value was calculated, and aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), collagen IV (IV-C), hyaluronic acid (HA) and laminin (LN) were measured. Liver tissues were taken for pathological analysis.

**RESULTS:** HE staining indicated that the 1-wk group showed a small amount of necrosis and inflammatory cell infiltration; the 4-wk group showed significant hepatocyte ballooning degeneration and some necrosis; the 8-wk group showed a large amount of inflammatory cell infiltration and abnormal lobular structure; and the control group had normal lobular architecture. Compared with the control group with a few collagen fibers in the vessel wall, the number of collagen fibers increased significantly in the 1-, 4- and 8-wk groups. The fibrous septa was obvious in the 4-wk group and pseudolobule formation with proliferated collagen fibers was present in the 8-wk group. Compared with the control group, AST, ALT, IV-C, LN and HA showed no significant differences in the 1-wk group ( $P > 0.05$ ), but were significantly different in the 4- and 8-wk groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ). VTQ value showed no significant difference between the control group and 1-wk group ( $P > 0.05$ ), but differed significantly between the control group and 4- and 8-wk groups ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** VTQ can be used as a new method for the diagnosis of liver fibrosis.

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

**Key Words:** Virtual touch tissue quantification; Liver fibrosis; CCl<sub>4</sub>; Mouse

Xiong XF, Liu ZH, Liu WD, Ma NF, Shen Y. Application of virtual touch tissue quantification to diagnose liver fibrosis

## ■背景资料

我国是肝病大国, 肝纤维化是肝硬化、肝癌发生发展的必经病理过程, 在肝纤维化阶段可以逆转, 要预防肝硬化、肝癌的发生, 就必须针对肝纤维化有正确的诊断, 而传统的检测方法肝活检, 因存在局限性, 因此亟需寻找一个有效的非创伤性诊断方法来评估肝纤维化程度。

## ■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科



## ■ 研发前沿

应用声触诊量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)在小鼠肝纤维化成模过程中进行检测,初步研究其是否能够作为诊断肝纤维化的有效手段,寻求无创的诊断方法来评估肝纤维化程度。在临床上建立诊断人肝纤维化分期相对应VTQ值的范围,从而建立简便易行和准确性高的诊断体系,使肝纤维化的无创性诊断迈上一个新的台阶。

in mice. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 963-968  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/963.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.963>

## 摘要

**目的:** 声触诊量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)在小鼠肝纤维化诊断中的实验研究。

**方法:** 40只小鼠随机分成对照组、CCl<sub>4</sub> 1 wk组、CCl<sub>4</sub> 4 wk组和CCl<sub>4</sub> 8 wk组。于造模时间点测定VTQ测量值(Vs值);检测门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、IV型胶原(IV collagen, IV-C)、透明质酸(hyaluronic acid, HA)和层粘连蛋白(laminin, LN)的变化;制作肝组织石蜡切片,观察病理学变化。

**结果:** HE染色显示对照组肝小叶结构正常;1 wk时可见肝细胞少量坏死,炎症细胞少量浸润;4 wk时肝细胞气球样变明显,可见不同程度碎屑坏死;8 wk时正常肝小叶结构消失,大量炎症细胞浸润。Masson染色显示对照组仅在中央静脉壁上少量绿色胶原纤维;1 wk时中央静脉及汇管区可见绿色胶原纤维;4 wk时胶原纤维间隔较明显;8 wk时大量增生的胶原纤维包绕、分割成大小不等的假小叶。血清学AST、ALT、IV-C、LN及HA检测比较:1 wk组与对照组无差别( $P>0.05$ ),4 wk组、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P<0.01$ ,  $P<0.001$ )。VTQ测量值(VTQ value, Vs)显示1 wk组与对照组无差别( $P>0.05$ );4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P<0.001$ )。

**结论:** 与组织病理学及血清学检测一样,声触诊量化技术也可作为一种新手段在诊断肝纤维化动态变化中提供一定的参考价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 声触诊组织量化技术;肝纤维化;四氯化碳;小鼠

**核心提示:** 本文通过小鼠肝纤维化模型的制模成功,检测其在纤维化过程中的病理变化和血清学变化,同时检查声触诊量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)的变化,结果提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现与上述两者的变化一致性,因此VTQ的研究能够作为诊断小鼠肝纤维化的有效手段。

熊喜峰, 刘志河, 刘文丹, 马宁芳, 沈雁. 应用声触诊量化技术诊断小鼠肝纤维化. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 963-968  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/963.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.963>

## 0 引言

大部分的慢性肝脏损伤都会引起肝硬化,而肝纤维化(hepatic fibrosis, HF)作为肝硬化发展的必经阶段,其机制较复杂,目前认为他是由多种因素造成肝细胞外基质的异常增多和/或降解相对不足而形成<sup>[1]</sup>。近年来人们日益重视肝纤维化,已有研究证实肝纤维化尚可发生逆转,而肝硬化则否<sup>[2-4]</sup>,故阻止或逆转肝纤维化的发生、发展是有效防止肝硬化、肝癌发生的重要途径。

传统的检测肝硬化方法主要依靠“金标准”-肝活检,然而因其属有创性的检查,有潜在的风险,且受限于穿刺部位、样本大小,以及不能作为一个动态观察肝纤维化变化及疗效判断的指标等,故其运用明显存在局限性。人们期望尽早诊断出肝纤维化,为治疗提供时间,然而肝病的合理治疗离不开对肝脏炎症和肝纤维化程度的正确评估。近年来,寻找一个有效的非创伤性诊断方法来替代肝活检评估肝纤维化程度是肝病学者致力研究的课题<sup>[5]</sup>。

声触诊组织量化技术(virtual touch tissues quantification, VTQ)是一种通过使用超声声辐射压力脉冲(acoustic radiation force impulselining, ARFI)成像原理来量化组织弹性的新技术<sup>[6]</sup>,原理是其通过探头发射一个纵波,产生一种在组织中传播的横向剪切波,来获取组织硬度信息参数,组织越硬,剪切波速度越快,其量化值间接评估组织硬性程度。研究证实在肝纤维化进程中肝组织硬度逐渐增加<sup>[7]</sup>,已有研究显示该技术已被使用在区分乳腺<sup>[8,9]</sup>、肝<sup>[10]</sup>、肾功能<sup>[11]</sup>和甲状腺<sup>[12]</sup>等疾病的良、恶性病变中。本研究拟应用VTQ在小鼠肝纤维化成模过程中进行检测,初步研究其是否能够作为诊断肝纤维化的有效手段。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 清洁级♂昆明小鼠40只,体质量25-28 g,购自南方医科大学实验动物中心(SCXK粤2008)。四氯化碳(CCl<sub>4</sub>, 500 mL/瓶)为广州化学试剂厂产品,粟米油市售,将CCl<sub>4</sub>溶于食用粟米油中,按CCl<sub>4</sub>: 粟米油 = 1:1比例配成500 mL/L以备用。丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase,

表 1 小鼠肝脏病理模型病理学改变情况 ( $n = 10$ )

分组	死亡数( $n$ )	存活动物肝脏病理分级
control	0	10(G0S0)
1 wk组	1	9(G1S0)
4 wk组	1	2(G2S1)、7(G3S2)
8 wk组	2	1(G3S3)、7(G4S4)

ALT)、门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)检测试剂盒为深圳市康乃格生物技术有限公司产品。透明质酸(hyaluronic acid, HA), IV型胶原(type IV collagen, IV-C)及层黏连蛋白(laminin, LN)放射免疫分析测定盒, 均购自上海海洋医学生物技术中心。

## 1.2 方法

1.2.1 动物造模: 昆明小鼠随机分成对照组、 $\text{CCl}_4$  1 wk组、 $\text{CCl}_4$  4 wk组和 $\text{CCl}_4$  8 wk组, 每组10只。所有小鼠饲养1 wk后,  $\text{CCl}_4$ 模型组小鼠皮下注射 $\text{CCl}_4$ -粟米油混悬液, 首次注射 $\text{CCl}_4$ 原液(6 mL/kg), 以后隔3 d后再次皮下注射 $\text{CCl}_4$ -粟米油混悬液(6 mL/kg), 2次/wk。对照组仅皮下注射同等剂量的粟米油, 2次/wk<sup>[13]</sup>。

1.2.2 标本处理: 分别于造模后1、4、8 wk后用1%戊巴比妥钠10 mL/kg腹腔注射麻醉后将其固定在固定板上, 检测部位均为右侧肝组织。测定剪切波速度Vs值后, 眼球取血, 4 °C 2000 r/min离心20 min, 收集血清置-80 °C保存待测。取血后行开腹手术, 迅速剪取中叶肝组织, 置于40 g/L中性甲醛溶液固定, 常规方法制作石蜡切片, 作病理学观察。

1.2.3 测定Vs值: 德国Siemens ACUSON S2000彩色多普勒超声诊断仪, 高频探头9L4, 频率9 MHz。测定VTQ的数值: 检测时探头向肝脏发射一个低频纵向波, 从而获得一个横向运动的剪切波速度, 可反映组织纵向受力后而横向产生的组织位移, 称为弹性参数, 即VTQ值(Vs值), 每只小鼠肝脏测量5次, 控制取样框深度测得各Vs值后取平均值。

1.2.4 血清肝功能及纤维化指标的测定: 采用日立7170A全自动生化分析仪测定AST、ALT; 采用放射免疫法, 严格按照说明书步骤测定IV-C、HA和LN。

1.2.5 肝组织病理学检测: 常规HE及Masson染色, 光学显微镜下观察及比较肝组织结构的变化。

1.2.6 肝纤维化结果判断标准: 诊断标准参照2000年全国第十次病毒性肝炎及肝病学术会议

制订的《病毒性肝炎防治方案》<sup>[14]</sup>: (1)炎症活动分级(G): G0汇管区及周围无炎症, 肝小叶内无炎症; G1汇管区炎症, 小叶内有肝细胞变性及少数点灶状坏死; G2汇管区轻度碎屑状坏死, 小叶内肝细胞变性, 点状坏死灶或嗜酸性小体; G3汇管区中度碎屑状坏死, 小叶内肝细胞变性、融合坏死或见桥接坏死; G4汇管区重度碎屑状坏死, 小叶内桥接坏死范围广, 累及多个小叶; (2)纤维化程度分期标准(S): S0无; S1汇管区纤维化扩大, 局限窦周及小叶内纤维化; S2汇管区周围纤维化, 纤维间隔形成, 小叶结构保留; S3纤维间隔伴小叶结构紊乱, 无肝硬化; S4早期肝硬化, 肝实质广泛破坏, 弥漫性纤维增生, 被分隔的肝细胞团呈不同程度的再生及假小叶形成。

**统计学处理** 数据采用SPSS17.0软件分析, 数据采用mean±SD表示, 多组间均数比较采用方差分析, 组间均数比较采用LSD-*t*检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 HE染色 对照组肝小叶结构正常, 肝细胞无变性坏死, 汇管区无炎症细胞浸润(图1A); 1 wk组肝细胞少量坏死, 有少量纤维组织增生, 汇管区有少量炎症细胞浸润, 小叶内可见点、灶状坏死(图1B); 4 wk组可见肝细胞气球样变明显和不同程度碎屑坏死, 炎细胞形成桥样连接(图1C); 8 wk组正常肝小叶结构消失, 大量炎症细胞浸润(图1D)。

2.2 Masson染色 对照组肝内仅在中央静脉壁上少量的绿色纤维(图1E); 1 wk时肝组织汇管区和中央静脉可见绿色胶原纤维(图1F); 4 wk时纤维间隔较明显(图1G), 胶原纤维沿肝板延伸呈纤维隔状, 但无完整分界形成; 8 wk时大量增生的胶原纤维包绕、分割成大小不等的假小叶(图1H)。

2.3 肝纤维化结果判断 参照《病毒性肝炎防治方案》诊断标准, 结合HE和Masson染色结果, 判断本实验模型中不同组别各小鼠病理学改变情况(表1)。

2.4 不同组别血清学肝纤维化指标变化情况 血清学各指标随给药时间延长依次升高, 在8 wk达到高峰(表2, 图2A, B)。AST、ALT、IV-C、LN及HA检测比较: 1 wk组与对照组无差别( $P > 0.05$ ), 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P < 0.01$ ,  $P < 0.001$ )。

2.5 不同组别Vs值测定情况 各组存活的小鼠每只进行5次测量, 取框深度约为0.9 cm, Vs值随着给药时间的延长而增大(图1I-L, 图2C), 分别为

## ■ 相关报道

Bai等将VTQ在乳腺癌上进行了应用, Zhang等证实VTQ技术在诊断良恶性甲状腺结节上有用的。而在肝硬化及肝癌的必经阶段肝纤维化的诊断上却显有应用VTQ技术的报道。本文应用了上述学者同样的VTQ诊疗手段, 在小鼠肝纤维化进程中对肝组织进行动态的硬度监测。



## ■创新盘点

以往研究主要单一应用肝活检或肝纤4项诊断肝纤维化,而本文舍弃有创肝活检,应用肝血清学检查与VTQ一致性,同时与普通弹性成像相比,VTQ避免了因操作者机械施压不同,和不受周边组织影响、重复性较高等特点,利用声波探测肝组织的力学形变特性,从而获得反映肝组织弹性硬度的参数,更加客观地评估肝纤维化程度。

表 2 不同组别血清学指标变化 (mean  $\pm$  SD)

分组	AST(U/L)	ALT(U/L)	HA(ng/mL)	IV-C(ng/mL)	LN(ng/mL)
Control组	40.700 $\pm$ 3.230	41.500 $\pm$ 6.500	39.471 $\pm$ 2.124	15.634 $\pm$ 2.779	20.805 $\pm$ 5.087
1 wk组	63.470 $\pm$ 9.050	60.700 $\pm$ 9.030	56.243 $\pm$ 3.531	25.290 $\pm$ 5.514	37.166 $\pm$ 9.321
4 wk组	196.920 $\pm$ 43.490 <sup>b</sup>	171.500 $\pm$ 35.060 <sup>b</sup>	83.600 $\pm$ 6.008 <sup>b</sup>	41.326 $\pm$ 6.148 <sup>b</sup>	59.649 $\pm$ 4.608 <sup>b</sup>
8 wk组	535.890 $\pm$ 127.140 <sup>d</sup>	408.800 $\pm$ 148.530 <sup>d</sup>	123.830 $\pm$ 6.339 <sup>d</sup>	77.693 $\pm$ 3.359 <sup>d</sup>	81.982 $\pm$ 12.629 <sup>d</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.001$  vs Control组. AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; IV-C: IV型胶原; HA: 透明质酸; LN: 层粘连蛋白。

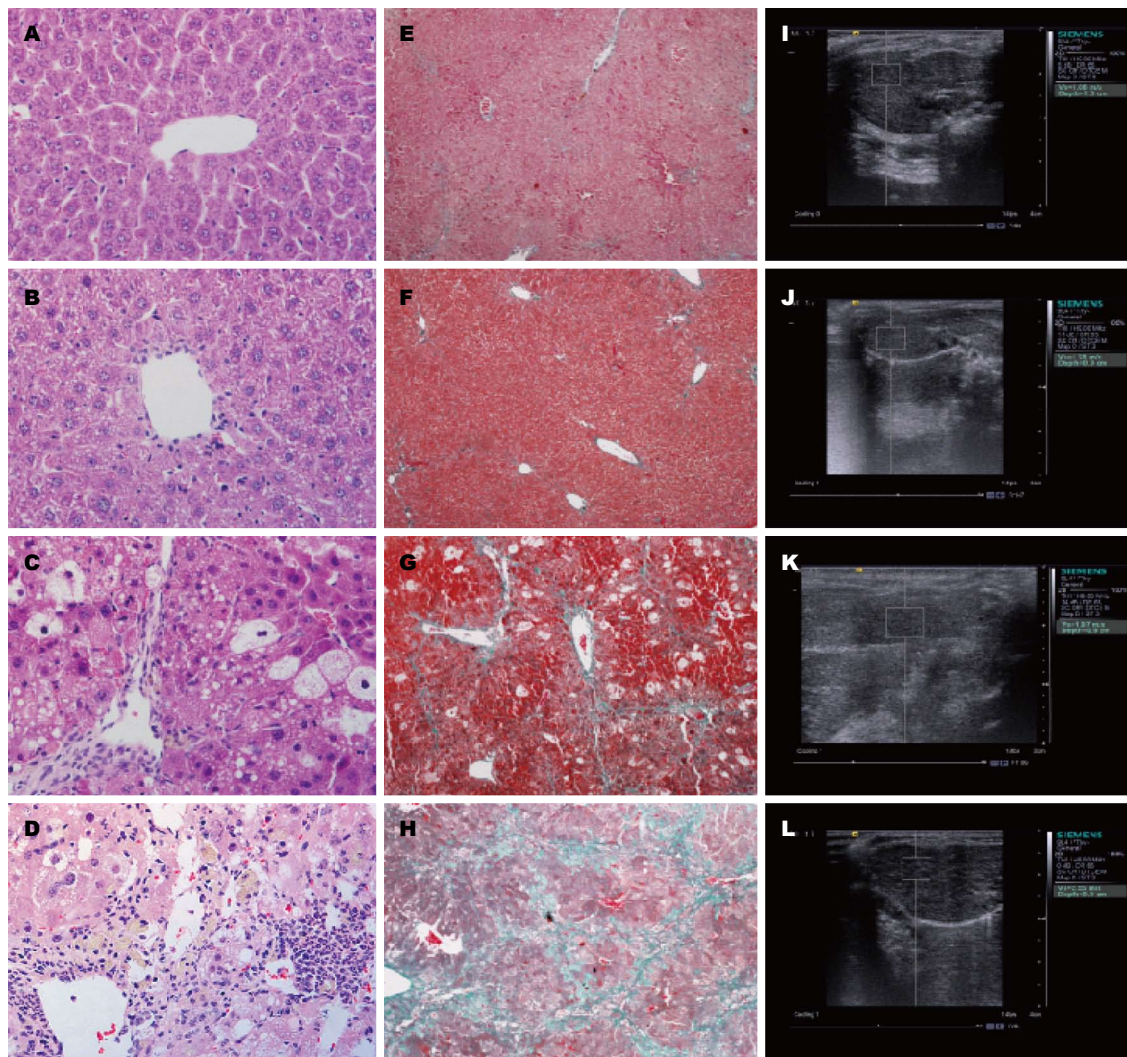


图 1 各组别的HE( $\times 400$ )、Masson染色( $\times 100$ )图及所测的Vs值. A: control组; B: 1 wk组; C: 4 wk组; D: 8 wk组; E: control组; F: 1 wk组; G: 4 wk组; H: 8 wk组; I: control组; J: 1 wk组; K: 4 wk组; L: 8 wk组. Vs: VTQ测量值。

对照组 $1.151 \pm 0.101$ , 1 wk组 $1.295 \pm 0.059$ , 4 wk组 $1.923 \pm 0.076$ , 8 wk组 $2.515 \pm 0.153$ , 其中1 wk组与对照组无差别( $P > 0.05$ ), 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义( $P < 0.001$ )。

## 3 讨论

我国是肝病高发地区, 肝癌是常见的恶性肿瘤

之一, 其死亡率较高<sup>[15]</sup>. 肝纤维化是肝硬化及肝癌发生发展的必经病理过程, 且肝纤维化阶段可以发生逆转, 因此要预防肝硬化及肝癌的发生, 就必须针对肝纤维化有正确的诊断. CCl<sub>4</sub>诱导肝纤维化是公认的化学性肝毒模型<sup>[13]</sup>, 本研究应用此模型动态观察了肝组织结构的病理变化. HE及Masson染色证实不同组别肝组织结构随



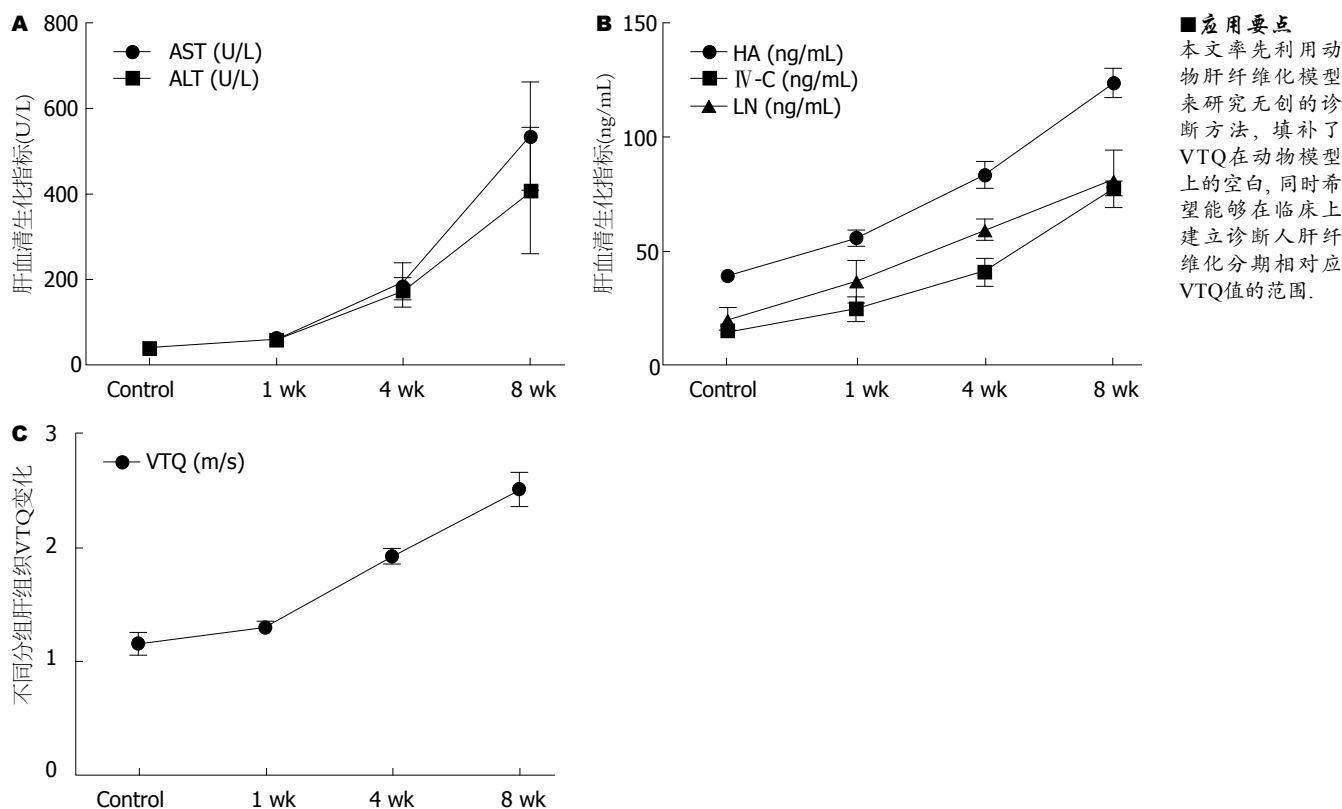


图2 血清学指标及VTQ测值趋势图。A: AST及ALT测值趋势; B: HA、IV-C及LN测值趋势; C: VTQ测值趋势。AST: 门冬氨酸氨基转移酶; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; IV-C: IV型胶原; HA: 透明质酸; LN: 层黏连蛋白。

$\text{CCl}_4$ 损伤时间的延长而逐步发生相应的变化, 根据肝脏学会肝脏炎症活动分级(G)及肝纤维化的分期标准(S)综合判断, 其中S0表示无肝纤维化, S1表示肝纤维化程度最轻, S4表示肝纤维化程度最重, 已达到早期肝硬化的程度。实验组1 wk小鼠肝脏(100%)处于G1S0, 4 wk小鼠肝脏(78%)为G3S2, 8 wk小鼠肝脏(87.5%)为G4S4, 即8 wk时已达早期肝硬化。因此, 本文运用小鼠肝纤维化模型来模拟人类肝纤维化发展过程是造模成功的。

肝活检被认为是传统肝病检测的金标准, 但因其属有创检查且受穿刺部位的局限等, 病人不大愿意接受, 所以寻求一种无创简单快速的检测手段成为必然趋势。生化指标AST、ALT的变化反映肝脏受损的程度, 而HA、IV-C和LN作为肝纤维化血清检测的指标, 他们三者能够真实的反映肝纤维化的水平<sup>[6]</sup>, 即AST、ALT、IV-C、LN及HA 5个指标越高, 反映出肝脏损伤及肝纤维化程度越强。本实验中, 检测血清学上述各指标时, 发现随给药时间延长逐渐升高, 至第8 wk末达到高峰, AST、ALT、IV-C、LN、HA检测显示1 wk组与对照组无差别, 4、8 wk组与对照组差别具有显著性意义, 各项血清学指标检

测结果基本呈线性升高关系, 提示小鼠肝脏肝纤维化逐渐加重。而通过HE及Masson染色观察小鼠肝脏切片时, 病理学改变随着给药时间延长从对照组的S0期到8 wk末的早期肝硬化的S4期, 与肝纤维化血清学在时间点上变化相吻合, 提示上述血清学检测指标变化真实反映小鼠肝纤维化的分期。

VTQ是基于ARFI原理的技术, 与普通弹性成像采用操作者机械施压不同, 具有不受周边组织影响、重复性较高等, 利用声波探测肝组织的力学形变特性, 从而获得反映肝组织弹性硬度的参数, 更加客观地评估肝纤维化程度。本实验中, 肝组织VTQ平均测值在不同组中剪切波速度不同, 随着肝纤维化程度的进展, VTQ的测值也逐渐变大, 1 wk组与对照组相比无差异, 4 wk组及8 wk组与对照组相比具有明显的统计学意义。根据各组所测的Vs值与血清学各指标作图分析, 他们之间都呈线性升高趋势, 同样肝脏病理变化逐渐加重与VTQ测值增大相吻合, 即VTQ测值变化与血清学指标及病理检查相一致, 提示VTQ测值的变化也能够反映小鼠肝纤维化的分期。

因此, 本研究应用的VTQ新技术与传统检

### ■同行评价

本研究应用的VTQ新技术与传统检测指标一致的结果,提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现出较好的相关性,同时具有不受周边组织影响、重复性较高等优点,具有较好的临床应用价值。

测指标一致的结果,提示VTQ技术在诊断肝纤维化表现出较好的相关性,具有较好的参考价值,但是临床上暂无该检测技术应用在肝纤维化的诊断,随着研究的不断深入以及新技术的开发,未来在临床上VTQ技术有望取代肝脏组织活检术,作为一种无创、快速、价廉、可动态评价肝脏纤维化程度的常规检查手段,可在此基础上进一步建立肝纤维化分期相对应VTQ值的范围,从而建立简便易行和准确性高的诊断体系,使肝纤维化的无创性诊断迈上一个新的台阶。

### 4 参考文献

- 1 Montalto G, Cervello M, Giannitrapani L, Dantona F, Terranova A, Castagnetta LA. Epidemiology, risk factors, and natural history of hepatocellular carcinoma. *Ann N Y Acad Sci* 2002; 963: 13-20 [PMID: 12095924 DOI: 10.1111/j.1749-6632.2002.tb04090.x]
- 2 Okazaki I, Watanabe T, Hozawa S, Niioka M, Arai M, Maruyama K. Reversibility of hepatic fibrosis: from the first report of collagenase in the liver to the possibility of gene therapy for recovery. *Keio J Med* 2001; 50: 58-65 [PMID: 11450593 DOI: 10.2302/kjm.50.58]
- 3 Safadi R, Friedman SL. Hepatic fibrosis--role of hepatic stellate cell activation. *MedGenMed* 2002; 4: 27 [PMID: 12466770]
- 4 Ismail MH, Pinzani M. Reversal of liver fibrosis. *Saudi J Gastroenterol* 2009; 15: 72-79 [PMID: 19568569 DOI: 10.4103/1319-3767.45072]
- 5 陆伦根, 曾民德. 肝纤维化的非创伤性诊断和评估. *中华肝脏病杂志* 2008; 16: 165-168
- 6 Shi J, Yang G, Tao Y. Value of high-frequency ultrasonography with virtual touch tissue quantification in diagnosis of breast pure mucinous carcinomas. *Chinese-German Journal of Clinical Oncology* 2012; 11: 445-448 [DOI: 10.4172/1948-5956.1000108]
- 7 Rockey DC. Noninvasive assessment of liver fibrosis and portal hypertension with transient elastography. *Gastroenterology* 2008; 134: 8-14 [PMID: 18166342 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.11.053]
- 8 Saleem S. Elastography and its role in breast cancer screening. *J Coll Physicians Surg Pak* 2009; 19: 203-204 [PMID: 19268027]
- 9 Meng W, Du W, Zhang G, Wu G, Wu C, Lu Z. WITHDRAWN: Acoustic radiation force impulse (ARFI) ultrasound imaging of breast lesions. *Eur J Radiol* 2011 Jul 1. [Epub ahead of print] [PMID: 21723683 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.06.039]
- 10 Shuang-Ming T, Ping Z, Ying Q, Li-Rong C, Ping Z, Rui-Zhen L. Usefulness of acoustic radiation force impulse imaging in the differential diagnosis of benign and malignant liver lesions. *Acad Radiol* 2011; 18: 810-815 [PMID: 21419668 DOI: 10.1016/j.acra.2011.01.026]
- 11 Clevert DA, Stock K, Klein B, Slotta-Huspenina J, Prantl L, Heemann U, Reiser M. Evaluation of Acoustic Radiation Force Impulse (ARFI) imaging and contrast-enhanced ultrasound in renal tumors of unknown etiology in comparison to histological findings. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009; 43: 95-107 [PMID: 19713604]
- 12 Gu J, Du L, Bai M, Chen H, Jia X, Zhao J, Zhang X. Preliminary study on the diagnostic value of acoustic radiation force impulse technology for differentiating between benign and malignant thyroid nodules. *J Ultrasound Med* 2012; 31: 763-771 [PMID: 22535724]
- 13 Milani S, Herbst H, Schuppan D, Hahn EG, Stein H. In situ hybridization for procollagen types I, III and IV mRNA in normal and fibrotic rat liver: evidence for predominant expression in nonparenchymal liver cells. *Hepatology* 1989; 10: 84-92 [PMID: 2737606 DOI: 10.1002/hep.1840100117]
- 14 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329
- 15 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001; 94: 153-156 [PMID: 11668491 DOI: 10.1002/ijc.1440]
- 16 Tangkijvanich P, Kongtawelert P, Pothacharoen P, Mahachai V, Suwangool P, Poovorawan Y. Serum hyaluronan: a marker of liver fibrosis in patients with chronic liver disease. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2003; 21: 115-120 [PMID: 14629129]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对水通道蛋白AQP3和AQP8的影响

吴霜, 程滢瑞, 周锦勇, 吴本升, 陈玉根, 杨柏霖

吴霜, 程滢瑞, 南京中医药大学第一临床医学院 江苏省南京市 210029  
周锦勇, 陈玉根, 杨柏霖, 南京中医药大学附属第一医院 江苏省中医院肛肠科 江苏省南京市 210029  
吴本升, 苏州市中医院 江苏省苏州市 215000  
吴霜, 硕士, 主要从事中医外科治疗肛肠病的研究。  
江苏省六大人才高峰重点课题基金资助项目, No. 2011-WS40  
国家自然科学基金资助项目, No. 81373645  
江苏省中医药管理局课题基金资助项目, No. LZ11042  
作者贡献分布: 此课题由杨柏霖与陈玉根设计; 动物模型制作与PCR检测分析由吴霜、吴本升及程滢瑞操作完成; 病理分析及数据统计分析由周锦勇完成; 论文写作由吴霜与程滢瑞完成。  
通讯作者: 杨柏霖, 副主任医师, 210029, 江苏省南京市汉中路155号, 南京中医药大学附属第一医院, 江苏省中医院肛肠科。  
blyang1971@163.com  
收稿日期: 2013-11-01 修回日期: 2014-01-05  
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

## Expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats

Shuang Wu, Ying-Rui Cheng, Jin-Yong Zhou, Ben-Sheng Wu, Yu-Gen Chen, Bo-Lin Yang

Shuang Wu, Ying-Rui Cheng, the First Clinical Medical College of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Jin-Yong Zhou, Yu-Gen Chen, Bo-Lin Yang, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China  
Ben-Sheng Wu, Department of Colorectal Surgery, Suzhou Hospital of Traditional Chinese Medicine, Suzhou 215000, Jiangsu Province, China  
Supported by: the Great Topic Foundation of Jiangsu Province, China, No. 2011-WS40; the Foundation of Jiangsu Province Administration of Traditional Chinese Medicine, No. LZ11042; and the National Natural Science Foundation of China, No. 81373645  
Correspondence to: Bo-Lin Yang, Associate Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 155 Hanzhong Road, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. blyang1971@163.com  
Received: 2013-11-01 Revised: 2014-01-05  
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To observe the differential expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats, and to explore the role of these two proteins in constipation.

**METHODS:** Thirty male SD rats were randomly divided into five groups. One group was killed at the beginning to measure intestinal transit function and the expression of AQP3 and 8 in human colonic epithelial cells as basic references. Loperamide [1.5 mg/(kg·d)] was given by intragastric administration in the remaining four groups of rats to induce constipation. Two groups of rats were killed on days 3 and 7 after initial loperamide administration, respectively, while the other two groups were killed 3 and 7 d after last loperamide administration, respectively. Intestinal transmission function was determined, and the expression of AQP3 and 8 was detected.

**RESULTS:** Intestinal transit function kept stable (67.72% vs 58.64%,  $P > 0.05$ ) throughout the experimental process, while fecal water content decreased. The fecal water content could not return to normal 7 d after stopping loperamide ( $2.29 \text{ g} \pm 1.17 \text{ g}$  vs  $0.80 \text{ g} \pm 0.27 \text{ g}$ ,  $P = 0.01$ ). AQP8 expression in the proximal colon had an upward trend 3 to 7 d after the initial loperamide administration, greatly higher than that in the normal control group ( $P = 0.00$ ). Seven days after stopping loperamide, AQP8 had a rising trend in both the proximal and distal colons ( $0.43 \pm 0.31$  vs  $2.66 \pm 0.87$ ,  $P = 0.008$ ), while AQP3 expression declined ( $6.37 \pm 0.23$  vs  $0.79 \pm 0.13$ ,  $P = 0.015$ ).

**CONCLUSION:** Loperamide enhances the expression of AQP8 in the intestine of rats, which facilitates water movement across the membrane. Deficient water absorption may play a role in the pathogenesis of loperamide induced constipation.

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

**Key Words:** Loperamide; AQP3; AQP8; Intestinal transit function

Wu S, Cheng YR, Zhou JY, Wu BS, Chen YG, Yang

## ■背景资料

动物实验和临床研究均发现蒽醌类药物可以损伤肠神经系统, 从而导致便秘, 检测结果发现此模型的肠道传输功能和结肠神经病理变化与慢传输型便秘的病理特征基本相同。但蒽醌类药物大黄中药成分复杂, 对水通道蛋白及Cajal等多种细胞均有影响。

## ■同行评议者

刘宝林, 教授, 中国医科大学附属医院盛京医院



## ■研究前沿

已有研究发现, 养阴润肠方的通便机制可能为通过促进Cajal间质细胞的再生及修复而达到促进肠动力, 从而实现通便的作用。但在观察养阴润肠方对水通道蛋白的表达影响实验中发现, 纯中药大黄造模对水通道蛋白产生不可预知的影响, 干扰后期中药表达。洛哌丁胺构建大鼠便秘模型用以观察水通道蛋白表达变化的科学性尚需进一步研究。

BL. Expression of AQP3 and 8 in loperamide induced constipation in rats. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 969-974 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/969.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.969>

## 摘要

**目的:** 观察洛哌丁胺构建的大鼠便秘模型中水通道蛋白家族中AQP3和AQP8蛋白及其mRNA定量表达, 探讨洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对AQP3和AQP8的影响。

**方法:** SD ♂ 大鼠30只, 随机分为5组, 造模开始时处死1组大鼠, 检测结肠传输功能及结肠组织的AQP3, 8表达水平, 作为基准参考线。剩余4组予以洛哌丁胺1.5 mg/(kg·d)灌胃, 诱导造模。分别于造模的第3、7天和造模成功后第3、7天各处死一组模型大鼠, 检测结肠传输及AQP3, AQP8蛋白及其mRNA定量表达。

**结果:** 大鼠粪便含水量在诱导便秘模型的过程中明显减少, 停药后7 d, 粪便内的水分并不能自发恢复至正常( $2.29 \text{ g} \pm 1.17 \text{ g}$  vs  $0.80 \text{ g} \pm 0.27 \text{ g}$ ,  $P = 0.01 < 0.05$ )。试验过程中, 大鼠结肠传输功能未发生改变( $67.72\%$  vs  $58.64\%$ ,  $P = 0.971 > 0.05$ )。AQP8远端表达停药7 d上升, 与造模7 d时相比, 差异有统计学意义( $0.43 \pm 0.31$  vs  $2.66 \pm 0.87$ ,  $P = 0.008$ )。AQP8近端表达给药后迅速上升至较高水平, 与正常组对照具有统计学意义( $15.96 \pm 2.13$ ,  $P = 0.00$ )。停药7 d后其表达再次上升, 与给药7 d相比, 差异有统计学意义( $6.37 \pm 0.23$  vs  $0.79 \pm 0.13$ ,  $P = 0.015$ )。停药后, AQP3在结肠近端持续表达下降, 与正常对照组相比, 差异有统计学意义( $0.20 \pm 0.06$ ,  $P = 0.04$ )。

**结论:** 洛哌丁胺能够提高模型大鼠结肠AQP8表达, 促进肠道跨膜水运输, 减少粪便含水量而导致便秘。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 洛哌丁胺; AQP3; AQP8; 肠道传输功能

**核心提示:** 本研究以构建实验模型为基础, 研究洛哌丁胺对水通道蛋白的影响, 探讨其可能的机制, 为动物造模研究便秘提供新的理论基础。

吴霜, 程滢端, 周锦勇, 吴本升, 陈玉根, 杨柏霖. 洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对水通道蛋白AQP3和AQP8的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 969-974 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/969.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.969>

## 0 引言

结肠上皮细胞分布紧密, 限制了细胞旁路吸收, 跨细胞转运成为结肠水分吸收的主要途径。水通道是存在于哺乳动物和植物细胞膜上转运水的特异性孔道, 该孔道是由一系列具有同源性的内在膜蛋白家族成员所组成, 快速转运水分子及小分子溶质通过细胞膜, 从而维持结肠水平衡<sup>[1]</sup>。洛哌丁胺是常见止泻药物, 研究认为其主要通过阻断外周阿片受体<sup>[2]</sup>、抑制钙调蛋白的功能<sup>[3]</sup>和电压依赖性钙离子通道<sup>[4]</sup>这3大机制抑制肠道蠕动及肠液分泌, 是常用来制作便秘模型的药物<sup>[5,6]</sup>。目前没有研究对洛哌丁胺抑制肠液分泌与水通道蛋白的相关性的报道。本文通过研究洛哌丁胺诱导大鼠便秘模型中AQP3、AQP8的表达变化, 探索洛哌丁胺是否通过调节水通道蛋白表达而发挥抑制肠液分泌的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ SD大鼠30只, 清洁级, 体质量145-165 g, 购自中国人民解放军南京军区医学动物实验中心[SCXK(军)2007-012]。清洁级, 均放入代谢笼中独立饲养, 室内温度20 ℃-25 ℃, 湿度45%-55%, 人工光照, 明暗各12、24 h自由饮水。洛哌丁胺(批号: 11101952, 江苏恒瑞医药股份有限公司), 10%活性炭。将实验用洛哌丁胺按照动物与人用药量比换算成相应的剂量<sup>[5]</sup>(分别为20.5、1.575 mg/kg), 生理盐水调配。RNA稳定剂RNeasy(德国QIAGEN); RNA提取试剂TRIzol(美国Invitrogen公司); DEPC(南京凯基生物技术有限公司); 酚氯仿(Sigma公司); 逆转录试剂盒DDR047A(TaKaRa公司); Real-time PCR试剂盒SYBR Green PCR Master Mix(美国ABI公司), 其他试剂均为国产分析纯。低温高速离心机5804R、各种规格微量加样器、紫外分光光度计(德国EPPENDORF公司); 7900HT型荧光定量PCR仪(美国ABI公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 引物设计:** 检索NCBI GenBank数据库, 以GAPDH作为内参基因。应用Primer Premier3.0软件分别设计其PCR引物。引物由Invitrogen公司合成(表1)。

**1.2.2 实验分组、造模及给药:** 参照文献<sup>[5]</sup>报道的方法进行造模。♂ SD大鼠30只, 随机分为5组, 造模开始时处死一组大鼠, 观察正常大鼠结肠内存留粪便粒数、实时定量QPCR检测大鼠结肠组

表 1 引物序列

基因	上游引物	下游引物	产物大小(bp)
AQP3	GCCATTGTTGACCCTTATAACAAC	AGTGAAAAGGCGAGGTCCAA	150
AQP8	CTGTGTGTATGGGT GCCGTCAA	AGATCCCACCACCTGCCAGGA	102
GAPDH	TGGGTGTGAACCACGAGAA	GGCATGGACTGTGGTCATGA	102

## ■ 相关报道

目前研究表明洛哌丁胺可以在转录水平上调腹泻大鼠结肠黏膜AQP4表达,使结肠对肠腔内水分的吸收增加。

表 2 各组大鼠一般情况比较 (mean ± SD)

分组	正常组	模型组(3 d)	模型组(7 d)	模型组(10 d)	模型组(14 d)
体质量	175.42 ± 8.38	176.56 ± 12.08	195.52 ± 18.74 <sup>a</sup>	215.75 ± 17.04	250.31 ± 13.35
进食量	27.50 ± 8.45	22.34 ± 6.22	23.89 ± 8.12	26.88 ± 5.20	28.75 ± 7.42
进水量	28.50 ± 11.01	34.14 ± 12.62	32.84 ± 10.58	44.79 ± 16.95	47.08 ± 17.38
粪便干质量	4.14 ± 0.69	4.02 ± 0.88	3.32 ± 0.84	1.78 ± 0.62 <sup>a</sup>	1.74 ± 0.33
粪便湿质量	7.43 ± 0.96	7.56 ± 1.45	5.70 ± 1.64	2.58 ± 0.83 <sup>a</sup>	3.16 ± 0.72
粪便含水量	2.29 ± 1.17	3.54 ± 0.64	2.48 ± 1.34	0.80 ± 0.27 <sup>a</sup>	1.39 ± 0.42
结肠粪便粒数	42.14 ± 5.70	37.00 ± 5.37	32.69 ± 6.89	39.10 ± 12.27	43.73 ± 6.89
肠道传输功能(%)	67.72	63.10	58.64	58.92	61.35

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 正常组。进食量、进水量、粪便干湿质量、结肠粪便粒数取平均值 ± 标准差, 肠道传输功能取平均值。

织AQP3, AQP8 mRNA表达, 并作为基准参考线。剩余四组作为实验组予以洛哌丁胺1.5 mg/(kg·d)加生理盐水配成混悬液灌胃, 灌胃2 d, 共7 d。

1.2.3 观察指标: (1)一般情况观察: 分别在洛哌丁胺干预的第3、7天和停药后第3、7天观察模型动物的一般情况(体质量、进食量、进水量、粪便干湿质量等); (2)碳末推进试验和结肠存留粪便粒数: 在洛哌丁胺干预的第3、7天和停药后第3、7天处死一组大鼠。大鼠处死前, 均禁食不禁水12 h, 用10%的活性炭悬液2 mL灌胃, 40 min后颈椎脱臼处死。大鼠处死后, 迅速剖腹, 记录从直肠到回盲部存留的粪便粒数。摘除从幽门到直肠末端的全部肠道, 置于托盘中, 将肠管拉直后测量肠管的长度, 即幽门至肛门处长度, 在松弛状态下测量肠道的全长及活性炭混悬液在肠道内推进的长度, 并计算活性炭混悬液推进长度与肠道全长的百分比。按下列公式计算: 碳末推进百分率(%) = [碳末前端与幽门的距离(cm)/肠道总长度(cm)] × 100%; (3)实时定量PCR检测AQP3, 8检测: 模型动物处死后立即在距盲肠2 cm近端结肠及距直肠2 cm远端结肠取新鲜肠壁组织150 mg, 放入PBS中清洗后, 迅速浸入5倍于组织体积的RNA稳定剂RNAlater中, 4 °C冰箱中保存。将剪取的结肠组织150 mg从RNAlater液体中捞出后用TRIzol法提取总RNA。取2 μL RNA加入98 μL DEPC水中, 紫外分光光度仪测定RNA样品

在260 nm和280 nm处的吸光度(A)值。RNA纯度用 $A_{260/280}$ 比值反映。按照Real-time PCR试剂盒说明书进行实时荧光PCR定量检测, 反应总体积为20 μL(SYBR mix、样品cDNA、水、上游引物、下游引物分别为10.0、2.0、6.8、0.4、0.4 μL), 反应条件为95 °C预变性30 s、95 °C 5 s、60 °C 30 s、循环40次, 最后加溶解曲线(95 °C 15 s、60 °C 1 min、95 °C 15 s)。在ABI公司7900PCR仪上反应。每份样品均进行3个复孔测定, 设阴性对照。通过分析软件得到样品阈值循环数(threshold cycle, Ct)和相对的拷贝定量, 再进行样本之间的比较。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法对QPCR结果进行数据分析, 计算 $\Delta Ct = \text{目的基因}Ct - \text{内参基因}Ct$ ;  $\Delta\Delta Ct = \Delta Ct$  (造模组) -  $\Delta Ct$  (正常组); 相差倍数 =  $2^{-\Delta\Delta Ct}$ , 其中正常对照组的数值设定为1。

**统计学处理** 统计分析采用SPSS17.0软件包进行数据处理, 所有数据均用mean ± SD表示。采用单因素方差分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义,  $P < 0.01$ 为差异有显著统计学意义。

## 2 结果

2.1 各组大鼠一般情况比较 造模共历时7 d, 造模过程中未有大鼠死亡。造模7 d后, 模型大鼠较正常组及给药3 d时的体质量有明显上升, 与此同时, 排便量减少, 说明大鼠体重增多与肠腔内积留的粪团相关。粪便含水量在诱导便秘模型的

## ■ 创新盘点

目前构建大鼠便秘模型多用大黄, 大黄为中药制剂, 成分复杂, 且大黄造模的周期较长, 很有可能不同成分对Cajal细胞及水通道蛋白或是其他目前临床尚未发现的离子通道、神经细胞均产生影响, 为了更清晰观测到水通道蛋白的变化, 本研究采用洛哌丁胺构建便秘模型, 验证在水通道蛋白研究中的科学性与合理性。

表 3 AQP3和AQP8免疫组织化学及HE染色结果

	近/远端	正常组	给药3 d	给药7 d	停药3 d	停药7 d
AQP3	远端	+++	+++ <sup>D</sup>	++	++	+ <sup>E</sup>
	近端	++	+++	+++	+	++
AQP8	远端	++	++	+	++	+
	近端	+ <sup>A</sup>	+++ <sup>B</sup>	++ <sup>C</sup>	++	++

+++：深度着色；++中度着色；+轻度着色。A、B、C、D、E见图2对应免疫组织化学。

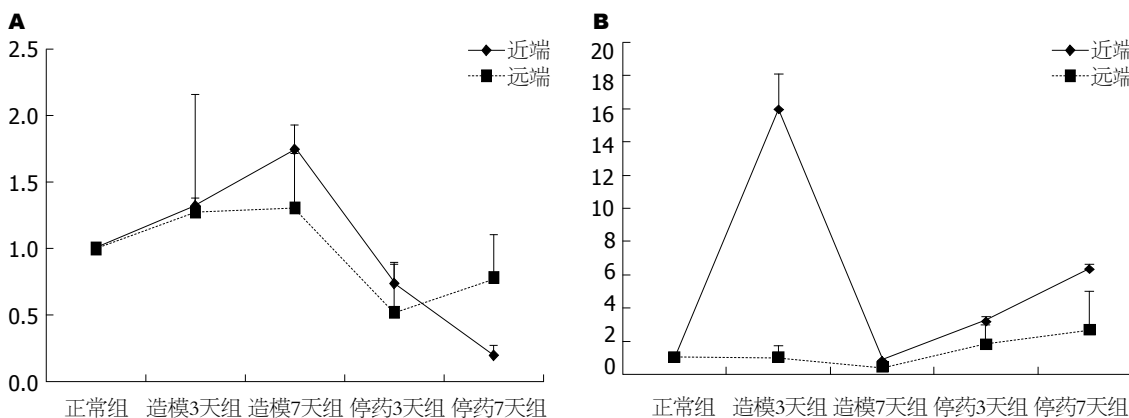


图 1 AQP3, 8 mRNA的表达。A: AQP3; B: AQP8.

过程中明显减少( $P = 0.022$ ), 停药后14 d, 粪便内的水分并不能自发恢复至正常。试验过程中, 大鼠结肠传输功能未发生改变( $P = 0.971$ )。各组动物在结肠取材时均未见黏膜色素沉着(表2)。

**2.2 大鼠AQP3表达** 造模过程中, 结肠AQP3蛋白定量逐渐上升, 但与正常对照组比较差异无统计学意义(给药3 d,  $P = 0.998$ ; 给药7 d,  $P = 0.994$ ); 停药后, AQP3在结肠近端持续表达下降, 与正常对照组相比, 差异有统计学意义( $P = 0.04$ ); 结肠远端表达在停药3 d下降后, 停药7 d逐渐增加, 与正常对照组相比, 差异无统计学意义( $P = 0.88$ )(图1A)。

**2.3 大鼠AQP8表达** AQP8远端表达在造模后有所下降, 与正常组比较无统计学意义( $P = 0.537$ ), 停药后表达上升, 停药7 d较造模7 d相比, 差异有统计学意义( $P = 0.008$ )。近端表达给药后迅速上升至较高水平, 差异有统计学意义( $P = 0.00$ ), 造模7 d后发生跌落, 与正常组相比, 差异有统计学意义( $P = 0.00$ ), 停药7 d后其表达再次上升, 差异有统计学意义( $P = 0.015$ )(图1B)。

**2.4 免疫组织化学** 在免疫组织化学研究中, 可见正常肠腔表面上皮细胞胞浆及胞膜着色。AQP8轻度着色于正常大鼠结肠黏膜, 主要位于上皮细胞顶点, 给药后AQP8重度着色, 持续给药着

色程度较前下降, AQP8表达下降, 停药后AQP8在结肠黏膜上皮内的表达进一步下降, 染色着色程度类似于正常黏膜, 研究结果与其PCR检测蛋白表达的变动曲线具有一致性。AQP3在绒毛上皮细胞染色, 隐窝细胞杯状细胞内未见染色。高分辨放大后可见AQP3主要着色于远端结肠黏膜, 近端结肠表达不明显, 停药后AQP3着色程度下降(表3, 图2)。

## 3 讨论

正常人体粪便含水量为65%-85%, 罗马III便秘诊断将“持续或累计至少12 wk存在硬块或颗粒状大便”作为诊断标准之一。过去人们认为粪便内水分吸收是继发于渗透压改变, 但结肠上皮细胞分布紧密, 限制了细胞旁路吸收, 跨细胞转运成为结肠水分吸收的主要途径。水通道蛋白是快速转运水分子及小分子溶质通过细胞膜的特殊通道, 具有0-13种不同亚型<sup>[7]</sup>, 消化上皮细胞内至少存在6种AQPs表达, 其中AQP3、AQP4、AQP8、AQP9在结肠有表达。本研究主要探讨AQP3及AQP8在大鼠结肠内受洛哌丁胺造模影响下的表达变化。AQP3, 8分布于肠上皮细胞内, 可将肠腔内水分快速吸收入血, 改变肠腔内分泌环境。AQP3在远端结肠及直肠大量表



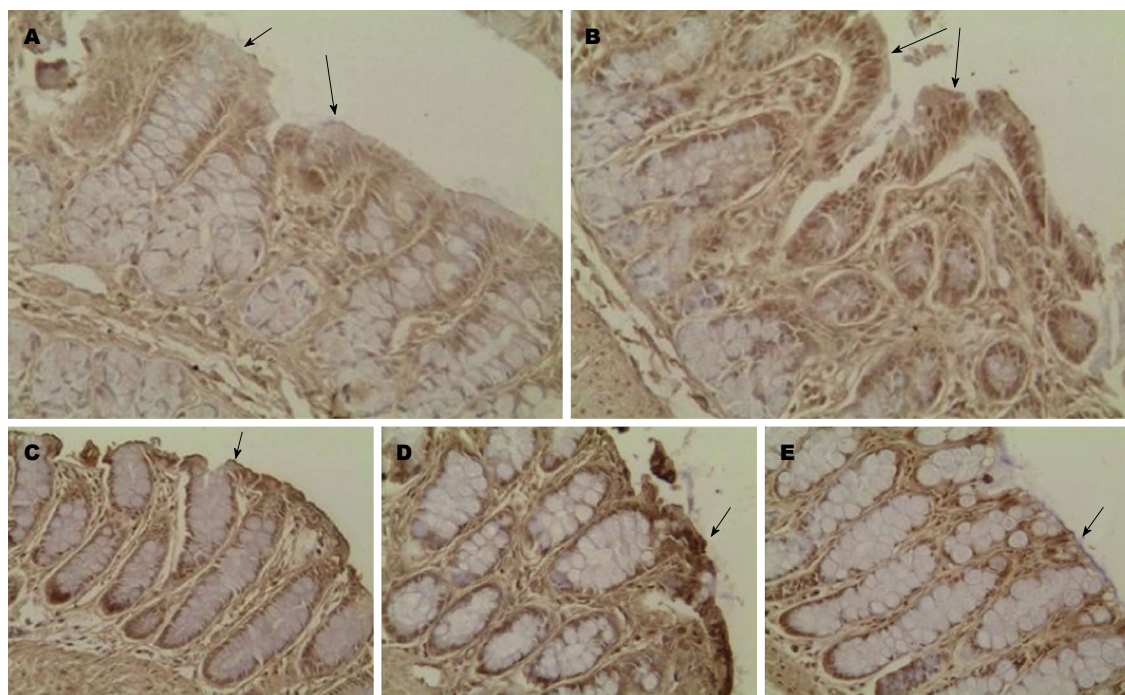


图 2 AQP3和AQP8蛋白在模型大鼠结肠黏膜内免疫组织化学表现(HE复染 $\times 400$ )。A: 正常组AQP8着色程度浅, 轻度表达; B: 给药3 d AQP8着色程度较深, 高度表达, 胞内染色明显, 且杯状细胞无染色; C: 给药7 d AQP8着色程度中等, 中等度表达; D: 给药3 d AQP3在远端结肠强染色, 高度表达; E: 停药7 d AQP3在远端结肠近无表达。

#### 同行评价

本文对传统造模方式研究水通道蛋白提出质疑, 探寻新的造模方式, 并深入挖掘作用机制, 具有创新性 & 科学性。

达, 在结肠内上皮基部或顶端无定论, 而结肠水分吸收主要位于近端, 本实验中AQP3在远端表达存在变化, 但对肠腔内水分吸收改变影响较小。AQP8特异性表达于上皮细胞顶端<sup>[8]</sup>, Hardin<sup>[9]</sup>在上皮细胞囊泡中也发现了AQP8表达, 对肠腔内水分吸收与分泌的变动具有敏感性, 能针对肠腔内环境改变作出迅速调整, 在活动期炎症肠病患者结肠的溃疡黏膜表面, AQP8免疫染色呈斑片状且不连续着色。Fischer等<sup>[10]</sup>运用原位杂交技术检测正常人及结直肠癌上皮细胞内水通道蛋白表达, 发现AQP8表达于正常结肠内复层纤毛柱状上皮细胞, 肿瘤结肠上皮内基本无表达。

大鼠造模成功后, 大鼠表现为明显的便秘体征: 毛发失去光泽, 体质量增加, 食欲下降, 与正常组相比, 精神状态萎靡, 而不同时间段检测大鼠肠道传输功能未发生明显改变, 肠道内水分明显减少导致粪块积存在肠腔, 表明洛哌丁胺构建大鼠便秘模型对肠道传输功能无明显影响, 主要改变肠腔内分泌状态, 进一步对水通道蛋白AQP3和AQP8检测发现, 负责结肠水分吸收的近端肠腔内AQP8大量表达, 在不同造模时期与正常组相比, 存在统计学意义, AQP3和AQP8的表达变化可能是洛哌丁胺造成大鼠便秘的原因。

查阅相关文献后, 发现调控水通道蛋白的主

要因素主要包括: 丝氨酸或部分苏氨酸磷酸化机制、组氨酸质子化作用或与二价阳离子结合(如 $\text{Ca}^{2+}$ )<sup>[11]</sup>。根据亚型不同, pH对AQPs影响也不同, AQP3已被证实在由中性至酸性环境(pH 7.4-5.6)下<sup>[12]</sup>, 水分子通过减少。二价阳离子 $\text{Ca}^{2+}$ 对动物或植物AQPs均有影响, 对AQPs某些亚型具有抑制作用, 这种 $\text{Ca}^{2+}$ 抑制作用主要由钙调蛋白介导。  $\text{Ca}^{2+}$ 增加4倍后拟南芥属植物的透水性明显下降, 钙离子抑制位点及pH抑制位点不同, 这两种机制完全独立<sup>[13,14]</sup>。分子动力学及晶体学研究发现, 水通道蛋白的关闭及开放由D环决定<sup>[15]</sup>, 二价阳离子作用于D环特定氨基酸及蛋白氨基端的离子间相互作用及氢键, 使通道小孔处于稳定的关闭状态。目前研究认为洛哌丁胺的止泻机制包括: 阻断外周阿片受体、抑制钙调蛋白的功能以及电压依赖性钙离子通道。洛哌丁胺具有非阿片样作用, 可抑制钙调蛋白和阻滞钙离子通道, 达到止泻目的。由此推测洛哌丁胺能够提高模型大鼠结肠AQP8表达, 促进肠道跨膜水运输, 减少粪便含水量而导致便秘。其主要机制可能是抑制钙调蛋白及阻滞钙离子通道。

#### 4 参考文献

- 1 Benga G. Water channel proteins (later called aquaporins) and relatives: past, present, and future.

- IUBMB Life* 2009; 61: 112-133 [PMID: 19165894 DOI: 10.1002/iub.156]
- 2 Awouters F, Niemegeers CJ, Janssen PA. Pharmacology of antidiarrheal drugs. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1983; 23: 279-301 [PMID: 6307123 DOI: 10.1146/annurev.pa.23.040183.001431]
  - 3 Zavec JH, Jackson TE, Limp GL, Yellin TO. Relationship between anti-diarrheal activity and binding to calmodulin. *Eur J Pharmacol* 1982; 78: 375-377 [PMID: 6121713]
  - 4 Reynolds IJ, Gould RJ, Snyder SH. Loperamide: blockade of calcium channels as a mechanism for antidiarrheal effects. *J Pharmacol Exp Ther* 1984; 231: 628-632 [PMID: 6502516]
  - 5 Zhou M, Jia P, Chen J, Xiu A, Zhao Y, Zhan Y, Chen P, Zhang J. Laxative effects of Salecan on normal and two models of experimental constipated mice. *BMC Gastroenterol* 2013; 13: 52 [PMID: 23514598 DOI: 10.1186/1471-230X-13-52]
  - 6 钱伯初, 史红, 郑晓亮. 正常和便秘模型动物排便实验研究进展. *中国临床药理学与治疗学* 2007; 12: 1339-1343
  - 7 Harries WE, Akhavan D, Miercke LJ, Khademi S, Stroud RM. The channel architecture of aquaporin 0 at a 2.2-Å resolution. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004; 101: 14045-14050 [PMID: 15377788 DOI: 10.1073/pnas.0405274101]
  - 8 Koyama Y, Yamamoto T, Tani T, Nihei K, Kondo D, Funaki H, Yaoita E, Kawasaki K, Sato N, Hatakeyama K, Kihara I. Expression and localization of aquaporins in rat gastrointestinal tract. *Am J Physiol* 1999; 276: C621-C627 [PMID: 10069989]
  - 9 Hardin JA, Wallace LE, Wong JF, O'Loughlin EV, Urbanski SJ, Gall DG, MacNaughton WK, Beck PL. Aquaporin expression is downregulated in a murine model of colitis and in patients with ulcerative colitis, Crohn's disease and infectious colitis. *Cell Tissue Res* 2004; 318: 313-323 [PMID: 15338270 DOI: 10.1007/s00441-004-0932-4]
  - 10 Fischer H, Stenling R, Rubio C, Lindblom A. Differential expression of aquaporin 8 in human colonic epithelial cells and colorectal tumors. *BMC Physiol* 2001; 1: 1 [PMID: 11231887 DOI: 10.1186/1472-6793-1-1]
  - 11 Santoni V, Vinh J, Pflieger D, Sommerer N, Maurel C. A proteomic study reveals novel insights into the diversity of aquaporin forms expressed in the plasma membrane of plant roots. *Biochem J* 2003; 373: 289-296 [PMID: 12678916 DOI: 10.1042/BJ20030159]
  - 12 Zeuthen T, Klaerke DA. Transport of water and glycerol in aquaporin 3 is gated by H(+). *J Biol Chem* 1999; 274: 21631-21636 [PMID: 10419471 DOI: 10.1074/jbc.274.31.21631]
  - 13 Németh-Cahalan KL, Kalman K, Hall JE. Molecular basis of pH and Ca<sup>2+</sup> regulation of aquaporin water permeability. *J Gen Physiol* 2004; 123: 573-580 [PMID: 15078916 DOI: 10.1085/jgp.200308990]
  - 14 Kalman K, Németh-Cahalan KL, Froger A, Hall JE. Phosphorylation determines the calmodulin-mediated Ca<sup>2+</sup> response and water permeability of AQP0. *J Biol Chem* 2008; 283: 21278-21283 [PMID: 18508773 DOI: 10.1074/jbc.M801740200]
  - 15 Törnroth-Horsefield S, Wang Y, Hedfalk K, Johanson U, Karlsson M, Tajkhorshid E, Neutze R, Kjellbom P. Structural mechanism of plant aquaporin gating. *Nature* 2006; 439: 688-694 [PMID: 16340961 DOI: 10.1038/nature04316]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用

吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧

吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科 江苏省南京市 210002

吴琳, 主治医师, 主要从事胃肠道黏膜免疫微生态的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81270453

作者贡献分布: 此课题由吴琳与汪芳裕设计; 动物模型制作与分子生物学实验检测由吴琳、路又可、刘炯、陆恒、刘畅及陈春燕操作完成; 病理分析由李楠与陶慧完成; 论文写作由吴琳与汪芳裕完成。

通讯作者: 汪芳裕, 教授, 主任医师, 210002, 江苏省南京市玄武区中山东路305号, 中国人民解放军南京军区南京总医院消化内科。wangf65@yahoo.com

电话: 025-80863384 传真: 025-80863384

收稿日期: 2013-12-24 修回日期: 2013-12-29

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

## 17-DMAG protects mice from dextran sulphate sodium induced acute ulcerative colitis

Lin Wu, Fang-Yu Wang, You-Ke Lu, Jiong Liu, Heng Lu, Chang Liu, Chun-Yan Chen, Nan Li, Hui Tao

Lin Wu, Fang-Yu Wang, You-Ke Lu, Jiong Liu, Heng Lu, Chang Liu, Chun-Yan Chen, Nan Li, Hui Tao, Department of Gastroenterology, Jinling Hospital, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China

Supported by: the National Natural Science Foundation of China, No. 81270453

Correspondence to: Fang-Yu Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Jinling Hospital, 305 Zhongshan East Road, Xuanwu District, Nanjing 210002, Jiangsu Province, China. wangf65@yahoo.com

Received: 2013-12-24 Revised: 2013-12-29

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the potential effect of alvespimycin [17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG], a novel water soluble heat shock protein 90 (HSP90) inhibitor, in the treatment of dextran sulphate sodium (DSS) induced murine ulcerative colitis.

**METHODS:** C57BL/6 mice were randomly assigned to a normal control group, a colitis model group, a PBS treatment group and a 17-DMAG treatment group. Phosphate buffered solution

(PBS) or 17-DMAG was given daily by intraperitoneal injection. Acute ulcerative colitis was induced by administering ad libitum 3% DSS in the drinking water for 5 days. Body weight, diarrhea and bleeding scores were determined daily to calculate the disease activity index. Five days later, the mice were sacrificed and colon tissues were collected. Colon length and weight, histological score of colon injury, and apoptotic index of colon epithelial cells were detected to assess the effects of 17-DMAG on the development of DSS induced colitis.

**RESULTS:** Mice receiving 3% DSS showed significantly reduced body weight, increased disease activity index, colon weight/length ratio, histological score and apoptotic index of colon epithelial cells, compared with controls. Compared with colitis mice treated with PBS, daily intraperitoneal injection of 17-DMAG for 5 d significantly ameliorated body weight loss ( $90.9 \pm 7.78$  vs  $81 \pm 5.44$ ,  $P < 0.05$ ), significantly decreased disease activity index ( $1.8 \pm 0.84$  vs  $4.7 \pm 1.21$ ,  $P < 0.05$ ), colon length and weight ( $4.43$  mg/mL vs  $5.71$  mg/mL  $\pm 0.56$  mg/mL,  $P < 0.01$ ), and histological score ( $4.6 \pm 1.30$  vs  $7.4 \pm 0.30$ ,  $P < 0.01$ ). Most importantly, 17-DMAG treated mice showed obviously decreased apoptotic index of colon epithelial cells ( $33.2 \pm 5.50$  vs  $62.6 \pm 9.81$ ,  $P < 0.01$ ) than PBS treated mice.

**CONCLUSION:** Daily intraperitoneal injection of 17-DMAG attenuated DSS induced acute murine ulcerative colitis possibly by inhibiting apoptosis of colon epithelial cells.

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

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Heat shock protein 90; 17-DMAG

Wu L, Wang FY, Lu YK, Liu J, Lu H, Liu C, Chen CY, Li N, Tao H. 17-DMAG protects mice from dextran sulphate sodium induced acute ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 975-981 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/975.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.975>

## ■背景资料

溃疡性结肠炎是一种常见的炎症性肠病。随着生活方式的西方化, 亚洲人群中该病的发病率近年来逐渐升高。目前以氨基水杨酸及激素为主的治疗方案, 其疗效尚不让人满意。

## ■同行评议者

杜奕奇, 副教授, 中国人民解放军第二军医大学长海医院



## ■研究前沿

已知热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)通过其分子伴侣作用,在溃疡性结肠炎的发病过程具有促炎症作用。新型水溶性HSP90抑制剂17-DMAG是否对溃疡性结肠炎发生、发展具有治疗作用,目前尚未见报道。

## 摘要

**目的:** 研究阿螺旋霉素[17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG]在葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS)诱导的小鼠溃疡性结肠炎治疗中的作用。

**方法:** C57BL/6小鼠随机分为正常对照组、DSS模型组、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer, PBS)治疗组以及17-DMAG治疗组。采用3%DSS连续饮入以复制溃疡性结肠炎小鼠模型。对结肠炎模型小鼠每日腹腔注射17-DMAG[10 mg/(kg·d)]或同体积PBS。观察小鼠体质量、疾病活动度、单位长度结肠质量、结肠病理损伤程度及结肠上皮细胞凋亡情况,以评价17-DMAG对小鼠溃疡性结肠炎病程发展的影响。

**结果:** 3%DSS连续饮入5 d后,模型组小鼠较正常对照组小鼠体质量减轻,疾病活动度、单位肠道结肠重量、结肠病理评分及结肠上皮细胞凋亡增加。与PBS治疗组相比,17-DMAG治疗5 d后,结肠炎小鼠体质量降低程度( $90.9\% \pm 7.78\%$  vs  $81\% \pm 5.44\%$ ,  $P < 0.05$ )及疾病活动度显著改善( $1.8 \pm 0.84$  vs  $4.7 \pm 1.21$ ,  $P < 0.05$ ),单位长度结肠质量( $4.43 \text{ mg/mm} \pm 0.16 \text{ mg/mm}$  vs  $5.71 \text{ mg/mm} \pm 0.56 \text{ mg/mm}$ ,  $P < 0.01$ )及结肠病理评分降低( $4.6 \pm 1.30$  vs  $7.4 \pm 0.30$ ,  $P < 0.01$ ),结肠上皮细胞凋亡数目( $33.2 \pm 5.50$  vs  $62.6 \pm 9.81$ ,  $P < 0.01$ )显著减少。

**结论:** 17-DMAG可减轻DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎,其可能通过抑制结肠上皮细胞的凋亡而发挥作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 热休克蛋白90; 阿螺旋霉素

**核心提示:** 热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)参与了溃疡性结肠炎的发病过程。本研究采用经腹腔给予水溶性HSP90分子抑制剂阿螺旋霉素[17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG]的方法,观察到溃疡性结肠炎小鼠结肠组织损伤显著减轻。证实17-DMAG可抑制DSS诱导的结肠炎,其可能通过抑制结肠上皮细胞的凋亡而发挥作用。

吴琳, 汪芳裕, 路又可, 刘炯, 陆恒, 刘畅, 陈春燕, 李楠, 陶慧。阿螺旋霉素在急性小鼠溃疡性结肠炎模型中的保护性作用。世

界华人消化杂志 2014; 22(7): 975-981 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/975.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.975>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种常见的肠道慢性病,包括克罗恩病和溃疡性结肠炎。临床上常表现为腹痛、腹泻、便血等症状<sup>[1]</sup>。结肠上皮细胞作为与肠道微生物接触的第一道屏障,其异常凋亡可能是IBD发病的关键因素<sup>[2]</sup>。热休克蛋白90(heat shock protein 90, HSP90)是一种定位于胞浆的分子伴侣蛋白<sup>[3]</sup>,其在炎症<sup>[4]</sup>、肿瘤细胞凋亡<sup>[5]</sup>等病理生理过程中具有重要作用。在IBD患者<sup>[6]</sup>及结肠炎小鼠<sup>[7]</sup>的肠黏膜中,HSP90表达显著升高,且在治疗后相应降低,提示该蛋白可能参与了IBD的发病过程,但具体机制尚不明确。阿螺旋霉素[17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin hydrochloride, 17-DMAG]是一种新型的水溶性HSP90抑制剂,体内外研究显示其可有效抑制HSP90功能<sup>[8]</sup>,从而在急性肺损伤<sup>[9]</sup>、肝损伤<sup>[10]</sup>及肿瘤<sup>[11]</sup>等疾病中发挥治疗作用。其对IBD病程发生、发展的影响目前尚不明确。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ 10-12周龄C57BL/6小鼠,体质量 $20 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$ ,购自上海斯莱克实验动物有限责任公司;葡聚糖硫酸钠(dextran sulphate sodium, DSS),分子量36000-50000 Da购自Millipore公司;17-DMAG购自Selleck公司;粪便隐血检测试剂盒购自珠海贝索生物技术有限公司;TUNEL试剂盒购自Roche公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 DSS诱导的结肠炎小鼠模型复制:** 小鼠称质量及标记后,随机分为:正常对照组、DSS组、DSS+PBS治疗组、DSS+17-DMAG治疗组,每组5只。按照文献[12]的方法,将15 g DSS粉末溶于500 mL饮用水,配制成3%DSS溶液,4℃保存,每3 d更换1次。正常对照组饮入饮用水,模型组小鼠自由饮入3%DSS溶液。将25 mg 17-DMAG粉末溶于25 mL PBS中配制成1 mg/mL溶液,分装后-20℃保存。造模后次日作为第1天,治疗组造模后当天至第5天每天腹腔注射1次17-DMAG溶液(10 mg/kg),DSS+PBS组予以腹腔注射同等体积PBS。

**1.2.2 模型评价:** 每天记录小鼠体质量。采集小鼠

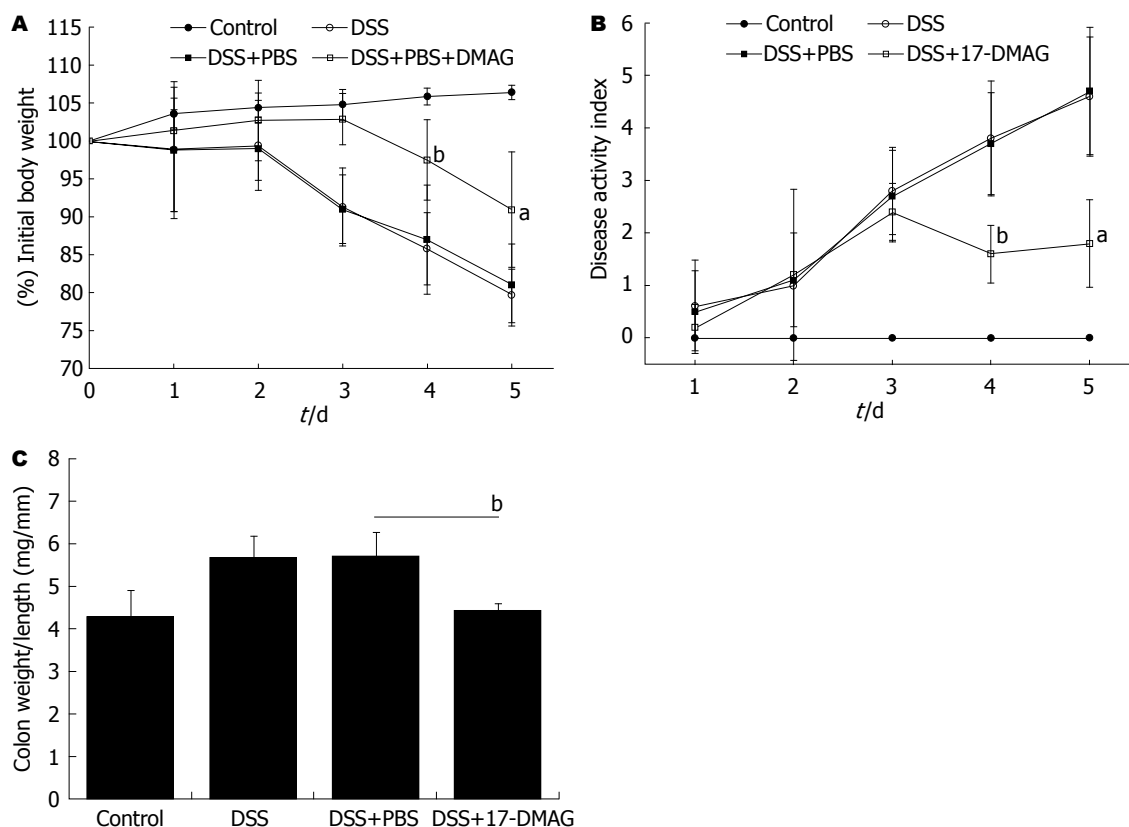


图1 DSS诱导C57BL/6小鼠产生结肠炎及17-DMAG的治疗作用. A: 体质量变化; B: 疾病活动度; C: 单位长度结肠重量.  $P<0.05$ ,  $^bP<0.01$  vs DSS+PBS组. 17-DMAG: 阿螺旋霉素.

#### ■ 相关报道

HSP90抑制剂17-AAG在溃疡性结肠炎发挥了保护作用, 但该化合物不溶于水, 从而限制了其临床应用前景. 17-DMAG与17-AAG同为格尔德霉素衍生物, 尽管两者均可有效抑制HSP90的生物学活性, 但具有完全不同的物理特性及药代动力学特征.

新鲜粪便, 按照文献[12]的方法对粪便进行评分. 具体评分标准由粪便黏稠度及便血组成, 每项最高3分, 总分范围在0-6分之间. 造模后第5天, 将小鼠颈椎脱臼处死. 取结肠组织, 用PBS将肠内容物冲洗干净后吸干水分. 记录结肠重量及总长度. 取结肠中段长约0.5 cm组织, 浸泡于4%多聚甲醛中固定24 h.

**1.2.3 苏木精-伊红(HE)染色及病理评分:** 固定好的组织精脱水、包埋、切片后, 对切片进行HE染色. 在高倍镜下( $\times 400$ ), 对切片随机挑选5个视野进行拍照. 按照文献[13]的方法进行病理评分. 其具体评分由黏膜破坏和炎症细胞浸润两部分组成, 每项最高4分, 总分范围在0-8分之间.

**1.2.4 结肠上皮细胞凋亡检测:** 采用末端脱氧核苷酸转移酶介导的dUTP缺口末端标记测定法(TUNEL法)评价结肠上皮细胞凋亡情况. 将石蜡包埋的结肠组织经切片、脱蜡、浸水. 将切片置入孵育液中(0.1% Triton X-100, 0.1% sodium citrate)25 °C 8 min. 然后将切片进入TUNEL反应混合液中孵育, 37 °C 60 min. 40倍光镜下, 随机选择5个视野并计数隐窝中100个结肠上皮细胞, 记录凋亡细胞数. 计算细胞凋亡指数 = (凋亡细

胞数/100)  $\times 100\%$

**统计学处理** 应用SPSS13.0软件进行数据处理, 数据均以mean  $\pm$  SD表示, 多组间均数的比较采用One-way ANOVA检验, 再用Bonferroni检验进行组间比较.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.  $P<0.01$ 为差异具有显著统计学意义.

## 2 结果

**2.1 疾病活动指数及结肠长度** 小鼠饮入3%DSS 2 d后出现大便变稀, 第3天开始出现体质量减轻, 大便隐血阳性, 第5天出现便血. 17-DMAG组结肠炎小鼠体质量减轻程度轻于PBS治疗组(图1A), 治疗后第3天起, 疾病活动指数显著低于PBS治疗组(图1B). 造模后第5天, 处死小鼠并收集结肠组织测量后发现, 17-DMAG组小鼠单位长度结肠组织重量显著低于PBS治疗组(图1C).

**2.2 结肠病理评分** 小鼠结肠组织HE染色结果发现, 正常对照组小鼠结肠黏膜完好, 隐窝结构存在, 黏膜下层无水肿(图2A); DSS组小鼠可见结肠大部分黏膜全层被炎症细胞浸润, 导致隐窝结构消失, 黏膜下明显水肿伴大量炎症细胞浸润. 部分切片可见炎症细胞浸润至肌层

## ■ 创新盘点

本文证实17-DMAG可抑制DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎,其可能通过抑制结肠上皮细胞凋亡而发挥作用。

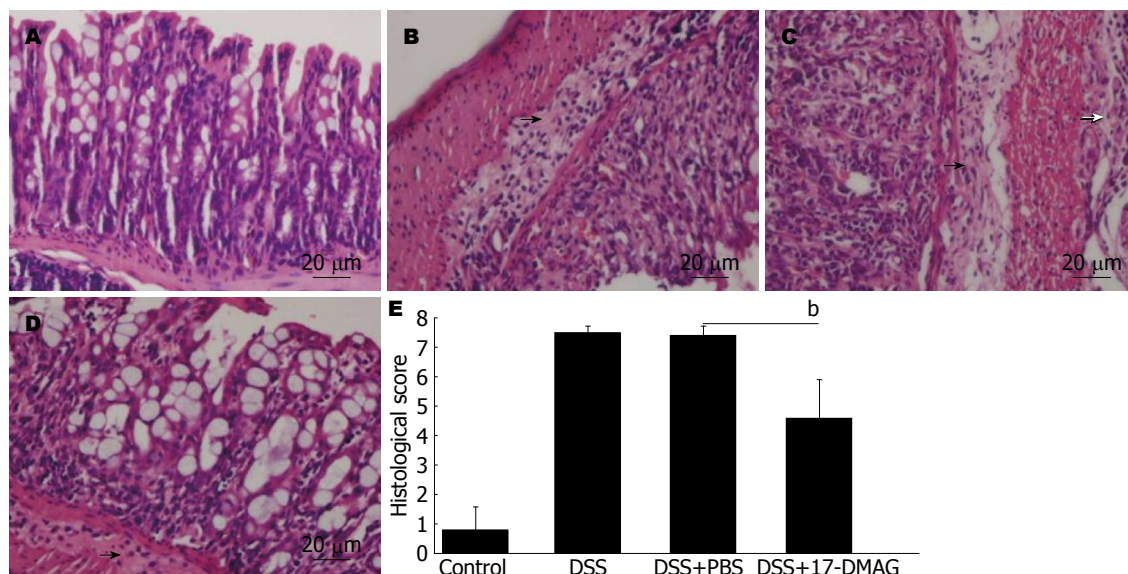


图2 小鼠结肠组织HE染色结果。A: 正常对照组; B: DSS处理组; C: DSS及PBS处理组; D: DSS及17-DMAG处理组, 黑色箭头示黏膜下水肿, 白色箭头示浆膜下炎症细胞浸润。E: 结肠病理学评分结果。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs DSS+PBS组。17-DMAG: 阿螺旋霉素。

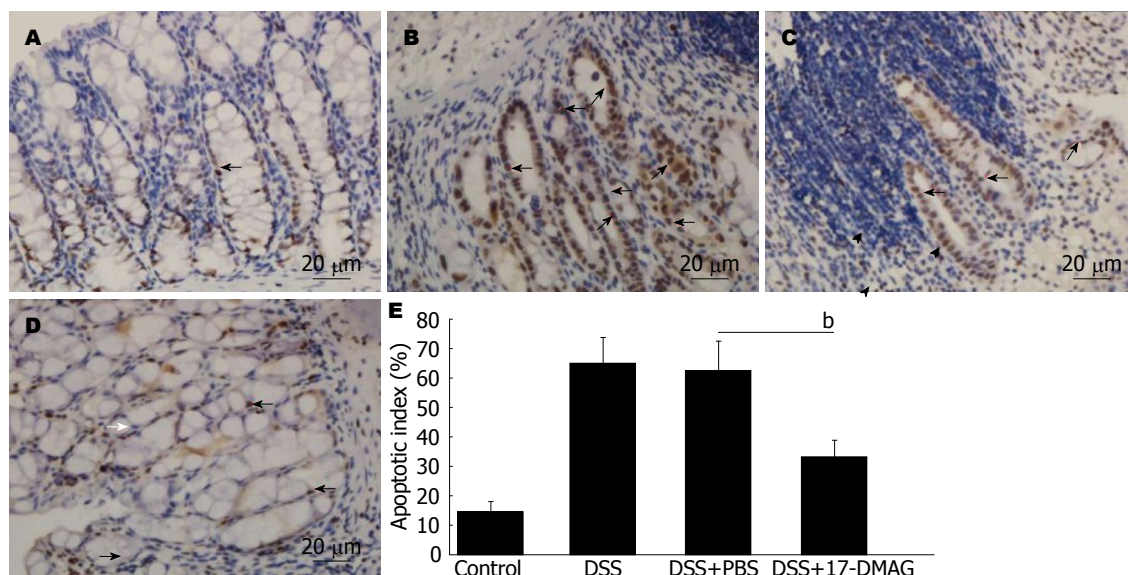


图3 小鼠结肠组织TUNEL染色结果。A: 正常对照组; B: DSS处理组; C: DSS及PBS处理组; D: DSS及17-DMAG处理组。箭头示凋亡结肠上皮细胞, 白色箭头示正常结肠上皮细胞; E: 高倍镜下计数每100个结肠上皮细胞中凋亡的上皮细胞数目。<sup>a</sup> $P < 0.01$  vs DSS+PBS组。17-DMAG: 阿螺旋霉素。

甚至浆膜下层(图2B)。每日腹腔注入PBS对结肠炎症无明显改善(图2C)。而每日腹腔注入10 mg/mL 17-DMAG治疗的结肠炎小鼠, 结肠黏膜尚可见残存的隐窝及其上的结肠上皮细胞(图2D)。病理评分结果显示, DSS组小鼠结肠病理评分( $7.5 \pm 0.2$ )显著高于正常对照组( $0.80 \pm 0.78$ ), 17-DMAG治疗5 d( $4.6 \pm 1.3$ )可较PBS治疗组( $7.4 \pm 0.3$ )显著降低结肠病理评分(图2E)。

### 2.3 结肠上皮细胞凋亡 结肠上皮细胞凋亡是

IBD病理生理过程的关键环节。为明确17-DMAG对结肠上皮细胞凋亡的影响, 我们采用TUNEL染色的方法观察各组小鼠结肠上皮细胞凋亡发生情况。结果显示, 正常对照组小鼠结肠隐窝基底部存在少量细胞凋亡(图3A), DSS饮入后5 d, 正常隐窝结构大部分消失, 在少量残存的隐窝结构中, 可见结肠上皮细胞大量凋亡(图3B)。17-DMAG治疗组结肠黏膜上皮细胞凋亡数目( $33.20\% \pm 5.50\%$ )较PBS治疗组( $62.60\% \pm 9.81\%$ )



减少(图3C, D), 两者有统计学差异(图3E)。

### 3 讨论

HSP90是一种定位于胞浆的分子伴侣蛋白, 已知其可与激素受体、蛋白激酶及转录因子等200余种蛋白相结合, 在蛋白的转运、成熟等过程中发挥作用<sup>[3]</sup>。17-DMAG是格尔德霉素(geldanamycin, GA)的小分子衍生化合物, 是一种新型HSP90抑制剂。其通过竞争性结合HSP90蛋白N端的ATP结合位点而抑制HSP90的分子伴侣功能<sup>[3]</sup>。与GA、17-AAG等需溶于有机溶剂并仅能经静脉输注的HSP90抑制剂相比, 17-DMAG不仅具有水溶性的特点, 而且其经口服生物利用度为50%, 经腹腔注射生物利用度达100%。静脉注入17-DMAG后, 药物可迅速分布至各个器官中, 半衰期长达24 h。药物主要通过胆道及尿路以原形排泄, 少量在肝脏中被分解为代谢产物后通过胆道排泄<sup>[14]</sup>。这些特点决定了17-DMAG不仅使用方便, 而且药效维持长久。动物研究中, 小鼠短期使用剂量达75 mg/kg而无明显不良反应, 而大鼠长期使用推荐剂量为12 mg/m<sup>2</sup><sup>[15]</sup>。I期临床研究推荐人类长期使用日剂量可达25 mg/m<sup>2</sup><sup>[16]</sup>。参考现有剂量应用资料<sup>[17]</sup>, 我们采用了10 mg/kg(约4.6 mg/m<sup>2</sup>)这一剂量。同时, 参考关于17-DMAG药代学研究结果, 我们采用了经腹腔给药这一安全、方便且能维持预定血药浓度的给药方式。

既往研究显示, 17-AAG[40 mg/(kg·d), 腹腔注射]对DSS诱导的结肠炎具有保护作用<sup>[7]</sup>。由于17-AAG必须使用DMSO等有机溶剂溶解, 且不能经胃肠道吸收, 因此极大限制了其可能的临床应用前景。本研究中, 我们证实水溶性的17-DMAG可抑制DSS诱导的小鼠体质量减轻, 疾病活动度增加、单位长度结肠质量的增加及结肠病理损伤程度, 提示17-DMAG在DSS诱导的小鼠结肠炎的发生、发展过程中发挥了保护性作用。HSP90在肿瘤和炎症性疾病中似乎具有不同的生物学功能。在肿瘤的发生过程中, 由于高代谢状态的肿瘤细胞合成大量的蛋白, HSP90表达相应上调, 有助于异常表达蛋白的成熟及转运。HSP90抑制剂抑制通过抑制HSP90功能, 使得肿瘤细胞的增殖受限且凋亡增加, 从而起到抗肿瘤作用<sup>[18]</sup>。而在炎症性疾病中, 上调的HSP90表达, 可结合热休克因子1等炎症相关的转录因子, 使得炎症因子表达增加<sup>[19]</sup>,

而抑制HSP90功能后, 其靶蛋白如HSF等由于失去HSP90的保护, 转而与泛素酶结合并进而降解, 从而可降低促炎症因子肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素- $\gamma$ 等的表达<sup>[20]</sup>。结肠上皮细胞不仅是结肠吸收水和营养物质的主要细胞, 而且是肠道与肠腔中大量微生物及有毒物质接触的第一道屏障<sup>[21]</sup>。越来越多的研究证实, IBD的发生与结肠上皮细胞有着密切关系<sup>[22]</sup>。例如, 内质网应激关键调控基因*XBPI*敲除的结肠上皮细胞, 在应激条件下更易于凋亡。同时, *XBPI*基因敲除小鼠可出现自发性肠炎, 且其在DSS诱导后, 结肠病理损伤程度显著高于野生型小鼠, 提示结肠上皮细胞凋亡可促进IBD的发生、发展<sup>[23]</sup>。本研究显示17-DMAG治疗组小鼠结肠上皮细胞凋亡水平显著低于PBS对照组, 提示该药物可能是通过抑制上皮细胞的凋亡而在DSS诱导的结肠炎中发挥其保护性作用。推测一方面, 17-DMAG可通过抑制HSP90, 进而降低TNF- $\alpha$ 等死亡受体配体的分泌, 而直接减少结肠黏膜上皮细胞的凋亡<sup>[19,24]</sup>; 另一方面, 由于HSP90功能的抑制, 其后续的基因转录及蛋白翻译、加工过程可能相应得以抑制, 从而减轻了内质网中由未折叠蛋白反应导致的内质网应激水平升高甚至内质网应激途径诱导的细胞凋亡水平<sup>[25]</sup>, 这还需要进一步研究证实。

由于多项研究均已证实17-DMAG可特异性的抑制HSP90的活性, 故本研究未对此进一步重复。但是, 鉴于DSS诱导的小鼠溃疡性结肠炎发病过程的复杂性, 众多其他亚型的热休克蛋白及其他炎症蛋白均参与这一过程, 17-DMAG是否也能通过影响这些蛋白分子的功能而发挥在结肠炎中的保护性作用, 值得进一步深入研究。

总之, 本研究发现, 新型的水溶性HSP90分子抑制剂17-DMAG可抑制DSS诱导的结肠炎, 其可能通过抑制结肠上皮细胞的凋亡而发挥作用。

### 4 参考文献

- 1 Danese S, Fiocchi C. Ulcerative colitis. *N Engl J Med* 2011; 365: 1713-1725 [PMID: 22047562 DOI: 10.1056/NEJMc1113995]
- 2 Qiu W, Wu B, Wang X, Buchanan ME, Regueiro MD, Hartman DJ, Schoen RE, Yu J, Zhang L. PUMA-mediated intestinal epithelial apoptosis contributes to ulcerative colitis in humans and mice. *J Clin Invest* 2011; 121: 1722-1732 [PMID: 21490394 DOI: 10.1172/JCI42917]
- 3 Li J, Buchner J. Structure, function and regulation of the hsp90 machinery. *Biomed J* 2013; 36: 106-117 [PMID: 23806880 DOI: 10.4103/2319-4170.113230]

### ■应用要点

本文证实HSP90抑制剂17-DMAG在溃疡性结肠炎中的治疗作用, 并初步探索了该药物对结肠上皮细胞凋亡的影响, 为溃疡性结肠炎的治疗策略的制定及深入了解疾病机制提供了新的参考。

# 同行评价

本文探讨17-DM-AG在溃疡性结肠炎中的治疗作用. 创新性较好, 研究设计严谨, 科学性较强.

- 4 Rice JW, Veal JM, Fadden RP, Barabasz AF, Partridge JM, Barta TE, Dubois LG, Huang KH, Mabbett SR, Silinski MA, Steed PM, Hall SE. Small molecule inhibitors of Hsp90 potentially affect inflammatory disease pathways and exhibit activity in models of rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2008; 58: 3765-3775 [PMID: 19035474 DOI: 10.1002/art.24047]
- 5 Ayrault O, Godeny MD, Dillon C, Zindy F, Fitzgerald P, Roussel MF, Beere HM. Inhibition of Hsp90 via 17-DMAG induces apoptosis in a p53-dependent manner to prevent medulloblastoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2009; 106: 17037-17042 [PMID: 19805107 DOI: 10.1073/pnas.0902880106]
- 6 Tomasello G, Sciumé C, Rappa F, Rodolico V, Zerilli M, Martorana A, Cicero G, De Luca R, Damiani P, Accardo FM, Romeo M, Farina F, Bonaventura G, Modica G, Zummo G, Conway de Macario E, Macario AJ, Cappello F. Hsp10, Hsp70, and Hsp90 immunohistochemical levels change in ulcerative colitis after therapy. *Eur J Histochem* 2011; 55: e38 [PMID: 22297444 DOI: 10.4081/ejh.2011.e38]
- 7 Collins CB, Aherne CM, Yeckes A, Pound K, Eltzschig HK, Jedlicka P, de Zoeten EF. Inhibition of N-terminal ATPase on HSP90 attenuates colitis through enhanced Treg function. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 960-971 [PMID: 23321985 DOI: 10.1038/mi.2012.134]
- 8 Solit DB, Chiosis G. Development and application of Hsp90 inhibitors. *Drug Discov Today* 2008; 13: 38-43 [PMID: 18190862 DOI: 10.1016/j.drudis.2007.10.007]
- 9 Chatterjee A, Snead C, Yetik-Anacak G, Antonova G, Zeng J, Catravas JD. Heat shock protein 90 inhibitors attenuate LPS-induced endothelial hyperpermeability. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2008; 294: L755-L763 [PMID: 18245267 DOI: 10.1152/ajplung.00350.2007]
- 10 Ambade A, Catalano D, Lim A, Mandrekar P. Inhibition of heat shock protein (molecular weight 90 kDa) attenuates proinflammatory cytokines and prevents lipopolysaccharide-induced liver injury in mice. *Hepatology* 2012; 55: 1585-1595 [PMID: 22105779 DOI: 10.1002/hep.24802]
- 11 Jhaveri K, Taldone T, Modi S, Chiosis G. Advances in the clinical development of heat shock protein 90 (Hsp90) inhibitors in cancers. *Biochim Biophys Acta* 2012; 1823: 742-755 [PMID: 22062686 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2011.10.008]
- 12 Wirtz S, Neufert C, Weigmann B, Neurath MF. Chemically induced mouse models of intestinal inflammation. *Nat Protoc* 2007; 2: 541-546 [PMID: 17406617]
- 13 刘震泽, 严惠敏, 王维刚. 三硝基苯磺酸诱导的C57/BL6小鼠结肠炎模型的建立方法. *中国细胞生物学学报* 2011; 33: 237-243
- 14 Egorin MJ, Lagattuta TF, Hamburger DR, Covey JM, White KD, Musser SM, Eiseman JL. Pharmacokinetics, tissue distribution, and metabolism of 17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin (NSC 707545) in CD2F1 mice and Fischer 344 rats. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002; 49: 7-19 [PMID: 11855755]
- 15 Glaze ER, Lambert AL, Smith AC, Page JG, Johnson WD, McCormick DL, Brown AP, Levine BS, Covey JM, Egorin MJ, Eiseman JL, Holleran JL, Sausville EA, Tomaszewski JE. Preclinical toxicity of a geldanamycin analog, 17-(dimethylaminoethylamino)-17-demethoxygeldanamycin (17-DMAG), in rats and dogs: potential clinical relevance. *Cancer Chemother Pharmacol* 2005; 56: 637-647 [PMID: 15986212]
- 16 Ramanathan RK, Egorin MJ, Erlichman C, Remick SC, Ramalingam SS, Naret C, Holleran JL, TenEyck CJ, Ivy SP, Belani CP. Phase I pharmacokinetic and pharmacodynamic study of 17-dimethylaminoethylamino-17-demethoxygeldanamycin, an inhibitor of heat-shock protein 90, in patients with advanced solid tumors. *J Clin Oncol* 2010; 28: 1520-1526 [PMID: 20177028]
- 17 Hertlein E, Wagner AJ, Jones J, Lin TS, Maddocks KJ, Towns WH, Goettl VM, Zhang X, Jarjoura D, Raymond CA, West DA, Croce CM, Byrd JC, Johnson AJ. 17-DMAG targets the nuclear factor-kappaB family of proteins to induce apoptosis in chronic lymphocytic leukemia: clinical implications of HSP90 inhibition. *Blood* 2010; 116: 45-53 [PMID: 20351313 DOI: 10.1182/blood-2010-01-263756]
- 18 Zitzmann K, Ailer G, Vlotides G, Spoettl G, Maurer J, Göke B, Beuschlein F, Auernhammer CJ. Potent antitumor activity of the novel HSP90 inhibitors AUY922 and HSP990 in neuroendocrine carcinoma cells. *Int J Oncol* 2013; 43: 1824-1832 [PMID: 24100469 DOI: 10.3892/ijo.2013.2130]
- 19 Bagatell R, Paine-Murrieta GD, Taylor CW, Pulcini EJ, Akinaga S, Benjamin IJ, Whitesell L. Induction of a heat shock factor 1-dependent stress response alters the cytotoxic activity of hsp90-binding agents. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 3312-3318 [PMID: 10955818]
- 20 Chatterjee A, Dimitropoulou C, Drakopanayiotakis F, Antonova G, Snead C, Cannon J, Venema RC, Catravas JD. Heat shock protein 90 inhibitors prolong survival, attenuate inflammation, and reduce lung injury in murine sepsis. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 176: 667-675
- 21 Cucchiara S, Stronati L, Aloï M. Interactions between intestinal microbiota and innate immune system in pediatric inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46 Suppl: S64-S66 [PMID: 22955361 DOI: 10.1097/MCG.0b013e31826a857f]
- 22 Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, Lee JC, Schumm LP, Sharma Y, Anderson CA, Essers J, Mitrovic M, Ning K, Cleynen I, Theate E, Spain SL, Raychaudhuri S, Goyette P, Wei Z, Abraham C, Achkar JP, Ahmad T, Amininejad L, Ananthakrishnan AN, Andersen V, Andrews JM, Baidoo L, Balschun T, Bampton PA, Bitton A, Boucher G, Brand S, Büning C, Cohain A, Cichon S, D'Amato M, De Jong D, Devaney KL, Dubinsky M, Edwards C, Ellinghaus D, Ferguson LR, Franchimont D, Fransen K, Gearry R, Georges M, Gieger C, Glas J, Haritunians T, Hart A, Hawkey C, Hedl M, Hu X, Karlsen TH, Kupcinskas L, Kugathasan S, Latiano A, Laukens D, Lawrance IC, Lees CW, Louis E, Mahy G, Mansfield J, Morgan AR, Mowat C, Newman W, Palmieri O, Ponsioen CY, Potocnik U, Prescott NJ, Regueiro M, Rotter JL, Russell RK, Sanderson JD, Sans M, Satsangi J, Schreiber S, Simms LA, Sventoraityte J, Targan SR, Taylor KD, Tremelling M, Verspaget HW, De Vos M, Wijmenga C, Wilson DC, Winkelmann J, Xavier RJ, Zeissig S, Zhang B, Zhang CK, Zhao H; International IBD Genetics Consortium (IBDGC), Silverberg MS, Annese V, Hakonarson H, Brant SR, Radford-Smith G, Mathew CG, Rioux JD, Schadt EE, Daly MJ, Franke A, Parkes M, Vermeire S, Barrett JC, Cho JH. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of

- 23 inflammatory bowel disease. *Nature* 2012; 491: 119-124 [PMID: 23128233 DOI: 10.1038/nature11582]
- Kaser A, Lee AH, Franke A, Glickman JN, Zeissig S, Tilg H, Nieuwenhuis EE, Higgins DE, Schreiber S, Glimcher LH, Blumberg RS. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell* 2008; 134: 743-756 [PMID: 18775308 DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.021]
- 24 Edelblum KL, Yan F, Yamaoka T, Polk DB. Regulation of apoptosis during homeostasis and disease in the intestinal epithelium. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 413-424 [PMID: 16670531]
- 25 Kaser A, Blumberg RS. Autophagy, microbial sensing, endoplasmic reticulum stress, and epithelial function in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 2011; 140: 1738-1747 [PMID: 21530740 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.02.048]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

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

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

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



# MK886对人结肠癌细胞SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响

周娟燕, 唐采白, 陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 费素娟

## ■背景资料

随着饮食结构及生活习惯的变化, 国内大肠癌发病率呈明显上升趋势, 其逐年递增率超过国际平均水平。调查显示, 男性大肠癌死亡率居全部恶性肿瘤第五位, 而肠癌的发病率年均增幅已达4.71%。由于大肠癌早期症状通常不明显, 多数患者确诊时已进入晚期, 故大肠癌的早发现、早诊治是国际公认的肿瘤防治手段。近年来, 感染、炎症、炎症因子和大肠癌发生及恶化的关系逐渐引起人们的重视, 其中白三烯和前列腺素的作用受到特别的注意。已有研究表明在结肠癌组织中, 白三烯类物质的表达与正常组织相比有统计学差异。而5-脂氧合酶是白三烯生成的主要限速酶, MK886是5-脂氧合酶激活蛋白抑制剂, 本课题就其与结肠癌细胞之间的关系进行初步研究。

周娟燕, 费素娟, 徐州医学院附属医院消化内科 江苏省徐州市 221002

唐采白, 徐州医学院第三附属医院消化内科 江苏省徐州市 221003

陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 中国人民解放军第九七医院实验科 江苏省徐州市 221004

周娟燕, 2011级徐州医学院硕士, 主要从事消化系肿瘤的基础及临床研究。

徐州市科技基金资助项目, No. XM12B044

作者贡献分布: 周娟燕主要从事课题的研究过程、数据分析及论文写作部分; 费素娟与唐采白主要从事课题的设计、指导、试剂的提供及论文的修改; 陈复兴、刘军权及吕小婷对研究过程给予很大帮助, 给予技术指导。

通讯作者: 费素娟, 教授, 221002, 江苏省徐州市淮海西路84号, 徐州医学院附属医院消化内科。feisj99@163.com

电话: 0516-85806239

收稿日期: 2013-11-04 修回日期: 2013-12-26

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

## MK886 inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2

Juan-Yan Zhou, Cai-Bai Tang, Fu-Xing Chen, Jun-Qun Liu, Xiao-Ting Lv, Su-Juan Fei

Juan-Yan Zhou, Su-Juan Fei, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China

Cai-Bai Tang, Department of Gastroenterology, Third affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221003, Jiangsu Province, China

Fu-Xing Chen, Jun-Qun Liu, Xiao-Ting Lv, Department of Central Laboratory, 97th Hospital of PLA, Xuzhou 221004, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Su-Juan Fei, Professor, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, 99 West Huaihai Road, Xuzhou 221002, Jiangsu Province, China. feisj99@163.com

Received: 2013-11-04 Revised: 2013-12-26

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To observe the effects of 5-lipoxygenase activating protein (FLAP) MK886 on cell proliferation and apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2.

**METHODS:** MTT assay was used to detect the effects of treatment with MK886 at different concentrations (6.25, 12.5, 25, 50, 100, 200  $\mu\text{mol/L}$ )

for different durations (24, 48, 72 h) on the proliferation of SW480 and Caco-2 cells. The apoptosis of cells treated with MK886 at concentrations of 12.5, 25, 50, and 100  $\mu\text{mol/L}$  for 72 h was assessed by flow cytometry with annexin V-FITC/PI. The cell cycle of cells treated with MK886 at concentrations of 12.5, 25, and 50  $\mu\text{mol/L}$  for 72 h was assessed by flow cytometry.

**RESULTS:** MK886 at concentrations between 50 and 200  $\mu\text{mol/L}$  inhibited the proliferation of SW480 cells in a dose- and time-dependent manner. Treatment with MK886 at concentrations from 12.5 to 25  $\mu\text{mol/L}$  for 24 h did not significantly inhibit the proliferation of SW480 cells, but treatment for 48 h or 72 h significantly inhibit cell proliferation in a dose- and time-dependent manner. MK886 at a concentration of 6.25  $\mu\text{mol/L}$  had no significant effects on the proliferation of SW480 cells. In Caco-2 cells, MK886 at concentrations from 25 to 200  $\mu\text{mol/L}$  inhibited cell proliferation in a dose- and time-dependent manner, but MK886 at concentrations between 6.25 and 12.5  $\mu\text{mol/L}$  MK886 had no significant inhibitory effect on the proliferation of Caco-2 cells. Treatment with MK886 at a concentration of 200  $\mu\text{mol/L}$  for 24 h significantly inhibited the growth of SW480 and Caco-2 cells, and the reduced rate of cell growth was 90%. MK886 at concentrations from 12.5 to 100  $\mu\text{mol/L}$  increased the apoptosis rate of the two cell lines in a dose- and time-dependent manner. Treatment with MK886 at concentrations from 12.5 to 50  $\mu\text{mol/L}$  for 72 h increased the percentage of cells in  $G_0/G_1$  phase but decreased that in S phase.

**CONCLUSION:** MK886 significantly inhibits the growth of SW480 and Caco-2 cells possibly by blocking cells in  $G_0/G_1$  phase and inducing cell apoptosis.

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

**Key Words:** MK886; SW480; Caco-2; Apoptosis; Cell cycle

Zhou JY, Tang CB, Chen FX, Liu JQ, Lv XT, Fei SJ. MK886

## ■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

inhibits cell proliferation and promotes apoptosis in human colon cancer cell lines SW480 and Caco-2. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 982-987 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/982.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.982>

## 摘要

**目的:** 观察5-脂氧合酶活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)抑制剂MK886对人结肠癌细胞株SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响。

**方法:** 噻唑蓝(MTT)比色法检测6.25、12.5、25、50、100、200  $\mu\text{mol/L}$  MK886作用24、48、72 h对SW480和Caco-2细胞的抑制率; Annexin V-FITC/PI双染流式细胞术检测12.5、25、50、100  $\mu\text{mol/L}$  MK886作用72 h的结肠癌细胞凋亡率; 流式细胞仪检测12.5、25、50  $\mu\text{mol/L}$  MK886作用72 h的结肠癌细胞周期。

**结果:** 50  $\mu\text{mol/L}$ 到200  $\mu\text{mol/L}$ 的MK886对结肠癌SW480细胞有抑制作用, 且存在时效和量效依赖性; 而12.5  $\mu\text{mol/L}$ 到25  $\mu\text{mol/L}$ 浓度的MK886处理24 h后, 对SW480细胞无明显作用, 延长至48、72 h后, 作用有统计学意义, 且同样存在时效和量效依赖性; 6.25  $\mu\text{mol/L}$ 的MK886对SW480细胞无抑制作用。25  $\mu\text{mol/L}$ 到200  $\mu\text{mol/L}$ 的MK886对结肠癌Caco-2细胞有抑制作用, 且存在时效和量效依赖性; 而6.25  $\mu\text{mol/L}$ 到12.5  $\mu\text{mol/L}$ 浓度的MK886对Caco-2细胞无抑制作用。200  $\mu\text{mol/L}$  MK886作用24 h即可明显抑制SW480、Caco-2两种结肠癌细胞株的增殖, 抑制率接近90%。12.5  $\mu\text{mol/L}$ 到100  $\mu\text{mol/L}$ 浓度的MK886对两种结肠癌SW480和Caco-2细胞有凋亡作用, 且存在时效和量效依赖性; 12.5  $\mu\text{mol/L}$ 到50  $\mu\text{mol/L}$ 浓度的MK886可以增加两种结肠癌SW480和Caco-2细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期比例, 降低S期比例。

**结论:** MK886具有显著的抑制人结肠癌SW480、Caco-2细胞株增殖的作用, 该作用可能是通过阻滞细胞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 并诱导肿瘤细胞凋亡所致。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** MK886; SW480细胞; Caco-2细胞; 凋亡; 细胞周期

**核心提示:** MK886具有显著的抗肿瘤细胞的效应, MK886对结肠癌细胞抑制率在一定范

围内具有时间、浓度依赖性。主要通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期而抑制肿瘤细胞增殖。本工作为临床应用MK886治疗结肠癌提供了体外实验的依据, 很可能为结肠癌治疗提供一种全新的思路, 但其抗肿瘤机制及其临床观察, 有待进一步更深入的研究。

周娟燕, 唐采白, 陈复兴, 刘军权, 吕小婷, 费素娟. MK886对人结肠癌细胞SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 982-987 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/982.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.982>

## 0 引言

结直肠癌(colitis associated carcinoma, CRC)是一种常见的恶性肿瘤, 在西欧国家, 发病率居第3位。在我国, 随着饮食结构和生活习惯的变化, 结直肠癌的发病率和病死率也逐年升高, 其逐年递增率超过国际平均水平, 且呈现出年轻化趋势。近年来, 感染、炎症、炎症因子和结直肠癌发生及恶化的关系逐渐引起人们的重视。统计研究表明, 慢性炎症和肿瘤发生相关程度最高的就是患有炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的结肠癌患者, 与正常组相比, IBD患者结肠癌发生的风险要高30倍<sup>[1]</sup>。此外, 在没有IBD发病基础的原发性结直肠癌患者中, Ning等<sup>[2]</sup>研究发现, 肿瘤组织中也伴有大量炎性细胞的浸润, 以及炎性因子表达的上升。目前, 炎性因子半胱氨酰白三烯(cysteinylleukotrienes, CysLTs)在结直肠癌发生中的作用研究在国外尚处于开始阶段, 但国内鲜有报道。5-脂氧合酶在催化花生四烯酸代谢生成半胱氨酰白三烯的过程中需5-脂氧合酶活化蛋白(5-lipoxygenase activating protein, FLAP)传送底物来协助, MK886是FLAP抑制剂, 能特异性与FLAP结合而抑制5-脂氧合酶(5-lipoxygenase, 5-LOX)的活性, 从而阻止花生四烯酸的5-LOX代谢途径, 减少半胱氨酰白三烯的生成。本文研究MK886对结肠癌SW480和Caco-2细胞的增殖抑制作用, 为进一步明确结肠癌的具体发病机制提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结肠癌SW480细胞由徐州九七医院实验室保存; 人结肠腺癌Caco-2细胞购自中科院上海细胞库; 细胞培养液RPMI 1640、DMEM高糖培养基购自碧云天生物技术研究所; MK886购自美国Enzo公司; MTT购自美国Sigma公司;

## ■ 研发前沿

在多年的临床实践和科研过程中, 我们观察和注意到慢性炎症与结肠癌的发生有一定的相关性。本研究以结肠癌上皮细胞系为模型, 以MTT和流式细胞术为主要手段, 研究5-脂氧合酶激活蛋白抑制剂MK886对结肠癌细胞的增殖和凋亡的变化情况, 以期发现5-LOX通路在结肠癌发生发展过程中的作用。

## ■相关报道

Tong等在胰腺癌的研究中发现5-LOX的代谢产物LTB4可以通过诱导EPK1/2磷酸化,从而促进胰腺癌细胞增殖。Ding等进一步报道,5-LOX抑制剂可引起胰腺癌细胞的凋亡和形态学变化。Zhi等运用DNA芯片技术发现,5-LOX在人食管鳞状细胞癌中过度表达。Hoque等研究发现在79%食管癌患者的组织中表达5-LOX,应用5-LOX抑制剂AA861和REV5901能够诱导食管癌细胞发生凋亡,抑制细胞活力,并且这种作用具有剂量依赖性。不仅是消化系肿瘤,在肺癌、前列腺癌、肾细胞癌等其他肿瘤中也出现类似结果。这些研究结果表明5-LOX与消化系肿瘤,甚至其他系统的相关肿瘤均有着密切关系。

Annexin V-FITC检测试剂盒购自美国BD公司;细胞周期试剂盒购自碧云天生物技术研究;CO<sub>2</sub>恒温细胞培养箱购自美国Thermo公司;IX71型倒置相差显微镜购自日本Olympus公司。

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养及药物准备:人结肠癌SW480及Caco-2细胞分别培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640及DMEM培养基中,所有培养基分别加有55 μg/mL链霉素及55 IU/mL青霉素。细胞单层贴壁生长在37℃,5%CO<sub>2</sub>培养箱中,平均2-3 d换液,待细胞长至80%-90%融合,用0.25%的胰蛋白酶消化后按 $2 \times 10^5$ - $3 \times 10^5$ /mL细胞的密度传代,开始实验。5 mg MK886用DMSO配成20 mmol/L的母液,4℃储存备用。实验浓度MK886用培养液稀释。所有实验均重复3次以上。

1.2.2 MTT法检测MK886对SW480和Caco-2细胞的增殖抑制率:取对数生长期的SW480和Caco-2结肠癌细胞按 $1 \times 10^3$ /孔的密度分别接种于96孔培养板,设实验组和空白对照组, MK886浓度设200、100、50、25、12.5、6.25 μmol/L共6个浓度组,每个浓度组设5个复孔,两种细胞分别在含不同浓度的相应培养基中培养24、48和72 h。酶标仪490 nm处测各孔吸光度(A)值。计算不同MK886浓度组作用不同时间对结肠癌细胞的抑制率,细胞抑制率(%) = (1-实验组平均A值/空白对照平均A值) × 100%。实验重复3次。根据对肿瘤细胞的增殖抑制效果选择进一步实验的MK886浓度。

1.2.3 流式细胞仪检测实验浓度MK886对SW480和Caco-2细胞凋亡率的影响:将SW480和Caco-2细胞按 $2 \times 10^5$ /mL的密度接种于6孔板,常规培养。设空白对照组及100、50、25、12.5 μmol/L MK886作用72 h实验组。各组细胞用0.25%胰蛋白酶消化,制成单细胞悬液, PBS漂洗,重悬在 $1 \times$  annexin V结合缓冲液中,调细胞密度为 $10^6$ 个/mL。用5 μL Annexin V-FITC和 $1 \times$  annexin-binding buffer室温孵育15 min,然后加入300 μL  $1 \times$  annexin V结合缓冲液和5 μL PI工作液,置于冰上,尽快对染色细胞于流式细胞仪检测分析。

1.2.4 流式细胞仪检测实验浓度MK886对SW480和Caco-2细胞周期的影响:将SW480和Caco-2细胞按 $2 \times 10^5$ 个/mL的密度接种于6孔板,常规培养。设空白对照组及50、25、12.5 μmol/L MK886作用72 h实验组。各组细胞用0.25%胰蛋白酶消化,制成单细胞悬液,1000 g离心3-5 min,去上清,1 mL PBS重悬,再次离心,残留50

μL PBS重悬,1 mL预冷700 mL/L乙醇,4℃固定2 h,1000 g离心3-5 min,弃上清,1 mL PBS重悬,再次离心弃上清,加入0.5 mL碘化丙啶染色液,37℃避光温浴30 min,用流式细胞仪在激发波长488 nm处检测红色荧光,同时检测光散射情况。相应分析软件进行细胞DNA含量分析和光散射分析。

**统计学处理** 实验数据以mean±SD表示。应用SPSS13.0统计软件分析,进行样本正态分布和方差齐性检验。两独立样本均数比较用t检验。多组均数间比较用单因素方差分析(SNK检验,均数两两比较用Bonferroni法);方差差不齐用近似F检验,均数两两比较用Dunnett T3, 2-sided检验。

## 2 结果

2.1 不同浓度(时间)MK886对SW480和Caco-2细胞增殖抑制作用 对SW480细胞增殖抑制作用(表1):单因素方差分析显示:200、100、50 μmol/L MK886处理24 h后,SW480细胞的增殖受到明显抑制( $P < 0.05$ );200、100、50、25、12.5 μmol/L MK886处理48、72 h后,SW480细胞的增殖受到明显抑制( $P < 0.05$ ),且随药物浓度增加,细胞的增殖抑制更明显。200 μmol/L MK886处理72 h对SW480细胞抑制率与24、48 h比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ );100、50、25、12.5、6.25 μmol/L处理72 h对SW480细胞抑制率与24 h比较,对细胞的抑制作用随时间延长而升高( $P < 0.05$ )。提示:在一定浓度范围内,随浓度增加和时间延长, MK886对SW480细胞增殖抑制率逐渐增高。200 μmol/L作用24、48、72 h,细胞增殖抑制率达90%以上,抑制率已不再随时间延长而增高。

对Caco-2细胞增殖抑制作用(表2):200、100、50、25 μmol/L MK886处理24、48、72 h后,Caco-2细胞的增殖受到明显抑制( $P < 0.05$ ),且随药物浓度增加,细胞的增殖抑制更明显。200 μmol/L MK886处理72 h对Caco-2细胞抑制率与24、48 h比较,对细胞的增殖抑制作用无明显差别( $P > 0.05$ );100、50、25、12.5、6.25 μmol/L处理72 h对Caco-2细胞抑制率与24 h比较,对细胞的抑制作用随时间延长而升高( $P < 0.05$ )。提示:在一定浓度范围内,随浓度增加和时间延长, MK886对Caco-2细胞增殖抑制率逐渐增高。200 μmol/L作用24、48、72 h,细胞增殖抑制率达90%左右,抑制率已不再随时间延长而增高。

2.2 MK886诱导肿瘤细胞SW480、Caco-2凋亡的



表 1 MK886不同浓度(时间)对SW480细胞的增殖抑制率 (% , mean  $\pm$  SD)

MK886( $\mu$ mol/L)	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0	0	0
6.25	3.40 $\pm$ 0.89	5.00 $\pm$ 1.19	9.00 $\pm$ 2.10 <sup>de</sup>
12.5	6.00 $\pm$ 1.64	8.51 $\pm$ 1.30 <sup>a</sup>	10.99 $\pm$ 1.81 <sup>ad</sup>
25	9.99 $\pm$ 1.99	24.00 $\pm$ 3.07 <sup>ad</sup>	32.97 $\pm$ 3.03 <sup>adf</sup>
50	38.00 $\pm$ 3.26 <sup>a</sup>	43.01 $\pm$ 3.30 <sup>b</sup>	67.01 $\pm$ 3.97 <sup>bdf</sup>
100	77.00 $\pm$ 4.38 <sup>b</sup>	92.69 $\pm$ 6.39 <sup>bc</sup>	92.79 $\pm$ 6.08 <sup>bc</sup>
200	93.45 $\pm$ 6.96 <sup>b</sup>	92.40 $\pm$ 6.23 <sup>b</sup>	91.04 $\pm$ 5.62 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P$ <0.05, <sup>b</sup> $P$ <0.01 vs 空白对照组; <sup>c</sup> $P$ <0.05, <sup>d</sup> $P$ <0.01 vs 24 h; <sup>e</sup> $P$ <0.05, <sup>f</sup> $P$ <0.01 vs 48 h.

表 2 MK886不同浓度(时间)对Caco-2细胞的增殖抑制率 (% , mean  $\pm$  SD)

MK886( $\mu$ mol/L)	24 h	48 h	72 h
空白对照组	0	0	0
6.25	2.05 $\pm$ 0.68	3.01 $\pm$ 0.86	5.15 $\pm$ 0.94 <sup>de</sup>
12.5	6.99 $\pm$ 1.28	12.01 $\pm$ 2.49 <sup>c</sup>	14.06 $\pm$ 2.55 <sup>d</sup>
25	9.03 $\pm$ 1.26 <sup>a</sup>	29.23 $\pm$ 2.80 <sup>ad</sup>	47.00 $\pm$ 3.09 <sup>bdf</sup>
50	15.01 $\pm$ 2.61 <sup>a</sup>	43.51 $\pm$ 3.33 <sup>ad</sup>	64.01 $\pm$ 3.89 <sup>bdf</sup>
100	34.98 $\pm$ 2.90 <sup>a</sup>	81.99 $\pm$ 4.02 <sup>bd</sup>	88.02 $\pm$ 4.48 <sup>bd</sup>
200	84.99 $\pm$ 4.22 <sup>b</sup>	89.94 $\pm$ 4.59 <sup>b</sup>	90.72 $\pm$ 5.79 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P$ <0.05, <sup>b</sup> $P$ <0.01 vs 空白对照组; <sup>c</sup> $P$ <0.05, <sup>d</sup> $P$ <0.01 vs 24 h; <sup>e</sup> $P$ <0.05, <sup>f</sup> $P$ <0.01 vs 48 h.

表 3 MK886对SW480、Caco-2细胞凋亡的影响 (% , mean  $\pm$  SD)

MK886( $\mu$ mol/L)	SW480细胞凋亡率	Caco-2细胞凋亡率
空白对照组	4.61 $\pm$ 1.27	4.21 $\pm$ 1.19
12.5	9.21 $\pm$ 2.47 <sup>b</sup>	10.37 $\pm$ 1.70 <sup>b</sup>
25	8.12 $\pm$ 2.39 <sup>a</sup>	17.15 $\pm$ 2.30 <sup>b</sup>
50	18.29 $\pm$ 2.97 <sup>b</sup>	22.38 $\pm$ 3.13 <sup>b</sup>
100	24.36 $\pm$ 3.09 <sup>b</sup>	26.20 $\pm$ 3.28 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P$ <0.05, <sup>b</sup> $P$ <0.01 vs 空白对照组.

作用 与空白对照组相比, 12.5  $\mu$ mol/L到50  $\mu$ mol/L浓度的MK886对两种结肠癌SW480和Caco-2细胞的凋亡率升高( $P$ <0.05), 在12.5  $\mu$ mol/L到50  $\mu$ mol/L范围内随着浓度的增加其诱导细胞凋亡的作用也逐渐增强(表3).

2.3 不同浓度MK886对结肠癌细胞细胞周期的影响 与空白对照组相比, 处理72 h后, 12.5  $\mu$ mol/L到50  $\mu$ mol/L浓度的MK886增加两种结肠癌SW480和Caco-2细胞G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期的比例( $P$ <0.05), 降低S期比例( $P$ <0.05), 降低G<sub>2</sub>/M期比例( $P$ <0.05), 且随着药物浓度增高, 这种变化趋势更加明显.

提示MK886可将细胞阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期, 并在一定范围内呈浓度依赖性(表4).

### 3 讨论

5-LOX是脂氧合酶(LOX)的一个重要亚型, 花生四烯酸代谢酶是刺激上皮细胞生长的重要介质, Hong等<sup>[3]</sup>研究表明大多数肿瘤细胞中均表达花生四烯酸代谢酶, 其中5-LOX在所有上皮肿瘤中表达均明显增加. 研究认为, 5-LOX的主要作用机制是在Ca<sup>2+</sup>的刺激下由细胞质转移到核膜上, 细胞膜磷脂在磷脂酶A2的作用下释放的花生四烯酸(arachidonic acid, AA), 与FLAP特异性结合, 后者将AA呈递给5-LOX并激活5-LOX, 5-LOX通过加氧酶作用, 催化促使氧分子与AA合并, 从而生成5-过氧化氢二十碳四烯酸(5-hydroperoxyeicosatetraenoic acid, 5-HPETE), 继而形成不稳定的环氧物白三烯(leukotriene A<sub>4</sub>, LTA<sub>4</sub>), LTA<sub>4</sub>在LTA<sub>4</sub>水解酶的作用下生成二羟酸白三烯(leukotriene B<sub>4</sub>, LTB<sub>4</sub>), 在LTC<sub>4</sub>合成酶的作用下生成白细胞三烯C<sub>4</sub>(leukotrienes C<sub>4</sub>, LTC<sub>4</sub>), 并进一步生成白细胞三烯D<sub>4</sub>(leukotrienes D<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub>)及白细胞三烯E<sub>4</sub>(leukotrienes E<sub>4</sub>, LTE<sub>4</sub>),

### ■创新盘点

国内外研究已就消化系统肿瘤与5-LOX的关系有了很多报道, 但对于结肠癌的研究, 国内主要侧重于临床组织标本, 尚未开展关于结肠癌细胞系与MK886关系的研究. 而且国外也只有少量零星报道. 由于国内外人种基因的差异和饮食环境的不同, 因此在国内进行该项研究具有重要的意义, 属国内领先水平并填补国内这方面的空白.

## ■应用要点

众所周知,目前肿瘤患者的治疗仍是困扰医学界的一大难题,结肠癌由于其早期症状不明显,难以早期发现、诊断,部分患者发现时已属于晚期,丧失了手术机会。本研究表明确实5-脂氧合酶激活蛋白抑制剂可以明显抑制结肠癌细胞的增殖、促进其凋亡,为临床应用MK886治疗结肠癌提供了体外实验的依据,很可能为结肠癌治疗提供一种全新的思路。

表 4 MK886对SW480、Caco-2细胞周期的影响 (% , mean  $\pm$  SD)

MK886( $\mu$ mol/L)	SW480			Caco-2		
	G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> 期	S期	G <sub>1</sub> 期	G <sub>2</sub> 期	S期
空白对照组	42.55 $\pm$ 2.20	12.78 $\pm$ 1.43	44.68 $\pm$ 3.54	39.64 $\pm$ 2.29	13.03 $\pm$ 1.90	47.32 $\pm$ 4.11
12.5	54.99 $\pm$ 2.41 <sup>b</sup>	10.17 $\pm$ 1.31 <sup>a</sup>	34.84 $\pm$ 2.21 <sup>b</sup>	50.84 $\pm$ 2.81 <sup>b</sup>	11.57 $\pm$ 1.60	37.60 $\pm$ 3.93 <sup>b</sup>
25	60.05 $\pm$ 2.88 <sup>b</sup>	9.77 $\pm$ 1.24 <sup>b</sup>	30.17 $\pm$ 4.07 <sup>b</sup>	55.77 $\pm$ 3.34 <sup>b</sup>	9.14 $\pm$ 1.99 <sup>b</sup>	35.09 $\pm$ 5.30 <sup>b</sup>
50	70.57 $\pm$ 3.24 <sup>b</sup>	8.64 $\pm$ 1.70 <sup>b</sup>	20.78 $\pm$ 4.90 <sup>b</sup>	61.60 $\pm$ 3.59 <sup>b</sup>	8.63 $\pm$ 1.60 <sup>b</sup>	29.78 $\pm$ 5.17 <sup>b</sup>

<sup>a</sup>P<0.05, <sup>b</sup>P<0.01 vs 空白对照组。

其中LTC<sub>4</sub>、LTD<sub>4</sub>、LTE<sub>4</sub>统称半胱氨酰白三烯。5-LOX是此过程的关键酶。Tong等<sup>[4,5]</sup>在胰腺癌的研究中发现5-LOX的代谢产物LTB<sub>4</sub>可以通过诱导EPK1/2磷酸化,从而促进胰腺癌细胞增殖。Ding等<sup>[6]</sup>进一步报道,5-LOX抑制剂可引起胰腺癌细胞的凋亡和形态学变化。Zhi等<sup>[7]</sup>运用DNA芯片技术发现,5-LOX在人食管鳞状细胞癌中过度表达。Hoque等<sup>[8]</sup>研究发现在79%食管癌患者的组织中表达5-LOX,应用5-LOX抑制剂AA861和REV5901能够诱导食管癌细胞发生凋亡,抑制细胞活力,并且这种作用具有剂量依赖性。不仅是消化系肿瘤,在肺癌、前列腺癌、肾细胞癌等其他肿瘤中也出现类似结果<sup>[9]</sup>。

结肠癌是常见的消化系肿瘤。近年来,随着生活水平的提高,饮食中脂肪含量增高等原因,使结肠癌在我国有上升趋势,而且结肠癌发病年龄逐渐年轻化,早期容易发生转移。对于结肠癌的治疗,除手术切除外,化疗和放疗也是重要的治疗方法。传统的化疗药物效果差,不良反应较多,患者的耐受性较差。因此,积极寻找一种新的治疗结肠癌的有效途径,已经受到越来越多学者的普遍重视。

近年来,感染、炎症、炎症因子和结肠癌发生及恶化的关系逐渐引起人们的重视。统计学研究表明,慢性炎症和肿瘤发生相关程度最高的就是患有IBD的结肠癌患者。Jupp等<sup>[10]</sup>发现IBD炎症组织中5-LOX表达明显高于正常,差异有统计学意义。研究表明,IBD相关CRC约占1%-2%<sup>[11]</sup>。尽管IBD相关CRC在CRC中所占比率不高,但却占IBD死因的10%-15%<sup>[12]</sup>,因此,控制IBD的发生有利于减少结肠癌的发病率及死亡率。

MK886是FLAP抑制剂,可以直接抑制花生四烯酸代谢的5-LOX途径,减少5-LOX的表达。大量的体内外实验证明他对胰腺癌<sup>[13]</sup>、乳腺癌<sup>[14]</sup>、胃癌<sup>[15]</sup>、前列腺癌<sup>[16]</sup>等肿瘤细胞有生长抑制作用。本实验通过研究MK886对结肠癌细胞SW480和

Caco-2的增殖结果显示,随着MK886作用时间的延长,作用浓度的增加,均使肿瘤细胞的抑制率增高。MK886对SW480和Caco-2细胞的增殖抑制作用呈一定的量效和时效依赖性。在低浓度时,MK886对肿瘤细胞的增殖无明显作用,当浓度增加至200  $\mu$ mol/L时,MK886作用24 h即可达到很高的抑制率,但此时的抑制率不再随时间延长而增高。

细胞凋亡是由基因控制的细胞自主的有序的死亡,肿瘤无限制增生的恶性生物学特征与肿瘤细胞凋亡减少有关,随着对凋亡分子研究的深入,我们认识到诱导肿瘤细胞凋亡是一种有效治疗肿瘤的途径。通过流式细胞术,我们发现MK886可诱导结肠癌SW480、Caco-2细胞凋亡,且随着MK886浓度的增加,结肠癌细胞的凋亡率明显增加,说明5-LOX抑制剂可诱导结肠癌细胞凋亡。

目前认为结肠癌是一种细胞周期失调疾病,细胞周期靶向治疗是结肠癌化疗药物应用的一个重要策略<sup>[17,18]</sup>。本实验研究发现:MK886对SW480和Caco-2两种结肠癌细胞有周期阻滞作用,可将细胞阻滞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,且随着药物浓度的增加,趋势更明显。

研究表明,MK886具有显著的抗肿瘤细胞的效应,MK886对结肠癌细胞抑制率在一定范围内具有时间、浓度依赖性。主要通过诱导细胞凋亡、阻滞细胞周期而抑制肿瘤细胞增殖。本工作为临床应用MK886治疗结肠癌提供了体外实验的依据,很可能为结肠癌治疗提供一种全新的思路,但其抗肿瘤机制及其临床观察,有待进一步更深入的研究。

## 4 参考文献

- 1 Terzić J, Grivennikov S, Karin E, Karin M. Inflammation and colon cancer. *Gastroenterology* 2010; 138: 2101-2114. e5 [PMID: 20420949 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.01.058]

- 2 Ning Y, Manegold PC, Hong YK, Zhang W, Pohl A, Lurje G, Winder T, Yang D, LaBonte MJ, Wilson PM, Ladner RD, Lenz HJ. Interleukin-8 is associated with proliferation, migration, angiogenesis and chemosensitivity in vitro and in vivo in colon cancer cell line models. *Int J Cancer* 2011; 128: 2038-2049 [PMID: 20648559 DOI: 10.1002/ijc.25562]
- 3 Hong SH, Avis I, Vos MD, Martínez A, Treston AM, Mulshine JL. Relationship of arachidonic acid metabolizing enzyme expression in epithelial cancer cell lines to the growth effect of selective biochemical inhibitors. *Cancer Res* 1999; 59: 2223-2228 [PMID: 10232612]
- 4 Tong WG, Ding XZ, Hennig R, Witt RC, Standop J, Pour PM, Adrian TE. Leukotriene B4 receptor antagonist LY293111 inhibits proliferation and induces apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 3232-3242 [PMID: 12374694]
- 5 Tong WG, Ding XZ, Talamonti MS, Bell RH, Adrian TE. Leukotriene B4 receptor antagonist LY293111 induces S-phase cell cycle arrest and apoptosis in human pancreatic cancer cells. *Anticancer Drugs* 2007; 18: 535-541 [PMID: 17414622 DOI: 10.1097/01.cad.0000231477.22901.8a]
- 6 Ding XZ, Kuszynski CA, El-Metwally TH, Adrian TE. Lipoyxygenase inhibition induced apoptosis, morphological changes, and carbonic anhydrase expression in human pancreatic cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 1999; 266: 392-399 [PMID: 10600514 DOI: 10.1006/bbrc.1999.1824]
- 7 Zhi H, Zhang J, Hu G, Lu J, Wang X, Zhou C, Wu M, Liu Z. The deregulation of arachidonic acid metabolism-related genes in human esophageal squamous cell carcinoma. *Int J Cancer* 2003; 106: 327-333 [PMID: 12845669 DOI: 10.1002/ijc.11225]
- 8 Hoque A, Lippman SM, Wu TT, Xu Y, Liang ZD, Swisher S, Zhang H, Cao L, Ajani JA, Xu XC. Increased 5-lipoxygenase expression and induction of apoptosis by its inhibitors in esophageal cancer: a potential target for prevention. *Carcinogenesis* 2005; 26: 785-791 [PMID: 15661803 DOI: 10.1093/carcin/bgi026]
- 9 Steele VE, Holmes CA, Hawk ET, Kopelovich L, Lubet RA, Crowell JA, Sigman CC, Kelloff GJ. Lipoyxygenase inhibitors as potential cancer chemopreventives. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 1999; 8: 467-483 [PMID: 10350444]
- 10 Jupp J, Hillier K, Elliott DH, Fine DR, Bateman AC, Johnson PA, Cazaly AM, Penrose JF, Sampson AP. Colonic expression of leukotriene-pathway enzymes in inflammatory bowel diseases. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 537-546 [PMID: 17230539 DOI: 10.1002/ibd.20094]
- 11 Ouaiissi M, Maggiori L, Alves A, Giger U, Sielezneff I, Valleur P, Sastre B, Panis Y. Colorectal cancer complicating inflammatory bowel disease: a comparative study of Crohn's disease vs ulcerative colitis in 34 patients. *Colorectal Dis* 2011; 13: 684-688 [PMID: 20184639 DOI: 0.1111/j.1463-1318.2010.02241]
- 12 Herszenyi L, Miheller P, Tulassay Z. Carcinogenesis in inflammatory bowel disease. *Dig Dis* 2007; 25: 267-269 [PMID: 17827953 DOI: 10.1159/000103898]
- 13 Schuller HM, Zhang L, Weddle DL, Castonguay A, Walker K, Miller MS. The cyclooxygenase inhibitor ibuprofen and the FLAP inhibitor MK886 inhibit pancreatic carcinogenesis induced in hamsters by transplacental exposure to ethanol and the tobacco carcinogen NNK. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 525-532 [PMID: 12384795 DOI: 10.1007/s00432-002-0365-y]
- 14 Avis I, Hong SH, Martinez A, Moody T, Choi YH, Trepel J, Das R, Jett M, Mulshine JL. Five-lipoxygenase inhibitors can mediate apoptosis in human breast cancer cell lines through complex eicosanoid interactions. *FASEB J* 2001; 15: 2007-2009 [PMID: 11511519]
- 15 Fan XM, Tu SP, Lam SK, Wang WP, Wu J, Wong WM, Yuen MF, Lin MC, Kung HF, Wong BC. Five-lipoxygenase-activating protein inhibitor MK-886 induces apoptosis in gastric cancer through upregulation of p27kip1 and bax. *J Gastroenterol Hepatol* 2004; 19: 31-37 [PMID: 14675240 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2004.03194.x]
- 16 Gugliucci A, Ranzato L, Scorrano L, Colonna R, Petronilli V, Cusan C, Prato M, Mancini M, Pagano F, Bernardi P. Mitochondria are direct targets of the lipoxygenase inhibitor MK886. A strategy for cell killing by combined treatment with MK886 and cyclooxygenase inhibitors. *J Biol Chem* 2002; 277: 31789-31795 [PMID: 12080072 DOI: 10.1074/jbc.M204450200]
- 17 Freemantle SJ, Liu X, Feng Q, Galimberti F, Blumen S, Sekula D, Kitareewan S, Dragnev KH, Dmitrovsky E. Cyclin degradation for cancer therapy and chemoprevention. *J Cell Biochem* 2007; 102: 869-877 [PMID: 17868090 DOI: 10.1002/jcb.21519]
- 18 Dragnev KH, Pitha-Rowe I, Ma Y, Petty WJ, Sekula D, Murphy B, Rendi M, Suh N, Desai NB, Sporn MB, Freemantle SJ, Dmitrovsky E. Specific chemopreventive agents trigger proteasomal degradation of G1 cyclins: implications for combination therapy. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 2570-2577 [PMID: 15073138 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-03-0271]

## 同行评价

本文观察FLAP抑制剂MK886对人结肠癌细胞株SW480、Caco-2增殖和凋亡的影响。结果表明MK886具有显著的抑制人结肠癌SW480、Caco-2细胞株增殖的作用,其作用可能是通过阻滞细胞于G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>期,并诱导肿瘤细胞凋亡所致。内容客观,实验方法成熟,观点新颖,具有一定的科学意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 超声内镜对早期食管癌术前分期准确性的Meta分析

周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷

## ■背景资料

我国是食管癌高发国家之一, 提高食管癌患者生存率及生活质量关键在于早发现、早诊断、早治疗。超声内镜(endoscopic ultrasonography)在评价食管肿瘤的可切除性、治疗方案的选择、预后评估等具有重要的意义。

周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷, 苏州大学附属第一医院消化内科 江苏省苏州市 215006  
周思思, 在读硕士, 主要从事胃肠道肿瘤疾病发病机制及诊疗方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由周思思与付婷共同设计; 研究过程、数据提取及数据分析由周思思、史冬涛及付婷操作完成; 论文写作由周思思与付婷共同完成; 严苏与陈卫昌审核。

通讯作者: 严苏, 教授, 215006, 江苏省苏州市沧浪区十梓街188号, 苏州大学附属第一医院消化内科。

yansu1119888@sina.com

电话: 0512-67781318

收稿日期: 2013-11-27 修回日期: 2014-01-01

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

## Accuracy of endoscopic ultrasound in preoperative staging of early esophageal cancer: A Meta-analysis

Si-Si Zhou, Su Yan, Wei-Chang Chen, Dong-Tao Shi, Ting Fu

Si-Si Zhou, Su Yan, Wei-Chang Chen, Dong-Tao Shi, Ting Fu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, Medical Department of Soochow University, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Su Yan, Professor, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Soochow University, 188 Shizi Street, Suzhou 215006, Jiangsu Province, China. yansu1119888@sina.com

Received: 2013-11-27 Revised: 2014-01-01

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To evaluate the accuracy of endoscopic ultrasound (EUS) in the preoperative staging of early esophageal cancer.

**METHODS:** We searched the Medline, PubMed, Web of Science, Embase, Cochrane Central Trials, Wanfang, CBM, CNKI and VIP databases for relevant studies published. Study selection, quality assessment and data extraction were performed by two reviewers independently. Meta-Disc (version1.4) software was used to perform the meta-analysis for sensitivity, specificity, positive likelihood ratio (LR), and negative LR. Pooling results were derived (by) using the fixed-effect model when significant heterogeneity was not present, and the random-

effect model was applied otherwise. A summary receiver-operating characteristic (SROC) curve was constructed. Furthermore, to explore the potential sources of heterogeneity, we used meta-regression to estimate the effect of the characteristics of the studies on the diagnostic accuracy of EUS. In addition, the outliers were identified by the method described by Deville and a subgroup analysis was performed by excluding the outliers. We used Stata statistical software (version 10.0) to assess the publication bias using the Begg-Mazumdar indicator and Harbord-Egger indicator.

**RESULTS:** Twenty studies with a total of 1115 patients were included in this analysis. The pooled sensitivity, specificity, and positive and negative likelihood ratio of EUS for T1m staging were 0.85 (95%CI: 0.83-0.88), 0.86 (95%CI: 0.83-0.89), 5.34 (95%CI: 3.67-7.76), and 0.21 (95%CI: 0.15-0.29), respectively. For stage T1sm, these results were 0.87 (95%CI: 0.84-0.90), 0.85 (95%CI: 0.82-0.88), 4.64 (95%CI: 3.47-6.22), and 0.18 (95%CI: 0.13-0.25). For stage N, these results were 0.71 (95%CI: 0.61-0.80), 0.78 (95%CI: 0.71-0.84), 2.93 (95%CI: 1.49-5.79), and 0.46 (95%CI: 0.18-1.22). The percent of area under the curve was 92.1% for both stage T1m and stage T1sm, and 80% for stage N. No significant publication bias was found with either the Begg-Mazumdar indicator ( $P = 0.216$ ) or the Harbord-Egger indicator ( $P = 0.412$ ).

**CONCLUSION:** EUS has excellent sensitivity and specificity in diagnosing the T1 stage of early esophageal cancer. However, the frequency of EUS probe and the experience of the endosonographers can affect the diagnostic accuracy of EUS. EUS plays an important role in clinical selection of surgical approaches and treatments.

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

**Key Words:** Endoscopic ultrasound; Early esophageal cancer; Preoperative T1 staging; Meta-analysis

Zhou SS, Yan S, Chen WC, Shi DT, Fu T. Accuracy of

## ■同行评议者

杨薇, 副主任医师, 北京大学肿瘤医院超声科

endoscopic ultrasound in preoperative staging of early esophageal cancer: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 988-999 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/988.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.988>

## 摘要

**目的:** 系统评价超声内镜对早期食管癌术前分期的准确性。

**方法:** 在计算机上检索Medline、PubMed、Web of Science、Ovid、Cochrane Central Trials databases、万方、CBM、CNKI及维普数据库收集相关文献, 检索年限均从建库到2013-05, 全面收集国内外有关超声内镜对早期食管癌分期的相关研究, 手工检索相关杂志、会议论文集、学位论文汇编等。按照诊断试验的纳入标准筛选文献, 提取纳入文献的特征信息(研究背景、设计信息和诊断参数信息), 根据诊断性试验质量评价工具(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)质量评价标准纳入文献的质量。采用Meta-Discl.4软件进行Meta分析, 检验异质性, 并根据异质性结果选择相应的效应模型。对纳入文献予以加权定量合并, 计算汇总敏感度、特异度、阳性似然比、阴性似然比和诊断优势比及其95%CI, 绘制汇总受试者工作特征(summary receiver-operating characteristic curve, SROC)曲线, 并计算曲线下面积(area under curve, AUC)。然后根据研究对象的特点进行Meta回归分析来寻找潜在引起异质性的因素, 同时按Deville介绍的方法筛选并剔除异质性明显的研究进行亚组分析, 最后使用Stata10.0软件计算Begg-Mazumdar和Harbord-Egger指数来判断发表偏移并绘制漏斗图。

**结果:** 纳入文献20篇涉及研究对象共1115例。Meta分析结果提示: 超声内镜判断食管黏膜内癌T1m期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.85(95%CI: 0.83-0.88), 0.86(95%CI: 0.83-0.89), 5.34(95%CI: 3.67-7.76), 0.21(95%CI: 0.15-0.29); 食管黏膜下癌T1sm期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.87(95%CI: 0.84-0.90), 0.85(95%CI: 0.82-0.88), 4.64(95%CI: 3.47-6.22), 0.18(95%CI: 0.13-0.25); 早期食管癌N期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.71(95%CI: 0.61-0.80), 0.78(95%CI: 0.71-0.84), 2.93(95%CI: 1.49-5.79), 0.46(95%CI: 0.18-1.22); T1m期和T1sm期拟合SROC曲线下面积AUC分别是0.921、0.915, N期拟合SROC曲线下面积

AUC是0.80。Begg-Mazumdar法( $P = 0.216$ )和Harbord-Egger法( $P = 0.412$ )检验发表偏倚结果提示纳入Meta分析的文献结果之间无发表偏倚。

**结论:** 现有证据表明, 超声内镜能较准确鉴别食管早期癌病变的浸润深度, 食管黏膜内癌和食管黏膜下癌的准确性分期具有较高的敏感度和特异度, 但其结果受检查者的经验, 超声内镜选择及频率的种类等因素影响。他对指导临床选择合理的手术方式和治疗手段具有重要意义。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 内窥镜超声检查; 早期食管癌; T1分期; Meta分析

**核心提示:** 本研究通过应用循证医学Meta分析的方法, 准确的评价了超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对早期食管癌的分期, 表明EUS具有较高的敏感度和特异度, 但其结果受检查者的经验, 超声内镜选择及频率的种类等因素影响。

周思思, 严苏, 陈卫昌, 史冬涛, 付婷. 超声内镜对早期食管癌术前分期准确性的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 988-999 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/988.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.988>

## 0 引言

食管癌是严重威胁人类健康的常见恶性肿瘤, 估计全球每年有20万例死于本病, 占男性恶性肿瘤发病率和病死率的第5位<sup>[1]</sup>。我国是食管癌疾病高发国家之一, 近年来, 食管癌的治疗已经取得了长足进步, 文献显示, 早期食管癌治疗后5年生存率高达90%-100%, 而进展期癌5年生存率低于10%。大量研究表明, 食管癌的浸润深度和淋巴结转移情况是影响食管癌预后的最重要因素<sup>[2]</sup>。因此, 提高食管癌患者生存率及生活质量关键在于早期发现、早期诊断、早期治疗。早期食管癌通常无症状, 临床表现缺乏特异性, 待出现吞咽困难等症状时, 往往已进入进展期, 故早期癌诊断比较困难。早期食管癌是指病变仅局限于黏膜层和黏膜下层, 超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)为早期食管癌的诊断及确定相应治疗方案给予很大帮助。日本食管疾病学会(Japan Esophagus Study Disease, JESD)又将早期食管癌分为m1(限于黏膜上皮层)、m2(侵及黏膜固有层)、m3(侵及黏

## ■ 研发前沿

虽然超声内镜(endoscopic ultrasonography)有较高的诊断率, 但其结果存在一定的假阳性率和假阴性率, 使其在临床的诊断价值受到争议和广泛推广受到限制。

## ■相关报道

近年来国内外研究显示该技术能明显提高早期食管癌的诊断能力,但各家报道不一,并且样本量不大,故对早期食管癌的诊断价值尚不肯定。

膜肌层)、sm1(侵及黏膜下层上1/3)、sm2(侵及黏膜下层中1/3)、sm3(侵及黏膜下层下1/3)等类型<sup>[3]</sup>。EUS主要从淋巴结的大小、形态、边界、内部回声等方面判断有无淋巴结转移。恶性淋巴结多>1 cm,呈圆形,边界较清,内部回声不均匀。食管癌手术可切除性的判定主要来源于纵隔脏器是否被浸润,EUS可以清晰显示胸主动脉、气管、心包、下腔静脉等。食管癌的病死率高,手术风险大,因此术前分期很关键。大量研究表明,上皮内癌、黏膜内癌是内镜下黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)、内镜下黏膜剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)治疗绝对适应证,并与传统外科手术治疗具有等同临床价值<sup>[4,5]</sup>,而黏膜下癌通常行外科手术治疗。一项多中心观察报告指出在食管癌的手术治疗病死率为3%-13%,复发率则高40%-50%<sup>[6-9]</sup>,而内镜下的EMR/ESD治疗有较低的复发率(1%-3%)和病死率(0%)并能保持组织结构的完整性,提高患者的生活质量<sup>[10-12]</sup>。因此EUS在鉴别早期食管癌的T1m期和T1sm期中起着关键性的作用,在评价肿瘤的可切除性、治疗方案的制定、术式的选择、预后评估等具有重要的意义。本研究通过应用循证医学Meta分析的方法,全面收集国内外有关EUS对早期食管癌术前分期的准确性的相关研究,评价EUS临床应用价值并为其临床早期诊治食管癌提供科学依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 数据库查找有关EUS诊断早期食管癌的文献,按照诊断试验的纳入标准筛选文献,提取纳入文献的特征信息(研究背景、设计信息和诊断参数信息),进行系统性评价分析。在计算机上检索Medline、PubMed、Web of Science、Ovid、Cochrane Central Trials databases、万方、CBM、CNKI及维普数据库收集相关文献,检索年限均从建库到2013-05,全面收集国内外有关超声内镜对早期食管癌术前分期诊断的相关研究,手工检索相关杂志、会议论文集、学位论文汇编等。对纳入研究的参考文献进行检索以获取补充资料。文献检索策略采用主题词和自由词结合的原则,检索词包括:early esophageal cancers; endoscopic ultrasound; endoscopic classification; diagnostic accuracy; 早期食管癌、癌前病变、超声内镜、T1分期等。由两位研究者分别独立提取文献信息,其中包括研究作者、

发表年限、地区、样本量、性别、年龄、金标准、评价指标等。如存在争议,通过与第三方讨论解决分歧。

## 1.2 方法

**1.2.1 文献纳入和排除标准:**同时符合以下条件的文献被纳入:(1)研究目的为评价EUS对早期食管癌术前分期诊断准确性的相关临床研究;(2)所有纳入的研究对象均进行EUS检查以评价癌肿的浸润程度及N分期;(3)以病理组织学或细胞学活检的结果为金标准;(4)若数据重复发表,选择其中最详尽的数据或最近发表的文章;(5)文章能直接或间接提供数据,可分别计算真阳性值(true Positive, TP)、假阳性值(false positive, FP)、真阴性值(true negative, TN)、假阴性值(false negative, FN)。文献排除标准:(1)数据不完整或数据有误;(2)病例未经“金标准”确诊;(3)文摘、综述、讲座和述评文献;(4)无法获得全文者。

**1.2.2 文献资料提取及文献质量的评估:**主要包括作者、发表时间、患者的年龄、样本量及诊断试验的参数信息。计算各文献的敏感度、特异度、阳性和阴性似然比。用诊断性试验质量评价工具(quality assessment of diagnostic accuracy studies, QUADAS)评价文献质量<sup>[13]</sup>,每个项目按“是”、“否”、“不清楚”3个标准进行评价,若14条质量评价标准均满足则研究存在偏倚的可能性极低(A级);如果其中任何一条或多条质量评价标准仅部分满足即不清楚,则该研究存在偏倚的可能性为中等(B级);如果其中任何一条或多条质量评价标准完全不满足即未采用或不正确,则该研究存在偏倚的可能性为高度(C级)。2名评价员独立完成文献质量评估及资料提取,有分歧时通过讨论解决。

**统计学处理** 首先,使用MetaDiSc1.4软件分析异质性,采用卡方检验或 $I^2$ 进行异质性检验, $P<0.05$ 或, $I^2>50\%$ 时认为研究结果存在异质性。接着,根据异质性的有无采用随机效应模型(random effects models, REM)或固定效应模型(fixed effects model, FEM)计算合并灵敏度、特异度、阳性似然比、阴性似然比等指标,同时绘制汇总受试者工作特征曲线(summary receiver-operating characteristic curve, SROC),估计试验的总诊断精确度。然后,根据研究对象的特点进行Meta回归分析来寻找潜在引起异质性的因素,同时按Deville等<sup>[14]</sup>介绍的方法筛选并剔除异质性明显的研究进行亚组分析。最后,使



表 1 纳入文献的研究特征

文献来源	年份	国家	超声内镜频率(MHz)	n	研究形式	确诊方式
Murata等 <sup>[17]</sup>	1988	Japan	7.5, 10	52	retrospective	surgery
Toh等 <sup>[18]</sup>	1993	Japan	7.5, 12	26	retrospective	surgery
Yoshikane等 <sup>[19]</sup>	1994	Japan	7.5, 12	26	prospective	surgery or EMR
Yanai等 <sup>[20]</sup>	1996	Japan	20	17	prospective	surgery or EMR
Murata等 <sup>[21]</sup>	1996	Japan	15, 20	49	prospective	surgery or EMR
Shinkai等 <sup>[22]</sup>	2000	Japan	7.5, 12, 15, 20	50	prospective	surgery or EMR
Fukuda等 <sup>[23]</sup>	2000	Japan	12, 20	25	prospective	surgery
陈俊辉等 <sup>[24]</sup>	2000	China	12, 15, 20	30	prospective	surgery or EMR
Scotiniotis等 <sup>[25]</sup>	2001	USA	7.5, 12	22	prospective	surgery
Kawano等 <sup>[26]</sup>	2003	Japan	20	96	prospective	surgery or EMR
Yanai等 <sup>[27]</sup>	2003	Japan	12, 20	26	prospective	surgery or EMR
Buskens等 <sup>[28]</sup>	2004	Netherlands	7.5, 12, 20, 30	45	retrospective	surgery
May等 <sup>[29]</sup>	2004	Germany	20	93	prospective	surgery or EMR
Larghi等 <sup>[30]</sup>	2005	USA	7.5, 20	48	prospective	surgery or EMR
张月明等 <sup>[31]</sup>	2008	China	7.5, 12, 20	121	prospective	surgery or EMR
Rampado等 <sup>[32]</sup>	2008	Italy	20	55	prospective	surgery or EMR
梁玮等 <sup>[33]</sup>	2009	China	7.5, 12, 20	36	prospective	surgery or EMR
武育卫等 <sup>[34]</sup>	2011	China	12, 20	61	prospective	surgery or EMR
裴莉英等 <sup>[35]</sup>	2012	China	20	102	prospective	surgery or EMR/ESD
尔丽绵等 <sup>[36]</sup>	2013	China	15, 20	135	retrospective	surgery or EMR

EMR: 内镜下黏膜切除术; ESD: 内镜下黏膜剥离术。

用Stata10.0软件计算Begg-Mazumdar和Harbord-Egger指数来判断发表偏倚<sup>[15,16]</sup>。

## 2 结果

**2.1 纳入文献基本情况** 最初检索到相关文献548篇, 经过阅读文题及摘要后, 排除综述类文章及信件, 筛选得到68篇文献, 仔细查阅全文后, 严格根据纳入排除标准筛选, 20篇文献符合纳入标准, 包括1115例早期食管癌患者。纳入的20篇文献[17-36]发表年限在1988-2013年。其中日本的研究9篇, 中国的研究6篇, 美国的研究2篇, 德国、荷兰、意大利的研究各1篇, 所有病例组患者均经术后病理组织学或细胞学证实为早期食管癌。所有纳入研究均提供了完善的四格表资料。纳入研究的基线特征如表1。

### 2.2 Meta分析

**2.2.1 Meta分析:** Meta分析异质性检验后发现研究之间存在异质性, 采用随机效应模型进行Meta分析。结果显示: T1m期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.85(95%CI: 0.83-0.88)(图1A), 0.86(95%CI: 0.83-0.89)(图1B), 5.34(95%CI: 3.67-7.76)(图1C), 0.21(95%CI: 0.15-0.29)(图1D); T1sm期汇总的

敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.87(95%CI: 0.84-0.90)(图2A), 0.85(95%CI: 0.82-0.88)(图2B), 4.64(95%CI: 3.47-6.22)(图2C), 0.18(95%CI: 0.13-0.25)(图2D); 早期食管癌N期汇总的敏感度、特异度、阳性似然比及阴性似然比是0.71(95%CI: 0.61-0.80)(图3A), 0.78(95%CI: 0.71-0.84)(图3B), 2.93(95%CI: 1.49-5.79)(图3C), 0.46(95%CI: 0.18-1.22)(图3D); T1m期和T1sm期拟合SROC曲线下面积AUC分别是0.921、Q = 0.855(图4A), 0.915、Q = 0.847(图4B), N期拟合SROC曲线下面积AUC分别是0.80、Q = 0.736(图4C)。

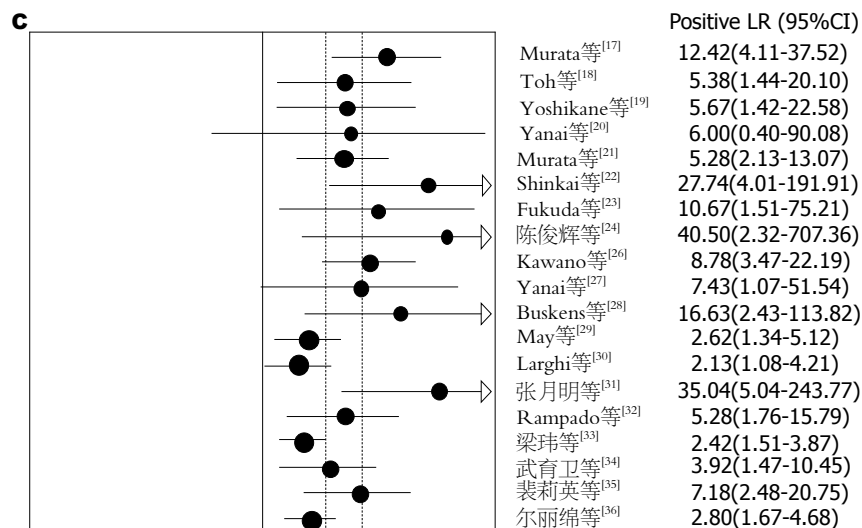
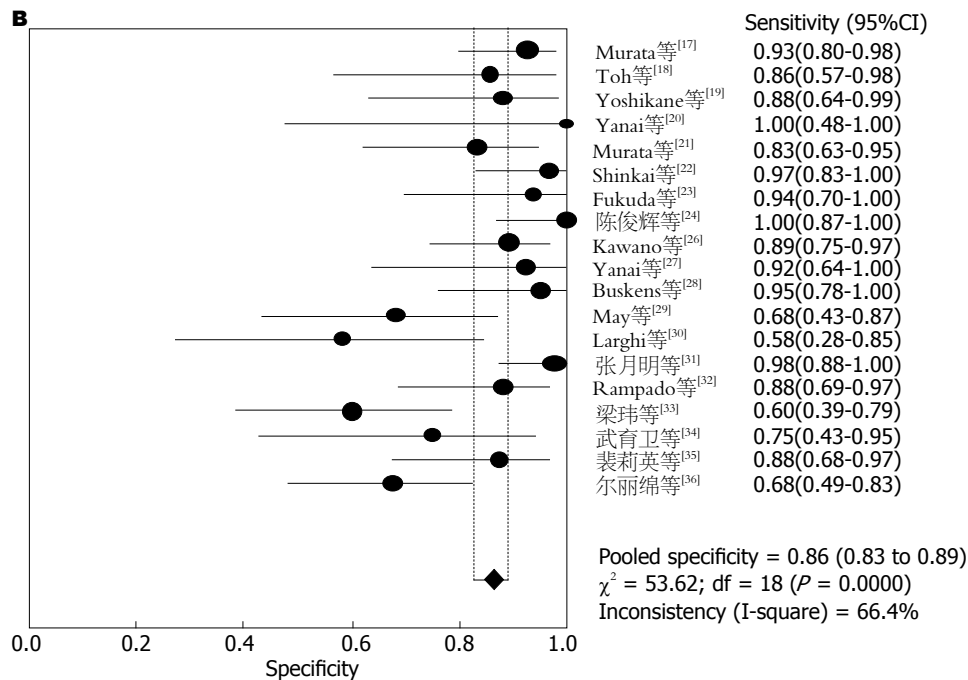
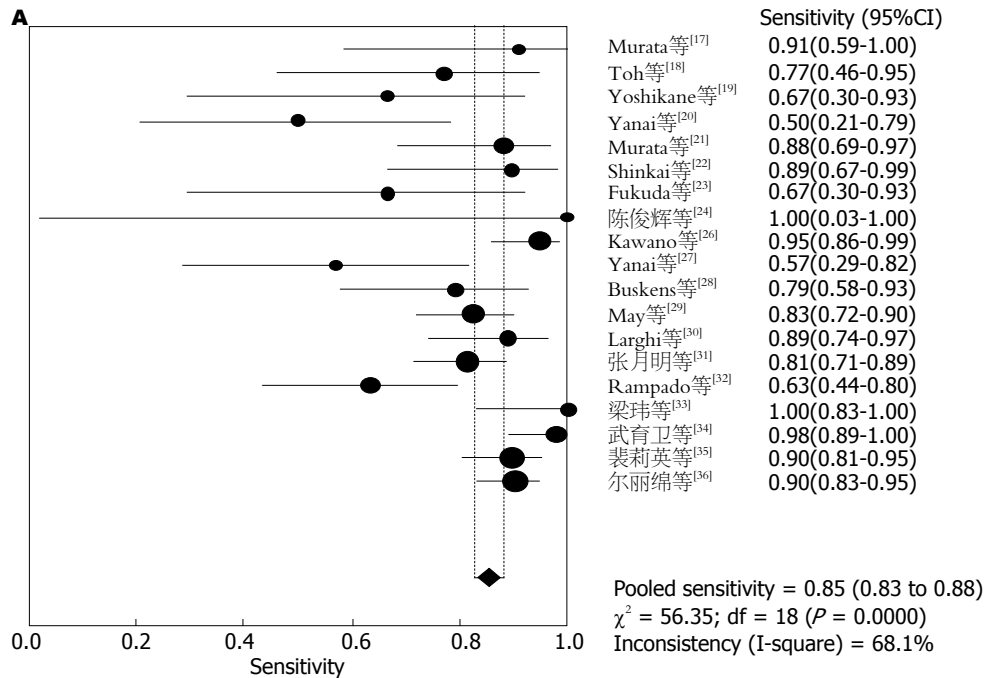
**2.2.2 回归分析:** 根据研究特点, 针对研究年限(1988-2000年对2001-2013年)、诊断设备[EUS对小探头超声内镜(mini-probe sonography, MPS)]和研究国家(日本、中国对其他)等进行逐一回归分析, 结果发现研究国家存在明显的异质性, 超声内镜的选择和研究年限在回归分析中没有明显的影响(表2)。根据上述结果再次进行亚组分析: (1)研究年限在1988-2000年; (2)研究年限2001-2013年; (3)EUS检查病变组; (4)联合使用20 MHz的EUS检查病变组; (5)日本的研究病例组; (6)中国的研究病例组(表3)。我

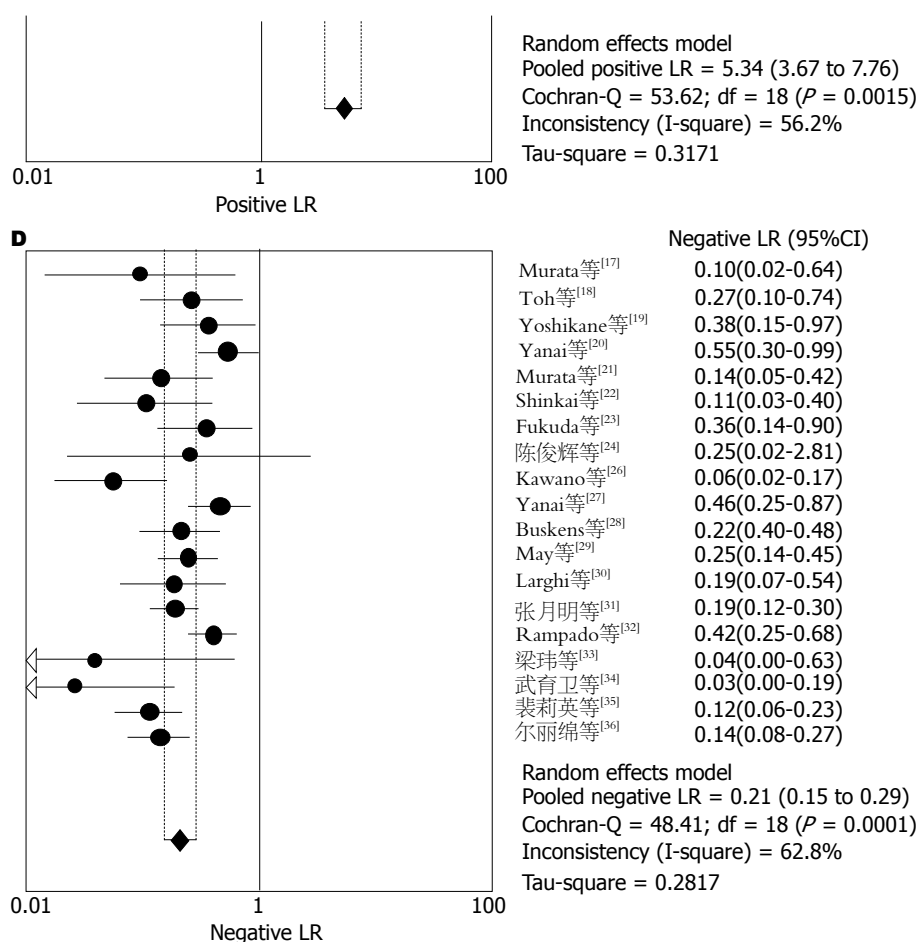
### ■创新盘点

本研究通过应用循证医学Meta分析的方法, 汇集国内外有关超声内镜(endoscopic ultrasonography, EUS)对早期食管癌术前分期的准确性的相关研究, 减少了因各中心小样本的病例分析而出现的差异, 更准确的评价EUS的临床价值。

## ■应用要点

本研究显示超声内镜(endoscopic ultrasonography)能较准确鉴别食管早期癌病变的浸润深度,对食管早期癌的准确性分期具有较高的敏感度和特异度,但其结果受检查者的经验,超声内镜选择及频率的种类等因素影响。他对指导临床选择合理的手术方式和治疗手段具有重要意义。





#### 同行评价

本研究目的合理, 有可行性及临床意义, 收集的文献较全面, Meta分析步骤合理, 明确了EUS的诊断价值。

图 1 早期食管癌T1m期各指标的森林图. A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比。

表 2 针对年限、诊断设备、和研究国家等研究特点进行的Meta回归分析结果

回归分析	回归系数	P值	OR值(95%CI)
年限(1988-2000年对2001-2013年)	0.240	0.726	1.27(0.30-5.42)
诊断设备(EUS对MPS)	-0.043	0.448	0.96(0.85-1.08)
国家(日本、中国对其他)	0.962	0.034	2.62(1.09-6.30)

EUS: 超声内镜; MPS: 小探头超声内镜。

们发现研究年限在1988-2000年的T1m期、T1sm期诊断DOR(39.99、32.58)较2001-2013年DOR(28.99、28.89)增高, 提示诊断实验的判别效果较前好, 并发现同时联合应用高频微小探头检查的研究组的诊断DOR(37.01、34.28)较仅用低频超声探头组的诊断DOR(29.35、30.56)高, 更有趣的发现是来自日本和中国研究组的诊断DOR值明显高于其他国家的水平, SROC曲线下面积AUC分别为0.95、0.95, 提示诊断试验的诊断准确性较高。

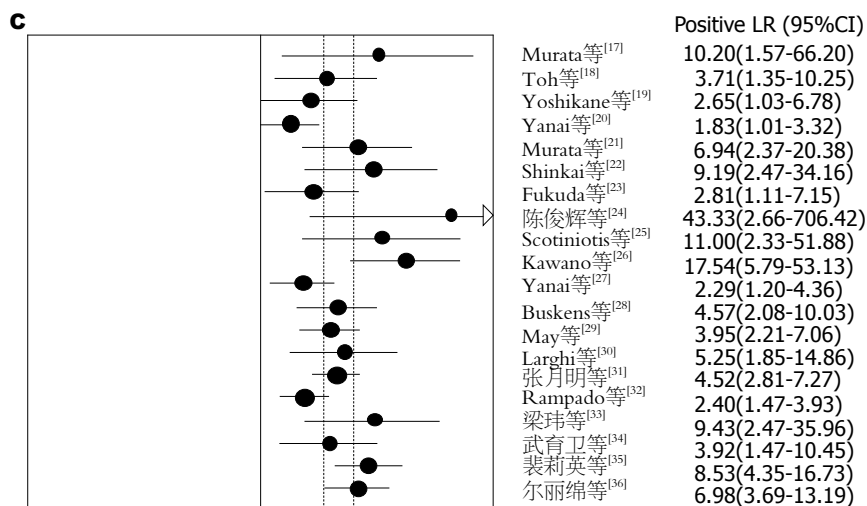
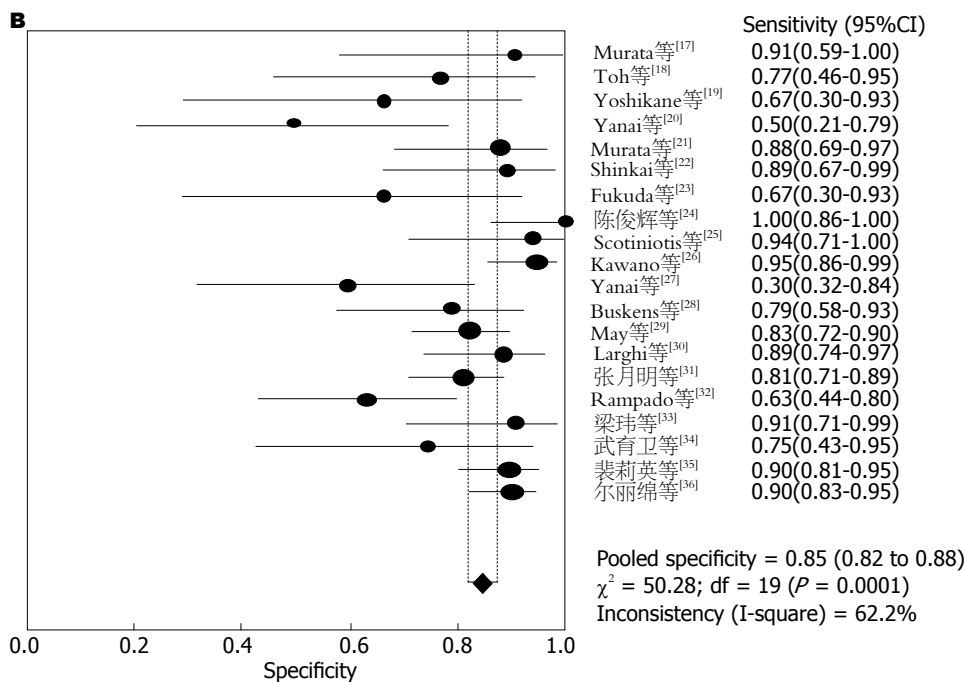
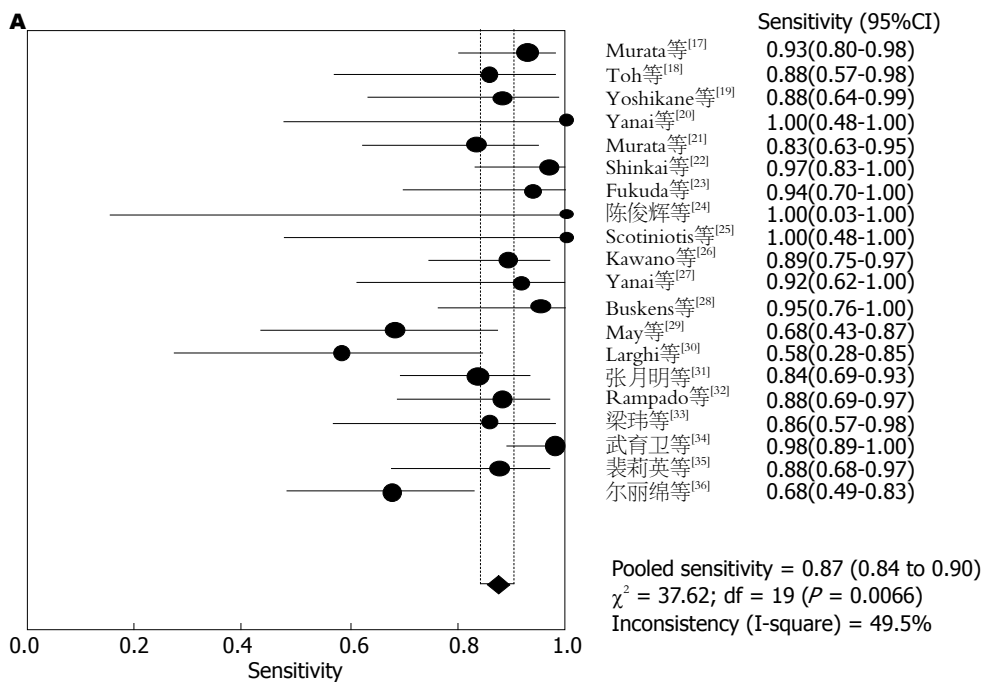
2.2.3 发表偏倚分析结果: Begg-Mazumdar法检验发表偏倚结果提示的Kendall's tau b值为16( $P$

= 0.216), 其相应的漏斗图各散点分布均匀, 且都在可信区间内; Harbord-Egger检验结果为 $t = 0.350$ (95%CI: -0.2310-1.2781,  $P = 0.412$ ), Egger回归图截距段横跨0点。故纳入Meta分析的文献结果之间无发表偏倚。

### 3 讨论

食管癌是较常见的食管疾病, 恶性程度高, 晚期患者手术机会小, 生存率较低, 而早期食管癌的5年生存率高达90%-100%, 因此根治的关键是提高早期诊断率。早期食管癌及癌前病变的内镜下表现轻微或无异常表现, 常规内镜发现率





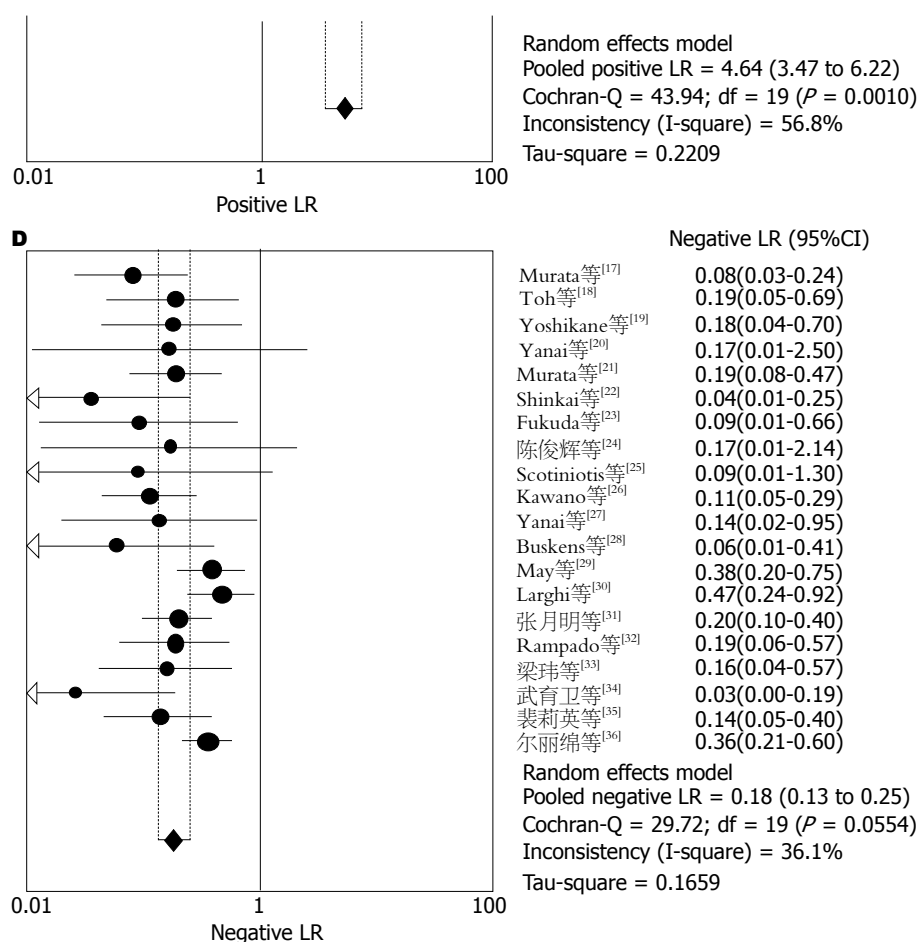


图 2 早期食管癌T1sm期各指标的森林图. A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比.

表 3 针对年限、诊断频率、和研究国家等研究特点进行的亚组分析结果

	<i>n</i>	敏感度(95%CI)	特异度(95%CI)	OR值 (95%CI)	AUC
<b>T1m期</b>					
总体研究	19	0.86(0.83-0.88)	0.86(0.82-0.89)	35.24(23.02-75.04)	0.92
研究时间1988-2000年	5	0.77(0.66-0.86)	0.89(0.81-0.94)	28.99(11.44-72.92)	0.93
研究时间2001-2013年	14	0.87(0.84-0.90)	0.85(0.81-0.89)	39.99(20.19-79.19)	0.93
EUS	3	0.79(0.61-0.91)	0.90(0.81-0.96)	29.35(8.63-99.85)	0.93
EUS+20 MHz	16	0.86(0.83-0.89)	0.85(0.81-0.89)	37.01(20.32-67.40)	0.96
日本EUS+20 MHz	9	0.83(0.76-0.89)	0.91(0.85-0.96)	53.95(21.42-135.71)	0.95
中国EUS+20 MHz	6	0.92(0.88-0.95)	0.82(0.74-0.88)	51.40(20.92-125.31)	0.95
其他国家EUS+20 MHz	4	0.80(0.73-0.86)	0.81(0.70-0.89)	13.71(6.62-28.8)	0.86
<b>T1sm期</b>					
总体研究	20	0.87(0.84-0.90)	0.85(0.82-0.88)	30.27(19.36-47.33)	0.91
研究时间1988-2000年	8	0.89(0.81-0.94)	0.77(0.66-0.86)	28.99(11.44-72.92)	0.93
研究时间2001-2013	12	0.87(0.82-0.90)	0.86(0.83-0.89)	32.58(18.54-52.27)	0.92
EUS	4	0.91(0.82-0.96)	0.84(0.71-0.93)	30.56(11.04-108.19)	0.91
EUS+20 MHz	16	0.86(0.82-0.90)	0.85(0.82-0.88)	34.28(18.15-50.51)	0.96
日本的研究	9	0.91(0.85-0.96)	0.83(0.76-0.89)	54.24(21.67-135.74)	0.95
中国的研究	6	0.85(0.78-0.91)	0.89(0.85-0.93)	33.17(16.89-65.17)	0.92
其他国家的研究	5	0.81(0.70-0.89)	0.80(0.73-0.86)	13.71(6.62-28.38)	0.86

EUS: 超声内镜; AUC: 曲线下面积.

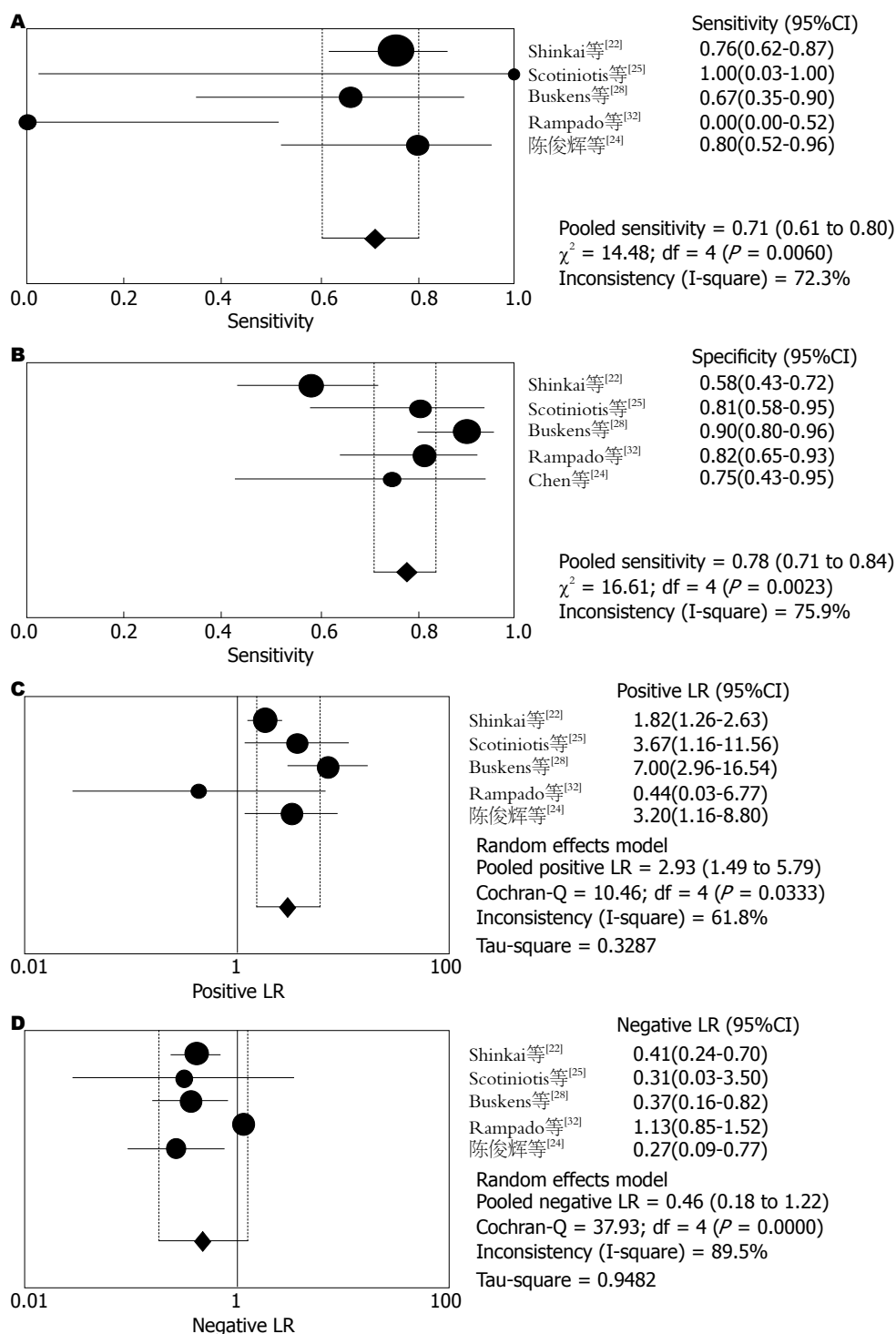


图3 早期食管癌N期各指标的森林图。A: 灵敏度; B: 特异度; C: 阳性似然比; D: 阴性似然比。

不高<sup>[37,38]</sup>, 超声内镜是近十几年来兴起的一种将内镜与超声结合为一体的新型检查技术, 一方面通过内镜直接观察消化系腔内的形态改变, 一方面又可以实时超声扫描, 以获得管道层次的组织学特征及周围邻近脏器的超声图像, 从而提高了内镜与超声的双重诊断水平。而超声微探头的使用始于1992年, 与普通超声内镜相比, 其具有频率高、可直视下操作、用途广

泛等特点, 尤其适用于早期癌的诊断及黏膜下微小病变的鉴别, 指导黏膜及黏膜下病变的内镜切除。对于早期食管癌, 超声内镜检查的意义在于精确区分癌灶的大小、边缘、包膜、内部回声及其均匀性、有无周围淋巴结肿大和邻近脏器情况, 特别是准确评估病变的浸润深度, 在明确病变未超过黏膜肌层, 无淋巴结转移时, 采取EMR和ESD治疗将病变精确切除, 患者可以



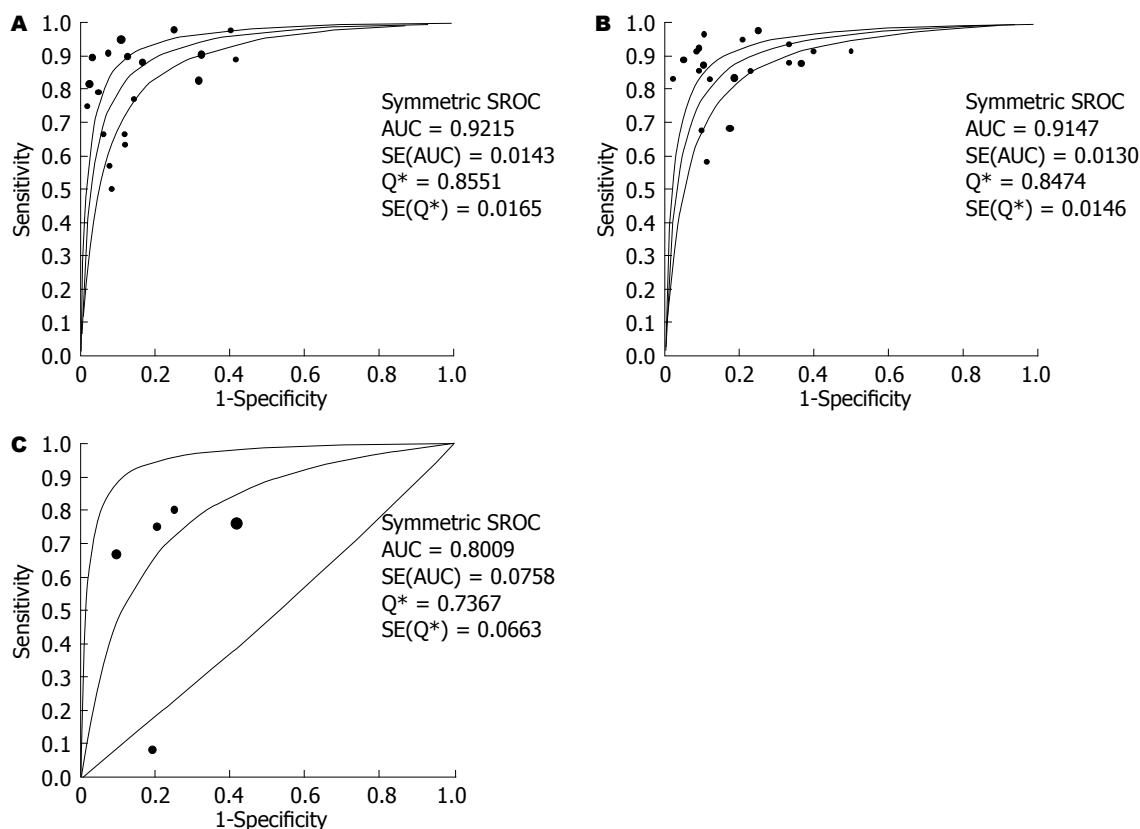


图 4 早期食管癌各期的SROC曲线图. A: T1m期的SROC曲线; B: T1sm期的SROC曲线; C: N期的SROC曲线.

治愈, 并较外科手术更安全, 创伤更小<sup>[39,40]</sup>. 在过去的20年中, 超声内镜对于早期食管癌分期的准确性有大量的研究报道, 部分研究表明EUS高估了病变浸润深度, 对可切除性的评估较为保守; 或EUS低估了病变浸润深度, 造成对内镜可切除性的评估不充分.

本研究通过采用诊断试验的系统评价方法对超声内镜在早期食管癌分期的诊断准确性价值进行分析并寻找影响异质性的因素. 本Meta分析总共纳入20篇文献, 共有1115例研究对象, 通过QUADAS方法对纳入文献的评价结果显示文献质量评分为A的16篇, 为B的2篇, 为C的1篇. 纳入研究间未发现发表偏移. Meta分析结果显示: EUS对T1m-T1sm期的诊断准确性均较高, 其合并敏感性(sensitivity, se)分别为85.0%、87.0%, 合并特异性(specificity, sp)分别为86.0%、85.0%, EUS对早期食管癌N分期的并se和sp分别为71%和78%, 但N期指标总体准确性均低于T1分期. T1m期、T1sm期及N期的汇总阳性似然比(positive likelihood ratio, PLR)分别为5.34、4.64、2.93, 提示EUS试验结果为阳性时, 疑似病例可基本确诊为恶性肿瘤; T1m期、T1sm期及N期的汇总阴性似然比(negative likelihood ratio,

NLR)分别为0.21、0.18、0.46, 提示诊断试验结果为阴性时, 疑似病例可基本排除为恶性肿瘤; T1m期、T1sm期及N期的诊断汇总DOR分别为34.17、30.56、6.64, 提示诊断试验的判断效果较好, T1m期、T1sm期及N期的SROC AUC分别为0.92、0.91、0.80, 提示诊断试验的诊断准确性较高. 以上结果表明, EUS对于早期食管癌的T1m、T1sm分期诊断具有较高的敏感度和特异度, 诊断准确性较好, 可以作为T1分期重要的检测手段, 同时EUS对N分期具有较低的敏感度和特异度, 诊断准确性较差. 为探讨异质性来源, 我们进行了回归分析和亚组分析, 我们发现来自日本和中国的研究有较高的敏感性、特异性、阳性似然比、DOR和较低的阴性似然比, 这些结果与Thosani<sup>[41]</sup>于2012年新近发表的荟萃分析结果相似, 我们进一步的回归分析推测可能与不同的操作医生的经验有关, Tsuzuki<sup>[42]</sup>报道, 影响EUS对上消化道浅表癌内镜下可切除性判断能力的主要因素如下: (1)内镜操作医生的主观因素: 主要是操作经验的影响, 操作不熟练时, 对超声探头的探查位置控制不当, 超声波不能与病灶部位垂直而有倾斜、偏向扫描, 导致影像显示不佳; 经验不足时, 对超声图像的判读也

易有误;另外,当胃镜病理已确诊为癌,而EUS下不能十分明确地区分浸润深度时,由于担心患者潜在淋巴结转移的风险,操作医生更倾向于出具黏膜下层受侵犯的报告而建议患者手术切除;(2)器械的影响:当采用15 MHz以下的频率探查时,对浅表病变显示的清晰度不够,不易察觉局部的微小破坏;(3)病变本身的影响:溃疡表面坏死组织及瘢痕纤维化和结缔组织增生,周围的炎症误认为肿瘤浸润,易造成分期过度;病变面积过大时,小探头不能全面探查,可能漏诊黏膜下层浸润。我们同时在对超声内镜的使用频率不同进行亚组分析中发现,联合应用20 MHz的EUS组较EUS的研究组的敏感性、特异性及DOR值增高,Murata<sup>[21]</sup>报道高频微小探头超声其对黏膜层、黏膜下层、固有肌层的诊断准确率可分别达到100%、83%、100%。20 MHz微探头穿透深度为1 cm,可分辨相距仅0.2 mm的两个点,与频率为7.5 MHz和12 MHz的传统超声内镜相比,频率为20 MHz的超声微探头对黏膜层和黏膜下层具有更高的分辨率。

由于本次纳入研究的文献仅为英文和中文,可能遗漏使用其他语言撰写的研究,而且文献结果间存在不同层面的偏倚。纳入研究对早期食管癌淋巴结转移情况的评价方法存在一定差异,多数研究仅评价是否存在淋巴结转移(即N-或N+),仅少数研究严格按照UICC,故本研究纳入相关研究样本量较小,该结论尚需大样本诊断试验研究加以证实。

总之,我们系统评价的结果提示超声内镜对诊断早期食管癌T1m期和T1sm期的准确性分期具有较高的敏感度和特异度,但其结果受检查者的经验,超声内镜选择及频率的种类等因素影响。在未来的研究中需进一步的探究相关的影响因素并且能使超声内镜的检查标准化,从而全面提高早期食管癌诊断的准确性。

#### 4 参考文献

- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- 张合林, 平育敏, 杜喜群. 应用COX模型分析影响食管癌切除术后预后因素. *中华肿瘤杂志* 1999; 21: 32-34
- Fujishiro M. Endoscopic submucosal dissection for stomach neoplasms. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5108-5112 [PMID: 16937520 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2006.00638.x]
- Ishikawa S, Togashi A, Inoue M, Honda S, Nozawa F, Toyama E, Miyanari N, Tabira Y, Baba H. Indications for EMR/ESD in cases of early gastric cancer: relationship between histological type, depth of wall invasion, and lymph node metastasis. *Gastric Cancer* 2007; 10: 35-38 [PMID: 17334716 DOI: 10.1007/s10120-006-0407-2]
- 朱良松, 单红, 王美玲, 王秀侠, 陆军, 贾国法. 内镜黏膜切除术治疗早期食管癌及癌前病变. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 328-330
- Stahl M, Budach W, Meyer HJ, Cervantes A. Esophageal cancer: Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Ann Oncol* 2010; 21 Suppl 5: v46-v49 [PMID: 20555101 DOI: 10.1093/annonc/mdp121]
- Millikan KW, Silverstein J, Hart V, Blair K, Bines S, Roberts J, Doolas A. A 15-year review of esophagectomy for carcinoma of the esophagus and cardia. *Arch Surg* 1995; 130: 617-624 [PMID: 7763170 DOI: 10.1001/archsurg.1995.01430060055011]
- Svanes K, Stangeland L, Viste A, Varhaug JE, Grønbech JE, Søreide O. Morbidity, ability to swallow, and survival, after oesophagectomy for cancer of the oesophagus and cardia. *Eur J Surg* 1995; 161: 669-675 [PMID: 8541426]
- Hünerbein M, Ulmer C, Handke T, Schlag PM. Endosonography of upper gastrointestinal tract cancer on demand using miniproboscopes or endoscopic ultrasound. *Surg Endosc* 2003; 17: 615-619 [PMID: 12582774 DOI: 10.1007/s00464-002-8622-3]
- Crumley AB, Going JJ, McEwan K, McKernan M, Abela JE, Shearer CJ, Stanley AJ, Stuart RC. Endoscopic mucosal resection for gastroesophageal cancer in a U.K. population. Long-term follow-up of a consecutive series. *Surg Endosc* 2011; 25: 543-548 [PMID: 20623237 DOI: 10.1007/s00464-010-1213-9]
- Pech O, Behrens A, May A, Nachbar L, Gossner L, Rabenstein T, Manner H, Guenter E, Huijsmans J, Vieth M, Stolte M, Ell C. Long-term results and risk factor analysis for recurrence after curative endoscopic therapy in 349 patients with high-grade intraepithelial neoplasia and mucosal adenocarcinoma in Barrett's oesophagus. *Gut* 2008; 57: 1200-1206 [PMID: 18460553 DOI: 10.1136/gut.2007.142539]
- Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960 DOI: 10.1186/1471-2288-3-25]
- Reed CE. Surgical management of esophageal carcinoma. *Oncologist* 1999; 4: 95-105 [PMID: 10337379]
- Devillé WL, Buntinx F, Bouter LM, Montori VM, de Vet HC, van der Windt DA, Bezemer PD. Conducting systematic reviews of diagnostic studies: didactic guidelines. *BMC Med Res Methodol* 2002; 2: 9 [PMID: 12097142 DOI: 10.1186/1471-2288-2-9]
- Begg CB, Mazumdar M. Operating characteristics of a rank correlation test for publication bias. *Biometrics* 1994; 50: 1088-1101 [PMID: 7786990 DOI: 10.2307/2533446]
- Harbord RM, Egger M, Sterne JA. A modified test for small-study effects in meta-analyses of controlled trials with binary endpoints. *Stat Med* 2006; 25: 3443-3457 [PMID: 16345038 DOI: 10.1002/sim.2380]
- Murata Y, Suzuki S, Hashimoto H. Endoscopic ultrasonography of the upper gastrointestinal tract. *Surg Endosc* 1988; 2: 180-183 [PMID: 3070801 DOI: 10.1007/BF02498796]
- Toh Y, Baba K, Ikebe M, Adachi Y, Kuwano H,

- Sugimachi K. Endoscopic ultrasonography in the diagnosis of an early esophageal carcinoma. *Hepato-gastroenterology* 1993; 40: 212-216 [PMID: 8325585]
- 19 Yoshikane H, Tsukamoto Y, Niwa Y, Goto H, Hase S, Shimodaira M, Maruta S, Miyata A, Yoshida M. Superficial esophageal carcinoma: evaluation by endoscopic ultrasonography. *Am J Gastroenterol* 1994; 89: 702-707 [PMID: 8172141]
- 20 Yanai H, Yoshida T, Harada T, Matsumoto Y, Nishiaki M, Shigemitsu T, Tada M, Okita K, Kawano T, Nagasaki S. Endoscopic ultrasonography of superficial esophageal cancers using a thin ultrasound probe system equipped with switchable radial and linear scanning modes. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 578-582 [PMID: 8934165 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70012-3]
- 21 Murata Y, Suzuki S, Ohta M, Mitsunaga A, Hayashi K, Yoshida K, Ide H. Small ultrasonic probes for determination of the depth of superficial esophageal cancer. *Gastrointest Endosc* 1996; 44: 23-28 [PMID: 8836712 DOI: 10.1016/S0016-5107(96)70224-9]
- 22 Shinkai M, Niwa Y, Arisawa T, Ohmiya N, Goto H, Hayakawa T. Evaluation of prognosis of squamous cell carcinoma of the oesophagus by endoscopic ultrasonography. *Gut* 2000; 47: 120-125 [PMID: 10861273 DOI: 10.1136/gut.47.1.120]
- 23 Fukuda M, Hirata K, Natori H. Endoscopic ultrasonography of the esophagus. *World J Surg* 2000; 24: 216-226 [PMID: 10633149 DOI: 10.1007/s002689910035]
- 24 陈俊辉, 曹伟华, 施广石, 陈传津, 王玉芝, 徐小华, 陈岳华. 微探头超声内镜对食管癌的诊断价值. *中国内镜杂志* 2000; 6: 13-14
- 25 Scotiniotis IA, Kochman ML, Lewis JD, Furth EE, Rosato EF, Ginsberg GG. Accuracy of EUS in the evaluation of Barrett's esophagus and high-grade dysplasia or intramucosal carcinoma. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 689-696 [PMID: 11726843 DOI: 10.1067/mge.2001.119216]
- 26 Kawano T, Ohshima M, Iwai T. Early esophageal carcinoma: endoscopic ultrasonography using the Sonoprobe. *Abdom Imaging* 2003; 28: 477-485 [PMID: 14580090 DOI: 10.1007/s00261-002-0076-5]
- 27 Yanai H, Harada T, Okamoto T, Hirano A, Takeo N, Yoshida T, Okita K, Kawano T. Prognostic value and interobserver agreement of endoscopic ultrasonography for superficial squamous cell carcinoma of the esophagus: a prospective study. *Int J Gastrointest Cancer* 2003; 34: 1-8 [PMID: 15235130]
- 28 Buskens CJ, Westertep M, Lagarde SM, Bergman JJ, ten Kate FJ, van Lanschot JJ. Prediction of appropriateness of local endoscopic treatment for high-grade dysplasia and early adenocarcinoma by EUS and histopathologic features. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 703-710 [PMID: 15557945 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)02017-6]
- 29 May A, Günter E, Roth F, Gossner L, Stoltz M, Vieth M, Ell C. Accuracy of staging in early oesophageal cancer using high resolution endoscopy and high resolution endosonography: a comparative, prospective, and blinded trial. *Gut* 2004; 53: 634-640 [PMID: 15082579 DOI: 10.1136/gut.2003.029421]
- 30 Larghi A, Lightdale CJ, Memeo L, Bhagat G, Okpara N, Rotterdam H. EUS followed by EMR for staging of high-grade dysplasia and early cancer in Barrett's esophagus. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 16-23 [PMID: 15990814 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)00319-6]
- 31 张月明, 程贵余, 贺舜, 苏凯, 吕宁, 薛丽燕, 倪晓光, 张蕾, 赖少清, 李晓燕, 于桂香, 鞠凤环, 王贵齐. 联合应用超声内镜与超声小探头在早期食管癌术前分期中的作用. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 138-141
- 32 Rampado S, Bocus P, Battaglia G, Ruol A, Portale G, Ancona E. Endoscopic ultrasound: accuracy in staging superficial carcinomas of the esophagus. *Ann Thorac Surg* 2008; 85: 251-256 [PMID: 18154819 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2007.08.021]
- 33 梁玮, 邓万银, 王丽珍, 林德琴, 何利平. 超声内镜在早期食管癌和癌前病变治疗中的价值. *福建医科大学学报* 2009; 43: 455-466
- 34 武育卫, 彭贵勇, 胡文华, 高春芳, 郭先科, 房殿春. 食管早期癌和癌前病变超声内镜诊断及内镜下食管黏膜切除术的临床研究. *胃肠病学和肝病学杂志* 2011; 20: 785-788
- 35 裴莉英, 邹晓平, 张晓琦. 高频小探头内镜超声对上消化道浅表癌浸润深度的判断价值. *中华全科医学* 2012; 10: 1873-1874
- 36 尔丽绵, 张立玮, 徐志彬, 袁丽, 吴明利, 王顺平, 高扬, 曹颖. 超声小探头对高发区早期食管癌及癌前病变术前治疗的评估及其影响因素. *中国内镜杂志* 2013; 19: 239-242
- 37 Lu Z, Huang XQ. Advanced in diagnosis of esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000; 8: 1017-1019
- 38 Zheng GL. Endoscopic sequence diagnosis of esophageal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000; 8: 1019-1020
- 39 Kelly S, Harris KM, Berry E, Hutton J, Roderick P, Cullingworth J, Gathercole L, Smith MA. A systematic review of the staging performance of endoscopic ultrasound in gastro-oesophageal carcinoma. *Gut* 2001; 49: 534-539 [PMID: 11559651 DOI: 10.1136/gut.49.4.534]
- 40 Tajima Y, Nakanishi Y, Ochiai A, Tachimori Y, Kato H, Watanabe H, Yamaguchi H, Yoshimura K, Kusano M, Shimoda T. Histopathologic findings predicting lymph node metastasis and prognosis of patients with superficial esophageal carcinoma: analysis of 240 surgically resected tumors. *Cancer* 2000; 88: 1285-1293 [PMID: 10717608]
- 41 Thosani N, Singh H, Kapadia A, Ochi N, Lee JH, Ajani J, Swisher SG, Hofstetter WL, Guha S, Bhutani MS. Diagnostic accuracy of EUS in differentiating mucosal versus submucosal invasion of superficial esophageal cancers: a systematic review and meta-analysis. *Gastrointest Endosc* 2012; 75: 242-253 [PMID: 22115605 DOI: 10.1016/j.gie.2011.09.016]
- 42 Tsuzuki T, Okada H, Kawahara Y, Nasu J, Takenaka R, Inoue M, Kawano S, Kita M, Hori K, Yamamoto K. Usefulness and problems of endoscopic ultrasonography in prediction of the depth of tumor invasion in early gastric cancer. *Acta Med Okayama* 2011; 65: 105-112 [PMID: 21519368 DOI: 10.1016/j.gie.2011.03.362]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





## 胃癌患者血清热休克蛋白27、90的检测

袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔

### ■背景资料

自1974年美国学者Tissiers等发现热休克蛋白, 其作为一种应激反应产物逐渐为人们所认识, 并发现其在多种肿瘤组织中高表达, 与肿瘤的发生、发展以及免疫逃逸存在联系。

袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔, 上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院普外科 上海市 200020

袁建明, 普外科主治医师, 主要从事胃癌的临床和基础研究。

上海市卫计委基金资助项目, No. 20134461

作者贡献分布: 袁建明与刘涛对此文所作贡献均等; 此课题由袁建明、刘涛及王天翔设计; 研究过程由袁建明、刘涛、沈建康及王天翔操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由沈建康提供; 数据分析由袁建明与沈建康完成; 本论文写作由袁建明、刘涛、沈建康及王天翔完成。

通讯作者: 刘涛, 主任医师, 200020, 上海市重庆南路149号, 上海交通大学医学院附属瑞金医院卢湾分院普外科。

taoliu1215@163.com

电话: 021-63684050-510704

收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-01-07

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

### Detection of serum HSP27 and HSP90 in patients with gastric carcinoma

Jian-Ming Yuan, Tao Liu, Jian-Kang Shen, Tian-Xiang Wang

Jian-Ming Yuan, Tao Liu, Jian-Kang Shen, Tian-Xiang Wang, Department of Surgery, Luwan Branch of Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200020, China

Supported by: Health and Family Planning Commission Funded Projects of Shanghai, No. 20134461

Correspondence to: Tao Liu, Department of Surgery, Luwan Branch of Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, 149 Chongqing South Road, Shanghai 200020, China. taoliu1215@163.com

Received: 2013-12-08 Revised: 2014-01-07

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

### Abstract

**AIM:** To detect the expression of heat shock protein (HSP) 27 and HSP90, and to investigate their correlations with clinical and pathological indexes of gastric carcinoma.

**METHODS:** HSP27 and HSP90 levels were determined by ELISA in sera from 42 patients with gastric carcinoma and 40 healthy controls. ANOVA and Pearson or Spearman correlation analysis were used to investigate the relationship between serum levels of HSP27 and HSP90 and pathological types, pathological stage and TNM stage, and survival.

**RESULTS:** Serum levels of HSP27 and HSP90

were significantly higher in patients with gastric carcinoma than in healthy controls. Serum levels of HSP27 differed significantly between patients with T4 disease and T1-3 disease ( $P = 0.036$ ), but showed no significant correlation with pathological type, pathological stage or TNM stage. Pearson correlation analysis showed a significant relationship between serum levels of HSP27 and those of HSP90 ( $r = 0.321$ ,  $P = 0.038$ ). Spearman correlation analysis showed no significant relationship between serum levels of HSP27 or HSP90 and pathological type, pathological stage or TNM stage. Kaplan-Meier analysis did not show any significant relationship between serum levels of HSP27 or HSP90 and the survival rate of the patients.

**CONCLUSION:** Serum levels of HSP27 and HSP90 may be closely related to the development of gastric carcinoma. Serum levels of HSP27 significantly correlate with those of HSP90 in patients with gastric carcinoma.

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

**Key Words:** HSP27; HSP90; Gastric carcinoma

Yuan JM, Liu T, Shen JK, Wang TX. Detection of serum HSP27 and HSP90 in patients with gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1000-1004 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1000.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1000>

### 摘要

**目的:** 检测胃癌患者血清热休克蛋白(heat shock protein, HSP)27、90的含量, 探讨其与胃癌临床及病理指标, 以及预后的关系。

**方法:** 应用ELISA方法测定42例胃癌患者血清标本中HSP27、90的含量, 并与40例同期正常对照组的血清标本作对比分析。同时采用单因素方差分析和相关分析探寻HSP27、90的浓度与胃癌病理类型、病理分期及TNM分期的关系, 并通过生存分析探寻其与胃癌预后的关系。

**结果:** 胃癌患者血清HSP27、90的表达显著高

### ■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院

于正常对照者( $P = 0.000$ ). 在胃癌患者中, 血清HSP27、90在不同病理类型、病理分期及TNM分期中均无显著差异, 仅HSP27在T4组显著高于其他组( $P = 0.036$ ). Pearson相关分析显示, 血清HSP27和HSP90之间呈显著相关( $r = 0.321$ ,  $P = 0.038$ ), Spearman相关分析显示, 血清HSP27、90的表达与病理类型、病理分期及TNM分期无显著相关关系. Kaplan-Meier生存分析未得出血清HSP27、90和胃癌预后的相关关系.

**结论:** 血清HSP27、90表达与胃癌的发病密切相关, 可作为协同判断胃癌发病的指标, 且两者表达呈正相关.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 热休克蛋白27; 热休克蛋白90; 胃癌

**核心提示:** 胃癌患者血清热休克蛋白(heat shock protein, HSP)27、90的表达显著高于正常对照者. 提示血清HSP27、90表达与胃癌的发病密切相关, 可作为协同判断胃癌发病的指标. 在胃癌患者中, 血清HSP27、90两者的表达显著相关, 提示两者存在某种内在联系.

袁建明, 刘涛, 沈建康, 王天翔. 胃癌患者血清热休克蛋白27、90的检测. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1000-1004 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1000.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1000>

## 0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 因其早期症状的隐匿性, 诊断多为中晚期. 热休克蛋白(heat shock protein, HSP)又称应激蛋白, 广泛存在于真核生物细胞中, 由一系列高度保守蛋白组成, 他们在机体理化环境受到侵扰时表达, 使细胞在致命条件下得以存活<sup>[1]</sup>. HSP按其相对分子质量大小和同源程度可分为不同类型, 显示特定的表达部位和生理功能. HSP家族的几个主要亚型有HSP27、HSP60、HSP70、HSP90. 本研究拟采用ELISA方法对42例胃癌患者血清中HSP27和HSP90的含量进行检测, 探讨HSP27和HSP90的表达与胃癌临床及病理指标, 以及预后的相关性, 并对其临床意义作一研究.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 胃癌患者的血清标本取自2008-03/2008-07在我院手术的胃癌患者, 对照组血清取自同期健康体检人群. 所有患者术前均未进行过放化

疗及抗肿瘤药物等治疗, 均有完整的临床及病理资料. 纳入的胃癌患者共42例, 女16例, 男26例, 平均年龄 $60.0 \pm 12.8$ 岁. 病理组织学类型: 低分化腺癌24例, 中分化腺癌10例, 高分化腺癌8例. TNM分期使用2010年美国癌症联合会(American Joint Committee on Cancer, AJCC)第七版: I期5例, II期12例, III期20例, IV期5例. 浸润深度(T): T1 2例, T2 4例, T3 29例, T4 7例. 淋巴结转移者26例(其中N1 16例, N2 7例, N3 3例), 无淋巴结转移者(N0)16例; 远处转移者(M1)1例. 另外, 纳入同期正常对照组血清标本40例, 女17例, 男23例, 平均年龄 $59.7 \pm 13.1$ 岁. 病例组与对照组间在年龄和性别构成方面无统计学差异. 随访中有1例患者于术后36 mo失访, 其余患者随访47 mo以上. ELISA试剂盒为ADL公司产品, 其中包括底物、检测抗体、结合抗体、稀释液及终止剂.

**1.2 方法** 采用ELISA方法, 按照试剂盒说明严格执行. 具体步骤包括: (1)加样: 分别设空白孔、标准孔、待测样品孔. 空白孔加样品稀释液100  $\mu$ L, 余孔分别加标准品或待测样品100  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C反应120 min; (2)弃去液体, 甩干, 每孔加检测溶液A工作液100  $\mu$ L(在使用前1 h内配制), 酶标板加上覆膜, 37  $^{\circ}$ C反应60 min; (3)温育60 min后, 弃去孔内液体, 甩干, 洗板3次, 每次浸泡1-2 min, 大约400  $\mu$ L/每孔, 甩干; (4)每孔加检测溶液B工作液100  $\mu$ L, 酶标板加上覆膜37  $^{\circ}$ C反应60 min; (5)温育60 min后, 弃去孔内液体, 甩干, 洗板5次, 每次浸泡1-2 min, 350  $\mu$ L/每孔, 甩干; (6)依序每孔加底物溶液90  $\mu$ L, 酶标板加上覆膜37  $^{\circ}$ C避光显色; (7)依序每孔加终止溶液50  $\mu$ L, 终止反应, 此时蓝色立转黄色; (8)用酶联仪在450 nm波长依序测量各孔的吸光度(A值), 在加终止液后立即进行检测. 测得其结果, 进行比较.

随访生存情况, 根据HSP27、90检测结果分为较高组( $\geq$ 中位值)和较低组( $<$ 中位值), 比较其生存情况.

**统计学处理** 采用SPSS19.0软件进行统计学处理, 一般计量资料数据描述采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 满足正态和方差齐性的计量资料两组间比较采用 $t$ 检验( $t$ -test), 多组间比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA), 否则采用非参数统计中的秩和检验, 相关性分析采用Pearson相关分析和Spearman等级相关分析方法, 采用Kaplan-Meier生存分析绘制生存曲线.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## ■ 研发前沿

热休克蛋白在多种肿瘤组织中高表达, 已较为明确. 然而其在血清中的表达, 即其对于肿瘤筛查和术前诊断的意义, 是目前研究的热点.

## ■相关报道

任宏等发现,血清热休克蛋白27在胃癌术前高表达,但在术后明显下调,提示其作为肿瘤标志物的潜在意义。

表 1 血清HSP27和HSP90的表达 (mean ± SD, ng/mL)

分组	n	HSP27	P值	HSP90	P值
病例组	42	62.9 ± 4.1	0.000	73.0 ± 4.9	0.000
对照组	40	46.9 ± 6.3		59.5 ± 6.8	
病理类型			0.862		0.934
低分化腺癌	24	62.3 ± 4.5		72.9 ± 5.5	
中分化腺癌	10	62.0 ± 4.3		73.8 ± 5.4	
高分化腺癌	8	63.7 ± 4.2		72.9 ± 7.1	
病理分期			0.855		0.906
I	5	62.0 ± 4.2		71.8 ± 7.5	
II	12	62.5 ± 4.5		73.5 ± 5.1	
III	20	62.7 ± 4.3		72.8 ± 5.7	
IV	5	64.4 ± 4.3		74.0 ± 5.9	
T			0.080		0.866
T1	2	61.6 ± 0.0		72.5 ± 6.2	
T2	4	62.0 ± 4.9		71.0 ± 7.9	
T3	29	62.3 ± 3.7		73.1 ± 4.9	
T4	7	65.8 ± 5.4 <sup>1</sup>		73.6 ± 4.4	
N			0.951		0.317
N0	16	62.3 ± 4.1		73.6 ± 5.8	
N1	16	63.0 ± 3.8		71.2 ± 3.7	
N2	7	63.2 ± 5.6		74.5 ± 5.5	
N3	3	62.2 ± 0.1		75.2 ± 5.3	

<sup>1</sup>仅T4与其他组存在显著差异(65.8 vs 62.1,  $P = 0.036$ ). HSP: 热休克蛋白。

## 2 结果

**2.1 血清HSP27和HSP90的表达** 胃癌患者血清HSP27的平均表达浓度为62.9 ng/mL ± 4.1 ng/mL, HSP90的平均表达浓度为73.0 ng/mL ± 4.9 ng/mL; 正常对照组血清HSP27的平均表达浓度为46.9 ng/mL ± 6.3 ng/mL, HSP90的平均表达浓度为59.5 ng/mL ± 6.8 ng/mL(表1)。t检验结果表明,胃癌患者血清HSP27和HSP90的表达均显著高于正常对照组( $P = 0.000$ )。在胃癌患者中,对不同病理和临床指标间采用单因素方差分析,结果表明在不同病理组织学类型中,血清HSP27和HSP90的表达无统计学差异。在不同病理分期中,血清HSP27和HSP90的表达无统计学差异。在不同浸润深度中,血清HSP27的表达无统计学差异,但T4组显著高于其他组( $P = 0.036$ );血清HSP90的表达无统计学差异。在不同淋巴结转移中,血清HSP27和HSP90的表达无统计学差异。考虑到远处转移患者只有1例,本研究中未进行HSP27和HSP90与远处转移间的统计学分析。

**2.2 相关性分析结果** Spearman相关分析表明,血清HSP27和HSP90分别与病理类型、病理分期及TNM分期无显著相关关系。Pearson相关分析

显示,血清HSP27和HSP90间呈正相关关系( $r = 0.321$ ,  $P = 0.038$ )(图1)。

**2.3 生存分析结果** Kaplan-Meier生存分析显示: HSP27较低组与较高组中位生存期分别为51 mo以上和42.0 mo( $P = 0.536$ )(图2); HSP90较低组与较高组中位生存期分别为51 mo以上和25.0 mo( $P = 0.169$ )(图3),两者均未显示统计学意义。

## 3 讨论

HS是20世纪70年代由美国学者Tissieres等<sup>[2]</sup>发现的一类新的蛋白质。HSP具有多种生物学功能,起着分子伴侣的作用,具有维持蛋白稳定,提高细胞生存等功能,细胞生长、发育、分化以及基因转录中发挥重要作用<sup>[3]</sup>。当机体理化环境受到侵扰时, HSP基因被激活,表达HSP蛋白,使细胞免于凋亡。Binder等<sup>[4]</sup>研究发现,在正常细胞中HSP的表达受细胞周期调控,但在肿瘤细胞中其表达无需应激。HSP抑制剂在肺腺癌<sup>[5]</sup>、乳癌<sup>[6]</sup>及前列腺癌<sup>[7]</sup>等癌症中参与调节肿瘤细胞的增殖、生存、侵袭、转移和血管生成等多种重要过程,并可以提高肿瘤细胞的辐射敏感性<sup>[8]</sup>。

HSP27是小分子HSP亚家族中重要的一员,



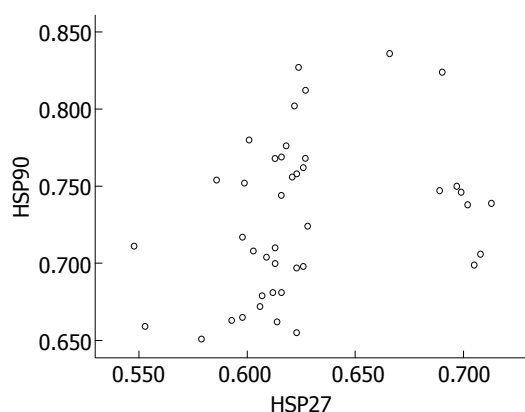


图 1 血清HSP27和HSP90分布散点图. HSP: 热休克蛋白.

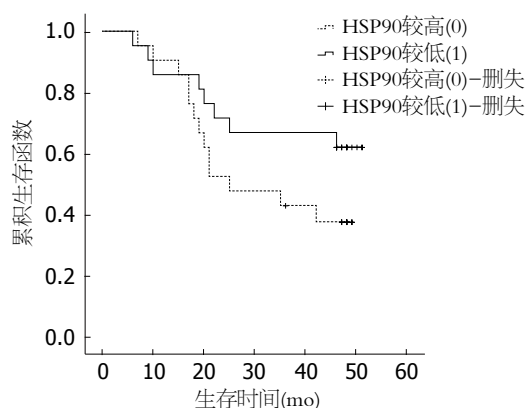


图 3 血清HSP90较低组和较高组胃癌患者生存函数图. HSP: 热休克蛋白.

# ■ 创新盘点

本研究从血清的层面分析胃癌患者和正常对照组血清热休克蛋白27、90的差异, 较组织层面的分析优势在于可以应用于临床, 对早期发现和诊断胃癌提供了新的思路. 另外本研究创新地发现了血清热休克蛋白27、90内在的相关性.

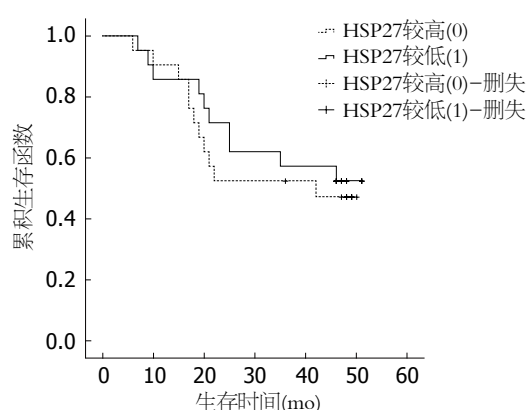


图 2 血清HSP27较低组和较高组胃癌患者生存函数图. HSP: 热休克蛋白.

参与了细胞的增殖、分化以及细胞凋亡的信号转导调节, 与肿瘤关系密切, 是一个涉及细胞生长、细胞凋亡、肿瘤的发生和转移等功能的重要蛋白, 在乳腺、肝、结肠、肺等多种肿瘤细胞中异常过表达, 并与肿瘤的恶性程度有关<sup>[9]</sup>. HSP90作为分子伴侣, 在蛋白质折叠、亚基组装以及调节细胞生长存活中具有重要作用<sup>[3]</sup>. 近年来研究发现, HSP90在多种实体肿瘤中高表达, 与肿瘤预后密切相关<sup>[10]</sup>.

机体细胞在受到各种理化因素(如炎症、创伤、高温、病毒感染及肿瘤等)刺激时, 可发生应激反应, 产生分子量不同的蛋白质, 即HSP, 以维持细胞内环境稳定. 胃黏膜在受到各种刺激时, 会翻译和转录高水平HSP, 以发挥对胃黏膜细胞的保护作用<sup>[11]</sup>. 胃癌是胃黏膜长期受各种因素刺激和其他作用下逐渐发生癌变的, 此过程HSP合成不断增加. 在胃癌发展过程中, 癌细胞产生的HSP27和HSP90释放至血液, 引起外周血中含量升高, 提示检测外周血中HSP27和HSP90水平, 对发现胃癌有重要的意义.

近年来, 有学者致力于研究HSP在胃癌组织中的表达, 而对HSP在胃癌患者血清中表达的报道较少. 孟庆松等<sup>[12]</sup>研究了血清HSP60在胃癌中的表达, 发现胃癌患者血清HSP60显著升高, 其检测可提高胃癌筛查的敏感度和准确性. 任宏等<sup>[13]</sup>应用质谱分析的方法, 研究了胃癌术前、术后以及正常对照组的血清蛋白质质谱, 结果发现, HSP27在胃癌术前表达上调, 但在术后下调. 本研究应用免疫组织化学的方法, 结果表明HSP27和HSP90在胃癌患者血清中亦显著高于正常对照组, 对胃癌的筛查和诊断具有一定的临床意义.

本研究结果显示, 血清HSP27和HSP90在不同的病理类型中并无统计学差异, 提示血清HSP27和HSP90的表达与病理类型无关. 在不同病理分期中, 血清HSP27和HSP90的表达并无升高的趋势, 结合Spearman相关分析, 无法得出HSP27和HSP90与病理分期之间有显著相关关系的结论. 但在浸润深度(T)分期中, 血清HSP27的表达T4组显著高于其他组, 提示血清HSP27的表达与不同肿瘤浸润程度之间存在一定的关联, 这与Giaginis等<sup>[14]</sup>在胃癌组织中得到的结果相仿. 这可能与随着肿瘤体积的增长, HSP27被不断释放入血有关. 但T1- T3分组分析并未得出显著性结论, 仍需更大样本的试验来进一步明确目前的结果.

本研究发现, 胃癌患者血清HSP27和HSP90两项指标之间存在显著正相关, 这或许提示在胃癌的发病中, 不同家族的HSP在激活时存在某种关联. 本研究中的相关分析尚未得出血清HSP27和HSP90与病理类型、病理分期及TNM分期之间的显著相关关系.

# 同行评价

本文是一篇较实用的论文, 立意明确, 方法得当, 结论可靠: 血清热休克蛋白27、90表达与胃癌的发病密切相关, 可作为协同判断胃癌发病的指标。临床重复性会很好, 有一定的临床意义。

本研究虽然在生存分析中未得出HSP27和HSP90与胃癌预后的阳性结果, 但从生存函数图, 尤其是HSP90与胃癌生存率的关系上, 已存在HSP90较高的患者预后较差的趋势, 这与Pick等<sup>[15]</sup>在乳癌中的研究相吻合。若进一步扩大样本, 并结合免疫组织化学技术检测胃癌组织中HSP27和HSP90表达, 并在术后随访患者血清HSP27和HSP90的含量, 研究HSP27和HSP90与患者预后间的关系, 则可得出更加有意义的结论。

## 参考文献

- Lanneau D, de Thonel A, Maurel S, Didelot C, Garrido C. Apoptosis versus cell differentiation: role of heat shock proteins HSP90, HSP70 and HSP27. *Prion* 2007; 1: 53-60 [PMID: 19164900 DOI: 10.4161/pri.1.1.4059]
- Tissières A, Mitchell HK, Tracy UM. Protein synthesis in salivary glands of *Drosophila melanogaster*: relation to chromosome puffs. *J Mol Biol* 1974; 84: 389-398 [PMID: 4219221 DOI: 10.1016/0022-2836(74)90447-1]
- Jego G, Hazoumé A, Seigneuric R, Garrido C. Targeting heat shock proteins in cancer. *Cancer Lett* 2013; 332: 275-285 [PMID: 21078542 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.014]
- Binder RJ, Vatner R, Srivastava P. The heat-shock protein receptors: some answers and more questions. *Tissue Antigens* 2004; 64: 442-451 [PMID: 15361121 DOI: 10.1111/j.1399-0039.2004.00299.x]
- Sun J, Liu L, Jiang X, Chen D, Huang Y. Therapeutic effects of radiolabeled 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin on human H460 non-small-cell lung carcinoma xenografts in mice. *Cancer Biother Radiopharm* 2010; 25: 155-164 [PMID: 20423228 DOI: 10.1089/cbr.2009.0664]
- Saxena V, Naguib Y, Hussain MD. Folate receptor targeted 17-allylamino-17-demethoxygeldanamycin (17-AAG) loaded polymeric nanoparticles for breast cancer. *Colloids Surf B Biointerfaces* 2012; 94: 274-280 [PMID: 22377218 DOI: 10.1016/j.colsurfb.2012.02.001]
- Seaton A, Maxwell PJ, Hill A, Gallagher R, Pettigrew J, Wilson RH, Waugh DJ. Inhibition of constitutive and cxc-chemokine-induced NF-kappaB activity potentiates ansamycin-based HSP90-inhibitor cytotoxicity in castrate-resistant prostate cancer cells. *Br J Cancer* 2009; 101: 1620-1629 [PMID: 19809428 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605356]
- Dobrovinn M, Che JT, Serganova I, Moroz E, Solit DB, Ageyeva L, Kochetkova T, Pillarsetti N, Finn R, Rosen N, Blasberg RG. Monitoring the induction of heat shock factor 1/heat shock protein 70 expression following 17-allylamino-demethoxygeldanamycin treatment by positron emission tomography and optical reporter gene imaging. *Mol Imaging* 2012; 11: 67-76 [PMID: 22418029]
- Calderwood SK, Khaleque MA, Sawyer DB, Ciocca DR. Heat shock proteins in cancer: chaperones of tumorigenesis. *Trends Biochem Sci* 2006; 31: 164-172 [PMID: 16483782]
- Mahalingam D, Swords R, Carew JS, Nawrocki ST, Bhalla K, Giles FJ. Targeting HSP90 for cancer therapy. *Br J Cancer* 2009; 100: 1523-1529 [PMID: 19401686 DOI: 10.1038/sj.bjc.6605066]
- Yano M, Naito Z, Tanaka S, Asano G. Expression and roles of heat shock proteins in human breast cancer. *Jpn J Cancer Res* 1996; 87: 908-915 [PMID: 8878452 DOI: 10.1111/j.1349-7006.1996.tb02119.x]
- 孟庆松, 高佩增, 李向东, 陈自平, 徐昌青. 胃癌患者血清热休克蛋白60检测的临床意义. *医学检验与临床* 2008; 19: 44-45
- 任宏, 杜宁, 张靖, 姚佳, 石景森. 胃癌手术治疗前后血清蛋白质谱差异性研究. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 314-318
- Giaginis C, Daskalopoulou SS, Vgenopoulou S, Sfiniadakis I, Kouraklis G, Theocharis SE. Heat Shock Protein-27, -60 and -90 expression in gastric cancer: association with clinicopathological variables and patient survival. *BMC Gastroenterol* 2009; 9: 14 [PMID: 19203381 DOI: 10.1186/1471-230X-9-14]
- Pick E, Kluger Y, Giltman JM, Moeder C, Camp RL, Rimm DL, Kluger HM. High HSP90 expression is associated with decreased survival in breast cancer. *Cancer Res* 2007; 67: 2932-2937 [PMID: 17409397 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-06-4511]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价

张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪

张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪, 贵州省六盘水市水城矿业控股集团总医院感染科 贵州省六盘水市 553000  
张泽敏, 副主任医师, 主要从事病毒性肝炎的诊治、肺结核性胸膜炎、结核性脑膜炎等方面的研究。

作者贡献分布: 此课题由张泽敏设计; 研究过程由张泽敏与于兰芳完成; 数据分析由李一鸣、陈发明及罗雪完成; 写作由于张泽敏、于兰芳、李一鸣、陈发明及罗雪共同完成。

通讯作者: 张泽敏, 副主任医师, 553000, 贵州省六盘水市钟山区龙塘街, 贵州省六盘水市水城矿业控股集团总医院感染科. zhangzeminguizhou@163.com

收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2013-12-30

接受日期: 2014-01-08 在线出版日期: 2014-03-08

## Curative effects of peg-interferon $\alpha-2a$ plus ribavirin and ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C patients

Ze-Min Zhang, Lan-Fang Yu, Yi-Ming Li, Fa-Ming Chen, Xue Luo

Ze-Min Zhang, Lan-Fang Yu, Yi-Ming Li, Fa-Ming Chen, Xue Luo, Department of Infectious Diseases, Shuicheng Mining General Hospital, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China

Correspondence to: Ze-Min Zhang, Associate Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Shuicheng Mining General Hospital, Longtang Street, Zhongshan District, Liupanshui 553000, Guizhou Province, China. zhangzeminguizhou@163.com

Received: 2013-12-02 Revised: 2013-12-30

Accepted: 2014-01-08 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To explore the curative effects of peg-interferon  $\alpha-2a$  plus ribavirin and ursodeoxycholic acid (UDCA) in chronic hepatitis C (CHC) patients.

**METHODS:** Eighty-four patients with HCV were randomly divided into two groups: an experimental group and a control group. The experimental group was treated by peg-interferon  $\alpha-2a$  plus ribavirin and UDCA, and the control group was treated by peg-interferon  $\alpha-2a$  plus ribavirin. The response rates in patients with HCV genotype 1 or other genotypes, the improvement of liver function during therapy, autoimmune conditions and interferon side effects were compared.

**RESULTS:** There was no statistically significant

difference between the two groups in the response rates in patients with HCV genotype 1 (9.52% vs 9.52%, 64.29% vs 61.90%, 54.76% vs 54.76%,  $P > 0.05$ ) or non-genotype 1 (14.29% vs 16.67%, 76.19% vs 73.81%, 76.19% vs 73.81%,  $P > 0.05$ ). The rates of improvement of ALT at weeks 48 and 72 (80.95% vs 71.43%, 83.33% vs 73.81%,  $P < 0.05$ ), AST (80.95% vs 64.29%, 85.71% vs 69.05%, 83.33% vs 73.81%,  $P < 0.05$ ) and GGT at weeks 24, 48 and 72 (85.71% vs 76.19%, 100.00% vs 90.48%, 92.86% vs 80.95%,  $P < 0.05$ ), and TBIL at weeks 4, 12, 24, 48 and 72 (59.52% vs 47.62%, 76.19% vs 59.52%, 92.86% vs 80.95%, 97.62% vs 83.33%, 92.86% vs 80.95%) were significantly better in the experimental group than in the control group. The positive rate of autoimmune antibody was significantly lower in the experimental group than in the control group (16.67% vs 33.33%,  $P < 0.05$ ). There were no statistically significant differences in the incidence of hypothyroidism (2.38% vs 4.76%), diabetes (0.00% vs 2.38%), weakness (47.62% vs 47.62%), sore muscle (45.24% vs 47.62%), fever (26.19% vs 28.57%), myelosuppression (23.81% vs 30.95%), or thyroid abnormality (7.14% vs 11.90%).

**CONCLUSION:** Peg-interferon  $\alpha-2a$  plus ribavirin and UDCA can improve the liver function and reduce the side effects of interferon and the occurrence of autoimmune disorder in chronic hepatitis C patients.

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

**Key Words:** Peg-interferon  $\alpha-2a$ ; Ribavirin; Ursodeoxycholic acid; Chronic hepatitis C

Zhang ZM, Yu LF, Li YM, Chen FM, Luo X. Curative effects of peg-interferon  $\alpha-2a$  plus ribavirin and ursodeoxycholic acid in chronic hepatitis C patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1005-1009 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1005.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1005>

## 摘要

**目的:** 探讨聚乙二醇干扰素  $\alpha-2a$  (PEG-interfer-

## ■背景资料

PEG-IFN $\alpha-2a$ 联合RBV治疗慢性丙型肝炎是国内外公认的标准治疗方法, 在清除丙型肝炎病毒、控制病情进展以及提高患者生存质量上具有显著临床优势。但用药后易产生骨髓抑制、甲状腺功能异常以及其他自身免疫性疾病, 易对肝功能造成一定损伤。UDCA为鹅去氧胆酸的7 $\beta$ -羟基差向异构体, 具有免疫调节、抗氧化、抗凋亡、利胆以及细胞保护等多重作用, 在肝病治疗中应用价值较高。

## ■同行评议者

刘正穗, 教授, 西安交通大学医学院第一附属医院



## ■ 研发前沿

干扰素(interferon, IFN)治疗患者性别、体质、HCV-RNA滴度以及肝纤维化程度等的影响且具有较多的禁忌症临床疗效不能令人满意。

on  $\alpha$ -2a, PEG-IFN  $\alpha$ -2a)联合利巴韦林(ribavirin, RBV)联合熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)的临床疗效。

**方法:** 按照数字随机分组法将我院收治的84例慢性丙型肝炎患者均分为实验组和对照组, 实验组患者给予聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合利巴韦林及熊去氧胆酸治疗, 对照组患者给予聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合利巴韦林治疗, 比较两组患者基因1型与非基因1型丙型肝炎病毒应答率、治疗期间肝功能改善情况、发生自身免疫情况以及干扰素不良反应发生情况。

**结果:** 两组患者基因1型(9.52% vs 9.52%)、(64.29% vs 61.90%)、(54.76% vs 54.76%)与非基因1型HCV应答率(14.29% vs 16.67%)、(76.19% vs 73.81%)、(76.19% vs 73.81%)比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 实验组患者第48周和第72周谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)恢复情况(80.95% vs 71.43%)、(83.33% vs 73.81%)明显优于对照组, 第24周、第48周和第72周谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)(80.95% vs 64.29%)、(85.71% vs 69.05%)、(83.33% vs 73.81%)和 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -glutamyl transaminase, GGT)恢复情况(85.71% vs 76.19%)、(100.00% vs 90.48%)、(92.86% vs 80.95%)明显优于对照组, 第4、12、24、48和72周总胆红素(total bilirubin, TBIL)(59.52% vs 47.62%)、(76.19% vs 59.52%)、(92.86% vs 80.95%)、(97.62% vs 83.33%)、(92.86% vs 80.95%)恢复情况明显优于对照组, 差异均具有显著性( $P<0.05$ ); 实验组自身免疫抗体阳性率明显低于对照组(16.67% vs 33.33%), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 两组患者甲状腺功能减退(2.38% vs 4.76%)和糖尿病发生率(0.00% vs 2.38%)比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗期间两组患者乏力(47.62% vs 47.62%)、肌肉酸痛(45.24% vs 47.62%)、发热(26.19% vs 28.57%)、骨髓抑制(23.81% vs 30.95%)、甲功异常(7.14% vs 11.90%)等干扰素不良反应发生情况比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**结论:** 在聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合利巴韦林治疗基础上加用熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎, 可明显改善患者肝功能、降低干扰素用药不良反应、减少患者发生自身免疫, 临床疗效确切。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a; 利巴韦林; 熊去氧

## 胆酸; 慢性丙型肝炎

**核心提示:** 干扰素联合利巴韦林是治疗慢性丙型肝炎的标准方案, 疗效确切, 安全性高。本研究在此基础上加用具有免疫调节等功能的熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎, 已经取得了良好的临床效果。

张泽敏, 于兰芳, 李一鸣, 陈发明, 罗雪. 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a联合利巴韦林联合熊去氧胆酸治疗慢性丙型肝炎的临床疗效评价. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1005-1009 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1005.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1005>

## 0 引言

慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)在临床上较为常见, 其进展为肝硬化后并发肝癌发生率较高, 肝硬化和肝癌是导致患者死亡的主要原因。临床治疗慢性丙型肝炎主要以根除或长期抑制肝炎病毒、改善肝内炎症和纤维化为原则<sup>[1]</sup>。干扰素联合利巴韦林是治疗慢性丙型肝炎的标准方案, 疗效确切, 安全性高<sup>[2]</sup>。我院在此基础上加用具有免疫调节等功能的熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)治疗慢性丙型肝炎, 已经取得了良好的临床效果, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-05/2012-05我院消化内科收治的84例慢性丙型肝炎患者作为研究对象。所有患者均符合《丙型肝炎防治指南》<sup>[3]</sup>中慢性丙型肝炎的相关诊断标准, 且经血清生化学检查确诊。所有患者丙型肝炎病毒核糖核酸(hepatitis C virus ribonucleic acid, HCV-RNA)均为阳性, 总胆红素(total bilirubin, TBIL)低于2倍正常上限值, 血清谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)低于10倍正常上限值, 病程超过6 mo。排除有肝炎病史、其他类型肝炎病毒感染、其他肝部疾病以及入选前曾使用激素、免疫抑制剂及熊去氧胆酸(ursodeoxycholic acid, UDCA)(韩国大熊制药, 0.1 g/粒, 30粒/盒, 批准文号: H20080318)治疗的患者。按照数字随机分组法将84例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、肝功能、Child-Pugh评分、基因型分布以及是否合并肝硬化等上差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1), 具有可比性。利巴韦林(ribavirin, RBV)湖北潜江制药股份有限公司生产, 100 mg $\times$ 1 mL $\times$ 10支, 国

表 1 两组患者临床资料比较 ( $n = 42$ )

分组	性别		平均年龄(岁)	肝功能				Child-Pugh评分	基因1型	肝硬化
	男	女		ALT	AST	GGT	TBIL			
实验组	24	18	44.82 $\pm$ 7.13	114.77 $\pm$ 53.97	86.59 $\pm$ 41.66	87.30 $\pm$ 67.61	30.62 $\pm$ 6.29	4.51 $\pm$ 1.44	20	7
对照组	23	19	44.57 $\pm$ 7.76	108.79 $\pm$ 49.62	89.57 $\pm$ 40.22	89.66 $\pm$ 65.23	29.84 $\pm$ 4.62	4.33 $\pm$ 1.26	19	8

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; GGT:  $\gamma$ -谷氨酰转肽酶; TBIL: 总胆红素。

表 2 两组患者基因1型与基因非1型HCV应答情况比较 ( $n = 42, n(\%)$ )

分组	基因1型			基因非1型		
	RVR	EVR	SVR	RVR	EVR	SVR
实验组	4(9.52)	27(64.29)	23(54.76)	6(14.29)	32(76.19)	32(76.19)
对照组	4(9.52)	26(61.90)	23(54.76)	7(16.67)	31(73.81)	31(73.81)

RVR: 快速病毒学应答; EVR: 早期病毒学应答; SVR: 持续病毒学应答率。

药准字H19993455; 聚乙二醇干扰素 $\alpha$ -2a(PEG-interferon $\alpha$ -2a, PEG-IFN $\alpha$ -2a)(派罗欣)上海罗氏制药有限公司, 180  $\mu$ g/(0.5 mL·支), 国药准字J20070055。

## 1.2 方法

1.2.1 治疗: 对照组患者给予PEG-IFN $\alpha$ -2a联合RBV治疗, PEG-IFN $\alpha$ -2a皮下注射, 180  $\mu$ g/次, 1次/wk, RBV口服, 800-1200 mg/d; 实验组患者在此基础上加用UDCA, 口服, 10 mg/(kg·d)。两组患者均连续治疗48 wk, 所有患者均获得自治疗首日起为期72 wk的随访。

1.2.2 观察指标: 记录治疗期间两组患者肝功能, 包括谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶( $\gamma$ -glutamyl transaminase, GGT)、总胆红素(total bilirubin, TBIL)改善情况<sup>[4]</sup>、发生自身免疫情况以及干扰素不良反应(乏力、肌肉酸痛、发热、骨髓抑制、甲功异常等)发生情况<sup>[5]</sup>。比较两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率, 包括快速病毒学应答(rapid virologic response, RVR)、早期病毒学应答(early virologic response, EVR)、持续病毒学应答(sustained virologic response, SVR)<sup>[6]</sup>。

**统计学处理** 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 使用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率

比较 两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表2)。

2.2 两组患者肝功能改善情况比较 实验组患者第48周和第72周ALT恢复情况明显优于对照组, 第24、48和72周AST和GGT恢复情况明显优于对照组, 第4、12、24、48和72周TBIL恢复情况明显优于对照组, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ )(表3)。

2.3 两组患者发生自身免疫情况的比较 实验组自身免疫抗体阳性率明显低于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ); 两组患者甲状腺功能减退和糖尿病发生率比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表4)。

2.4 两组患者干扰素不良反应发生情况比较 治疗期间两组患者乏力、肌肉酸痛、发热、骨髓抑制、甲功异常等干扰素不良反应发生情况比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表5)。

## 3 讨论

慢性丙型肝炎抗病毒治疗主要目的为清除或持续抑制患者体内HCV-RNA, 缓解肝功能损伤, 阻止病情向肝硬化或肝癌进展<sup>[7]</sup>。临床研究表明, IFN疗法治疗慢性丙型肝炎部分患者(超过20%)不会产生应答效果, 且不同用药剂量和疗程患者停药后半年内复发率高达30%-50%<sup>[8]</sup>。IFN应用于慢性丙型肝炎抗病毒治疗能够有效降低病毒复制水平, 从而促使ALT基本恢复正常。但停药后患者ALT往往再次升高而引起病毒复发。同时IFN用药后也易引起血小板减少、糖尿病

## ■相关报道

临床研究表明, IFN疗法治疗慢性丙型肝炎部分患者(超过20%)不会产生应答效果, 且不同用药剂量和疗程患者停药后半年内复发率高达30%-50%。

### ■同行评价

本研究设计合理, 治疗方法实用, 对临床医师有一定的参考价值。

表 3 两组患者肝功能改善情况比较 [ $n = 42, n(\%)$ ]

分组	时间	ALT恢复正常	AST恢复正常	GGT恢复正常	TBIL恢复正常
实验组	第4周				25(59.52) <sup>a</sup>
	第12周				32(76.19) <sup>a</sup>
	第24周		34(80.95) <sup>a</sup>	36(85.71) <sup>a</sup>	39(92.86) <sup>a</sup>
	第48周	34(80.95) <sup>a</sup>	36(85.71) <sup>a</sup>	42(100.00) <sup>a</sup>	41(97.62) <sup>a</sup>
	第72周	35(83.33) <sup>a</sup>	35(83.33) <sup>a</sup>	39(92.86) <sup>a</sup>	39(92.86) <sup>a</sup>
对照组	第4周				20(47.62)
	第12周				25(59.52)
	第24周		27(64.29)	32(76.19)	34(80.95)
	第48周	30(71.43)	29(69.05)	38(90.48)	35(83.33)
	第72周	31(73.81)	31(73.81)	34(80.95)	34(80.95)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

表 4 两组患者发生自身免疫情况比较 [ $n = 42, n(\%)$ ]

分组	自身免疫抗体阳性	甲状腺功能减退	糖尿病
实验组	7(16.67) <sup>a</sup>	1(2.38)	0(0.00)
对照组	14(33.33)	2(4.76)	1(2.38)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

表 5 两组患者干扰素不良反应发生情况比较 [ $n = 42, n(\%)$ ]

分组	乏力	肌肉酸痛	发热	骨髓抑制	甲功异常	其他
实验组	20(47.62)	19(45.24)	11(26.19)	10(23.81)	3(7.14)	11(26.19)
对照组	20(47.62)	20(47.62)	12(28.57)	13(30.95)	5(11.90)	11(26.19)

以及甲状腺功能减退等自身免疫损伤, 导致患者必须停药而影响治疗效果<sup>[9]</sup>。另外, IFN治疗患者性别、体质、HCV-RNA滴度以及肝纤维化程度等的影响且具有较多禁忌症临床疗效不能令人满意<sup>[10]</sup>。

PEG-IFN $\alpha$ -2a联合RBV治疗慢性丙型肝炎是国内外公认的标准治疗方法, 在清除丙型肝炎病毒、控制病情进展以及提高患者生存质量上具有显著临床优势<sup>[11]</sup>。但用药后易产生骨髓抑制、甲状腺功能异常以及其他自身免疫性疾病, 易对肝功能造成一定损伤<sup>[12]</sup>。UDCA为鹅去氧胆酸的7 $\beta$ -羟基差向异构体, 具有免疫调节、抗氧化、抗凋亡、利胆以及细胞保护等多重作用, 在肝病治疗中应用价值较高<sup>[13]</sup>。因此, 在患者发生自身免疫性血小板减少时使用UDCA对改善患者自身免疫损伤十分有利。UDCA能够促使病毒性或非病毒性慢性肝炎患者ALT水平下降, 但在清除HCV-RNA上没有明显效果<sup>[14]</sup>。本研究

中实验组患者ALT、AST、GGT及TBIL改善情况在治疗后期明显优于对照组。表明停用干扰素后UDCA显示出了维持肝功能正常的效果。而两组患者两组患者基因1型与非基因1型HCV应答率比较, 差异无统计学意义。表明UDCA确实没有清除HCV-RNA的明显效果, 与上述研究报道相符。

临床研究表明, UDCA能够通过控制人体肝细胞和胆管上皮细胞主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC) I类和II类分子的表达抑制其与T淋巴细胞相互作用而激活免疫病理损伤的效果<sup>[15]</sup>。同时也能够抑制糖皮质激素受体的激活和调节糖皮质激素受体功能, 抑制抗原激活的免疫反应, 从而大大改善患者自身免疫损伤情况<sup>[16]</sup>。本研究结果显示, 实验组自身免疫抗体阳性率明显低于对照组, 差异具有显著性; 但两组患者甲状腺功能减退和糖尿病发生率比较, 差异无统计学意义, 可能



是由于病例数较少, 数据不准确所致。同时, 两组患者治疗期间乏力、肌肉酸痛、发热、骨髓抑制、甲功异常等干扰素不良反应发生情况比较, 差异无统计学意义, 表明UDCA无明显临床不良反应。

总体来看, 在自身免疫性血小板减少的情况下, 使用UDCA治疗慢性丙型肝炎是一个有利的选择, 且在治疗中UDCA对抗病毒治疗的耐受性更佳, 患者能够接受更长时间的抗病毒治疗。但UDCA能否有效改善患者肝脏组织学表现仍需要进一步深入研究。

总之, UDCA能够减少患者自身免疫现象, 改善患者肝功能, 缓解干扰素在骨髓抑制方面的不良反应, 提高患者抗病毒治疗的耐受性, 与PEG-IFN $\alpha-2a$ 和RBV联合使用治疗慢性丙型肝炎临床疗效显著, 具有较高临床应用价值。

#### 4 参考文献

- 1 袁征, 邵铭, 何晶. 丙型肝炎的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 3046-3052
- 2 王为, 周国华. 慢性丙型肝炎的治疗药物研究进展. 临床军医杂志 2012; 40: 249-251
- 3 中华医学会传染病与寄生虫学分会, 肝病学会. 丙型肝炎防治指南. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 194-198
- 4 Milan M, Boninsegna S, Scribano L, Lobello S, Fagioli S, Fabris P, Buda A, Martines D. Viral kinetics during the first weeks of pegylated interferon and ribavirin treatment can identify patients at risk of relapse after its discontinuation: new strategies for such patients? *Infection* 2012; 40: 173-179 [PMID: 22095532 DOI: 10.1007/s15010-011-0219-0]
- 5 姜雪强, 邹小静, 田德英. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的疗效及不良反应. 中西医结合肝病杂志 2010; 20: 335-337
- 6 姜雪强, 邹小静, 田德英. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎患者的病毒学应答. 临床肝胆病杂志 2011; 27: 417-419
- 7 阿米娜·依明, 铁木尔·玉努斯, 丽娜. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 和利巴韦林联合治疗慢性丙型肝炎临床观察. 实用肝脏病杂志 2011; 14: 452-453
- 8 徐庆年, 杨宗国, 陆云飞, 陈晓蓉. 聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗经治慢性丙型肝炎患者的回顾性分析. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1797-1802
- 9 张艳. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林治疗慢性病毒性丙型肝炎的效果及护理. 现代临床护理 2011; 10: 45-47
- 10 贺红旗. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎的不良反应及护理. 中国药师 2012; 15: 1013-1014
- 11 刘元元, 朴荣利, 叶春艳, 牛俊奇. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎效果评价. 吉林大学学报(医学版) 2010; 36: 563-567
- 12 李永春, 陈焰. 聚乙二醇干扰素 $\alpha-2a$ 联合利巴韦林治疗慢性丙型肝炎45例的疗效评价. 临床医学工程 2013; 20: 951-952
- 13 吴剑明, 刘蓉. 强肝胶囊联合熊去氧胆酸治疗慢性乙型肝炎的疗效观察. 临床和实验医学杂志 2009; 08: 35-36
- 14 Tseng KC, Ho YC, Hsieh YH, Lai NS, Wen ZH, Li C, Wu SF. Elevated frequency and function of regulatory T cells in patients with active chronic hepatitis C. *J Gastroenterol* 2012; 47: 823-833 [PMID: 22367277 DOI: 10.1007/s00535-012-0544-9]
- 15 梁精, 莫晓平. 强肝胶囊联合熊去氧胆酸治疗慢性乙型肝炎疗效观察. 现代中西医结合杂志 2013; 22: 970-971
- 16 王晓艳, 沈守荣, 李楠, 李予. 熊去氧胆酸治疗乙型肝炎肝硬化的临床疗效. 中南大学学报(医学版) 2010; 35: 171-175

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 伴晚期肝硬化终末期肾脏病患者不同透析治疗的临床效果比较

李娟, 程守斌, 周艳玲

## ■背景资料

终末期肾脏病, 指各种慢性肾脏疾病的终末阶段, 肾功能的进行性下降, 毒素在体内蓄积, 若于晚期肝硬化同时发生, 会使治疗相当棘手。目前临床上主要以透析治疗和肾移植为主。

李娟, 程守斌, 周艳玲, 中南大学湘雅医学院附属海口医院海口市人民医院肾内科 海南省海口市 570208

李娟, 副主任医师, 主要从事肾病的研究。

作者贡献分布: 课题的设计、研究过程及试剂的准备由李娟、程守斌及周艳玲完成; 数据分析及论文写作由李娟、程守斌及周艳玲共同完成。

通讯作者: 李娟, 主治医师, 570208, 海南省海口市海甸岛人民大道43号, 海口市人民医院肾内科。lijuanhaikou@163.com

电话: 0898-66189555

收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-01-21

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-08

## Clinical effects of hemodialysis versus peritoneal dialysis in end-stage renal disease patients with advanced cirrhosis

Juan Li, Shou-Bin Cheng, Yan-Ling Zhou

Juan Li, Shou-Bin Cheng, Yan-Ling Zhou, Department of Nephrology, the People's Hospital of Haikou City, Affiliated Haikou Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, Haikou 570208, Hainan Province, China  
Correspondence to: Juan Li, Attending Doctor, Department of Nephrology, the People's Hospital of Haikou City, Affiliated Haikou Hospital of Xiangya Medical College, Central South University, 42 Renmin Road, Haikou 570208, Hainan Province, China. lijuanhaikou@163.com

Received: 2013-12-26 Revised: 2014-01-21

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To compare the clinical effects of hemodialysis and peritoneal dialysis in end-stage renal disease (ESRD) patients with advanced cirrhosis.

**METHODS:** ESRD patients with cirrhosis who were treated at our hospital were randomly divided into either a control group or an observation group. The control group was treated by hemodialysis 2 to 3 times a week, while the observation group was treated by peritoneal dialysis 3 to 4 times daily.

**RESULTS:** After treatment, blood pressure, plasma total protein, albumin levels were significantly lower, and BUN and SCr were significant-

ly higher in the observation group than in the control group ( $P < 0.05$  for all), but serum calcium, ammonia and hemoglobin levels showed no significant difference between the two groups ( $P > 0.05$  for all). The incidence of adverse reactions (51.6% vs 74.2%) was significantly lower and the survival rate (91.9% vs 74.2%) was significantly higher in the observation group than in the control group ( $P < 0.05$  for both). The observation group had significantly lower average monthly cost than the control group ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Hemodialysis and peritoneal dialysis are both effective in ESRD patients with advanced cirrhosis, with the latter being associated with a higher survival rate, fewer side effects, and less cost.

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

**Key Words:** End-stage renal disease; Advanced cirrhosis; Hemodialysis; Peritoneal dialysis

Li J, Cheng SB, Zhou YL. Clinical effects of hemodialysis versus peritoneal dialysis in end-stage renal disease patients with advanced cirrhosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1010-1014 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1010.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1010>

## 摘要

**目的:** 探讨血液透析和腹膜透析在终末期肾病伴晚期肝硬化患者透析治疗中的临床效果。

**方法:** 选取我院收治的终末期肾病伴肝硬化患者作为研究对象, 并随机分为对照组和观察组。对照组患者采用血液透析, 中心静脉插管, 流量500 mL/L, 每周透析2-3次, 每次持续4 h; 观察组患者接受腹膜透析, 每日透析3-4次。

**结果:** 治疗后, 观察组患者血压、血浆总蛋白、白蛋白水平显著低于对照组, 且尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)、血肌酐(serum creatinine, SCr)高于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但两组患者血钙、血氨、血红蛋白

## ■同行评议者

王德盛, 副主任医师, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科

白水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 观察组患者不良反应发生率(51.6%)明显低于对照组(74.2%), 生存率(91.9%)高于对照组(74.2%), 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 但两组患者死亡原因间差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 观察组患者平均月透析费用低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ). 观察组患者身体疼痛度和情感职能评分显著高于对照组, 而社会功能评分则显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

**结论:** 血液透析和腹膜透析均能有效治疗终末期肾病伴晚期肝硬化, 但腹膜透析治疗生存率更高, 不良反应更少, 是既经济又有效的手段.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 终末期肾病; 晚期肝硬化; 血液透析; 腹膜透析

**核心提示:** 本研究中分别使用血液透析和腹膜透析治疗终末期肾病合并晚期肝硬化患者, 研究结果显示: 观察组患者血压显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 这可能是因为血液透析是血液体外循环和超滤等造成血容量及血流动力学改变.

李娟, 程守斌, 周艳玲. 伴晚期肝硬化终末期肾脏病患者不同透析治疗的临床效果比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1010-1014 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1010.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1010>

## 0 引言

终末期肾脏病(end stage renal disease, ESRD), 指各种慢性肾脏疾病的终末阶段, 肾功能的进行性下降, 毒素在体内蓄积, 可引起恶心、呕吐、皮肤瘙痒、水肿、贫血等并发症, 严重危及患者生命安全和生活质量<sup>[1]</sup>. 肝硬化是常见的慢性进行性肝病, 肝小叶结构破坏和假小叶形成是其特征性. 肝硬化可导致多系统受累, 出现上消化道出血、肝性脑病、继发感染、腹水、癌变等并发症<sup>[2]</sup>. 终末期肾病和晚期肝硬化同时发生, 会使治疗相当棘手. 透析是治疗两种疾病的有效手段, 临床常用的有血液透析和腹膜透析, 但由于患者病情复杂且多有严重并发症, 血液透析和腹膜透析的对患者的影响尚无定论<sup>[3,4]</sup>. 本研究对两种透析方法治疗终末期肾病并晚期肝硬化患者的临床效果进行探讨, 现报道如下.

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取我院2011-05/2012-05收治的终末

表 1 治疗后两组患者血压比较 ( $n = 62$ , mmHg)

分组	收缩压	舒张压
观察组	131.1 ± 21.2	75.3 ± 9.6
对照组	152.6 ± 29.9	80.4 ± 11.7
<i>t</i> 值	4.619	2.653
<i>P</i> 值	0.0001 < 0.05	0.0090 < 0.05

期肾病伴肝硬化患者124例作为研究对象. 患者原发疾病包括慢性肾小球肾炎, 糖尿病肾病, 慢性乙型肝炎, 高血压肾病等. 随机将124例患者分为对观察组和对照组, 每组各有患者62例. 其中对照组男性患者35例, 女性患者27例, 年龄范围27-74岁, 平均年龄38.4岁 ± 3.4岁; 观察组男性患者33例, 女性患者29例, 年龄范围29-71岁, 平均年龄39.2岁 ± 4.1岁. 两组患者间性别、年龄及病情等一般资料间差异无统计学意义( $P<0.05$ ), 组间具有可比性. 本研究中Tencho直管、Y型透析仪购于美国百特公司; 腹膜透析液购于上海长征富民金山制药有限公司(国药准字H31022959, 规格: 2000 mL: 含50 g葡萄糖); 血液透析采用购买欲瑞典金宝公司200K型透析仪透析.

### 1.2 方法

1.2.1 纳入标准: 所有患者均签署知情同意书, 且符合以下条件: (1)所有患者均为确诊的终末期肾病伴晚期肝硬化患者, 符合终末期肾病和晚期肝硬化的诊断标准; (2)代偿期轻度异常, 失代偿期血清蛋白降低, 球蛋白升高, A/G倒置; (3)血肌酐(serum creatinine, SCr)每日升高>176.8 μmol/L, 或>442 μmol/L; (4)尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)每日升高>8.9 mmol/L, 或>21.4 mmol/L; (5)血钾浓度>6.5 mmol/L; (6)出现代谢性酸中毒或水中毒症状; (7)患者可有腹部水肿.

1.2.2 排除标准: 排除有以下情况的患者: (1)排除有精神疾病或有肝性脑病昏迷而无法配合治疗的患者; (2)排除近期内有左低蛋白血症、急性腹膜炎、脑血管疾病等其他系统严重疾病的患者; (3)排除身体状况极差, 不能耐受治疗的患者.

1.2.3 治疗: 观察组患者采用非卧床持续性腹膜透析, 采用Tencho直管、Y型透析仪和腹膜透析液行非卧床持续腹膜透析. 根据腹膜超滤量, 每日透析3-4次, 透析液中葡萄糖浓度为1.5%-4.25%. 对照组患者行血液透析, 采用反渗水及碳酸氢钠盐透析液, 采用中心静脉插管, 流量500 mL/L, 每周透析2-3次, 每次持续4 h. 两组

### ■ 研发前沿

各种病因造成的终末期肾脏病患者对于血液透析和腹膜透析的选择时机的研究, 以及个体化透析的研究即根据每个患者的具体情况来选择透析方式是研究临床需要注重的.



## ■相关报道

张正秀等对80例终末期肾病腹膜透析的临床分析,该研究肯定了腹膜透析技术在肾病终末期中的应用价值;余学清等的研究分别对腹膜透析和血液透析在糖尿病肾病终末期的应用价值,他们的结果有相似之处,但也有不同。目前,对血液透析和腹膜透析该如何选择,尚无确切定论。

表 2 治疗后两组患者、BUN、SCr、血钙、血氨、血浆总蛋白、血红蛋白、白蛋白比较 ( $n = 62$ )

分组	BUN(mmol/L)	SCr( $\mu$ mol/L)	血钙(mmol/L)	血氨(g/L)	血浆总蛋白(g/L)	血红蛋白(g/L)	白蛋白(g/L)
观察组	16.7 $\pm$ 4.5	532 $\pm$ 159.3	2.11 $\pm$ 0.24	77.1 $\pm$ 27.9	50.0 $\pm$ 1.91	96.6 $\pm$ 5.02	28.4 $\pm$ 1.79
对照组	14.0 $\pm$ 3.7	429 $\pm$ 147.6	2.07 $\pm$ 0.22	84.3 $\pm$ 29.6	55.4 $\pm$ 2.33	97.6 $\pm$ 5.34	33.3 $\pm$ 1.99
$t$ 值	3.649	3.735	0.967	1.394	14.113	1.074	14.4148
$P$ 值	0.0004 < 0.05	0.0003 < 0.05	0.3353 > 0.05	0.1659 > 0.05	0.0001 < 0.05	0.2848 > 0.05	0.0001 < 0.05

BUN: 血清尿素氮; SCr: 血肌酐。

表 3 两组患者透析过程中主要并发症比较 ( $n = 62$ ,  $n(\%)$ )

分组	感染	心率失常	心脑血管疾病	低蛋白血症	出血	合计
观察组	5(8.1)	6(9.7)	12(19.4)	6(9.7)	3(4.8)	32(51.6)
对照组	6(9.7)	8(12.9)	17(27.4)	4(6.4)	11(17.7)	46(74.2)
$\chi^2$ 值						6.774
$P$ 值						0.0092 < 0.05

表 4 透析1年后两组患者生存率比较 ( $n = 62$ )

分组	生存( $n$ )	死亡( $n$ )	生存率(%)	$\chi^2$ 值	$P$ 值
观察组	57	5	91.9	5.035	0.0248 < 0.05
对照组	48	14	77.4		

表 5 两组患者死因比较

分组	$n$	透析所致感染	肝硬化并发症	其他
观察组	5	2	2	1
对照组	14	5	6	3
$\chi^2$ 值		0.029	0.012	0.004
$P$ 值		0.8646	0.9116	0.9464

表 6 两组患者透析的费用比较 ( $n = 62$ , 元/月)

分组	透析费用	值	$P$ 值
观察组	6280 $\pm$ 245	3.162	0.0020 < 0.05
对照组	6439 $\pm$ 311		

患者均给予相同的常规治疗,如补充钙剂、铁剂及叶酸等,控制血压、血糖等。

1.2.4 观察指标: 严密观察患者生理指标,如:血压、BUN、SCr、血钙、血氨、血浆总蛋白,血红蛋白,白蛋白并注意患者不良反应。1年后对患者进行回访,调查患者生存率,同时了解患者用于透析治疗的经济负担,生活质量以及死亡原因。生活质量采用SF-36量表,在专门的研究人员指导下,由患者本人选择答案,如患者因疾病和文化方面的原因不能完成,则研究人员协助完成。SF-36量表包括8个方面,分别为生理功能(physical function, PF)、生理职能(role-physical, RP)、躯体疼痛(bodily pain, BP)、总体健康(general health, GH)、活力(vitality, VT)、社会功

能(social function, SF)、情感职能(role-emotional, RE)和心理健康(mental health, MH)。调查并了解死亡患者的死因。

**统计学处理** 所有数据均采用SPSS17.0统计学软件处理,计量资料采用 $t$ 检验,计数资料采用 $\chi^2$ 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患者治疗后血压比较 治疗后,观察组患者血压显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

2.2 治疗后两组患者、BUN、SCr、血钙、血氨、血浆总蛋白、血红蛋白、白蛋白比较 观察组患者BUN、SCr均高于对照组,血浆总蛋白、白蛋白水平低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),但两组患者血钙、血氨、血红蛋白水

表 7 两组患者生活质量比较 ( $n = 62$ )

分组	PF	PR	BP	GH	VT	RE	SF	MH
观察组	62.5±9.5	45.1±11.0	75.9±8.6	48.4±13.3	54.5±15.1	76.3±20.5	81.2±20.4	73.5±10.3
对照组	59.7±10.2	46.5±10.8	61.7±9.2	49.5±14.5	69.5±13.6	59.7±18.1	76.6±18.6	76.8±9.8
$t$ 值	1.582	0.715	8.878	0.440	5.812	4.779	1.312	1.828
$P$ 值	0.1163	0.4762	0.0000	0.6606	0.0000	0.0000	0.1920	0.0700

PF: 生理功能; RP: 生理职能; BP: 躯体疼痛; GH: 总体健康; VT: 活力; SF: 社会功能; RE: 情感职能; MH: 精神健康。

平差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表2)。

**2.3 透析过程中并发症比较** 透析过程中两组患者均有感染、出血、心率失常、心脑血管疾病、低蛋白血症、出血等不良反应, 其中观察组患者不良反应发生率(51.6%)明显低于对照组(74.2%), 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表3)。

**2.4 透析1年后回访两组患者生存率比较** 透析1年后, 观察组有5例患者死亡, 其中2例患者为透析所致感染致死, 2例患者为肝硬化并发症死亡, 1例患者死于其他原因; 对照组有14例患者死亡, 其中5例患者死于透析所致感染, 其余6例患者死于肝硬化并发症, 3例患者死于其他原因。观察组患者生存率(91.9%)显著高于对照组(77.4%), 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表4)。两组患者死因间差别无统计学意义( $P>0.05$ )(表5)。

**2.5 两组患者经济负担比较** 观察组患者平均月透析费用低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表6)。

**2.6 两组患者生活质量比较** 观察组患者身体疼痛度和情感职能评分显著高于对照组, 而社会功能评分则显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表7)。

### 3 讨论

近年来, 随着人们生活方式的改变, 慢性非传染性疾病已成为危害人们生命安全和影响生活质量的主要因素<sup>[5]</sup>。终末期肾病和晚期肝硬化是其中代表, 且发病率呈上升趋势。终末期肾病患者肾单位破坏严重, 残存的有效肾单位不能满足机体需要, 体内毒素和代谢废物潴留, 破坏内环境稳定性和酸碱平衡, 导致各种并发症出现并最终形成尿毒症, 严重危及患者生活质量和生命安全<sup>[6,7]</sup>。晚期肝硬化患者可有消化道出血、肝性脑病、继发感染、腹水、癌变等并发症。当终末期肾病合并晚期肝硬化时, 肾脏有效清除率进一步降低, 体内毒素进一步潴留, 临床药

物治疗效果极差, 患者死亡率高<sup>[8-10]</sup>。透析是一种代替治疗手段, 临床分为血液透析和腹膜透析<sup>[11]</sup>。血液透析是通过扩散、对流使体内废物和毒素演出体外, 而腹膜透析是利用腹膜作为半渗透膜, 导入透析液, 通过腹膜两侧溶质的浓度梯度差, 清除体内废物及毒素, 纠正电解质紊乱, 维持酸碱平衡<sup>[12,14]</sup>。临床上根据患者病情选择合适的透析方法是治疗的关键。

本研究中分别使用血液透析和腹膜透析治疗终末期肾病合并晚期肝硬化患者, 研究结果显示: 观察组患者血压显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 这可能是因为血液透析是血液体外循环和超滤等造成血容量及血流动力学改变<sup>[15]</sup>。研究还发现观察组患者BUN、SCr、高于对照组, 血浆总蛋白、白蛋白低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 而两组患者血钙、血氨、血红蛋白水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 这表明非卧床持续性腹膜透析对于BUN和SCr等废物的排除效果不如血液透析, 对于血钙、血氨等的清除, 两组透析方法效果相当, 而腹膜透析对于血浆蛋白的保留不如血液透析, 易导致低蛋白血症的出现。研究中发现观察组患者不良反应发生率(51.6%)明显低于对照组(74.2%), 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 血液透析因为血容量的增多、血压控制不良、需要使用肝素等原因, 在心脑血管疾病、出血、感染等并发症多余腹膜透析, 但低蛋白血症则少于腹膜透析。两种透析方法均能提高患者1年后生存率, 但腹膜透析效果更明显, 生存率显著高于血液透析, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 但死亡原因间差异无统计学意义( $P>0.05$ )。研究中腹膜透析的花费低于血液透析, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。观察组患者身体疼痛度和情感职能评分显著高于对照组, 而社会功能评分则显著低于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

总之, 血液透析和腹膜透析均能有效治疗

### ■创新盘点

相较于其他报道, 研究更加全面, 对血压、血清尿素氮、血肌酐、血钙、血氨、血浆总蛋白、血红蛋白、白蛋白并注意患者不良反应, 患者生存率已经经济负担等多方面因素都进行了研究, 其他报道未能有如此全面。本文最大创新之处, 在于对不同透析方式的患者的生活质量也进行了分析, 更具有实际价值。

## ■同行评价

比较了腹膜透析和血液透析对合并肝硬化和肾功能衰竭患者治疗的不同效果,发现两者均能有效治疗终末期肾病伴晚期肝硬化,腹膜透析治疗生存率更高,不良反应更少,有一定的临床意义。比较了两组患者的经济负担和生活质量,更具有现实意义。

终末期肾病伴晚期肝硬化,但腹膜透析治疗生存率更高,不良反应更少,是既经济又有效的手段。

## 4 参考文献

- 1 张正秀, 何洪斌, 曾兴蓉, 刘高伦, 张家菊, 刘琳, 张颖娟. 80例终末期肾病腹膜透析的临床分析. 四川医学 2013; 34: 195-197
- 2 童桂芝, 李红仙. 尿毒症伴肝硬化大量腹水行腹膜透析治疗的护理. 全科护理 2011; 9: 512-513
- 3 华伟. 腹膜透析治疗尿毒症合并肝硬化大量腹水的临床效果观察. 中国现代医生 2013; 51: 104-105
- 4 孟小蓉, 包勇. 结核感染T细胞检测在结核病合并终末期肾病透析患者中的早期诊断价值. 中华肺部疾病杂志(电子版) 2013; 6: 71-74
- 5 London R, Solis A, Goldberg GA, Wade S, Ryu S. Health care resource utilization and the impact of anemia management in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2002; 40: 539-548 [PMID: 12200806 DOI: 10.1053/ajkd.2002.34912]
- 6 彭保康. 血液透析与腹膜透析治疗糖尿病肾病的疗效比较分析. 当代医学 2011; 17: 30
- 7 李强, 杨思尧. 终末期肾病腹膜透析患者生活质量的临床分析. 中国医药指南 2012; 10: 152-153
- 8 徐婷, 张燕松, 秦东春. 肾移植术后受者PBMC中TNF- $\alpha$  mRNA的表达. 中华检验医学杂志 2011; 34: 372-373
- 9 刘日光, 李剑义, 秦曙光. 腹膜透析治疗尿毒症合并肝硬化大量腹水的探讨. 广州医药 2008; 39: 26-28
- 10 孜比布拉·买买提. 不同透析方式治疗糖尿病肾病尿毒症临床分析. 中国当代医药 2012; 19: 33
- 11 Just PM, Riella MC, Tschosik EA, Noe LL, Bhattacharyya SK, de Charro F. Economic evaluations of dialysis treatment modalities. *Health Policy* 2008; 86: 163-180 [PMID: 18243397 DOI: 10.1016/j.healthpol.2007.12.004]
- 12 余学清, 钱家麒. 糖尿病终末期肾病血液透析和腹膜透析治疗. 中国处方药 2009; 4: 60-61
- 13 Yu XQ, Wei JL. Kidney disease in China: recent progress and prospects. *Chin Med J (Engl)* 2009; 122: 2048-2053 [PMID: 19781394 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0366-6999.2009.17.016]
- 14 李波. 血液透析联合腹膜透析治疗慢性肾功能衰竭84例. 陕西医学杂志 2013; 42: 727-729
- 15 马方兰. 血液透析联合腹膜透析治疗慢性肾功能衰竭的临床效果研究. 临床合理用药 2012; 5: 98-99

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

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

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



# 鳞状细胞癌抗原SCCA1在肝细胞癌中的表达及意义

李石磊, 高英堂, 单士岗, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 王毅军

李石磊, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300170  
高英堂, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 天津市第三中心医院 天津市肝胆疾病研究所 天津市人工细胞重点实验室 天津市 300170  
单士岗, 王毅军, 天津市第三中心医院肝胆外科 天津市 300170  
李石磊, 硕士, 主要从事肝胆疾病的研究  
天津市卫生局攻关基金资助项目, No. 11KG112  
作者贡献分布: 本研究的设计由王毅军、高英堂、杜智及李石磊完成; 样本的收集、数据统计由李石磊、梁增辉、翟道宽、景丽及刘彤完成; 实验操作及文章的撰写由李石磊完成; 文章的修改由高英堂与王毅军完成。  
通讯作者: 王毅军, 教授, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院肝胆外科。wangyj@medmail.com.cn  
电话: 022-84112148 传真: 022-24315132  
收稿日期: 2013-10-10 修回日期: 2013-12-23  
接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

## Expression of SCCA1 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance

Shi-Lei Li, Ying-Tang Gao, Shi-Gang Shan,  
Zeng-Hui Liang, Dao-Kuan Zhai, Li Jing, Tong Liu,  
Zhi Du, Yi-Jun Wang

Shi-Lei Li, Third Central Clinical College of Tianjin Medical University, Tianjin 300170, China  
Ying-Tang Gao, Zeng-Hui Liang, Dao-Kuan Zhai, Zhi Du, Key Laboratory of Artificial Cell, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China  
Shi-Gang Shan, Yi-Jun Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China  
Supported by: the Key Research Project of Tianjin Health Bureau, No. 11KG112  
Correspondence to: Yi-Jun Wang, Professor, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. wangyj@medmail.com.cn  
Received: 2013-10-10 Revised: 2013-12-23  
Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To determine the expression of squamous cell carcinoma antigen 1 (SCCA1) in hepatocellular carcinoma (HCC) and to evaluate its clinical significance.

**METHODS:** The expression of SCCA1 was assessed in specimens of HCC, adjacent non-cancerous tissues, liver cirrhosis and normal liver tissue by immunohistochemistry, Western blot and qRT-PCR. The relationship between the

expression of SCCA1 and the clinicopathological features of HCC was analyzed.

**RESULTS:** Immunohistochemistry showed that SCCA1 was undetectable in 62 HCCs, 43 adjacent non-cancerous tissues, 10 cirrhosis liver tissues and 5 normal liver tissues. Western blot analysis demonstrated that 5 out of 6 detected HCC tissues had higher SCCA1 expression than paired adjacent non-cancerous tissues, and that the remaining HCC tissue showed similar expression pattern to adjacent non-cancerous tissues. One out of 3 liver cirrhosis tissues was SCCA1 positive, while SCCA1 expression was not detected in normal liver tissues (0/3). Using qRT-PCR, the expression of SCCA1 was found in 29.5% of the HCC tissues (18/61), but SCCA1 expression was not detected in paired adjacent non-cancerous, liver cirrhosis and normal liver tissues (0/61, 0/16, and 0/6, respectively). There were significant differences in the positive rate of SCCA1 between HCC and paired adjacent non-cancerous, liver cirrhosis tissues ( $P = 0.000, 0.013$ ). Amplification plot and melt curve plot showed that the CT and Tm values were  $8.90 \pm 1.40$  and  $87.9^\circ\text{C}$  for G3PDH and  $34.37 \pm 1.74$  and  $88^\circ\text{C}$  for SCCA1.

**CONCLUSION:** SCCA1 is weakly expressed in HCC and difficult to detect by immunohistochemistry. SCCA1 mRNA expression is specific in HCC, although its sensitivity is limited.

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

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Squamous cell carcinoma antigen; Tumor marker

Li SL, Gao YT, Shan SG, Liang ZH, Zhai DK, Jing L, Liu T, Du Z, Wang YJ. Expression of SCCA1 in human hepatocellular carcinoma and its clinical significance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1015-1021 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1015.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1015>

## 摘要

**目的:** 探讨鳞状细胞癌抗原SCCA1在原发性

## ■背景资料

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)为临床常见的恶性肿瘤, 进展快, 预后差。早诊断早治疗是改善患者预后的关键。AFP是当前应用最广泛的肝癌血清标志物, 但其应用一直受到争议, 因此, 发现新的肝癌诊断标志物一直是研究的热点。

## ■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

## ■研究前沿

近年研究表明,原发性肝细胞癌中鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)表达升高,并且其表达与肿瘤有一定的临床相关性。然而国内尚无此方面报道。

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中的表达情况及其临床意义。

**方法:** 采用免疫组织化学、Western blot、qRT-PCR检测SCCA1在肝细胞癌、癌旁非肿瘤组织、肝硬化及正常肝组织中的表达,并分析SCCA1 mRNA与肝癌患者临床病理特征的相关性。

**结果:** 免疫组织化学显示62例HCC、43例癌旁肝组织、10例肝硬化、5例正常肝脏中均未发现SCCA1的表达; Western blot显示所检测的6例肝细胞癌均有SCCA1表达,其中5例高表达于癌旁,1例表达与癌旁相当,3例肝硬化中1例阳性,3例正常肝脏中均不表达; qRT-PCR分析显示SCCA1 mRNA在HCC组阳性率为29.5%(18/61),癌旁组、肝硬化组、正常组均未发现阳性表达(0/61、0/16、0/6)。其中肝癌组与癌旁及肝硬化组差异有统计学意义( $P = 0.000$ 、 $0.013$ )。分析扩增曲线和溶解曲线,内参基因G3PDH的CT值为 $18.90 \pm 1.40$ ,其单一峰Tm值 $87.9^\circ\text{C}$ ; 目的基因SCCA1的CT值为 $34.37 \pm 1.74$ ,其Tm值为 $88^\circ\text{C}$ 。

**结论:** SCCA1蛋白在HCC中微量表达,免疫组织化学不易检测。SCCA1 mRNA用于HCC诊断特异度高、灵敏度有限。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝癌细胞; 鳞状细胞癌抗原; 肿瘤标志物

**核心提示:** 鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)I蛋白在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中微量表达,免疫组织化学不易检测。SCCA1 mRNA用于肝癌诊断特异度高,但灵敏度有限,因此可与其他肿瘤标志物联合以提高HCC诊断的准确率。

李石磊, 高英堂, 单士岗, 梁增辉, 翟道宽, 景丽, 刘彤, 杜智, 王毅军. 鳞状细胞癌抗原SCCA1在肝细胞癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1015-1021 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1015.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1015>

## 0 引言

鳞状细胞癌抗原(squamous cell carcinoma antigen, SCCA)是Kato等最先在宫颈癌中分离出来的、分子量为45 kDa的糖蛋白,属于丝氨酸蛋白酶抑制物超家族成员<sup>[1]</sup>,其基因位于染色体18q21.3,由紧密相连的*scca1*和*scca2*基因组

成,分别编码中性SCCA1和酸性SCCA2糖蛋白<sup>[2,3]</sup>。两蛋白氨基酸序列92%一致,但功能有较大差异。SCCA1又被称为SerpinB3,主要抑制木瓜蛋白酶样半胱氨酸蛋白激酶如组织蛋白酶S、K、L等<sup>[4]</sup>,体外实验表明其有促进细胞增殖、抑制细胞凋亡和通过诱导上皮间质转化促进肿瘤细胞侵袭转移的作用<sup>[5-7]</sup>。SCCA2又被称为SerpinB4,是糜蛋白酶样蛋白激酶抑制物,可通过影响p38 MAPK通路抑制肿瘤细胞凋亡<sup>[8]</sup>。

近年来的研究显示,SCCA高表达于多种上皮起源的肿瘤,如头颈部肿瘤<sup>[9]</sup>、食管癌<sup>[10]</sup>、肺癌<sup>[11]</sup>、乳腺癌<sup>[12]</sup>,与肿瘤的发生密切相关。目前其在肝细胞癌中的研究尚少, Pontisso等<sup>[13]</sup>最早报道了SCCA在HCC中有表达,其免疫组织化学结果显示SCCA(包括SCCA1、SCCA2)在85%(55/65)的肿瘤组织标本中有表达,但在20例正常肝脏组织中不表达。Beneduce、Giannelli、Guido等<sup>[14-16]</sup>用免疫组织化学得到了类似的结果。血清中SCCA的表达目前仍存在争议, Hussein等<sup>[17]</sup>发现血清SCCA在HCC组中高于其他肝病组,并且在AFP阴性的HCC患者中也可持续性增高,认为其可用于HCC诊断,而Soyemi、Beale等<sup>[18,19]</sup>发现血清SCCA在HCC和正常对照组之间表达无差别。鉴于以往研究方法未明确区分SCCA1和SCCA2两个亚型,更难以准确分析哪个亚型在HCC发生演化中的作用,因此,本实验采用免疫组织化学、Western blot及qRT-PCR的方法对SCCA1这一亚型在原发性肝癌中的表达情况进行探讨。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2007-07/2011-10天津市第三中心医院肝胆外科的129例组织标本,包括62例HCC组织、43例癌旁肝组织(距肿瘤边缘2 cm)、10例肝硬化、6例胰腺癌、3例胆管细胞癌、5例正常肝组织。62例肝细胞癌中,男51例,女11例,年龄( $55.9 \pm 10.7$ 岁)。4例阳性对照取自宫颈鳞状细胞癌手术标本。上述标本中6例HCC及相邻的癌旁组织、3例肝硬化、3例正常肝脏组织用Western blot检测蛋白表达。qRT-PCR标本收集自2004-01/2009-12共144例组织标本,包括61例肝细胞癌及配对的癌旁组织、16例肝硬化、6例正常肝组织。患者术前均未行放疗、化疗、生物治疗等抗肿瘤治疗。参照2002年国际抗癌联盟(Union for International Cancer Control,

UICC)第六次修定的HCC的TNM临床分期标准和世界卫生组织(2000)消化系统肿瘤分类进行临床和病理学诊断。取材的癌组织排除液化坏死区,正常肝组织取自没有基础肝病的肝血管瘤患者,所有标本均经病理检查确诊。留取的组织标本分别采用-80℃冻存和4%甲醛固定后石蜡包埋保存。本研究经天津市第三中心医院伦理委员批准并得到患者知情同意。鼠抗人SCCA1单抗(8H11, Santa Cruz)、通用型免疫组织化学试剂盒、DAB显色试剂盒(北京中杉金桥)、Western blot二抗(Abmart)、鼠抗人 $\beta$ -actin单抗(北京中杉金桥)、ECL发光试剂盒(北京艾德莱)、TRIzol(invitrogen)、逆转录试剂盒(Promega)、Real time RT-PCR试剂盒(TaKaRa)、SCCA1引物及内参G3PDH引物由Invitrogen公司设计和合成,SCCA1上游引物:5'-ATTCCTGAAGGTAATATTGGCAGCA-3',下游引物:5'-GTTGAAGTAGGTGATGATCCGAATC-3';G3PDH上游引物:5'-GGGCATCCTGGGCTACACTGA-3',下游引物:5'-CAAATTCGTTGT-CATACCAGGAAATG-3',扩增片段大小分别为590、143 bp。

## 1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学:采用免疫组织化学PV二步染色法。组织标本经4%甲醛溶液固定后石蜡包埋,切片厚约3  $\mu$ m;经64.5℃温箱烤片后,二甲苯酒乙醇度脱蜡水化,高温高压修复抗原,3%去离子H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>封闭内源性过氧化物酶,滴加1:100稀释的鼠抗人单克隆SCCA1抗体,4℃冰箱过夜;滴加二抗,光学显微镜下DAB显色,自来水终止,苏木素复染,脱水透明、封片。实验中以宫颈鳞状细胞癌标本做阳性对照,PBS代替SCCA1抗体作为阴性对照。细胞质中出现棕黄色颗粒为阳性表达。随机选取10个高倍镜(400 $\times$ )视野,阳性细胞<25%为阴性,25%-75%为微弱阳性,75%以上为强阳性。

1.2.2 Western blot:提取组织总蛋白,Bradford比色法测定蛋白浓度,取40  $\mu$ g变性蛋白质加入十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶(SDS-PAGE)80 V进行电泳,30 min后指示剂进入分离胶,电压调制120 V继续电泳1 h。电转膜仪转移到PVDF膜上,5%脱脂奶粉封闭2 h后滴加1:200稀释的鼠抗人SCCA1单克隆抗体,4℃过夜孵育,TTBS洗涤后加入羊抗小鼠二抗,室温孵育1 h,洗涤后采用ECL化学发光显色试剂盒反应,在暗室中压片,然后显影、定影。扫描仪扫描显色带。

1.2.3 qRT-PCR: TRIzol法提取组织总RNA,逆转录参照Promega公司的ImProm-II™使用说明书,反应体系为3  $\mu$ g RNA、3  $\mu$ L随机引物,补DEPC水至24  $\mu$ L;70℃热变性10 min,迅速冰浴3 min;再依次加入4.8  $\mu$ L 25 mmol/L MgCl<sub>2</sub>、8  $\mu$ L 5 $\times$ 逆转录缓冲液、2  $\mu$ L 10 mmol/L dNTP Mix、1.5  $\mu$ L逆转录酶,至终体积为40  $\mu$ L;后置PCR仪中37℃,99 min。荧光定量PCR反应在ViiATM7 384孔板上进行,扩增体系为15  $\mu$ L,包含RT产物1.5  $\mu$ L、上下游引物各0.35  $\mu$ L (10 mmol/L)、Taq E (5 U/ $\mu$ L)0.125  $\mu$ L、dNTP Mixture 0.96  $\mu$ L、PCR Buffer 10 $\times$ (内含Mg<sup>2+</sup>)1.5  $\mu$ L,灭菌蒸馏水补足至15  $\mu$ L,反应条件为:94℃ 5 min预变性;94℃ 30 s、62℃ 1 min,共45个循环。反应结束后生成溶解曲线,记录每个标本的CT值。随机选取5例溶解曲线有特异峰的标本由上海Invitrogen公司对PCR产物测序,测序结果与GenBank中报道序列进行比对以确定引物对SCCA1的特异性扩增。

1.2.4 随访:最后随访时间2012-07-01,中位随访时间为27.3 mo,术后每隔3 mo复查血清甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)、肝功能、CT以及腹部超声1次,观察患者有无转移和恢复情况。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行数据处理,率的比较采用 $\chi^2$ 检验或Fisher's确切概率法,生存分析采用Kaplan-Meier、Log-rank检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 免疫组织化学分析 4例宫颈鳞状细胞癌阳性对照结果显示SCCA1阳性染色为棕褐色,主要定位于细胞浆,而本实验在62例肝细胞HCC、6例胰腺癌、3例胆管细胞癌、43例癌旁、10例肝硬化及5例正常肝脏中均未发现SCCA1阳性表达(图1)。

2.2 Western blot检测 鉴于免疫组织化学检测结果阴性,进一步采用Western blot的方法检测部分标本中SCCA1蛋白的表达。在6例HCC中5例癌表达高于癌旁,1例癌与癌旁组织表达量相当;3例肝硬化中1例表达;3例正常肝脏均不表达(图2)。

2.3 qRT-PCR检测 为验证上述蛋白水平的表达,从转录层次分析SCCA1 mRNA的表达。首先对内参基因G3PDH的扩增曲线和溶解曲线综合分析显示,所有标本均能够特异性扩增,其CT值为18.90 $\pm$ 1.40,特异峰T<sub>m</sub>值为87.9℃(图3C, D),说明总RNA的提取、逆转录和PCR过程均良好,

### ■ 相关报道

Pontisso等研究发现SCCA在85%(55/65)的HCC组织中表达,而20例正常肝脏中无表达, Beneduce、Giannelli、Guido等用免疫组织化学得到类似结果。



# ■创新盘点

SCCA有两个亚型SCCA1、SCCA2, 两者的生物学功能有明显差异. 以往研究方法未明确区分SCCA1和SCCA2, 更难以准确分析哪个亚型在HCC发生演化中的作用. 本实验主要从基因和蛋白层次对SCCA1这一亚型在原发性肝癌中的表达情况进行探讨.

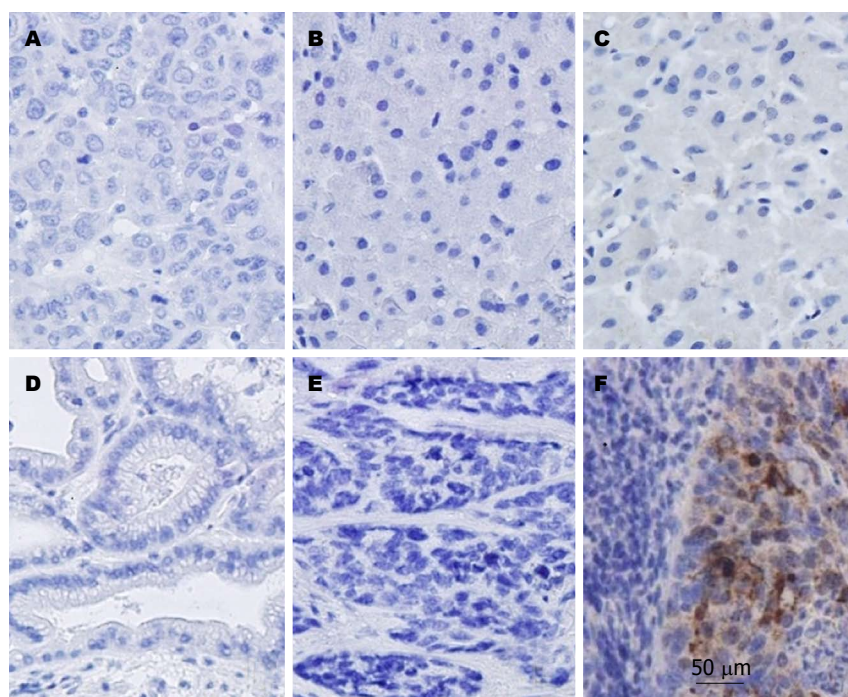


图1 SCCA1在不同组织中的表达(免疫组织化学×200). A: SCCA1在肝细胞癌中不表达; B: SCCA1在癌旁组织中不表达; C: SCCA1在正常肝脏中不表达; D: SCCA1在胰腺癌中不表达; E: SCCA1在胆管细胞癌中不表达; F: SCCA1在宫颈癌癌巢中表达明显. SCCA1: 鳞状细胞癌抗原1.

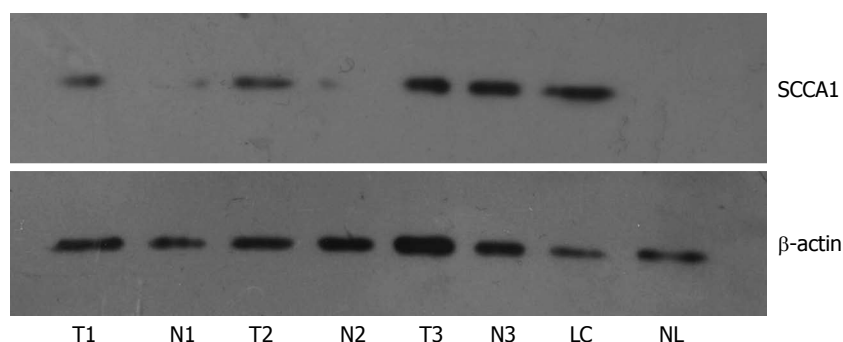


图2 SCCA1在肝细胞癌、癌旁、肝硬化及正常肝脏中的表达. T: 肝细胞癌; N: 癌旁; LC: 正常肝脏. SCCA1: 鳞状细胞癌抗原1.

可用于对目的基因的扩增分析; 然后对SCCA1的扩增和溶解曲线分析发现, 18例HCC标本特异性扩增, 其CT值为 $34.37 \pm 1.74$ , 特异单峰的Tm值是 $88^{\circ}\text{C}$ (图3A, B). 61例癌旁组织、16例肝硬化及6例正常肝组织均无扩增, 从上述阳性标本中随机挑选5例测序, 与Genbank中报道的SCCA1序列进行比对, 结果显示序列一致, 说明SCCA1被特异扩增. SCCA1 mRNA在HCC组阳性率为29.5% (18/61), 与癌旁及肝硬化组差异有统计学意义( $P = 0.000$ 、 $0.013$ ). 正常肝组织例数偏少, 未进行统计学比较.

2.4 SCCA1 mRNA表达与HCC临床病理特征之间的关系 SCCA1 mRNA与HCC临床病理特征的

相关性分析结果见表1, SCCA1的表达与性别、年龄、HBV感染、HCV感染、肝硬化、Child分级、血清AFP水平、 $\gamma\text{GT- II}$ 、肿瘤大小、肿瘤数目、病理分级、TNM分期、门静脉侵犯等均无显著相关性( $P > 0.05$ ).

2.5 SCCA1 mRNA表达与HCC患者预后的关系 本组61例, 57例获得随访, 其中24例至2012-07仍存活(截尾资料), 33例在随访期内死亡(完整资料), 平均随访时间为25.2 mo(9 d-72 mo). SCCA1阳性组术后中位生存期为18 mo, SCCA1阴性组术后中位生存期为31 mo. SCCA1阳性组的术后中位生存时间短于阴性组, 但是Log-rank检验显示生存率差异不显著( $P = 0.380$ , 图4).

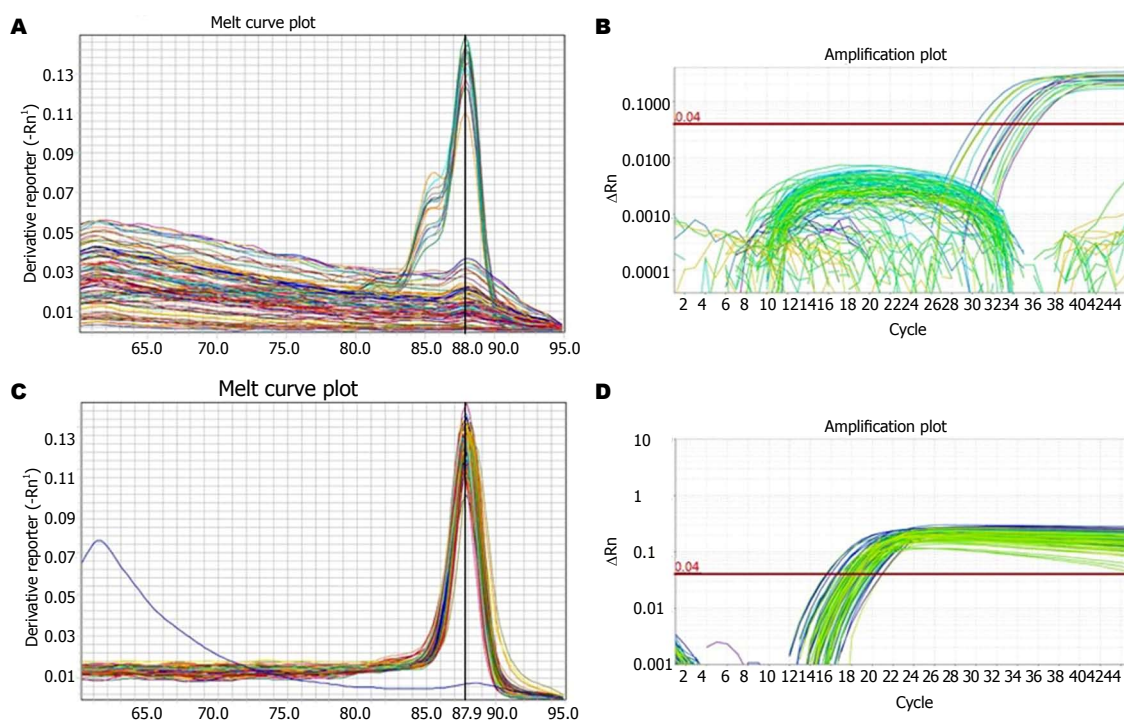


图 3 SCCA1 mRNA在不同组织中的表达(qRT-PCR)。A: SCCA1的溶解曲线( $T_m = 88.0\text{ }^{\circ}\text{C}$ )；B: SCCA1的扩增曲线；C: 内参G3PDH的溶解曲线( $T_m = 87.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ )；D: 内参G3PDH的扩增曲线。

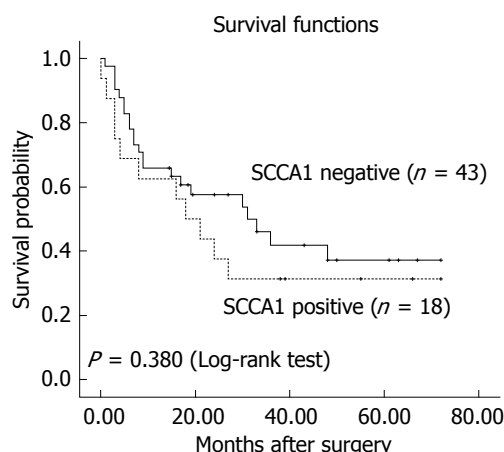


图 4 HCC中SCCA1 mRNA阴阳组患者累计生存率的比较。

### 3 讨论

SCCA是一种丝氨酸蛋白酶抑制剂, 因其首次在宫颈癌鳞状上皮中分离而被命名鳞状细胞癌抗原。以往认为SCCA只表达于宫颈癌、食管癌等上皮起源的肿瘤, Pontisso最早报道了SCCA在85%的HCC中有表达, 而正常肝脏中不表达, Beneduce等<sup>[14]</sup>又指出SCCA在肝硬化及肝炎组织中也有表达, 但其各组表达量均小于HCC组。另有学者对血清SCCA在肝癌诊断中的应用价值进行了研究, 但结果存在较大争议<sup>[17-19]</sup>。鉴于以往研究未考虑SCCA1和SCCA2两者在HCC中的表达差异, 本实验针对SCCA1这一亚型在原

发性肝癌中的表达情况从蛋白和mRNA层次分别进行了探讨。

免疫组织化学结果显示SCCA1在宫颈癌阳性对照中高表达, 而在HCC、癌旁、肝硬化及正常肝脏中均未发现阳性表达, 随后Western blot检测部分免疫组织化学阴性的标本发现癌、癌旁肝硬化中有表达, 正常肝脏中仍不表达。免疫组织化学与前人及Western blot的结果不一致, 此结果可能有以下两种原因: (1)抗体不同: 本研究用的是Santa Cruz公司的针对SCCA1的单克隆抗体(8H11), 特异性较高, 目前仅有的4篇研究SCCA在肝癌组织中表达的报道<sup>[13-16]</sup>均使用Xeptagen公司抗体(Hepa-Ab Kit), 该抗体不能区分SCCA1、SCCA2, 因此抗体特异性的差异可能是这种结果不一致的重要原因; (2)SCCA1微量表达: qRT-PCR结果显示HCC中SCCA1 mRNA阳性组的CT值为34.37, 而内参CT值为18.90, 说明SCCA1 mRNA在HCC组织中含量极低, 转录水平低下可能造成翻译蛋白的低表达, 加之免疫组织化学仅是对单层细胞内蛋白的检测, 微量的表达超过试剂盒的检测下限可造成结果阴性, 而Western blot上样蛋白量为40  $\mu\text{g}$ 加之ECL发光剂可使灵敏度提高1000-10000倍以至能检测到pmol甚至fmol级的HRP, Western blot的这种放大作用可以使微量SCCA1得以检测,

### 应用要点

分子靶向治疗是目前肿瘤治疗的研究热点。SCCA1 mRNA在部分肝细胞癌中特异表达, 研究其表达升高的原因及机制可为肝细胞癌的分子靶向治疗提供新的思路。

## ■同行评价

本文对了解SCCA1在肝细胞癌的表达情况及其临床病理意义有一定的参考意义。

表 1 肝癌组织中SCCA1 mRNA的表达与临床病理特征的关系

临床病理因素	n	SCCA1		$\chi^2$	P值
		阳性	阴性		
性别				1.132	0.287
男	52	14	38		
女	9	4	5		
年龄(岁)				0.229	0.632
≤55	30	8	22		
>55	31	10	21		
HBV				0.008	0.930
+	47	14	33		
-	14	4	10		
HCV				1.000	
+	3	1	2		
-	58	17	41		
肝硬化				0.411	
有	54	15	39		
无	7	3	4		
Child-Pugh分级				0.001	0.970
A	51	15	36		
B	10	3	7		
AFP(ng/mL)				0.002	0.962
≤400	37	11	26		
>400	24	7	17		
γGT-II				0.766	0.381
+	32	11	21		
-	29	7	22		
肿瘤大小(cm)				0.949	0.622
≤5	19	4	15		
5-10	24	8	16		
≥10	18	6	12		
肿瘤数目				0.761	0.383
1	39	13	26		
≥2	22	5	17		
分化程度				2.68	0.262
高	15	2	13		
中	24	9	15		
低	22	7	15		
TNM分期				0.208	0.649
I-II	38	12	26		
III-IV	23	6	17		
血管侵犯				2.497	0.114
有	42	15	27		
无	19	3	16		

HBV: 乙型肝炎病毒; HCV: 丙型肝炎病毒; AFP: 甲胎蛋白; SCCA1: 鳞状细胞癌抗原1。

所以组织中SCCA1的微量表达也可造成这种结果不一致。

实时荧光定量PCR有高的灵敏度和特异性,

可定量检测微量的靶分子。本研究发现SCCA1 mRNA在HCC中特异表达, 而癌旁、肝硬化及正常肝中均不表达。因此SCCA1 mRNA用于肝癌诊断特异度高, 但由于灵敏度有限(29.5%), 故可与其他肿瘤标记物联合用以提高HCC诊断的准确率。Turato等<sup>[20]</sup>在对肝母细胞瘤的研究中发现, SCCA1高表达于未成熟组织可调节未成熟肝组织的生长, 促进肝母细胞瘤的形成。Catanzaro等<sup>[12]</sup>也发现SCCA1在低分化的乳腺癌中高表达。又有研究表明SCCA1可以通过诱导上皮间质转化增加肿瘤的侵袭性促进肿瘤的复发和转移, 因此低分化肿瘤中SCCA1的高表达可能是其易复发、预后差的原因之一。本研究显示低分化HCC中SCCA1的表达率高于高分化HCC(31.8% vs 13.3%), 但可能受限于样本例数少, 两者差异无统计学意义。

总之, 本研究结果提示, SCCA1蛋白在HCC中微量表达, 免疫组织化学不易检测。SCCA1 mRNA用于肝癌诊断特异度高, 但灵敏度有限, 因此可与其他肿瘤标志物联合以提高HCC诊断的准确率。目前SCCA1在部分肝癌患者中表达升高的原因及机制、其表达是否可促进肝癌的发生与发展、阻断其表达是否可治疗HCC等均需深入研究。

## 4 参考文献

- 1 Kato H. Expression and function of squamous cell carcinoma antigen. *Anticancer Res* 1996; 16: 2149-2153 [PMID: 8694535]
- 2 Schneider SS, Schick C, Fish KE, Miller E, Pena JC, Treter SD, Hui SM, Silverman GA. A serine proteinase inhibitor locus at 18q21.3 contains a tandem duplication of the human squamous cell carcinoma antigen gene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1995; 92: 3147-3151 [PMID: 7724531 DOI: 10.1073/pnas.92.8.3147]
- 3 Yasumatsu R, Nakashima T, Azuma K, Hirakawa N, Kuratomi Y, Tomita K, Cataltepe S, Silverman GA, Clayman GL, Komiyama S. SCCA1 expression in T-lymphocytes peripheral to cancer cells is associated with the elevation of serum SCC antigen in squamous cell carcinoma of the tongue. *Cancer Lett* 2001; 167: 205-213 [PMID: 11369142 DOI: 10.1016/S0304-3835(01)00445-1]
- 4 Schick C, Pemberton PA, Shi GP, Kamachi Y, Cataltepe S, Bartuski AJ, Gornstein ER, Brömme D, Chapman HA, Silverman GA. Cross-class inhibition of the cysteine proteinases cathepsins K, L, and S by the serpin squamous cell carcinoma antigen 1: a kinetic analysis. *Biochemistry* 1998; 37: 5258-5266 [PMID: 9548757 DOI: 10.1021/bi972521d]
- 5 Villano G, Quarta S, Ruvoletto MG, Turato C, Vidalino L, Biasiolo A, Tono N, Lunardi F, Calabrese F, Dall'olmo L, Dedja A, Fassina G, Gatta A, Pontisso P. Role of squamous cell carcinoma antigen-1 on liver



- cells after partial hepatectomy in transgenic mice. *Int J Mol Med* 2010; 25: 137-143 [PMID: 19956912]
- 6 Vidalino L, Doria A, Quarta S, Zen M, Gatta A, Pontisso P. SERPINB3, apoptosis and autoimmunity. *Autoimmun Rev* 2009; 9: 108-112 [PMID: 19332150 DOI: 10.1016/j.autrev.2009.03.011]
- 7 Quarta S, Vidalino L, Turato C, Ruvoletto M, Calabrese F, Valente M, Cannito S, Fassina G, Parola M, Gatta A, Pontisso P. SERPINB3 induces epithelial-mesenchymal transition. *J Pathol* 2010; 221: 343-356 [PMID: 20527027 DOI: 10.1002/path.2708]
- 8 Schick C, Kamachi Y, Bartuski AJ, Cataltepe S, Schechter NM, Pemberton PA, Silverman GA. Squamous cell carcinoma antigen 2 is a novel serpin that inhibits the chymotrypsin-like proteinases cathepsin G and mast cell chymase. *J Biol Chem* 1997; 272: 1849-1855 [PMID: 8999871 DOI: 10.1074/jbc.272.3.1849]
- 9 Kimura Y, Fujieda S, Takabayashi T, Tanaka T, Sugimoto C, Saito H. Conventional tumor markers are prognostic indicators in patients with head and neck squamous cell carcinoma. *Cancer Lett* 2000; 155: 163-168 [PMID: 10822131 DOI: 10.1016/S0304-3835(00)00423-7]
- 10 Shimada H, Nabeya Y, Okazumi S, Matsubara H, Shiratori T, Gunji Y, Kobayashi S, Hayashi H, Ochiai T. Prediction of survival with squamous cell carcinoma antigen in patients with resectable esophageal squamous cell carcinoma. *Surgery* 2003; 133: 486-494 [PMID: 12773976 DOI: 10.1067/msy.2003.139]
- 11 Kashiwabara K, Nakamura H, Yagyu H, Kishi K, Matsuoka T, Esaki T. Changes in squamous cell carcinoma-related antigen levels before and after hemodialysis in relation to the model of dialyzer employed. *Intern Med* 2000; 39: 291-295 [PMID: 10801142 DOI: 10.2169/internalmedicine.39.291]
- 12 Catanzaro JM, Guerriero JL, Liu J, Ullman E, Sheshadri N, Chen JJ, Zong WX. Elevated expression of squamous cell carcinoma antigen (SCCA) is associated with human breast carcinoma. *PLoS One* 2011; 6: e19096 [PMID: 21526154 DOI: 10.1371/journal.pone.0019096]
- 13 Pontisso P, Calabrese F, Benvegnù L, Lise M, Bel-luco C, Ruvoletto MG, Marino M, Valente M, Nitti D, Gatta A, Fassina G. Overexpression of squamous cell carcinoma antigen variants in hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2004; 90: 833-837 [PMID: 14970861 DOI: 10.1038/sj.bjc.6601543]
- 14 Beneduce L, Castaldi F, Marino M, Quarta S, Ruvoletto M, Benvegnù L, Calabrese F, Gatta A, Pontisso P, Fassina G. Squamous cell carcinoma antigen-immunoglobulin M complexes as novel biomarkers for hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 2558-2565 [PMID: 15887222 DOI: 10.1002/cncr.21106]
- 15 Giannelli G, Marinosci F, Sgarra C, Lupo L, Dentico P, Antonaci S. Clinical role of tissue and serum levels of SCCA antigen in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2005; 116: 579-583 [PMID: 15825162 DOI: 10.1002/ijc.20847]
- 16 Guido M, Roskams T, Pontisso P, Fassan M, Thung SN, Giacomelli L, Sergio A, Farinati F, Cillo U, Ruge M. Squamous cell carcinoma antigen in human liver carcinogenesis. *J Clin Pathol* 2008; 61: 445-447 [PMID: 17893121 DOI: 10.1136/jcp.2007.051383]
- 17 Hussein MM, Ibrahim AA, Abdella HM, Montasser IF, Hassan MI. Evaluation of serum squamous cell carcinoma antigen as a novel biomarker for diagnosis of hepatocellular carcinoma in Egyptian patients. *Indian J Cancer* 2008; 45: 167-172 [PMID: 19112206 DOI: 10.4103/0019-509X.44666]
- 18 Soyemi OM, Otegbayo JA, Ola SO, Akere A, Soyemi T. Comparative diagnostic efficacy of serum squamous cell carcinoma antigen in hepatocellular carcinoma. *BMC Res Notes* 2012; 5: 403 [PMID: 22856336 DOI: 10.1186/1756-0500-5-403]
- 19 Beale G, Chattopadhyay D, Gray J, Stewart S, Hudson M, Day C, Trerotoli P, Giannelli G, Manas D, Reeves H. AFP, PIVKAI, GP3, SCCA-1 and follisatin as surveillance biomarkers for hepatocellular cancer in non-alcoholic and alcoholic fatty liver disease. *BMC Cancer* 2008; 8: 200 [PMID: 18638391 DOI: 10.1186/1471-2407-8-200]
- 20 Turato C, Buendia MA, Fabre M, Redon MJ, Branchereau S, Quarta S, Ruvoletto M, Perilongo G, Grotzer MA, Gatta A, Pontisso P. Over-expression of SERPINB3 in hepatoblastoma: a possible insight into the genesis of this tumour? *Eur J Cancer* 2012; 48: 1219-1226 [PMID: 21737255 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.06.004]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 难治性肠易激综合征-腹泻型的相关危险因素

洪霞, 古赛

### ■背景资料

肠易激综合征(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)是常见的功能性肠病,其中以肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)最为常见,无特异的体格检查及生化指标,部分患者常规治疗3 mo效果差,多同时伴有心理精神障碍,形成了难治性IBS,大大地降低了患者的生活质量,故寻找其危险因素,为早期防治难治性IBS寻找理论依据至关重要。

洪霞, 古赛, 重庆医科大学附属第一医院消化内科 重庆市400016

洪霞,在读硕士,主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由洪霞与古赛设计; 洪霞与古赛收集病例; 数据分析由洪霞完成; 本论文写作由洪霞与古赛完成; 古赛审校。

通讯作者: 古赛,副教授,主任医师,400016,重庆市渝中区袁家岗友谊路1号,重庆医科大学附属第一医院消化内科。

1601792466@qq.com

电话: 023-89011836

收稿日期: 2013-11-18 修回日期: 2014-01-13

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

### Risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea

Xia Hong, Sai Gu

Xia Hong, Sai Gu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China

Correspondence to: Sai Gu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, 1 Youyi Road, Yuzhong District, Chongqing 400016, China. 1601792466@qq.com

Received: 2013-11-18 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

### Abstract

**AIM:** To investigate the risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea (IBS-D) to provide evidence for early prevention and treatment of IBS-D.

**METHODS:** One hundred and twenty-one outpatients with IBS-D were divided into a refractory group ( $n = 56$ ) and a non-refractory group ( $n = 65$ ). The clinical data in both groups, including sex, age, body mass index (BMI), family history, smoking status, alcohol consumption, clinical symptoms, and anxiety and depression status were assessed statistically by univariate logistic regression analysis and receiver operating characteristic (ROC) curve analysis, with an attempt to find the predictors of refractory IBS-D.

**RESULTS:** There were no statistically significant differences in sex, age, BMI, family history, smoking status or alcohol consumption between

the two groups. The univariate logistic regression analysis showed that clinical symptoms (OR = 1.010, 95%CI: 1.005-1.015), anxiety (OR = 2.810, 95%CI: 1.888-4.180) and depression (OR = 1.637, 95%CI: 1.338-2.004) status were risk factors. Their areas under the ROC curve (AUC) were 0.757, 0.919 and 0.796, respectively, and the cut-off values were 183, 9 and 6 points, respectively.

**CONCLUSION:** IBS is significantly associated with clinical symptoms, anxiety and depression status, which may be used as predictors of IBS-D.

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

**Key Words:** Irritable bowel syndrome; Refractory irritable bowel syndrome; Refractory irritable bowel syndrome-diarrhea; Non-refractory irritable bowel syndrome-diarrhea; Related factor.

Hong X, Gu S. Risk factors for refractory irritable bowel syndrome-diarrhea. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1022-1026 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1022.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1022>

### 摘要

**目的:** 探讨难治性肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)的相关危险因素,为早期防治难治性IBS-D提供理论依据。

**方法:** 将IBS-D门诊患者121例分为两组,难治性IBS-D56例和非难治性IBS-D65例,对比分析两组患者的性别、年龄、体质量指数、家族史、吸烟史、饮酒史、症状积分、焦虑抑郁状况,通过单因素logistic回归分析筛选出与难治性IBS-D的相关危险因素,将这些相关危险因素纳入ROC曲线(receiver operating characteristic curve)分析,以明确能够预测难治性IBS-D的危险因素的临界值。

**结果:** 难治性IBS-D组和非难治性IBS-D组在性别、年龄、体质量指数、家族史、吸烟史

### ■同行评议者

潘秀珍,教授,主任医师,福建省立医院消化科

及饮酒史上比较无统计学意义。单因素logistic回归分析显示症状积分( $OR = 1.010$ , 95%CI: 1.005-1.015)、焦虑积分( $OR = 2.810$ , 95%CI: 1.888-4.180)及抑郁积分( $OR = 1.637$ , 95%CI: 1.338-2.004)为难治性IBS-D的危险因素, ROC曲线分析显示临床症状积分、焦虑积分、抑郁积分的ROC曲线下面积(area under ROC curve, AUC)分别为0.757、0.919、0.796, 其预测难治性IBS-D的临界点分别为183分、9分、6分。故临床症状积分 $>183$ 分、焦虑积分 $>9$ 分、抑郁积分 $>6$ 分对于预测难治性IBS-D具有重要意义。

**结论:** 症状积分、焦虑积分、抑郁积分为难治性IBS-D的危险因素, 可作为预测的重要参考指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肠易激综合征; 难治性肠易激综合征; 难治性肠易激综合征-腹泻型; 非难治性肠易激综合征-腹泻型; 相关因素

**核心提示:** 难治性肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)为常见的功能性胃肠病, 目前缺乏有效治疗方案, 早期预防IBS-D形成难治性IBS-D尤其重要。

洪霞, 古赛. 难治性肠易激综合征-腹泻型的相关危险因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1022-1026 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1022.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1022>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛和/或腹部不适及排便习惯改变为特征的功能性疾病, 无可以解释症状的形态学和生化异常。据报道, 全球IBS总患病率在5%-25%, 亚洲国家在5%-10%<sup>[1]</sup>, 其中肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS-D)是最常见的亚型<sup>[2]</sup>, IBS以其高患病率引起各国医疗机构的高度重视, 也成为研究的热点。部分患者经常规治疗即: 调整生活习惯、饮食习惯、常用药物治疗3 mo疗效不佳、症状反复、频繁就诊, 成为难治性IBS<sup>[3]</sup>, 给患者的生活质量及经济造成严重影响。本文对比分析难治性IBS-D与非难治性IBS-D的性别、年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、家族史、临床症状、焦虑及抑郁状况等诸多因素, 以期发现难治性IBS-D的相关危险因素, 并预测其临界点, 为更好地预判

难治性IBS-D奠定基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-02/2013-06, 重庆医科大学附属第一医院、附属第二医院、重庆市第一人民医院、重庆市第二人民医院门诊的符合罗马III诊断标准IBS-D患者121例, 其中难治性肠易激综合征-腹泻型组56例, 非难治性肠易激综合征-腹泻型组65例。

### 1.2 方法

**1.2.1 诊断及评估标准:** IBS-D诊断标准: 符合罗马III诊断标准<sup>[2-4]</sup>, 即: 在最近的3 mo内每月至少有3 d具有反复发作的腹痛或腹部不适, 并有下列症状中的2个或以上: (1)排便后症状改善; (2)排便频率的改变; (3)粪便性状的改变, 稀便(糊状便)或水样便占大便量 $\geq 25\%$ , 硬便或块状便占大便量 $<25\%$ 。在诊断前6 mo出现症状, 最近3 mo症状发作符合上述表现。经过常规治疗超过3 mo而症状无明显改善, 纳入难治性IBS-D。

临床症状评估标准: 临床症状评分采用IBS症状严重程度量表(IBM symptom severity scale, IBS-SSS)评分系统<sup>[5]</sup>, 包括腹痛程度、腹痛天数、腹胀程度、排便满意度、生活干扰5项。每项积分为0-100分, 各项总积分为500分, 积分 $<75$ 为正常, 75-175为轻度IBS, 176-300为中度IBS, 积分 $>300$ 为重度IBS; 经常规治疗后症状积分下降程度小于50分为症状无明显改善, 下降程度 $\geq 50$ 分为症状明显改善。

焦虑抑郁症状评分: 采用焦虑抑郁量表(hospital anxiety and depression scale, HADS)<sup>[6]</sup>对患者的情绪进行评分, 共14题, 包括焦虑及抑郁2个亚量表各7题。0-7分代表正常; 8-10分表示轻度焦虑或抑郁; 11-14分表示中度焦虑或抑郁; 15-21分表示严重焦虑或抑郁。采用8分作为界限值, 焦虑或抑郁量表得分 $\geq 8$ 即认为患者可能存在抑郁或焦虑状况, 若患者的焦虑、抑郁分量表得分均 $\geq 8$ 分则认为患者同时存在焦虑和抑郁状况, 即患有焦虑抑郁症。

吸烟定义为每天至少吸1支烟, 连续吸烟1年以上。饮酒定义为平均每天饮酒 $>100$  mL, 持续1年以上。戒烟或戒酒不足1年者仍定义为吸烟或饮酒<sup>[7]</sup>。

**1.2.2 纳入标准:** (1)年龄为18-65周岁, 性别不限; (2)符合IBS-D诊断标准且治疗前IBS-SSS量表总积分 $\geq 75$ 分<sup>[5]</sup>; (3)经病史、体格检查、实验室检查(如肝肾功、血常规、癌谱等)、放射学检查

## ■研究前沿

多项研究认为难治性IBS与精神心理障碍有关, 心理因素通过神经系统影响胃肠道功能, 相关研究表明早期予以心理干预、抗焦虑抑郁治疗及认知疗法对治疗IBS有明显效果。



## ■相关报道

段丽萍将精神心理在功能性胃肠病发病中的潜在机制做了一个系统性描述,为难治性功能性疾病(如IBS-D)早期抗焦虑抑郁等治疗提供了理论依据。

表 1 难治性IBS-D组与非难治性IBS-D组的比较结果

相关因素	难治性IBS-D	非难治性IBS-D	统计量	P值
<i>n</i>	56	65		
性别[n(%)]			$\chi^2 = 2.345$	0.126
男	15(26.79)	26(40.00)		
女	41(73.21)	39(60.00)		
家族史[n(%)]			$\chi^2 = 3.053$	0.081
有	17(30.36)	11(17.92)		
无	39(69.64)	54(82.08)		
吸烟史[n(%)]			$\chi^2 = 0.139$	0.709
有	13(23.21)	17(26.15)		
无	43(76.79)	48(73.85)		
饮酒史[n(%)]			$\chi^2 = 0.002$	0.961
有	11(19.64)	13(20.00)		
无	45(80.36)	52(80.00)		
年龄(岁)	35.64 ± 10.44	36.84 ± 10.30	<i>t</i> = 0.422	0.674
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.88 ± 1.99	22.46 ± 2.03	<i>t</i> = -1.587	0.115
症状积分(分)	262.21 ± 88.88	188.65 ± 82.16	<i>t</i> = 4.664	<0.01
焦虑积分(分)	11.52 ± 3.25	6.66 ± 2.09	<i>t</i> = 9.603	<0.01
抑郁积分(分)	8.02 ± 3.01	4.97 ± 2.19	<i>t</i> = 6.284	<0.01

IBS-D: 肠易激综合征-腹泻型; BMI: 体质指数。

(如全消化系吞钡X线检查、腹部CT等)、肠镜检查排除其他器质性疾病; (4)纳入观察前3 mo内未用抗抑郁及抗焦虑药物者; (5)有可靠且明确的诊疗过程记录; (6)自愿签署知情同意书者。

1.2.3 排除标准: (1)年龄为<18周岁或者>65周岁; (2)任何已知的吸收不良; (3)既往有胃肠道手术史(不包括阑尾切除术); (4)有器质性胃肠道疾病, 如: 炎症性肠病、癌症等; (5)有慢性疾病史, 如贫血(血红蛋白<90 g/L)、糖尿病、肺结核或心血管、肝、肾、脑和造血系统等严重疾病及精神病患者, 门冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)>1.5倍、血尿素氮(blood urea nitrogen, BUN)>1.2倍、血肌酐(creatinine, Cr)>1.0倍正常值(排除甲状腺功能亢进的患者); (6)乳糖不耐受、胆结石、子宫内异位等易与IBS症状混淆的疾病; (7)进行性体重下降; (8)在试验中无法停用但又影响胃肠道运动 and 功能的伴随用药, 如抗生素等; (9)在试验中需连续使用1 wk以上但又影响胃肠道运动 and 功能的伴随用药, 如副交感神经抑制剂、肌松剂、止泻剂、阿片制剂等。

1.2.4 对比分析: 纳入观察的IBS-D患者为3类: (1)就诊时已常规治疗超过3 mo而症状无明显改善, 纳入难治性IBS-D; (2)就诊时已开始常规

治疗但疗程<3 mo, 继续给予常规治疗至疗程满3 mo, 症状无明显改善者为难治性IBS-D, 症状明显改善者为非难治性IBS-D; (3)初诊患者, 给予常规治疗3 mo, 症状无明显改善者为难治性IBS-D, 症状明显改善者为非难治性IBS-D。采用问卷形式, 调查患者一般情况: 性别、年龄、身高、体质量、病程、家族史、吸烟史及饮酒史, HADS量表评分, IBS-SSS量表评分, 对比分析两组间资料。

**统计学处理** 采用统计软件SAS17.00, 计量资料以mean±SD表示, 采用*t*检验, 计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 同时两组间指标做单因素logistic回归分析, 并将有统计学意义的因素绘制ROC曲线(receiver operating characteristic curve, ROC), 分析ROC曲线下面积(area under ROC curve, AUC), 判定危险因素预测难治性IBS-D的临界点、灵敏度及特异度。

## 2 结果

2.1 难治性IBS-D组与非难治性IBS-D组的比较结果 两组患者在性别、年龄、身高、体质量、病程、家族史、吸烟史及饮酒史上比较无统计学意义, 在症状积分、焦虑积分及抑郁积分上比较有显著统计学差异( $P<0.01$ )(表1)。

2.2 难治性IBS-D的单因素logistic回归分析结果

表 2 难治性IBS-D单因素logistic分析结果

相关因素	$\beta$	S.E	Wals	P值	OR	95%CI
性别	-0.600	0.394	2.321	0.128	0.549	0.254-1.188
年龄(岁)	0.008	0.018	0.180	0.671	1.008	0.973-1.043
BMI	-0.146	0.093	2.465	0.116	0.861	0.720-1.037
家族史	-0.761	0.440	2.985	0.084	0.467	0.197-1.108
吸烟史	0.158	0.424	0.139	0.709	1.171	0.510-2.690
饮酒史	0.022	0.457	0.002	0.961	1.023	0.417-2.507
症状积分(分)	0.010	0.003	15.894	<0.01	1.010	1.005-1.015
焦虑积分(分)	1.033	0.203	25.975	<0.01	2.810	1.888-4.180
抑郁积分(分)	0.493	0.103	22.850	<0.01	1.637	1.338-2.004

IBS-D: 肠易激综合征-腹泻型; BMI: 体质质量指数.

表 3 危险因素的临界值、敏感度及特异度

相关因素	AUC	临界值(分)	标准误	95%CI	敏感度	特异度
症状积分(分)	0.757	183	0.043	0.672-0.842	0.821	0.615
焦虑积分(分)	0.919	9	0.024	0.873-0.965	0.911	0.769
抑郁积分(分)	0.796	6	0.040	0.718-0.874	0.821	0.631

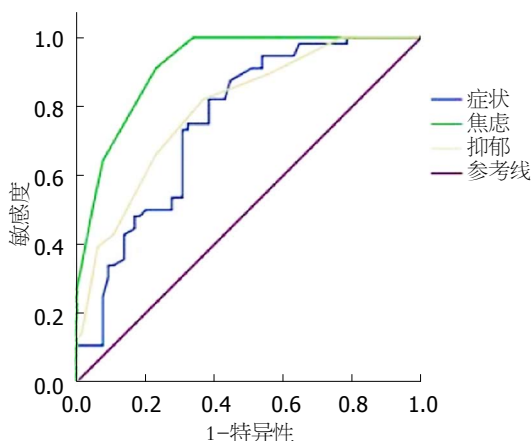


图 1 危险因素ROC曲线.

症状积分、焦虑积分、抑郁积分为难治性IBS-D的危险因素, 其OR值分别为1.010、2.810、1.637(表2).

**2.3 ROC曲线分析结果** 将单因素分析中筛选出的3个危险因素(症状积分、焦虑积分、抑郁积分)绘制ROC曲线, 计算AUC, 预测难治性IBS-D危险因素的临界点、灵敏度及特异度(表3, 图1). 结果显示症状积分、焦虑积分、抑郁积分在预测难治性IBS-D的AUC均>0.7, 其中焦虑积分的AUC>0.9, 有较高的诊断价值.

### 3 讨论

IBS发病率高<sup>[1]</sup>, 随着生活节奏的加快、社会生

活压力的加大, 一些IBS患者往往症状反复, 难以根除, 成为难治性IBS, 他们多辗转于众家医院就诊, 极大程度地降低了其生活质量, 浪费了有限的医疗资源. 本研究从难治性IBS-D相关因素分析着手, 意于寻找其相关危险因素, 为难治性IBS-D的早期干预寻求询证医学的依据.

本研究表明, 难治性IBS-D和非难治性IBS-D患者在性别、年龄、BMI、家族史、吸烟史及饮酒史方面均无统计学差异, 在临床症状、焦虑及抑郁积分方面则有显著差异. ROC曲线分析显示焦虑积分AUC>0.9, 对难治性IBS-D有较高的预判价值.

随着生理-心理-社会疾病模式被大多数人认可, 关于情绪障碍与功能性疾病被越来越多的学者重视. 众多的研究表明精神心理因素与IBS密切相关, 54%-100%的IBS患者存在精神心理异常, 50%的IBS患者有精神创伤史, 36%的IBS患者曾被诊断有创伤后应激综合征(post-traumatic stress disorder, PTSD)<sup>[8]</sup>. 心理因素往往影响着患者对症状的认知, IBS患者对内脏的感知存在着选择性关注倾向, 从而决定了患者频繁就诊的特征<sup>[9]</sup>. 情感中枢也常影响消化系统的动力、分泌及炎症活动情况<sup>[9]</sup>, 且心理因素也通过植物神经系统、脑肠肽及脑肠轴影响着肠道功能, 脑功能显像技术证实了IBS患者脑功能的异常变化<sup>[10,11]</sup>, 从而使IBS患者常出现一些功能

### ■创新盘点

近年来对肠易激综合征(irritable bowel syndrome-diarrhea, IBS)及难治性IBS抗焦虑抑郁治疗的文章日趋增多, 但关于难治性与非难治性IBS相关因素的对比分析较少, 本文将IBS-D及非难治性IBS-D相关因素做详尽对比分析, 旨在寻找导致IBS-D难治的危险因素.

# 同行评价

本研究采用问卷调查方式,目标明确,纳入病例规范,观察指标可靠,结果真实,观点明确,对难治性肠易激综合征-腹泻型(irritable bowel syndrome-diarrhea)的防治有实际指导意义。

性紊乱的症状。IBS患者焦虑及抑郁评分显著高于正常人,使其生活质量明显低下<sup>[12]</sup>。研究表明,适当的心理干预、认知疗法、抗焦虑抑郁治疗能缩短病程,提高生活质量<sup>[13,14]</sup>。本研究也发现焦虑及抑郁情绪是难治性IBS-D的重要危险因素之一,其中以焦虑情绪尤为突出,其预判难治性的敏感性(0.911)及特异性(0.769)均较高,故早期对患者进行心理评估,当焦虑评分>9分即可给予适当的心理干预治疗,加强随访,必要时给予抗焦虑抑郁药物治疗,对缩短病程,改善症状,避免IBS-D发展为难治性尤为重要。本研究表明抑郁评分>6分为预测难治性IBS-D的临界点,但据HADS评估标准抑郁评分≥8分表明伴有抑郁情绪<sup>[6]</sup>,故当HADS抑郁评分为6分时是否需要早期干预尚需要进一步研究。

本研究还表明IBS症状严重程度对预测难治性IBS-D有重要意义,当IBS-SSS评分>183分(中度及以上),应当予以高度重视。IBS患者的症状与焦虑、抑郁情绪之间存在相互影响,即抑郁、焦虑情绪往往能加重患者的症状,而症状的加重又反过来促进情绪的进一步恶化,二者之间相互作用、互为因果,形成恶性循环<sup>[15]</sup>,且IBS患者易有神经过敏,即相同的刺激可引起敏感者体神经和内脏神经的超强反射<sup>[16]</sup>。本研究也证实临床症状的严重程度亦是难治性IBS-D的危险因素之一,IBS-SSS评分>183分更容易成为难治性IBS-D。

总之,影响IBS-D疗效而最终成为难治性IBS-D的因素众多,本研究表明了难治性IBS-D与临床症状、焦虑及抑郁因素密切相关,临床症状越重、焦虑及抑郁程度越重者更易成为难治性IBS-D,临床症状及情绪障碍两者之间相互影响,互为因果,共同作用于难治性IBS-D患者,其中以焦虑情绪影响最为显著。故早期对难治性IBS-D的临床症状、心理状态评估,密切随访患者病情变化及早期干预焦虑抑郁情绪,对防止IBS-D的进展有一定指导价值。

# 参考文献

- 何宛蓉, 张法灿, 梁列新. 肠易激综合征流行病学研究现状与进展. 胃肠病学和肝病学杂志 2012; 21: 83-88
- 姚欣, 杨云生, 赵卡冰, 孙刚, 刘英圣, 王巍峰. 罗马Ⅲ标准研究肠易激综合征临床特点及亚型. 世界华人消化杂志 2008; 16: 563-566
- 王伟岸, 钱家鸣, 潘国宗. 小剂量抗抑郁药治疗难治性肠易激综合征. 中国医学科学院报 2003; 25: 74-78
- Flik CE, van Rood YR, Laan W, Smout AJ, Weusten BL, Whorwell PJ, de Wit NJ. A randomised controlled trial on hypnotherapy for irritable bowel syndrome: design and methodological challenges (the IMAGINE study). *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 137 [PMID: 22185606 DOI: 10.1186/1471-230X-11-137]
- Francis CY, Morris J, Whorwell PJ. The irritable bowel severity scoring system: a simple method of monitoring irritable bowel syndrome and its progress. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 395-402 [PMID: 9146781 DOI: 10.1093/carcin/21.9.1691]
- 汪向东, 王希林, 马弘. 心理卫生评定量表手册(增订版). 中国心理卫生杂志社, 1999: 223-226
- 王志军, 周建芝, 吴寿岭. 老年糖尿病患者合并高血压的危险因素及随访分析. 中华老年心脑血管病杂志 2013; 15: 151-154
- 段丽萍. 心理应激在功能性胃肠病发病中的潜在机制. 中华消化杂志 2011; 31: 361-363
- 张卫卫, 李岩. 精神心理因素与功能性胃肠病. 世界华人消化杂志 2002; 10: 1324-1328
- Mayer EA, Naliboff BD, Chang L, Coutinho SV. V. Stress and irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G519-G524 [PMID: 11254476]
- Fichna J, Storr MA. Brain-Gut Interactions in IBS. *Front Pharmacol* 2012; 3: 127 [PMID: 22783191 DOI: 10.3389/fphar.2012.00127]
- 王伟岸, 何剑琴, 胡品津, 曾志荣, 陈为. 心理社会因素对肠易激综合征患者生活质量的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1626-1630
- Walker EA, Roy-Byrne PP, Katon WJ. Irritable bowel syndrome and psychiatric illness. *Am J Psychiatry* 1990; 147: 565-572 [PMID: 2183631]
- Lackner JM, Gudleski GD, Keefer L, Krasner SS, Powell C, Katz LA. Rapid response to cognitive behavior therapy predicts treatment outcome in patients with irritable bowel syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2010; 8: 426-432 [PMID: 20170751 DOI: 10.1016/j.cgh.2010.02.007]
- 刘小彦, 王敏, 王端, 李培凯, 侯瑜, 苏萍, 元静, 杨帆, Sung-Chen Pauline, 杨建中. 肠易激综合征患者心理状态、家庭因素及患病危险因素分析. 中华行为医学与脑科学杂志 2013; 22: 137-139
- 王伟岸, 潘国宗, 钱家鸣. 精神因素对肠易激综合征患者内脏敏感性的影响. 中华医学杂志 2002; 82: 308-311

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 炎症性肠病的临床病理学特点

古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞

古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞, 新疆医科大学第一附属医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

古丽那尔·阿布拉江, 主管技师, 主要从事分子病理的研究。

新疆维吾尔自治区科技支撑计划基金资助项目, No. 201291172  
新疆维吾尔自治区科技支撑计划基金资助项目, No. 2012 33142

作者贡献分布: 此课题由张巍与李新霞设计; 研究过程由古丽那尔·阿布拉江、桑伟、师晓莉及李新霞操作完成; 本论文写作由古丽那尔·阿布拉江、桑伟及李新霞完成。

通讯作者: 李新霞, 副教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山南路137号, 新疆医科大学第一附属医院病理科。lxx-patho@163.com

收稿日期: 2013-04-15 修回日期: 2013-11-27

接受日期: 2013-12-05 在线出版日期: 2014-03-08

## Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease

Abulajiang Gulinaer, Wei Sang, Xiao-Li Shi, Wei Zhang, Xin-Xia Li

Abulajiang Gulinaer, Wei Sang, Xiao-Li Shi, Wei Zhang, Xin-Xia Li, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830045, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Supported by: Science and Technology Supporting Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201233142; Science and Technology Funded Project of Xinjiang Uygur Autonomous Region, No. 201291172

Correspondence to: Xin-Xia Li, Associate Professor, Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830045, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. lxx-patho@163.com

Received: 2013-04-15 Revised: 2013-11-27

Accepted: 2013-12-05 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical and pathological characteristics of inflammatory bowel disease to raise the early diagnosis of this disease.

**METHODS:** One hundred and twenty-two cases of inflammatory bowel disease including 101 cases of ulcerative colitis and 21 cases of Crohn's disease were analyzed.

**RESULTS:** Non-necrotizing granuloma, fissure ulcer and chronic inflammation were morphological features of Crohn's disease. Massive

inflammatory cell infiltration in the lamina propria, destroyed glands and reduced secretion, and polyangitis were the hallmarks of ulcerative colitis.

**CONCLUSION:** The diagnosis of inflammatory bowel disease should be made based on endoscopic, macroscopic and clinical findings. Awareness of the clinical and pathologic features of inflammatory bowel disease can help make an early diagnosis of this disease.

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

**Key Words:** Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease; Pathological histology

Gulinaer Abulajiang, Sang W, Shi XL, Zhang W, Li XX. Clinical and pathologic characteristics of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1027-1032 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1027>

## 摘要

**目的:** 炎症性肠病是肠道常见疾病, 探讨炎症性肠病的临床病理组织学特点, 旨在提高该类疾病的早期诊断。

**方法:** 分析122例炎症性肠病, 包括101例溃疡性结肠炎和21例克隆病的肉眼及病理组织学特点。

**结果:** 非坏死性肉芽肿, 裂隙溃疡, 肠壁全层慢性炎是Crohn病重要的镜下诊断标准, 固有膜内大量炎症细胞浸润, 黏膜腺体破坏, 腺体分泌减少和小血管炎是溃疡性结肠炎的镜下诊断标准, 应结合内镜检查及肉眼所见, 综合临床表现, 得出诊断。

**结论:** 研究炎症性肠病的临床病理特点, 规范临床诊断标准, 提高诊断准确率, 为使患者得到早期正确治疗、提高患者生存质量奠定基础。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括Crohn病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC), 是IBD连续病谱的不同部分。从炎症的组织学分类来分析, CD属于慢性肉芽肿性炎, 而UC属于慢性溃疡性炎。从疾病的病因和发病机制分析, 两种疾病都是多因素性疾病。由于其准确的病因发病机制没有明确, 因此将这两种疾病统称为特发性炎症性肠病。我国炎症性肠病呈逐年上升趋势, 有报道我国UC与CD入院误诊率分别为22.9%和56.7%, 尤其在病变早期或一些不典型患者, 往往可能与病因明确的其他结肠炎症性肠病的鉴别发生困难。

## ■同行评议者

李津, 副教授, 汕头大学医学院病理学; 陈云昭, 副教授, 新疆石河子大学医学院/一附院病理科

## ■ 研发前沿

尽管CD和UC诊断目前需要结合临床、肠镜及病理学,但仍有5%的IBD不能准确诊断CD,还是UC,被称为未确定型结肠炎,该类疾病诊断仍需要进一步研究和探讨。

**关键词:** 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; Crohn病; 病理组织学

**核心提示:** 非坏死性肉芽肿, 裂隙溃疡, 肠壁全层慢性炎是Crohn病重要的镜下诊断标准, 固有膜内大量炎症细胞浸润, 黏膜腺体破坏, 腺体分泌减少和小血管炎是溃疡性结肠炎的镜下诊断标准, 应结合内镜检查及肉眼所见, 综合临床表现, 得出诊断结果。

古丽那尔·阿布拉江, 桑伟, 师晓莉, 张巍, 李新霞. 炎症性肠病的临床病理学特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1027-1032  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1027.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1027>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一类由于免疫系统对于肠道内正常存在的某些抗原发生过度反应而引起的慢性炎症<sup>[1,2]</sup>。Crohn病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)是IBD连续病谱的不同部分。从炎症的组织学分类来分析, CD属于慢性肉芽肿性炎, 而UC属于慢性溃疡性炎<sup>[3-6]</sup>。从疾病的病因和发病机制分析, 两种疾病都是多因素性疾病<sup>[7-11]</sup>。由于其准确的病因发病机制没有明确, 因此将这两种疾病统称为特发性炎症性肠病(idiopathic inflammatory bowel disease)<sup>[12-14]</sup>。炎症性肠病在西方国家比较常见<sup>[15-17]</sup>, 在亚洲国家一直认为比较少见, 但近20年来, 随着结肠镜结合内镜检查的普及, 亚洲国家发病率有逐年上升趋势, 提示炎症性肠病已经是肠道的主要疾病<sup>[18-20]</sup>, 而亚洲国家IBD的病理特征不同于西方人IBD的病理特征<sup>[21,22]</sup>。我国炎症性肠病也呈逐年上升趋势<sup>[23]</sup>, 欧阳欣<sup>[24]</sup>报道我国UC与CD入院误诊率分别为22.9%和56.7%, 尤其在病变早期或一些不典型患者, 往往可能与病因明确的其他结肠炎性肠病的鉴别发生困难<sup>[25-27]</sup>。本研究拟对122例炎症性肠病的临床病理特点、肠黏膜损伤程度以及疾病的病程进行综合性评价, 为临床病理的早期及时诊断提供帮助。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择新疆医科大学第一附属医院2005-09/2012-12明确诊断CD的病例21例。部位分布于回肠末端、升结肠、小肠、阑尾、直乙交界、回盲部、直肠和回肠。同时选择新疆医科大学第一附属医院2003-09/2004-09明确诊断为溃疡性结肠炎的病例共101例。部位分别分布

于升结肠、直肠、横结肠、降结肠、乙状结肠、阑尾口、直乙交界、回盲瓣、降乙交界、盲肠及回肠末端。其中114例为肠镜标本, 8例为手术标本。

**1.2 方法** 所有标本均经40 g/L中性甲醛固定, 常规组织处理, 石蜡包埋, 3 μm厚连续切片, 常规HE染色。

## 2 结果

**2.1 临床资料** 明确诊断为CD的病例21例。男性14例, 女性7例, 男女之比2:1。年龄从19-71岁不等, 中位年龄36岁。部位分布: 回肠末端8例, 升结肠2例, 小肠2例, 全结肠1例, 阑尾1例, 直乙交界1例, 回盲部3例, 直肠和回肠各1例, 1例部位不清。明确诊断为溃疡性结肠炎的病例共101例。男性49例, 女性52例, 男女之比为0.94:1。年龄从17-72岁, 中位年龄42岁。部位分布: 升结肠5例, 阑尾口1例, 直肠50例, 直乙交界4例, 乙状结肠19例, 降结肠9例, 回盲瓣2例, 横结肠7例, 降乙交界1例, 盲肠2例, 回肠末端1例。

### 2.2 病理学特点

**2.2.1 CD病理学特点:** 约80%CD病变呈节段性分布, 即在受累肠管之间存在着无病变的节段, 呈跳跃式分布。偶见弥漫性空回肠炎病变广泛累及小肠。早期, 受累肠管黏膜充血、红肿, 仔细观察, 可见点状糜烂, 即所谓口疮样溃疡。随着疾病进展, 黏膜溃疡增多、变大, 形成线状、条带状的匍行性溃疡, 与肠管长轴平行, 可见横行溃疡穿行于纵行溃疡之间。纵横交错的溃疡间, 黏膜水肿、息肉样隆起, 呈现出卵石样外观。受累肠管管壁增厚、变硬, 肠腔狭窄, 失去正常肠管柔软而富有韧性的状态, 像水龙头管样。肠系膜缩短, 由于纤维化而变硬, 肠攀皱褶。肠系膜脂肪组织向肠浆膜面堆积。肠系膜淋巴结中度肿大。

**2.2.2 UC病理学特点:** 早期表现为受累肠黏膜弥漫性充血水肿、正常血管影像消失、黏膜呈颗粒状、质地松脆、易出血。进一步发展, 黏膜表面可见黏液脓性分泌物、糜烂、黏膜坏死脱落, 溃疡形成。溃疡常较浅, 只累及黏膜下层。溃疡大小、形状不一, 严重者, 溃疡弥漫而广泛, 使肠壁肌层广泛暴露于溃疡底部。溃疡还可以将黏膜下层挖空, 残存黏膜形成黏膜桥。应当指出, 形成广泛的与结肠长轴平行的匍行性溃疡, 尤其是与横行溃疡相连的纵行溃疡不是UC、而是CD的特点。溃疡间的残存黏膜水肿隆起, 形成所谓“假息肉”。



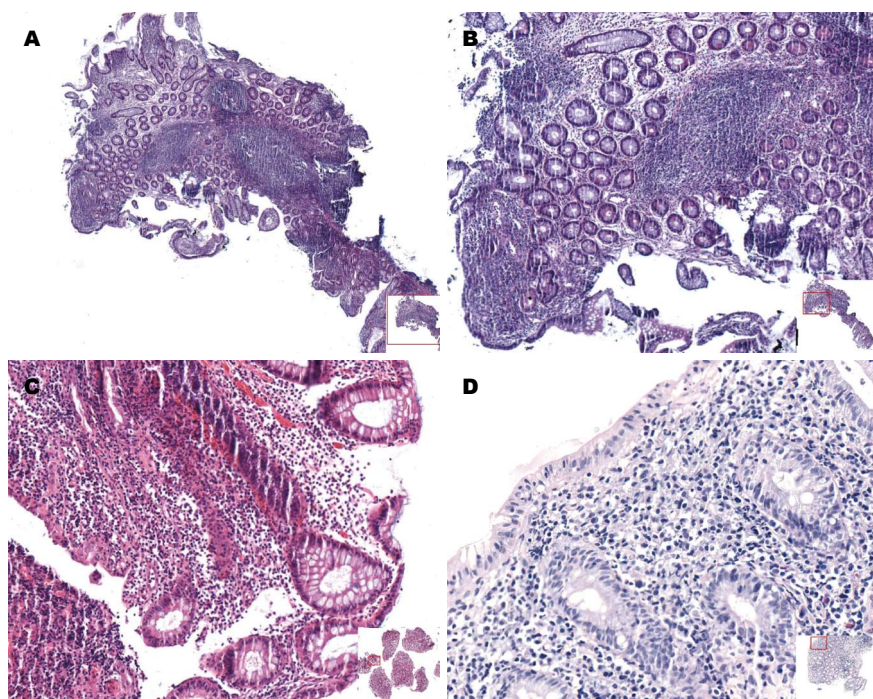


图1 Crohn's病. A: 黏膜慢性炎, 伴淋巴小结形成( $\times 4$ ); B: 黏膜慢性炎, 伴淋巴小结形成( $\times 10$ ); C: 上皮样肉芽肿形成( $\times 20$ ); D: 上皮样肉芽肿形成( $\times 40$ ).

#### ■相关报道

CD的镜下主要表现为非坏死性肉芽肿, 肠壁全层慢性炎; 溃疡性结肠炎的镜下主要表现为固有膜内大量炎症细胞浸润, 黏膜腺体破坏和小血管炎。

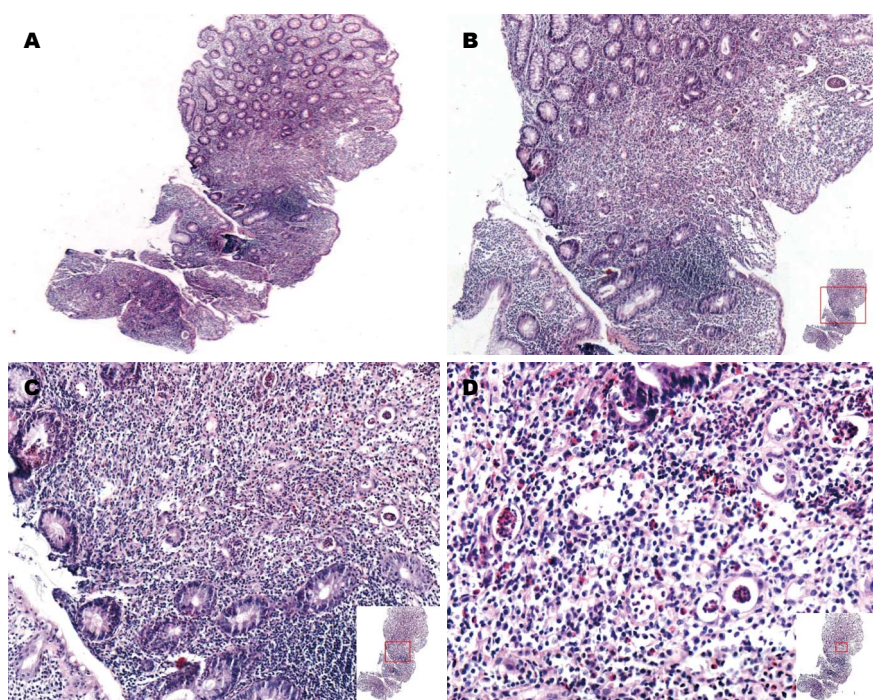


图2 溃疡性结肠炎. A: 黏膜慢性炎( $\times 4$ ); B: 溃疡形成( $\times 10$ ); C: 隐窝脓肿形成( $\times 20$ ); D: 小血管炎( $\times 40$ ).

### 2.3 组织学特点

**2.3.1 CD组织学特点:** 组织学上诊断CD有3个具有诊断意义的病理学改变(图1). (1)非坏死性肉芽肿: 60%的CD病例有肉芽肿形成, 肉芽肿由上皮样细胞和多核巨细胞及一些炎细胞构成. 中央无干酪样坏死, 或仅有小灶状坏死<sup>[28]</sup>. 如明显干酪性坏死广泛则应诊断为结核. 肉芽肿可以出现于肠壁各层、淋巴结和CD累及的其他部位. 值得注意的是, 在一些病例中, 肉芽肿体积小, 位于腺体旁, 称为腺体旁微小肉芽肿; (2)裂

隙溃疡: 约20%的CD病例有裂隙溃疡形成, 裂隙溃疡呈狭窄的缝隙状, 可深入黏膜下、肌层, 甚至周围脂肪组织内; (3)肠壁全层慢性炎: 部分CD既无肉芽肿形成, 又不见裂隙溃疡, 但可见肠壁全层慢性炎细胞浸润, 淋巴集结形成. 肠壁各层纤维组织增生. 黏膜肌层肥厚、黏膜下层水肿, 伴淋巴管、小血管扩张.

**2.3.2 UC组织学特点:** UC病理改变主要累及黏膜和黏膜下层(图2). (1)急性期: 固有膜间质内大量炎症细胞浸润、黏膜腺体病变和小血管病变,



### ■创新盘点

本研究拟对122例炎症性肠病的临床病理特点、肠黏膜损伤程度以及疾病的病程进行综合性评价,为临床病理早期及时诊断提供帮助。

严重时可出现黏膜糜烂和溃疡形成、炎症性息肉;(2)静止期:黏膜内的炎症细胞基本消退,由于活动期黏膜结构破坏而未能修复的一些改变依然可见,UC静止期的腺体底部与黏膜肌之间距离增大,形成宽窄不一的间隙。可出现Paneth细胞化生和内分泌细胞增生的现象。

### 3 讨论

CD是一种病因不明的消化系非特异性炎症。好发于20-30岁青壮年,但是儿童和老年都可以发病<sup>[30,31]</sup>,男性常好发<sup>[32]</sup>。本组发病中位年龄为36岁,与文献报道相符。临床上主要表现为腹泻、腹痛、肠梗阻、腹部包块等症状。活检组织与手术标本检查不同,肠镜活检组织受到取材广度和深度的限制,获得上述三项具有确定CD诊断的标准,具有相当多的困难。非坏死性肉芽肿的发现固然对诊断的确立具有重要意义,但是仅有60%的检出率,因此,对那些不能发现非坏死性肉芽肿病变的CD病例,病理学诊断依然存在困难。对于怀疑为累及大肠的CD病例,需要参考一些非特异性形态学改变,与临床密切结合,进行诊断。如下变化可以对CD的诊断提供帮助。(1)从同一区域和不同区域的黏膜活检组织,炎症表现轻重不一致。虽然CD和UC患者的固有膜内都可以出现以淋巴细胞、组织细胞、浆细胞为主的慢性炎细胞浸润,并混有数量不等的嗜中性和嗜酸性粒细胞浸润,但是前者分布不均,后者分布一致;(2)淋巴滤泡表面糜烂和溃疡形成。CD的点状溃疡常表现为淋巴滤泡表面黏膜糜烂,嗜中性粒细胞渗出;或表现为累及淋巴滤泡的浅层溃疡形成。这种病变可能与血管病变有关;(3)淋巴组织增生明显,淋巴细胞聚集、淋巴组织增生在CD病例中明显。在增生的淋巴组织中可见腺体,原本有的淋巴滤泡中无腺体存在;(4)腺上皮黏液分泌无明显减少;(5)肠黏膜内出现幽门腺化生;(6)直肠黏膜无明显改变。由于裂隙溃疡狭窄而深长,CD患者可以发生肠穿孔、肠壁内及腹腔内脓肿形成,甚至瘘管形成,出现小肠之间、小肠和大肠之间、小肠与腹壁或膀胱之间的瘘管。25%的病例消化系外器官(皮肤、外阴、骨、关节、骨骼肌和脾等)亦可受累。非特异性并发症包括关节炎、骨质疏松、坏疽性脓皮病、肾孟积水、淀粉样变和各种眼病。

鉴别诊断主要包括:(1)肠结核:国内,肠结核依然是常见病,多累及回盲部,如果肉芽肿内出现干酪样坏死,应当诊断结核。由于CD和结核

的治疗方案不同,即使肉芽肿内无干酪样坏死,最好经过PCR检查除外结核;(2)耶尔森菌感染:耶尔森菌肠道感染病理学上也属肉芽肿性炎,肉芽肿内大量嗜中性粒细胞浸润是区别CD和结核的特点。

UC是一种累及结肠的慢性溃疡性炎症,其发病率明显高于CD<sup>[33]</sup>。第一个发病高峰为20-30岁<sup>[34,35]</sup>,第二个发病高峰为70-80岁。但是UC可以发生在任何年龄<sup>[36]</sup>。本组发病的中位年龄为42岁。北美和欧洲的发病率约为20/100000人。我国发病率低于西方,在北京大学第三附属医院肠镜检查病例中约占5.4%。穿孔并引起腹膜炎和腹腔脓肿、中毒性巨结肠、髂静脉血栓形成。UC发生癌变的比例原先统计高达5%-10%,现在认为仅有2%左右。全结肠受累、儿童发病、疾病长期活动在10年以上是UC发生癌变的危险因素<sup>[37,38]</sup>。UC通过结肠腺上皮非典型增生逐步发生癌变。非典型增生的黏膜多为平坦性,呈小结节或绒毛状,而不是息肉状;常为多点发生。非典型增生分为低度和高度两类。高度非典型增生合并有高唾液酸黏蛋白分泌,CEA、p53、Ki-67高表达<sup>[39,40]</sup>。传统认为,UC发生癌变的组织学类型偏向于低分化、多黏液分泌、高转移率、预后差。但是新近对非UC大肠癌与UC合并大肠癌进行分期对照研究表明,两者并没有显著差异。消化系外表现:包括关节炎、葡萄膜炎、坏疽性脓皮病,局限性Wegener肉芽肿。上述并发症多发生于广泛性UC患者,很少发生于直肠型UC患者。

鉴别诊断包括:在UC的鉴别诊断中,主要是与非特异性细菌感染、CD相区别。病原学检查常可以为细菌感染提供诊断依据。(1)非特异性细菌性结肠炎:非特异性细菌性结肠炎一般都是自限性结肠炎,可以由弯曲菌、沙门菌和志贺菌引起,但是约50%的病例病原体还不明确。组织学检查显示,固有膜炎症细胞浸润、水肿、充血,与早期UC不容易区别,进一步病原学检查和随访常可以与UC鉴别。一般的急性自限性结肠炎支持感染性结肠炎的诊断,而在慢性结肠炎的病例中,腺体排列紊乱、多量淋巴浆细胞浸润支持UC;(2)CD:CD主要累及回肠,全消化系受累;UC主要累及直肠和乙状结肠,严重者全结肠受累;CD病变呈节段性分布,UC病变呈弥漫连续性分布;CD可出现上皮样肉芽肿,而UC无此病变;CD肠系膜淋巴结肿大,并可出现肉芽肿性病变;UC肠系膜淋巴结反应性增生,无

肉芽肿性病变. CD腺体黏液分泌大体正常, UC腺体黏液分泌减少. CD淋巴集结、淋巴组织增生明显, UC淋巴组织增生不明显. CD形成裂隙溃疡; UC无裂隙溃疡; CD累及肠壁全层, 肠壁全层因纤维组织增生而明显增厚; UC主要累及黏膜及黏膜下层, 晚期可以发生黏膜下层纤维化.

未确定型结肠炎约5%的IBD病例不能准确诊断CD, 还是UC, 被称为未确定型结肠炎(*indeterminate colitis, IC*). 实际上IC是一个过渡性诊断, 不是特异性诊断. 经过相当一段时间的随访和进一步检查, 总是可以得到确切诊断. 实际上, 经过随访, 大部分IC是UC, 约10%-40%IC最后确诊为CD. 常见的IC有如下情况: (1)暴发性结肠炎, 全结肠受累, 肠腔扩张, 广泛溃疡形成, 早期浅表裂隙溃疡形成, 广泛淋巴组织增生, 中毒症状明显; (2)肠黏膜活检组织不充分IBD; (3)其他支持UC诊断, 但是却出现如下情况: 直肠无病变, 浅表裂隙溃疡, 与破裂腺体密切相关的肉芽肿, 右半结肠炎伴左半结肠病变, 阑尾呈节段性病变而受累, 反冲性回肠炎, 治疗因素使肠道病变不典型; (4)黏膜弥漫性病变的CD; (5)临床符合CD, 而病理学改变缺乏诊断CD的主要病变(肉芽肿、裂隙溃疡、肠壁全层炎); (6)与伪膜性肠炎、缺血性肠炎、其他感染引起的肠炎相合并; (7)少数为病理学家们的诊断意见不一致.

#### 4 参考文献

- Podolsky DK. The current future understanding of inflammatory bowel disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2002; 16: 933-943 [PMID: 12473299 DOI: 10.1053/bega.2002.0354]
- Kono H, Rock KL. How dying cells alert the immune system to danger. *Nat Rev Immunol* 2008; 8: 279-289 [PMID: 18340345 DOI: 10.1038/nri2215]
- Smith LA, Gaya DR. Utility of faecal calprotectin analysis in adult inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 6782-6789 [PMID: 23239916 DOI: 10.3748/wjg.v18.i46.6782]
- Graff LA, Walker JR, Bernstein CN: It's not just about the gut: managing depression and anxiety in inflammatory bowel disease. *Practical Gastroenterology* 2010; 34: 11-25
- Maunder RG, Levenstein S. The role of stress in the development and clinical course of inflammatory bowel disease: epidemiological evidence. *Curr Mol Med* 2008; 8: 247-252 [PMID: 18537632 DOI: 10.2174/156652408784533832]
- Sajadinejad MS, Asgari K, Molavi H, Kalantari M, Adibi P. Psychological issues in inflammatory bowel disease: an overview. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 106502 [PMID: 22778720]
- Waśko-Czopnik D, Paradowski L. The influence of deficiencies of essential trace elements and vitamins on the course of Crohn's disease. *Adv Clin Exp Med* 2012; 21: 5-11 [PMID: 23214293]
- Ikeuchi H, Hori K, Nishigami T, Nakano H, Uchino M, Nakamura M, Kaibe N, Noda M, Yanagi H, Yamamura T. Diffuse gastroduodenitis and pouchitis associated with ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 5913-5915 [PMID: 17007066]
- Yamamoto T. Nutrition and diet in inflammatory bowel disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2013; 29: 216-221 [PMID: 23385526 DOI: 10.1097/MOG.0b013e32835b9a40]
- Kaiser L, Surawicz CM. Infectious causes of chronic diarrhoea. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 563-571 [PMID: 23384802 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.11.001]
- Dimitroulia E, Pitiriga VC, Piperaki ET, Spanakis NE, Tsakris A. Inflammatory bowel disease exacerbation associated with Epstein-Barr virus infection. *Dis Colon Rectum* 2013; 56: 322-327 [PMID: 23392146 DOI: 10.1097/DCR.0b013e32831827cd02c]
- Bouma G, Strober W. The immunological and genetic basis of inflammatory bowel disease. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 521-533 [PMID: 12876555 DOI: 10.1038/nri1132]
- Mowat AM. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens. *Nat Rev Immunol* 2003; 3: 331-341 [PMID: 12669023 DOI: 10.1038/nri1057]
- Hugot JP, Chamaillard M, Zouali H, Lesage S, Cézard JP, Belaiche J, Almer S, Tysk C, O'Morain CA, Gassull M, Binder V, Finkel Y, Cortot A, Modigliani R, Laurent-Puig P, Gower-Rousseau C, Macry J, Colombel JF, Sahbatou M, Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411: 599-603 [PMID: 11385576 DOI: 10.1038/35079107]
- Al-Mofarreh MA, Al-Mofleh IA. Emerging inflammatory bowel disease in Saudi outpatients: a report of 693 cases. *Saudi J Gastroenterol* 2013; 19: 16-22 [PMID: 23319033 DOI: 10.4103/1319-3767.105915]
- Jakobsen C, Wewer V, Urne F, Andersen J, Faerk J, Kramer I, Stagegaard B, Pilgaard B, Weile B, Paerregaard A. Incidence of ulcerative colitis and Crohn's disease in Danish children: Still rising or levelling out? *J Crohns Colitis* 2008; 2: 152-157 [PMID: 21172205 DOI: 10.1016/j.crohns.2008.01.006]
- 中国炎症性肠病协作组. 3100例溃疡性结肠炎住院病例回顾分析. *中华消化杂志* 2006; 6: 368-372
- Ouakaa-Kchaou A, Gargouri D, Bibani N, Elloumi H, Kochlef A, Kharrat J. Epidemiological evolution of epidemiology of the inflammatory bowel diseases in a hospital of Tunis. *Tunis Med* 2013; 91: 70-73 [PMID: 23404603]
- Niriella MA, De Silva AP, Dayaratne AH, Ariyasinghe MH, Navarathne MM, Peiris RS, Samarasekera DN, Satharasinghe RL, Rajindrajith S, Dassanayake AS, Wickramasinghe AR, de Silva HJ. Prevalence of inflammatory bowel disease in two districts of Sri Lanka: a hospital based survey. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 32 [PMID: 20302651 DOI: 10.1186/1471-230X-10-32]
- Ahuja V, Tandon RK. Inflammatory bowel disease in the Asia-Pacific area: a comparison with developed countries and regional differences. *J Dig Dis* 2010; 11: 134-147 [PMID: 20579217 DOI: 10.1111/j.1751-2980.2010.00429.x]
- Kim ES, Kim WH. Inflammatory bowel disease in Korea: epidemiological, genomic, clinical, and therapeutic characteristics. *Gut Liver* 2010; 4: 1-14 [PMID: 20479907 DOI: 10.5009/gnl.2010.4.1.1]

#### ■应用要点

炎症性肠病诊断必须结合临床、肠镜及病理学.

## ■同行评价

本文从临床实际工作总结出发, 讨论了溃疡性结肠炎和克隆病的大体、肠镜及镜下特征, 对提高该类疾病的早期诊断具有一定的意义。

- 22 Walker DG, Williams HR, Kane SP, Mawdsley JE, Arnold J, McNeil I, Thomas HJ, Teare JP, Hart AL, Pitcher MC, Walters JR, Marshall SE, Orchard TR. Differences in inflammatory bowel disease phenotype between South Asians and Northern Europeans living in North West London, UK. *Am J Gastroenterol* 2011; 106: 1281-1289 [PMID: 21577243 DOI: 10.1038/ajg.2011.85]
- 23 Jiang L, Xia B, Li J, Ye M, Yan W, Deng C, Ding Y, Luo H, Hou W, Zhao Q, Liu N, Ren H, Hou X, Xu H. Retrospective survey of 452 patients with inflammatory bowel disease in Wuhan city, central China. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 212-217 [PMID: 16534423 DOI: 10.1097/01.MIB.0000201098.26450.ae]
- 24 欧阳钦. 我国炎症性肠病研究的概况和策略. *四川医学* 2005; 4: 355-356
- 25 Carpenter HA, Talley NJ. The importance of clinicopathological correlation in the diagnosis of inflammatory conditions of the colon: histological patterns with clinical implications. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 878-896 [PMID: 10763932 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01924.x]
- 26 Hyphantis T, Antoniou K, Tomenson B, Tsianos E, Mavreas V, Creed F. Is the personality characteristic "impulsive sensation seeking" correlated to differences in current smoking between ulcerative colitis and Crohn's disease patients? *Gen Hosp Psychiatry* 2010; 32: 57-65 [PMID: 20114129 DOI: 10.1016/j.genhosppsych.2009.09.002]
- 27 Blumberg RS, Strober W. Prospects for research in inflammatory bowel disease. *JAMA* 2001; 285: 643-647 [PMID: 11176874 DOI: 10.1001/jama.285.5.643]
- 28 Shepherd NA. Granulomas in the diagnosis of intestinal Crohn's disease: a myth exploded? *Histopathology* 2002; 41: 166-168 [PMID: 12147095 DOI: 10.1046/j.1365-2559.2002.01441.x]
- 29 Valdez R, Appelman HD, Bronner MP, Greenston JK. Diffuse duodenitis associated with ulcerative colitis. *Am J Surg Pathol* 2000; 24: 1407-1413 [PMID: 11023103 DOI: 10.1097/00000478-200010000-00011]
- 30 Canavan C, Abrams KR, Hawthorne B, Mayberry JF. Long-term prognosis in Crohn's disease: An epidemiological study of patients diagnosed more than 20 years ago in Cardiff. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 59-65 [PMID: 17229220]
- 31 Saadah OI. Childhood onset of Crohn disease: experience from a university teaching hospital in Saudi Arabia. *Ann Saudi Med* 2012; 32: 596-602 [PMID: 23396023]
- 32 Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, Dagli U, Ulker A, Hulagu S, Akpinar H, Tuncer C, Suleymanlar I, Ovunc O, Hilmioglu F, Aslan S, Turkdogan K, Bahcecioğlu HI, Yurdaydin C. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multi-center epidemiologic survey. *J Clin Gastroenterol* 2009; 43: 51-57 [PMID: 18724251 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181574636]
- 33 Jussila A, Virta LJ, Kautiainen H, Rekiaro M, Nieminen U, Färkkilä MA. Increasing incidence of inflammatory bowel diseases between 2000 and 2007: a nationwide register study in Finland. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 555-561 [PMID: 21425214 DOI: 10.1002/ibd.21695]
- 34 Bardhan KD, Simmonds N, Royston C, Dhar A, Edwards CM. A United Kingdom inflammatory bowel disease database: making the effort worthwhile. *J Crohns Colitis* 2010; 4: 405-412 [PMID: 21122536 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.01.003]
- 35 Katsanos KH, Stamou P, Tatsioni A, Tsianos VE, Zoumbas S, Kavvadia S, Giga A, Vagias I, Christodoulou DK, Tsianos EV. Prevalence of inflammatory bowel disease related dysplasia and cancer in 1500 colonoscopies from a referral center in north-western Greece. *J Crohns Colitis* 2011; 5: 19-23 [PMID: 21272799 DOI: 10.1016/j.crohns.2010.09.001]
- 36 Lukas M, Bortlik M, Maratka Z. What is the origin of ulcerative colitis? Still more questions than answers. *Postgrad Med J* 2006; 82: 620-625 [PMID: 17068271 DOI: 10.1136/pmj.2006.047035]
- 37 van Schaik FD, Mooiweer E, van der Have M, Belderbos TD, Ten Kate FJ, Offerhaus GJ, Schipper ME, Dijkstra G, Pierik M, Stokkers PC, Ponsioen C, de Jong DJ, Hommes DW, van Bodegraven AA, Siersema PD, van Oijen MG, Oldenburg B. Adenomas in patients with inflammatory bowel disease are associated with an increased risk of advanced neoplasia. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 342-349 [PMID: 23340679 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318286f771]
- 38 Svrcek M, Fontugne J, Duval A, Fléjou JF. Inflammatory bowel disease-associated colorectal cancers and microsatellite instability: an original relationship. *Am J Surg Pathol* 2013; 37: 460-462 [PMID: 23388128 DOI: 10.1097/PAS.0b013e31827ae150]
- 39 Arai N, Mitomi H, Ohtani Y, Igarashi M, Kakita A, Okayasu I. Enhanced epithelial cell turnover associated with p53 accumulation and high p21WAF1/CIP1 expression in ulcerative colitis. *Mod Pathol* 1999; 12: 604-611 [PMID: 10392637]
- 40 Wong NA, Mayer NJ, MacKell S, Gilmour HM, Harrison DJ. Immunohistochemical assessment of Ki67 and p53 expression assists the diagnosis and grading of ulcerative colitis-related dysplasia. *Histopathology* 2000; 37: 108-114 [PMID: 10931232 DOI: 10.1046/j.1365-2559.2000.00934.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 单气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值

朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞

朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞, 中国人民解放军空军总医院消化科 北京市 100142

朱鸣, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 朱鸣负责课题设计及统计; 张静负责资料的收集及整理; 唐杰、毛高平、金晓维、朱鸣、张静及李彦飞行小肠镜操作。

通讯作者: 朱鸣, 副主任医师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院消化内科. zm669922@sina.cn 电话: 010-66928046

收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2014-01-06

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

## Diagnostic value of single balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding

Ming Zhu, Jing Zhang, Jie Tang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Xiao-Wei Jin, Yan-Fei Li

Ming Zhu, Jing Zhang, Jie Tang, Gao-Ping Mao, Shou-Bin Ning, Xiao-Wei Jin, Yan-Fei Li, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, Beijing 100142, China

Correspondence to: Ming Zhu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the General Air Force Hospital, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. zm669922@sina.cn

Received: 2013-12-07 Revised: 2014-01-06

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the diagnostic value of single balloon endoscopy (SBE) in obscure gastrointestinal bleeding (OGIB).

**METHODS:** Clinical data for 115 patients with OGIB who underwent SBE from July 2009 to May 2013 were retrospectively analyzed. The causes of gastrointestinal bleeding were observed by SBE. Eleven patients underwent endoscopic therapy.

**RESULTS:** The detection rate of gastrointestinal bleeding was 73.91% (85/115). The most common reasons for OGIB were small intestinal ulcer, small intestinal diverticulum, mucosal inflammatory changes, interstitialoma, small intestine carcinoma, Crohn's disease, small intestinal polyps, vascular dilatation, and other rare diseases. Seventy-eight (67.83%) patients had overt

bleeding, and 37 (32.17%) had occult bleeding. The detection rate of overt bleeding was significantly higher than that of occult bleeding ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** SBE has high diagnostic yield in OGIB, and is a safe and reliable method for diagnosis and treatment of OGIB. The most common reasons for OGIB are small intestinal ulcer, small intestinal diverticulum, and mucosal inflammatory changes.

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

**Key Words:** Single balloon endoscopy; Obscure gastrointestinal bleeding; Diagnosis

Zhu M, Zhang J, Tang J, Mao GP, Ning SB, Jin XW, Li YF. Diagnostic value of single balloon endoscopy in obscure gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1033-1036 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1033.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1033>

## 摘要

**目的:** 探讨单气囊电子小肠镜(single balloon endoscopy, SBE)对不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)的诊断价值。

**方法:** 回顾性分析2009-07/2013-05因OGIB在我院进行SBE检查的115例患者(144例次)。SBE下观察引起消化系出血的病因, 并对11例行SBE下治疗。

**结果:** 消化系出血检出阳性率为73.91%(85/115)。OGIB常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变、小肠间质瘤、小肠癌、克罗恩病、小肠息肉、毛细血管扩张症及其他少见疾病。显性出血78例(67.83%), 隐性出血37例(32.17%), 显性出血组(71例 vs 7例, 91.02%)较隐性出血组(14例 vs 23例, 37.84%)的检出阳性率高( $P < 0.05$ )。

**结论:** SBE对OGIB有较高的诊断价值, 是一种

## ■背景资料

不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)是指通过胃镜、结肠镜及钡餐造影等检查提示阴性, 但仍不明来源的消化系出血。2007年Olympus公司在双气囊小肠镜的基础上研发出单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE), 操作更加简便。本文总结了115例在我院接受SBE检查的OGIB患者的临床资料。

## ■同行评议者

姜慧卿, 教授, 河北医科大学第二医院消化科

## ■ 研发前沿

单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)是Olympus公司在双气囊小肠镜的基础上研发,操作更加简便。本文总结了115例在我院接受SBE检查的不明原因消化系出血患者临床资料。

安全可靠的OGBI诊疗手段。OGBI常见的原因: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 单气囊电子小肠镜; 不明原因消化系出血; 诊断

**核心提示:** 单气囊小肠镜对不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)有较高的诊断价值, 是一种安全可靠的OGBI诊疗手段。OGBI常见的原因: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变。

朱鸣, 张静, 唐杰, 毛高平, 宁守斌, 金晓维, 李彦飞. 单气囊小肠镜对不明原因消化系出血的诊断价值. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1033-1036 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1033.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1033>

## 0 引言

不明原因消化系出血(obscure gastrointestinal bleeding, OGIB)是指通过胃镜、结肠镜及钡餐造影等检查提示阴性, 但仍不明来源的消化系出血<sup>[1]</sup>。2001年日本学者率先报道了双气囊小肠镜(double balloon endoscopy, DBE)进行全小肠检查的研究<sup>[2]</sup>, DBE图像清晰, 操作精确, 并且可以行镜下治疗, 是一种可靠的小肠疾病诊治手段<sup>[3]</sup>。2007年Olympus公司在DBE的基础上研发出单气囊小肠镜(single balloon enteroscopy, SBE)与DBE相比, SBE只有外套管一个气囊, 其镜端的可曲度及视角范围明显增加, 操作更加简便<sup>[4]</sup>。本文总结了115例在我院接受SBE检查的OGIB患者的临床资料, 探讨SBE对OGIB的诊断价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 2009-07/2013-05期间因OGIB在我院进行相关检查的115例患者, 其中男性77例, 女性38例; 年龄10-75岁。显性出血78例(67.83%), 包括主诉黑便者42例(36.52%), 主诉便血者36例(31.31%); 隐性出血37例(32.17%)。SIF-Q260单气囊小肠镜购自Olympus公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 术前准备:** 向患者交代检查的必要性, 并告知检查中可能发生的意外及并发症, 签署SBE检查知情同意书。患者均无内镜检查及静脉麻醉的禁忌症。术前1 d进食流质饮食, 晚餐后口服蓖麻油40 mL, 第2天上午服复方聚乙二醇电解

质散剂137 g加入2000 mL水, 以丙泊酚静脉麻醉, 检查全程行心电监护及氧饱和度监测。

**1.2.2 SBE检查:** 采用Olympus SIF-Q260型单气囊小肠镜。根据患者症状选择进镜途径, 估计病变在中上小肠肠段者选择经口腔进镜, 估计病变在远端小肠者选择经肛门进镜。如一侧进镜未发现病灶者, 可以美兰或钛夹标记后再从另一侧进镜。检查前先观察外套管头端的气囊有无漏气, 将外套管套在小肠镜镜身上, 注入润滑剂。由2名内镜医师及一名麻醉医师配合检查。通过调整镜身角度和外套管气囊反复充气、放气、钩拉等动作, 逐步把检查部位深入到远端小肠。

**1.2.3 耐受性与安全性:** 115例患者均完成检查, 进镜过程顺利, 未发生麻醉意外, 未出现出血、穿孔、麻痹性肠梗阻、胰腺炎等严重并发症。少数患者在术后出现腹痛、腹胀症状, 均可自行缓解。

**统计学处理** 检查结果以检出阳性率进行评价(检出阳性率 = 检出病变例数/检查例数 × 100%)。显性出血组与隐性出血组检出阳性率的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 检出阳性率** 共有115例不明原因消化系出血患者接受了SBE检查。85例发现了异常, 检出阳性率为73.91%(85/115)。经口侧检查74例次, 经肛侧检查70例次, 有29例患者进行双侧SBE检查, 但没有患者完成对接。

**2.2 镜下治疗及OGIB最常见的原因** 11例行镜下治疗, 息肉高频电流圈套摘除术3例, 另7例行镜下止血治疗(注射聚桂醇2例, 电凝5例), 另1例电凝止血后钛夹标记。过程顺利, 均未发生术后并发症。OGIB最常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变、小肠间质瘤、小肠癌、克罗恩病、小肠息肉、毛细血管扩张症及其他少见疾病。典型图片如图1, 具体检出病变如表1。

**2.3 常见受检原因及阳性检出率分析结果** 常见受检原因及阳性检出率如表2。显性出血78例(67.83%), 隐性出血37例(32.17%), 统计结果表明, 显性出血组91.02% (71/78)较隐性出血组37.84%(14/37)的检出阳性率高( $P < 0.05$ )。

## 3 讨论

小肠的长度占全消化系的75%, 位于人体深处, 以小肠为主要发病部位的OGIB是消化系统疾病

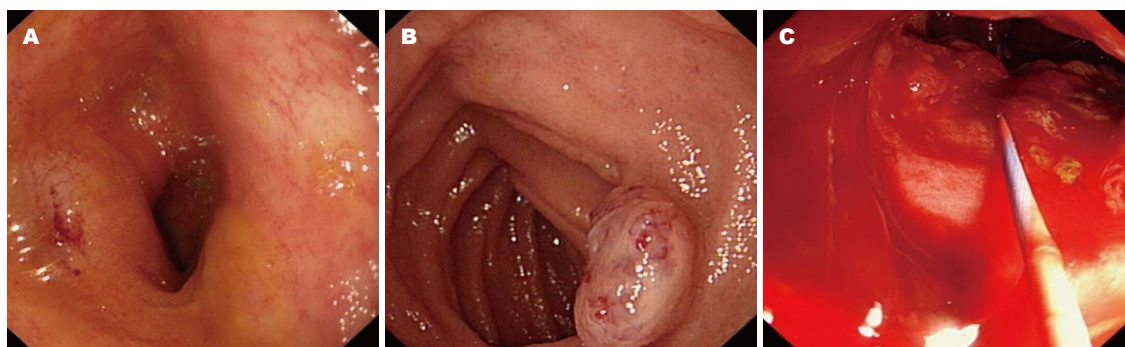


图1 消化系出血典型病例。A: 小肠憩室壁糜烂伴出血; B: 小肠血管瘤; C: 小肠癌伴出血。

#### ■ 相关报道

在较大样本量不明原因消化系出血研究中双气囊小肠镜诊断阳性率平均为68%, 与本研究的检出阳性率相似。

表1 不明原因消化道出血患者的SBE检查结果 ( $n = 115$ )

病因	$n$	构成比(%)
小肠溃疡	18	15.65
小肠憩室	15	13.04
小肠黏膜炎性改变	13	11.30
小肠间质瘤	12	10.43
小肠癌	8	6.96
克罗恩病	7	6.09
小肠息肉	6	5.21
毛细血管扩张症	3	2.61
小肠血管畸形	1	0.87
胃溃疡	1	0.87
吻合口溃疡	1	0.87
阴性	30	26.09
合计	115	100.00

表2 OGIB的常见受检原因及阳性检出率

受检原因	$n$	检出小肠病变( $n$ )	检出阳性率(%)
黑便	42	37	88.10
便潜血阳性	37	14	37.84
便血	36	34	94.44
总计	115	300	73.91

的诊治难点, 长期以来缺乏有效的检查手段。

OGIB在消化科并不常见, 以往小肠出血的检查主要依赖于钡剂造影、血管造影技术、核素显像等, 但传统小肠检查技术的检出阳性率低或主要针对活动性出血<sup>[5-7]</sup>。胶囊内镜是近年来发展的新技术, 使小肠检查不再有盲区。在OGIB患者中的诊断率达58%-80%<sup>[8-10]</sup>, 但对出血量比较大、或伴有肠梗阻者, 胶囊内镜并不适宜。以上各种检查均为影像学检查, 不能做小肠黏膜活检, 不能做治疗, 有很大的局限性。另外, OGIB可以手术探查, 并做术中内镜, 但是, 手术对机体的损伤及高风险不可避免<sup>[11]</sup>。

气囊辅助内镜包括SBE和DBE, 是小肠疾病检查手段上的突破性进展, 原理上可以通过两侧对接对全小肠直视观察, 便于操作, 发现病变可以停留观察, 并取活检, 做标记, 可以行内镜下治疗, 如进行息肉切除和止血等治疗。SBE是在DBE的基础上改进而来的, 仅需1个气囊交替充放气, 镜端灵活、视角大, 具有操作上的优势。

DBE因为有反复注气和放气的操作, 有操作者出错的可能<sup>[12]</sup>, 而SBE因其操作更简便, 一般不会出错。由于SBE无需安装内镜前端的充气囊, 因此准备时间平均约5 min, 明显短于DBE的准备时间<sup>[13]</sup>。

本组资料中共115例患者(144例次)行SBE检查, 其中11例行镜下治疗, 检查治疗过程顺利, 均未发生术后并发症。我们的结果表明, SBE对不明原因消化系出血有较高的检出阳性率, 为73.91%, 与其他SBE检查资料相似<sup>[14,15]</sup>。在较大样本量OGIB研究中DBE诊断阳性率平均为68%<sup>[16]</sup>, 与本研究的检出阳性率相似。

本组资料中共29例患者行双侧SBE检查, 但没有患者完成对接检查。SBE理论上可实现全小肠检查, 少数医师甚至可以实现经肛或经口的一次性全小肠检查, 但目前SBE完成全小肠检查的成功率为5%-25%, 低于DBE<sup>[12,17]</sup>。

OGIB根据临床上有无明显的出血而分为不明原因显性出血和隐性出血, 本组资料中显性出血的检出阳性率高于隐性出血。OGIB常见的原因依次为: 小肠溃疡、小肠憩室、小肠黏膜炎性改变、小肠间质瘤、小肠癌、克罗恩病、小肠息肉、毛细血管扩张症及其他少见疾病。对11例患者行镜下治疗, 为息肉摘除术和镜下止血治疗。

以上结果表明, SBE对不明原因消化系出血有较高的诊断价值, 还可进行必要的镜下治疗,



## ■同行评价

本研究对较大例数的此类患者进行研究,具有一定的临床参考价值。

临床实用性强,是继DBE后又一种安全可靠的小肠出血诊疗方法。

## 4 参考文献

- 1 Raju GS, Gerson L, Das A, Lewis B. American Gastroenterological Association (AGA) Institute medical position statement on obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2007; 133: 1694-1696 [PMID: 17983811 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.008]
- 2 Yamamoto H, Sekine Y, Sato Y, Higashizawa T, Miyata T, Iino S, Ido K, Sugano K. Total enteroscopy with a nonsurgical steerable double-balloon method. *Gastrointest Endosc* 2001; 53: 216-220 [PMID: 11174299 DOI: 10.1067/mge.2001.112181]
- 3 May A, Nachbar L, Pohl J, Ell C. Endoscopic interventions in the small bowel using double balloon enteroscopy: feasibility and limitations. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 527-535 [PMID: 17222315 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01063.x]
- 4 Tsujikawa T, Saitoh Y, Andoh A, Imaeda H, Hata K, Minematsu H, Senoh K, Hayafuji K, Ogawa A, Nakahara T, Sasaki M, Fujiyama Y. Novel single-balloon enteroscopy for diagnosis and treatment of the small intestine: preliminary experiences. *Endoscopy* 2008; 40: 11-15 [PMID: 18058613]
- 5 Zuckerman GR, Prakash C, Askin MP, Lewis BS. AGA technical review on the evaluation and management of occult and obscure gastrointestinal bleeding. *Gastroenterology* 2000; 118: 201-221 [PMID: 10611170 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70430-6]
- 6 李德胜, 杨玉莲, 柯多妹. 核素显像对不明原因消化道出血的诊断. *海南医学院学报* 2002; 8: 101-102
- 7 李玉伟, 张富强, 李云辉, 袁亮, 斯光宴. 不明原因消化道出血的DSA诊断与介入治疗. *现代诊断与治疗* 2009; 20: 13-15
- 8 Neu B, Ell C, May A, Schmid E, Riemann JF, Hagenmüller F, Keuchel M, Soehendra N, Seitz U, Meining A, Rösch T. Capsule endoscopy versus standard tests in influencing management of obscure digestive bleeding: results from a German multicenter trial. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1736-1742 [PMID: 16086709 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.41649.x]
- 9 Hadithi M, Heine GD, Jacobs MA, van Bodegraven AA, Mulder CJ. A prospective study comparing video capsule endoscopy with double-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 52-57 [PMID: 16405533 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2005.00346.x]
- 10 Sturniolo GC, Di Leo V, Vettorato MG, De Boni M, Lamboglia F, De Bona M, Bellumat A, Martinez D, D'Inca R. Small bowel exploration by wireless capsule endoscopy: results from 314 procedures. *Am J Med* 2006; 119: 341-347 [PMID: 16564777 DOI: 10.1016/j.amjmed.2005.08.029]
- 11 夏兴洲, 杨蕊茹, 闫国亭. 不明原因消化道出血术中内镜检查26例分析. *中国误诊学杂志* 2006; 6: 1771-1772
- 12 Kawamura T, Yasuda K, Tanaka K, Uno K, Ueda M, Sanada K, Nakajima M. Clinical evaluation of a newly developed single-balloon enteroscope. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 1112-1116 [PMID: 18599052 DOI: 10.1016/j.gie.2008.03.1063]
- 13 任玮, 王雷, 宁琳洪, 李宜辉, 赵晓晏. 单气囊及双气囊小肠镜在小肠疾病诊断中的应用比较. *中国基层医药* 2011; 18: 1653-1655
- 14 李运红, 吕瑛, 张晓琦, 刘明东, 姚玉玲, 于成功, 吴毓麟, 邹晓平. 单气囊小肠镜对不明原因消化道出血的诊断价值. *中华消化内镜杂志* 2012; 9: 510-512
- 15 Kushnir VM, Tang M, Goodwin J, Hollander TG, Hovis CE, Murad FM, Mullady DK, Azar RR, Jonnalagadda SS, Early DS, Edmundowicz SA, Chen CH. Long-term outcomes after single-balloon enteroscopy in patients with obscure gastrointestinal bleeding. *Dig Dis Sci* 2013; 58: 2572-2579 [PMID: 23430372 DOI: 10.1007/s10620-013-2588-y]
- 16 宋志强, 丁士刚. 双气囊小肠镜在不明原因消化道出血中的诊断价值. *中国微创外科杂志* 2009; 9: 76-78
- 17 May A, Färber M, Aschmoneit I, Pohl J, Manner H, Lotterer E, Möschler O, Kunz J, Gossner L, Mönkemüller K, Ell C. Prospective multicenter trial comparing push-and-pull enteroscopy with the single- and double-balloon techniques in patients with small-bowel disorders. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 575-581 [PMID: 20051942 DOI: 10.1038/ajg.2009.712]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 无症状体检者结直肠息肉分布特征1990例

陶文武, 高峰

陶文武, 高峰, 新疆维吾尔自治区人民医院消化科, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830001

陶文武, 在读硕士, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 陶文武与高峰对此文均有贡献; 此课题由高峰与陶文武设计; 研究过程由陶文武操作完成; 研究所用试剂及分析工具由高峰提供; 数据分析由陶文武完成; 本论文写作由陶文武完成。

通讯作者: 高峰, 教授, 主任医师, 医学博士, 硕士研究生导师, 800001, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市天山区天池路, 新疆维吾尔自治区人民医院消化科. gaofeng@sina.com  
电话: 0991-8563342

收稿日期: 2013-12-04 修回日期: 2014-01-13

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-08

## Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects

Wen-Wu Tao, Feng Gao

Wen-Wu Tao, Feng Gao, Department of Gastroenterology, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Feng Gao, Chief Physician, Professor, Department of Gastroenterology, Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. gaofeng@sina.com

Received: 2013-12-04 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-08

## Abstract

**AIM:** To investigate the prevalence of colorectal polyps in asymptomatic subjects to stress the importance of colonoscopy in physical examination and explore the effective means of screening for asymptomatic patients with early colorectal cancer.

**METHODS:** A retrospective analysis of colonoscopic findings was performed in 1990 subjects who underwent physical examination at the Department of Gastroenterology of Xinjiang Uygur Autonomous Region People's Hospital. The subjects voluntarily underwent colonoscopy from July 1, 2009 to June 30, 2013. The detection rate of colorectal polyps, pathological type, sex, age, site of lesion, and the positive rate of colorectal lesions were analyzed.

**RESULTS:** Colonoscopy revealed 376 (18.8%) cases of colorectal polyps, 10 (0.5%) cases of colorectal cancer, 410 (17.3%) cases of chronic colorectal inflammation, 38 (1.9%) cases of colon melanosis, 4 (0.2%) cases of colon melanosis with colon polyps, and 27 (1.3%) cases of colorectal diverticulum. A total of 571 polyps were detected in 376 patients with colorectal polyps. The detection rate of intestinal polyps was 24.1% in men and 11.2% in women. The detection rate of colorectal polyps in Chinese Han subjects was 17.8%. The detection rate of colorectal lesions was 39.1%.

**CONCLUSION:** The detection rate of colorectal polyps in the asymptomatic population was related to gender, age and race. The detection rate of colorectal polyps is higher in patients aged > 50 years. Sigmoid colon polyps and tubular adenoma are common. For people aged over 50 years, colonoscopy for screening early colorectal cancer is recommended.

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

**Key Words:** Physical examination; Colonoscopy; Colorectal adenomas; Colorectal neoplasms

Tao WW, Gao F. Distribution characteristics of colorectal polyps in 1990 cases of asymptomatic subjects. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1037-1041 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1037.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1037>

## 摘要

**目的:** 探讨健康体检人群进行结肠镜检查的必要性, 了解我国无症状人群结直肠疾病的发病情况, 探寻无症状人群筛查早期结直肠肿瘤的有效手段。

**方法:** 回顾性分析了新疆维吾尔自治区人民医院消化科内镜中心的1990例健康体检者的结肠镜检查结果, 患者均在2009-07-01/2013-06-30自愿接受结肠镜检查, 分别分析了1990例结直肠息肉的检出率、病理组织学类型、病变检出部位、性别、年龄、结直肠病变阳性检出

## ■背景资料

目前报道结肠有临床症状疾病的诊断与治疗相关研究不少, 而结肠无症状疾病或早期无症状疾病的检查方法及检出疾病分布特征的研究较少, 特别是大样本的研究, 本文旨在探讨无症状人群进行结肠镜检查的必要性, 了解中国不同民族无症状人群结直肠疾病的发病情况, 探寻无症状人群筛查早期结直肠疾病的有效手段。

## ■同行评议者

董蕾, 主任, 教授, 博士生导师, 西安交通大学第二附属医院消化内科

## ■研究前沿

寻找有效、简便可行、经济的、有针对性的早期结肠直肠癌检出方法是当前亟待研究的问题,结肠镜可否作为体检常规项目有待进一步调查研究。

率;分析了结肠息肉的检出率与病变部位、病理类型与受检者的年龄、性别、族别之间的关系。

**结果:** 结直肠息肉376例(18.8%), 结直肠癌10例(0.5%), 结直肠慢性炎410例(17.3%), 结肠黑病变38例(1.9%), 结直肠憩室27例(1.3%)。376例结直肠息肉患者共检出息肉571枚;男性肠息肉检出率为24.1%, 女性为11.2%;汉族人结直肠息肉检出率为17.8%;无症状人群结肠镜检查结直肠病变阳性检出率为39.1%。

**结论:** 无症状人群大肠息肉的检出率具有性别、年龄、种族趋势。50岁以上的中老年人群结直肠息肉检出率较高;检出的息肉部位及病理类型则以乙状结肠部的管状腺瘤居多。50岁以上无症状人群进行结肠镜检查,对于筛查早期结直肠癌前病变及预防结直肠肿瘤具有重要意义。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 体检者; 结肠镜; 结直肠腺瘤; 结直肠肿瘤

**核心提示:** 本研究建议我国早期结直肠肿瘤筛查的起始年龄为50岁,中国结直肠息肉的检出率最高的是>50岁的中老年人群,且多发于左半结肠,尤其是乙状结肠;汉族较少数民族结直肠息肉检出率要高;检出的息肉部位及病理类型则以乙状结肠部的管状腺瘤居多。

陶文武, 高峰. 无症状体检者结直肠息肉分布特征1990例. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1037-1041 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1037.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1037>

## 0 引言

随着中国经济的快速发展,人们的健康意识逐渐增强。许多单位或个人主动到医院参加健康体检,结肠镜已经成为部分医院的体检项目之一<sup>[1,2]</sup>。结肠镜检查作为结直肠疾病重要的检查手段,已经在临床广泛使用,其诊断和治疗价值已经得到充分肯定。现将2009-07-01/2013-06-30新疆维吾尔自治区人民医院消化科消化内镜中心的1990例健康体检者自愿到我院进行结肠镜检查的结果进行分析研究,以了解隐匿性结直肠疾病的发病情况。

## 1 材料和方法

1.1 材料 源自新疆维吾尔自治区人民医院消化

科内镜中心2009-07-01/2013-06-30行结肠镜检查的1990例无症状体检者。其中包括男性1183例,女性807例,汉族占1325例(66.5%),少数民族占665例(33.5%)。年龄(18-78)岁,中位数年龄49.6岁±8.2岁。其年龄分布如下:≤30岁58例(2.9%)、30-≤40岁组269例(13.5%)、40-≤50岁组823例(41.3%)、50-≤60岁组604例(30.3%)、>60岁组216例(10.8%)(图1)。

### 1.2 方法

1.2.1 排除标准: 虽无症状但有以下情况不入选:既往有结直肠疾病复查者;因血清肿瘤标志物升高而进行检查者;腹部手术后复查者(包括结直肠疾病术后复查者);有消化系遗传病家族史;有其他部位肿瘤者,无论原发或继发;通过其他检查(肛门指检、影像学检查等)疑诊结肠肛肠疾病行结肠镜检查为进一步明确病因者。

1.2.2 检查: 结肠镜检查前3 d进无渣饮食,检查前一天进流质饮食,检查当日晨起口服舒泰清(复方聚乙二醇电解质)和2 L冷开水或20%甘露醇500 mL和5%葡萄糖盐水500 mL进行清肠,同时为了防止因腹泻脱水,鼓励患者多饮水,下午进行结肠镜检查,术前禁食6 h以上。其中20例检查,因患者不能耐受,未能完成全结肠检查(即有20例因患者无法耐受或进镜反应剧烈,结肠镜未到达回盲瓣部,>50岁以上者13例,≤50岁以下者7例)。采用Olympus260型电子结肠镜检查。

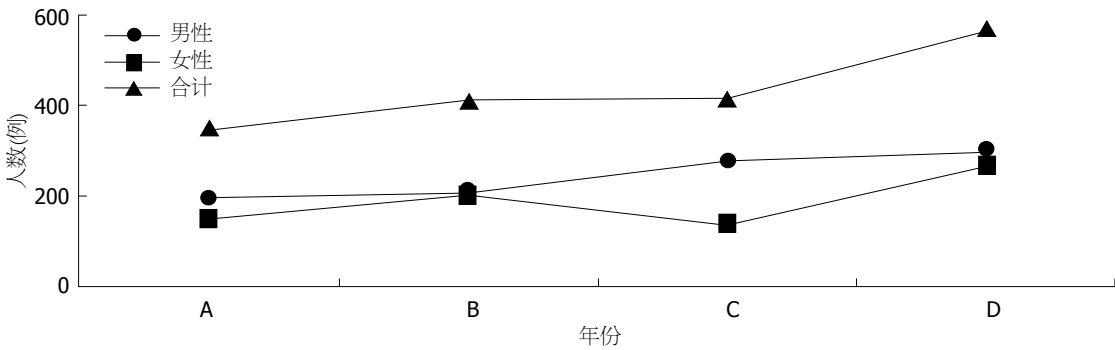
**统计学处理** 资料均采用SPSS16.0软件进行相关数据处理。患病部位组间、性别组间、年龄组间比较的统计学方法是 $\chi^2$ 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 体检者结肠镜检查 在1990例中,60.9%(1213例)未见明显异常(未发现任何结直肠黏膜或结肠内病变者,不包括肛管及肛门疾病),即结肠镜体检阳性率为39.1%。如表1所示,结直肠异常表现包括:结直肠息肉376例(18.8%),结直肠癌10例(0.5%),结直肠慢性炎410例(17.3%),结肠黑病变38例(1.9%),结直肠憩室27例(1.3%)。

376例结直肠息肉患者共检出息肉571枚,具体性别、部位、年龄分布情况如表2。结直肠高级别上皮内瘤变腺瘤(包括局部高级别腺瘤)18例(0.91%),在年龄方面差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。571枚息肉中,病理类型如下:管状腺瘤310(60.1%),绒毛状腺瘤67(1.3%),管状-绒毛状腺瘤11(2.3%),锯齿状腺瘤2(0.3%),增生性息





**■ 相关报道**  
研究亮点: (1)探讨无症状人群进行结肠镜体检的必要性; (2)无症状人群结肠镜体检起始年龄(50岁以上); (3)无症状人群疾病分布特征。李景南的研究表明:在我国开展全面大肠癌筛查尚有一定难度,在健康体检人群中采用高危问卷调查,有助指导选择结肠镜检查人群,提高结肠镜检查的针对性,高危问卷调查表+结肠镜是一种有效、可行的大肠癌筛查方法。

图 1 不同年份自愿进行结肠镜检查人数. A: 2009-07-01/2010-06-30; B: 2010-07-01/2011-06-30; C: 2011-07-01/2012-06-30; D: 2013-07-01/2012-06-30.

表 1 结直肠息肉检出率比较 $n(\%)$							
分组	$n$	结直肠息肉	$\chi^2$	$P$ 值	结直肠高危腺瘤	$\chi^2$	$P$ 值
性别			52.65	<0.001		0.455	>0.05
男	1183	286(24.1)			15(1.2)		
女	807	90(11.2)			7(1.0)		
族别			6.412	<0.05		0.607	>0.05
汉族	1325	236(17.8)			19(1.4)		
维吾尔族	267	37(13.8)			3(1.1)		
哈萨克族	46	5(6.0)			0(0)		
年龄(岁)			58.065	<0.001		11.509	<0.01
≤30	58	4(6.8)			0(0)		
30-40	279	25(8.9)			1(0.35)		
40-49	826	135(16.3)			3(0.36)		
50-59	608	152(25.0)			14(2.3)		
≥60	219	70(31.9)			4(2.1)		
检出部位息肉数(枚)	571		9.270	<0.002		0.052	>0.05
右半结肠	177	116(30.9)			7(3.9)		
左半结肠	257	260(69.1)			15(5.8)		

肉(14.2%), 炎性息肉(15.6%); 结直肠息肉检出部位如下: 升结肠119( 23.1%), 58横结肠(1.3%), 降结肠122(23.6%), 乙状结肠及直肠217(42%)。由此可见: 分布于直肠、乙状结肠且病理类型以管状腺瘤者较多。

2.2 结肠息肉相关特点

2.2.1 年龄分布特点: 男性1183例, 女性807例, 中位年龄49.6岁±8.2岁(如图1)。年龄与结直肠息肉检出率的关系及年龄分布: 40-60岁之间中老年人群结直肠息肉检出率最高, 占总检出率67.8%, 4个年龄段结直肠息肉检出率差异具有统计学意义( $P<0.001$ )。如表2所示, 结直肠息肉的检出率随年龄的增长而升高, 年龄≥50岁和年龄<50岁人群相比, 结直肠息肉的检出率明显升高( $P<0.05$ )。50-59岁年龄组高危腺瘤检出率高于

其余4个年龄组, 差异具有统计学意义( $P<0.01$ )。

2.2.2 性别特点: 1183例男性中共检出结直肠息肉286例(24.1%), 797例女性中检出结直肠息肉90例(11.2%), 男性结直肠息肉检出率高于女性, 差异具有统计学意义( $P<0.001$ )。

2.2.3 检出部位特点: 376例结直肠息肉患者中, 左半结肠检出257枚(69.1%), 右半结肠检出177枚(30.9%)。远端结肠息肉检出率要高于近端结肠部者(左半结肠定义为盲肠、升结肠、肝曲、横结肠、脾曲; 右半结肠定义为降结肠、乙状结肠、直肠), 差异具统计学意义( $P<0.002$ )。

2.2.4 种族间特点: 1990例体检者中, 汉族和维吾尔族分别检出结直肠息肉236例(17.8%)、37例(13.8%), 哈萨克族检出结直肠息肉5例(6%), 汉族结直肠息肉检出率高于少数民族, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。

## ■创新盘点

研究样本量较大, 真实性较好; 本文研究显示汉族、维吾尔族、哈萨克族无症状人群大肠息肉的分布具有明显性别、年龄、种族趋势。

表 2 1990例无症状体检者检出病变分布基本特征

分组	男/女(例)	汉/维吾尔族(例)	年龄(岁)(mean ± SD)	≤40岁n(%)	40-60岁n(%)	≥60岁n(%)	合计n(%)
结直肠息肉	286/90	239/36	18-78(49.5 ± 5.2)	33(10.0)	287(20.0)	70(32.4)	376(18.9)
结直肠癌	7/3	6/4	43-79(62.1 ± 4.4)	0(0)	7(0.49)	3(0.21)	10(0.5)
结肠黑病变	6/32	24/11	39-64(52.6 ± 4.6)	1(0.30)	32(2.24)	5(2.30)	38(1.3)
结直肠慢炎	196/160	223/49	18-78(48.5 ± 5.8)	20(6.1)	234(16.3)	72(33.3)	326(17.3)
结直肠憩室	11/16	19/8	32-64(47.3 ± 6.2)	2(0.61)	21(1.47)	4(1.85)	27(1.3)
阴性	794/419						1213(60.9)

## 3 讨论

随着中国经济的发展, 人们的健康意识增强, 本次调查研究显示自愿接受结肠镜体检人数逐年增多, 男性略多于女性(图1)。从本文结果来看, 无症状>50岁中老年人群肠息肉检出率高于50岁以下人群( $P<0.05$ ), 这也进一步提示50岁以上中老年人结肠镜检查的重要性。男性结肠息肉的检出率(24.1%)则远远高出女性(11.2%); 这也与相关文献相符<sup>[3-5]</sup>。20例患者因无法耐受或进镜反应剧烈至结肠镜未到达回盲瓣部(>50岁以上者13位, ≤50岁以下者7位), 可能提示对于老年患者进行结肠镜检查, 应适当考虑年龄、体质能否耐受。

从所检出的结直肠息肉的病变部位来看, 左半肠息肉多于右半结肠, 且肿瘤性息肉多于非肿瘤性息肉, 这与相关文献报道结果相近<sup>[6,7]</sup>。结直肠腺瘤是结直肠癌最主要的癌前病变, 因具有向结直肠癌转化的高风险性<sup>[8]</sup>, 临床医师对此类息肉必须加以足够的重视, 并建议此类非瘤性息肉结肠镜体检者需定期随访。国内外相关报道, 约有50%-70%的肠癌来自于腺瘤性息肉, 而其癌变发生率大约在3.0%-9.5%左右<sup>[9]</sup>。其中又以绒毛状腺瘤癌变率最高, 可达30%-70%之间<sup>[10]</sup>。因此, 临床医师应对所发现的息肉进行仔细观察, 并应尽量行息肉切除术, 并全瘤送检, 预防其癌变。Levin等<sup>[11]</sup>制定的结直肠癌及结直肠的筛选准则建议健康体检者结肠镜筛查的起始年龄为50岁。韩英<sup>[12]</sup>研究提出, 对于40岁以上人群, 由于大肠癌和癌前病变发病率较高, 进行结肠镜体检更好。

汉族人结直肠息肉的检出率要高于其他少数民族( $P<0.05$ )。但与Bygone等<sup>[13]</sup>进行的亚洲多中心多国家(18.5%)及美国西雅图(20.7%)无症状人群的结肠镜检查结果比较, 中国新疆地区结直肠息肉的检出率较低。其原因可能与民族间的生活方式及饮食习惯、地域、种族因素有

关, 如汉族人对蛋白、精细食品、动物脂肪等摄入量偏多, 工作压力大、不健康的生活方式等诸多因素有关。

检出结直肠癌10例(0.5%), 高分化腺癌2例, 中分化腺癌7例, 低分化腺癌1例, 年龄在43-78岁之间。Lieberman等<sup>[14]</sup>研究表明健康无症状体检人群中, 结直肠癌检出率为0.5%-1%, 与我们此次研究数据相符。左半结肠息肉检出率高于右半结肠( $P<0.002$ )。但是, 右半结肠的结直肠癌检出率(0.15%), 体现了全结肠镜检查在结直肠癌筛查中的重要性, 非全结肠镜检查可能导致结肠癌漏诊。

总之, 无症状人群大肠息肉的检出率具有性别、年龄、种族趋势。结直肠癌是目前世界公认的可通过有效手段干预降低病死率的恶性肿瘤。中国国家肿瘤登记中心报道<sup>[15]</sup>, 1991-2005年结直肠癌是发病率上升速度最快的三恶性肿瘤之一。人们体检的最主要目的之一就是肿瘤筛查, 而体检检查的常规肿瘤标志物, 如癌胚抗原(carcinogen-embryonic antigen, CEA)等无法有效的发现结直肠息肉和结直肠癌。早期结直肠癌及肠息肉多无症状, 体检人群中结合高危问卷调查<sup>[16]</sup>, 有助提高结肠镜检查的针对性。由于经济、地域等因素限制, 无症状人群结肠镜体检的经济效益和社会效益需进一步调查研究, 其能否作为常规体检项目尚需进一步探讨, 但本组研究显示无症状人群结肠镜体检对早期结直肠肿瘤的发现及治疗有重要意义。

## 4 参考文献

- 雷涛, 陈万青, 张思维, 雷通海, 应倩, 何兆毅, 汪祥辉. 1988-2002年中国10个市县大肠癌的流行特征. 中华肿瘤杂志 2009; 31: 428-433
- 李世荣. 现阶段我国大肠癌筛查策略的思考. 胃肠病学和肝病学杂志 2008; 17: 261-262
- Oberwalder M, Zitt M, Wöntner C, Fiegl H, Goebel G, Zitt M, Köhle O, Mühlmann G, Ofner D, Margreiter R, Müller HM. SFRP2 methylation in fecal DNA--a marker for colorectal polyps. *Int J Colorectal*

- Dis 2008; 23: 15-19 [PMID: 17639423 DOI: 10.1007/s00384-007-0355-2]
- 4 Wang DR, Tang D. Hypermethylated SFRP2 gene in fecal DNA is a high potential biomarker for colorectal cancer noninvasive screening. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 524-531 [PMID: 18203283]
  - 5 Glöckner SC, Dhir M, Yi JM, McGarvey KE, Van Neste L, Louwagie J, Chan TA, Kleeberger W, de Bruine AP, Smits KM, Khalid-de Bakker CA, Jonkers DM, Stockbrügger RW, Meijer GA, Oort FA, Iacobuzio-Donahue C, Bierau K, Herman JG, Baylin SB, Van Engeland M, Schuebel KE, Ahuja N. Methylation of TFP12 in stool DNA: a potential novel biomarker for the detection of colorectal cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 4691-4699 [PMID: 19435926 DOI: 10.1158/0008-5472]
  - 6 Kronborg O, Ugstad M, Fuglerud P, Johne B, Hardcastle J, Scholefield JH, Vellacott K, Moshakis V, Reynolds JR. Faecal calprotectin levels in a high risk population for colorectal neoplasia. *Gut* 2000; 46: 795-800 [PMID: 10807890 DOI: 10.1136/gut.46.6.795]
  - 7 Limburg PJ, Devens ME, Harrington JJ, Diehl NN, Mahoney DW, Ahlquist DA. Prospective evaluation of fecal calprotectin as a screening biomarker for colorectal neoplasia. *Am J Gastroenterol* 2003; 98: 2299-2305 [PMID: 14572583 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2003.07630.x]
  - 8 Haug U, Hundt S, Brenner H. Sensitivity and specificity of faecal tumour M2 pyruvate kinase for detection of colorectal adenomas in a large screening study. *Br J Cancer* 2008; 99: 133-135 [PMID: 18542075]
  - 9 Locker GY, Hamilton S, Harris J, Jessup JM, Kemeny N, Macdonald JS, Somerfield MR, Hayes DF, Bast RC. ASCO 2006 update of recommendations for the use of tumor markers in gastrointestinal cancer. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5313-5327 [PMID: 17060676 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.2644]
  - 10 Habermann JK, Roblick UJ, Luke BT, Prieto DA, Finlay WJ, Podust VN, Roman JM, Oevermann E, Schiedeck T, Homann N, Duchrow M, Conrads TP, Veenstra TD, Burt SK, Bruch HP, Auer G, Ried T. Increased serum levels of complement C3a anaphylatoxin indicate the presence of colorectal tumors. *Gastroenterology* 2006; 131: 1020-1029; quiz 1284 [PMID: 17030172 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.07.011]
  - 11 Levin B, Lieberman DA, McFarland B, Andrews KS, Brooks D, Bond J, Dash C, Giardiello FM, Glick S, Johnson D, Johnson CD, Levin TR, Pickhardt PJ, Rex DK, Smith RA, Thorson A, Winawer SJ. Screening and surveillance for the early detection of colorectal cancer and adenomatous polyps, 2008: a joint guideline from the American Cancer Society, the US Multi-Society Task Force on Colorectal Cancer, and the American College of Radiology. *Gastroenterology* 2008; 134: 1570-1595 [PMID: 18384785 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.02.002]
  - 12 韩英, 李世荣. 大肠癌, 筛查方法和模式及现阶段我国筛查策略的思考. *中华内科杂志* 2010; 49: 731-732
  - 13 Byeon JS, Yang SK, Kim TI, Kim WH, Lau JY, Leung WK, Fujita R, Makharia GK, Abdullah M, Hilmi I, Sollano J, Yeoh KG, Wu DC, Chen MH, Kongkam P, Sung JJ. Colorectal neoplasm in asymptomatic Asians: a prospective multinational multicenter colonoscopy survey. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 1015-1022 [PMID: 17531636 DOI: 10.1016/j.gie.2006.12.065]
  - 14 Lieberman DA. Clinical practice. Screening for colorectal cancer. *N Engl J Med* 2009; 361: 1179-1187 [PMID: 19759380]
  - 15 陈竺. 全国第三次死因回顾抽样调查报告. 北京: 中国协和医科大学出版社, 2008: 28-39
  - 16 李景南. 重视健康体检人群中结直肠癌筛查. *中国肿瘤* 2013; 22: 81-82

#### 同行评价

无症状体检人群结肠镜检查能否作为常规项目有待进一步调查研究, 中国无症状人群结肠镜体检起始年龄>50岁, 结合高危调查表, 可提高结肠镜检查针对性, 50岁以上无症状人群进行结肠镜检查, 对于筛查早期结肠癌前病变及预防结肠肿瘤具有一定意义。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





## III期直肠癌患者中临床预后的多因素Logistic回归分析

许进军, 甘宁

### ■背景资料

直肠癌的分型中大体分型分为肿块型、浸润型及溃疡型3种。肿块型因生长缓慢,多以梗阻症状为主,在III期直肠癌的预后效果最好。浸润型的癌肿多沿常闭浸润,使肠腔狭窄,转移早而愈合差。溃疡型为最多见的直肠癌,其形状为圆形或椭圆形向肠腔深处生长并向周围浸润,早期伴有溃疡,容易出血,分化程度低,转移较早。对于III期直肠癌患者中,其肿瘤的大体分型已难以满足其预后的判断,即便生长缓慢的肿块型亦有转移的病例,出现预后较差,导致死亡的病例亦不罕见。

### ■同行评议者

许剑民,教授,上海市复旦大学附属中山医院普外科

许进军, 甘宁, 湖北省肿瘤医院中西医结合科 湖北省武汉市430034

许进军, 主治医师, 主要从事晚期肿瘤的临床与基础研究。

作者贡献分布: 此课题由许进军设计; 研究过程由许进军与甘宁实施完成; 数据分析由甘宁完成; 本论文写作由许进军与甘宁共同完成。

通讯作者: 许进军, 主治医师, 430034, 湖北省武汉市卓尔泉南路116号, 湖北省肿瘤医院中西医结合科。

penlink1975@sina.com

电话: 027-87670032

收稿日期: 2013-12-07 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-08

### Multivariate Logistic regression analysis of prognostic factors for stage III rectal cancer

Jin-Jun Xu, Ning Gan

Jin-Jun Xu, Ning Gan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, Wuhan 430034, Hubei Province, China

Correspondence to: Jin-Jun Xu, Attending Physician, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Hubei Cancer Hospital, 116 Zhuodaoquan South Road, Wuhan 430034, Hubei Province, China. penlink1975@sina.com

Received: 2013-12-07 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-08

### Abstract

**AIM:** To analyze prognostic factors for stage III rectal cancer by multivariate Logistic regression analysis.

**METHODS:** Clinical data for 198 patients with stage III rectal cancer who underwent radical resection from June 2013 to June 2008 were analyzed retrospectively. Univariate and multivariate regression analyses were conducted to investigate the relationship of age, gender, gross type, TNM stage, lymph node metastasis, pathological type with prognosis. The patients were divided into two groups based on the extent of lymph node metastasis (33.9% as cutoff) to assess the relationship between lymph node metastasis and postoperative survival.

**RESULTS:** Univariate regression analysis in-

dicated that age, TNM stage, pathological type and lymph node metastasis were factors significantly affecting prognosis of stage III rectal cancer. Multivariate regression analysis indicated that the extent of lymph node metastasis, not age, sex, TNM stage, and pathological type, was an independent predictor of survival of patients with stage III colorectal cancer.

**CONCLUSION:** Lymph node metastasis is an important predictor of prognosis of stage III rectal cancer.

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

Key Words: Rectal cancer; Lymph node ratio; Prognosis

Xu JJ, Gan N. Multivariate Logistic regression analysis of prognostic factors for stage III rectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(7): 1042-1046 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1042.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1042>

### 摘要

**目的:** 多因素Logistic回归分析III期直肠癌患者的临床预后因素。

**方法:** 回顾性分析2008-06/2013-06随访的我院行直肠癌根治术的III期直肠癌患者198例, 对其年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病理分型等情况进行单因素及多因素的系统回归分析, 以检出的平均淋巴结转移度33.9%为界, 分为两组, 随访不同淋巴结转移度术后的总生存率, 预测淋巴结转移度的临床预后价值。

**结果:** 单因素回归分析提示年龄、TNM分期、术后病理分型、淋巴结转移度等为III期直肠癌患者预后生存率的重要因素。而年龄、性别、TNM分期、术后病理分型等情况不能作为III期直肠癌预后的临床预测指标。淋巴结转移度不同的两组分析提示淋巴结转移度的大小与总生存率相关。

**结论:** III期直肠癌患者中淋巴结转移度有相当重要的临床预后预测价值。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 直肠癌; 淋巴结转移度; 预后

**核心提示:** 本研究选择2008-06/2013-06在我院行直肠癌根治手术患者198例, 进行回顾性分析, 对其年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病理分型等情况进行统计分析并纳入到回归分析, 达到分析临床预后价值的指标, 有助于进一步指导临床工作.

许进军, 甘宁. III期直肠癌患者中临床预后的多因素Logistic回归分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1042-1046 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1042.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i7.1042>

## 0 引言

直肠癌是目前较为常见的消化系恶性肿瘤, 病因尚不明确, 但此病淋巴结的转移为其最主要的转移途径. 早期发现、早期手术治疗仍为提高5年生存率的重要方法. 但如何评价III期直肠癌患者临床预后, 仍尚未明确. 选择2008-06/2013-06在我院行直肠癌根治手术患者198例, 进行回顾性分析, 对其年龄、性别、大体分型、TNM分期、淋巴结转移度、病理分型等情况进行统计分析并纳入到回归分析, 达到分析临床预后价值的指标, 有助于进一步指导临床工作.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2008-06/2013-06于我院随访完全的行直肠癌根治术的III期直肠癌患者198例, 进行回顾性分析. 男性98例, 女性100例, 男女比例为0.98:1; 年龄24-89岁, 平均60岁 $\pm$ 5岁, 肿块型52例, 浸润型53例, 溃疡型93例; 腺癌128例, 腺鳞癌51例, 未分化癌19例; TNM分期T1-T2患者28例, T3-T4患者170例, N1患者120例, N2患者78例. 淋巴结转移共清扫了2919个淋巴结, 其中转移淋巴结990个, 平均淋巴结转移度33.9%. 按LNR高于33.9%的131例为观察组, LNR低于33.9%的67例为对照组.

**1.2 方法** 通过出院后的电话随访、门诊复诊, 邮寄挂号信等方式对患者进行多个渠道的术后随访. 全部198例获得中, 其中18例随访丢失, 180例获得完全随访, 随访时间为6-60 mo, 平均30 mo. 统计末次随访时患者复发及转移等情况, 统计至随访终结时患者的生存率.

**统计学处理** 将患者年龄、性别、大体分

型、TNM分期、淋巴结转移度、病理分型等情况进行单因素系统回归分析. 同时对其多因素的系统进行建模赋值, 对其进行检验及OR值统计, 使用SPSS15.0软件进行分析. 数值采用mean $\pm$ SD表示. 将单因素Logistic回归分析 $P<0.05$ 的应变变量带入多因素Logistic回归分析, 采用Wald检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ . 按平均淋巴结转移度33.9%为界限, 分为两组, 统计两组不同淋巴结转移度5年生存率, 进行统计学分析采用 $t$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 两组生存率情况** 观察组LNR高于33.9%的122例, 5年生存者为51例, 生存率为42%, 对照组LNR低于33.9%的58例, 5年生存者为48例, 生存率83%. 两组比较时 $P<0.05$ , 差异有统计学意义. 截止末次随访时, 随访丢失18例, 总生存率55%(图1).

**2.2 单因素回归分析** 大体分型、TNM分期、淋巴结转移度及病理分型与III期直肠癌患者的预后有线形相关( $P<0.05$ ), 有统计学意义. 而年龄与性别III期直肠癌患者的预后无线形相关( $P>0.05$ )无明显统计学意义.

**2.3 多因素Logistic回归分析** 将年龄、性别、大体分型、TNM分期、病理分型、淋巴结转移度其相关因素带入多因素Logistic回归分析, 采用Wald  $\chi^2$ 检验, 检验水准 $\alpha=0.05$ 时, 我们发现淋巴结转移度的 $P=0.014$ , 对建模有贡献, 有统计学意义, 因此我们认为淋巴结转移度在III期直肠癌的预后判断中有明确的统计学相关意义. 而年龄、性别、大体分型、TNM分期、病理分型等因素的回归分析中 $P>0.05$ , 无明显统计学意义, 对预后的判断暂无统计学意义(表1, 2).

**2.4 淋巴结转移度的卡方检验** 将总淋巴结阳性率/淋巴结总送检率的指标淋巴结转移度进行分组, 淋巴结转移度 $>0.339$ 的观察组131例, 与对照组的淋巴结转移度 $<0.339$ 的67例进行分析, 发现观察组与对照组的总生存率存在统计学意义( $P<0.05$ , 表2).

## 3 讨论

**3.1 肿瘤大体分型指标在III期直肠癌患者预后中意义** 直肠癌的分型中大体分型分为肿块型、浸润型及溃疡型3种. 肿块型因生长缓慢, 多以梗阻症状为主, 在III期直肠癌的预后效果最好. 浸润型的癌肿多沿常闭浸润, 使肠腔狭窄, 转移早而

### ■ 研发前沿

直肠癌是目前较为常见的消化系恶性肿瘤, 病因尚不明确, 但此病淋巴结的转移为其最主要的转移途径. 早期发现、早期手术治疗仍为提高5年生存率的重要方法. 但如何评价III期直肠癌患者临床预后, 仍尚未明确.

## ■相关报道

研究表明因黏膜层中无淋巴供应及分布,故当直肠癌位于黏膜层时难于发生淋巴转移,而癌细胞侵犯浆膜层后其下存在较多的血管神经、淋巴管、组织液等分布,故出现转移的几率大大增加。

表 1 III期直肠癌相关因素与赋值

因素	变量名	赋值
性别	X1	男 = 1, 女 = 2
年龄	X2	24-48 = 1, 48-60 = 2, >60 = 3
大体分型	X3	肿块型 = 1, 浸润型 = 2, 溃疡型 = 3
TNM分期	X4	T1-T2 = 1, T3-T4 = 2, N1 = 1, N2 = 2
淋巴结转移度	X5	<0.339 = 1, >0.339 = 2
病理分型	X6	腺癌 = 1, 腺鳞癌 = 2, 未分化癌 = 3
III期直肠癌	Y	

表 2 回归系数估计及检验和OR值

因素	b	SE(b)	Wald $\chi^2$	P值	b <sup>2</sup>	OR
常数项	10.984	3.955	9.784	0.000		
性别	0.269	0.134	3.987	0.098	0.478	1.300
年龄	0.079	0.036	2.072	0.194	0.454	1.901
大体分型	2.564	1.463	3.681	0.101	0.657	2.965
TNM分期	-1.679	0.863	2.177	0.173	-0.389	0.498
淋巴结转移度	3.861	1.946	6.762	0.014	0.899	6.945
病理分型	1.239	0.794	2.873	0.123	0.562	3.631

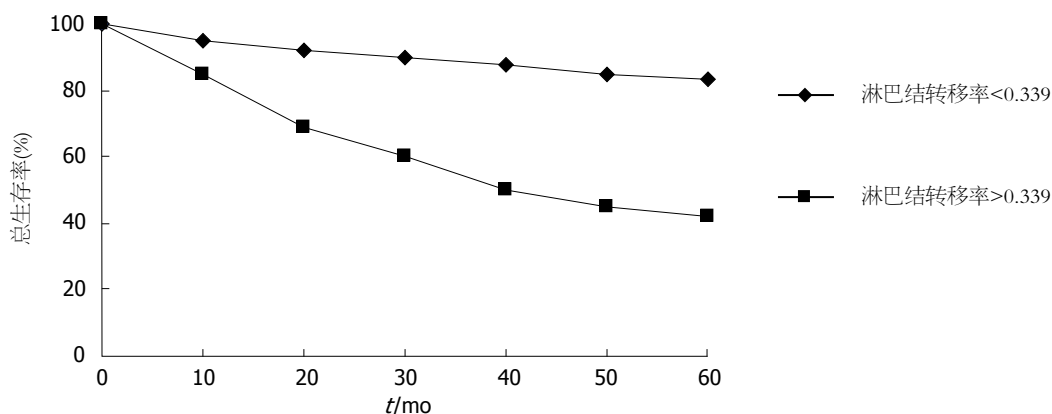


图 1 III期淋巴结转移度总生存率比较

愈合差。溃疡型为最多见的直肠癌,其形状为圆形或椭圆形向肠腔深处生长并向周围浸润,早期伴有溃疡,容易出血,分化程度低,转移较早。对于III期直肠癌患者中,其肿瘤的大体分型已难以满足其预后的判断,即便生长缓慢的肿块型亦有转移的病例,出现预后较差,导致死亡的病例亦不罕见<sup>[1]</sup>。故肿瘤的大体分型仅能在外形上对其进行简单的分类,对临床症状的发生,病情变化,及诊断病情有相对重要的意义。对指导外科手术的切除范围,淋巴结浸润范围等情况有所指导,而对其预后的发展因素不起决定性作用,对其生存率及无病生存率无相关性影响。

3.2 术后病理分型对III期直肠癌患者预后中意义 显微镜下的术后病理分型大致分为腺癌、腺鳞癌、未分化癌3种类型。腺癌细胞主要是管状腺癌及乳头状腺癌,占75%-85%,癌细胞排列呈腺管或腺泡状以及乳头状结构排列,其分为高、中、低3种分化程度;而黏液性腺癌占10%-20%,由分泌黏液的癌细胞构成,癌细胞内含大量黏液恶性程度高。仍有罕见的印戒细胞癌,恶性程度高,预后差。而腺鳞癌主要由腺癌细胞及鳞癌细胞构成,分化多为中分化至低分化,较少见。未分化癌的细胞排列无规律,癌细胞形态较一致,预后差。在术后病理分型中牵



涉较多的均为分化程度, 而具体病理类型对直肠癌患者的预后有一定的影响, 而最后的判断渠道为其分化的高、中、低3种程度. 分化程度低的, 预后差. 癌细胞的分化程度是由癌基因及抑癌基因共同表达的产物, 而分化程度低的癌基因表达旺盛, 通常转移后造成的转移细胞的癌基因亦旺盛表达<sup>[2]</sup>. 有学者研究表明, 丢失基因、增殖细胞核抗原及表皮生长因子基因的异常表达直接影响着分化程度<sup>[3]</sup>. 而对于这三种病理分型在手术中我们亦可以发现分化程度高的肿瘤, 境界相对较为清楚, 在根治手术时, 切除范围境界较为明显, 较为简单; 而分化程度低的肿瘤, 境界难于分清, 癌肿黏连, 血供丰富, 组织易出血, 游离时风险较大, 甚至有的侵犯大血管及神经, 难于分离, 此类预后通常较差.

**3.3 TNM肿瘤分型及CEA指标在III期直肠癌患者预后中意义** 经典的TNM肿瘤分型本身就指导着III期直肠癌的分型及预后. 研究表明因黏膜层中无淋巴供应及分布, 故当直肠癌位于黏膜层时难于发生淋巴转移, 而癌细胞侵犯浆膜层后其下存在较多的血管神经、淋巴管、组织液等分布, 故出现转移的几率大大增加<sup>[4]</sup>. 多数III期直肠癌患者存在淋巴结的转移, 通过手术治疗后的放化疗, 却获得良好的预后<sup>[5]</sup>. 故目前TNM分型对患者预后的指导性依然存在, 但对于其独特性需要进一步探讨研究, 同时需要积极找寻其他因素予以辅助判断预后的情况. 癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)为大肠癌组织可产生一种糖蛋白, 作为抗原引起患者的免疫反应. 此种抗原称为CEA, 可广泛存在于内胚叶起源的消化系统癌, 也存在于正常胚胎的消化管组织中, 在正常人血清中也可有微量存在. 癌胚抗原是一个广谱性肿瘤标志物, 他能向人们反映出多种肿瘤的存在, 对大肠癌、乳腺癌和肺癌的疗效判断、病情发展、监测和预后估计是一个较好的肿瘤标志物, 但其特异性不强, 灵敏度不高, 对肿瘤早期诊断作用不明显. 目前公认的在大肠癌诊断和术后检测有意义, 但主要用于预后及复发的监测.

**3.4 淋巴转移度检测的意义优势及临床使用情况** 以往经典的理论认为淋巴系统是抵抗肿瘤的第一道防线. 而淋巴结的转移通常直接导致直肠癌患者的复发和术后的死亡. 目前淋巴结转移已成为影响直肠癌的预后及生存的最关键因素, 而因为手术操作熟练程度, 技术水平及术后

病理标本检查水平各个医院的淋巴结送检数量和检出阳性结果的多少结果相差较大. 虽然有学者研究表明有无淋巴结转移3-5年的生存率存在差异, 但出现多少个淋巴结转移的概念仍未情况. 有统计学研究<sup>[6]</sup>表明清理>12枚淋巴结才能界定; 也有相反的研究资料. 故淋巴结转移度(lymph node ratio, LNR)的概念应运而生, 其最早在胃癌中被发现, 即送检淋巴结中转移淋巴结的数量/全部被检查淋巴结的比值<sup>[7]</sup>. 此项研究在III期直肠癌的预后判断中有明显的效果, 其结果越低, III期直肠癌患者的预后越好; 其结果越高, III期直肠癌患者的预后越差. 合并TNM分期后检测的准确率达到90%以上, 应该被判定为强有力的预后因素之一<sup>[8]</sup>. 在我们医院的资料中, 一共统计了2919个淋巴结, 其中转移淋巴结990个, 总的平均淋巴结转移度为33.9%. 淋巴结转移度避开了患者单个个体因素, 不具有绝对的意义, 可以避免个体因素造成的差异, 在临床预测预后中起到指导意义.

**3.5 淋巴结转移度高低对预后检测的意义** 我们发现其淋巴结转移度的高低对III期直肠癌的预后有直接的关系. 5年的总生存率上存在明显的统计学差异. 但多少的淋巴结转移度为决定性因素目前尚在研究中<sup>[9-12]</sup>, 我院随访的平均淋巴结转移度为0.339, 有学者研究数据为0.467, 当然各个医院的淋巴结转移度也各异, 其统计学意义表明, 淋巴结转移度的测定已成为III期直肠癌中预后判断的重要指标之一, 其相关性获得临床及统计学数据的支持. 淋巴结转移度越高, 其预后越差, 5年生存率低; 淋巴结转移度越低, 其预后越好, 5年生存率高<sup>[13-15]</sup>. 淋巴结清理数量的多少并不能直接导致淋巴结转移度的高低, 这同时表明, 淋巴结转移度的意义明显高于转移淋巴结的数量. 仅对III期直肠癌的预后其重要判断作用. 虽然现今的治疗肿瘤方法多种多样, 术后的辅助放化疗及生物物理治疗等层出不穷, 但淋巴结转移度的指标应逐渐推广, 并成为预后生存率的重要判断指标之一.

总之, LNR是评价III期直肠癌患者中临床预后的重要因素之一, 合并TNM分型后能更加准确的判断其预后情况. 但仍需要进一步的大样本的分析及多中心研究对照分析.

## 4 参考文献

- 1 Priolli DG, Cardinalli IA, Pereira JA, Alfredo CH, Margarido NF, Martinez CA. Metastatic lymph

## ■同行评价

本研究选题实用, 结果可靠, 具有一定的学术价值.

- node ratio as an independent prognostic variable in colorectal cancer: study of 113 patients. *Tech Coloproctol* 2009; 13: 113-121 [PMID: 19484349 DOI: 10.1007/s10151-009-0467-5]
- 2 Choi PW, Yu CS, Jang SJ, Jung SH, Kim HC, Kim JC. Risk factors for lymph node metastasis in sub-mucosal invasive colorectal cancer. *World J Surg* 2008; 32: 2089-2094 [PMID: 18553050 DOI: 10.1007/s00268-008-9628-3]
- 3 Yildirim E, Berberoglu U. Lymph node ratio is more valuable than level III involvement for prediction of outcome in node-positive breast carcinoma patients. *World J Surg* 2007; 31: 276-289 [PMID: 17219275]
- 4 Ricciardi R, Madoff RD, Rothenberger DA, Baxter NN. Population-based analyses of lymph node metastases in colorectal cancer. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1522-1527 [PMID: 16979956]
- 5 Derwinger K, Kodeda K, Bexé-Lindskog E, Taflin H. Tumour differentiation grade is associated with TNM staging and the risk of node metastasis in colorectal cancer. *Acta Oncol* 2010; 49: 57-62 [PMID: 20001500 DOI: 10.3109/02841860903334411]
- 6 Peeples C, Shellnut J, Wasvary H, Riggs T, Sacksner J. Predictive factors affecting survival in stage II colorectal cancer: is lymph node harvesting relevant? *Dis Colon Rectum* 2010; 53: 1517-1523 [PMID: 20940600 DOI: 10.1007/DCR.0b013e3181f20116]
- 7 Ceelen W, Van Nieuwenhove Y, Pattyn P. Prognostic value of the lymph node ratio in stage III colorectal cancer: a systematic review. *Ann Surg Oncol* 2010; 17: 2847-2855 [PMID: 20559741 DOI: 10.1245/s10434-010-1158-1]
- 8 潘志忠, 张华. 结直肠癌患者淋巴结检数和淋巴结转移度的临床意义. *循证医学* 2009; 9: 155
- 9 Attaallah W, Gunal O, Manukyan M, Ozden G, Yegen C. Prognostic impact of the metastatic lymph node ratio on survival in rectal cancer. *Ann Coloproctol* 2013; 29: 100-105 [PMID: 23862127 DOI: 10.3393/ac.2013.29.3.100]
- 10 Noura S, Ohue M, Kano S, Shingai T, Yamada T, Miyashiro I, Ohigashi H, Yano M, Ishikawa O. Impact of metastatic lymph node ratio in node-positive colorectal cancer. *World J Gastrointest Surg* 2010; 2: 70-77 [PMID: 21160853 DOI: 10.4240/wjgs.v2.i3.70]
- 11 Persiani R, Rausei S, Biondi A, Boccia S, Cananzi F, D'Ugo D. Ratio of metastatic lymph nodes: impact on staging and survival of gastric cancer. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 519-524 [PMID: 17624713]
- 12 Berger AC, Watson JC, Ross EA, Hoffman JP. The metastatic/examined lymph node ratio is an important prognostic factor after pancreaticoduodenectomy for pancreatic adenocarcinoma. *Am Surg* 2004; 70: 235-240; discussion 240 [PMID: 15055847]
- 13 董凌敏, 谭洪育, 雍铁山, 严太平, 张和林. 淋巴结转移度与直肠癌生存率关系研究. *江西医药* 2011; 46: 892-894
- 14 邵小林, 韩洪秋, 何小玲, 付强, 吕永成, 刘刚. 淋巴结检出数和淋巴结转移度对 II-III 期结直肠癌患者预后的影响. *中华胃肠外科杂志* 2011; 14: 249-253
- 15 梁国林, 周红见, 梁君林, 高枫, 陈利生. 结直肠癌淋巴结转移度相关因素分析. *微创医学* 2010; 5: 220-222

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

## • 消息 •

## 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

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

# 以特殊症状首发起病的克罗恩病2例

杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红

杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红, 中国人民解放军第89医院消化内科 山东省潍坊市 261021

杨正德, 主要从事炎症性肠病的研究。

作者贡献分布: 杨正德立题、执笔; 张丽艳审校; 王德宇对起初立题给予指导, 并查阅大量文献, 提供了部分参考文献; 姚大鹏与付国静分别为第1例、第2例患者经治医生, 负责详细病史的整体把握; 李心红为内镜操作医师, 对内镜下表现、特点及后来的诊断提供参考文献。

通讯作者: 杨正德, 主任医师, 261021, 山东省潍坊市潍城区北宫西街256号, 中国人民解放军第89医院消化内科。

zdyang@sina.com

收稿日期: 2013-12-13 修回日期: 2013-12-28

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-08

## Crohn's disease with special symptoms as initial manifestations: Report of two cases

Zheng-De Yang, Li-Yan Zhang, De-Yu Wang, Da-Peng Yao, Guo-Jing Fu, Xin-Hong Li

Zheng-De Yang, Li-Yan Zhang, De-Yu Wang, Da-Peng Yao, Guo-Jing Fu, Xin-Hong Li, Department of Gastroenterology, the 89th Hospital of PLA, Weifang 261021, Shandong Province, China

Correspondence to: Zheng-De Yang, Chief Physician, the 89th Hospital of PLA, 256 Beigong West Street, Weicheng District, Weifang 261021, Shandong Province, China. zdyang@sina.com  
Received: 2013-12-13 Revised: 2013-12-28

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-08

## Abstract

Crohn's disease is a chronic granulomatous inflammatory disorder of unknown pathogenesis. It can affect the whole digestive tract from the mouth to the anus, but the lesion is mostly located in the terminal ileum and the adjacent colon. Typical symptoms are abdominal pain and diarrhea, but there exist some cases with special symptoms as initial manifestations. Here we report two such cases.

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

Key Words: Crohn's disease; Special symptoms

Yang ZD, Zhang LY, Wang DY, Yao DP, Fu GJ, Li

XH. Crohn's disease with special symptoms as initial manifestations: Report of two cases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(7): 1047-1050 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1047.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1047>

## 摘要

克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因不明的慢性肉芽肿性炎症, 从口腔到肛门各段消化道均可受累, 但病变多位于末端回肠及邻近结肠, 其他部位较少见, 主要表现为腹痛、腹泻, 症状一般较典型, 但临床上也可见以特殊症状起病的CD, 这就要求医生具有开阔的思维, 不能仅局限于出现症状的部位, 而要想到以特殊症状起病的其他疾病, 如以特殊症状起病的CD。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 克罗恩病; 特殊症状

核心提示: 克罗恩病(Crohn's disease, CD)是一种病因不明的慢性肉芽肿性炎症, 病变多位于末端回肠及邻近结肠, 其他部位较少见, 主要表现为腹痛、腹泻, 症状一般较典型, 但临床上也可见以特殊症状起病的CD, 这就要求医生具有开阔的思维, 不能仅局限于出现症状的部位, 而要想到以特殊症状起病的其他疾病, 如以特殊症状起病的CD。

杨正德, 张丽艳, 王德宇, 姚大鹏, 付国静, 李心红. 以特殊症状首发起病的克罗恩病2例. 世界华人消化杂志 2014; 22(7): 1047-1050 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1047.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i7.1047>

## 0 引言

克罗恩病(Crohn's disease, CD)一种病因不明的消化道慢性炎症性疾病<sup>[1]</sup>, 以腹痛、腹泻为主要表现, 可并发肠梗阻、肠瘘, 少数患者有关节、眼、皮肤等组织器官损害的表现. 我科收治2例分别以食道急性穿孔、急性胰腺炎起病的CD患者, 现报道如下。

## ■背景资料

克罗恩病(Crohn's disease, CD)临床较常见, 但以特殊症状起病的CD临床较少见, 诊断有一定的困难。

## ■同行评议者

李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医院消化科



# ■ 研究前沿

此文章报道了临床上罕见的以特殊症状起病的CD, 说明了CD在临床上发病的多样性, 对临床诊断有一定的帮助。

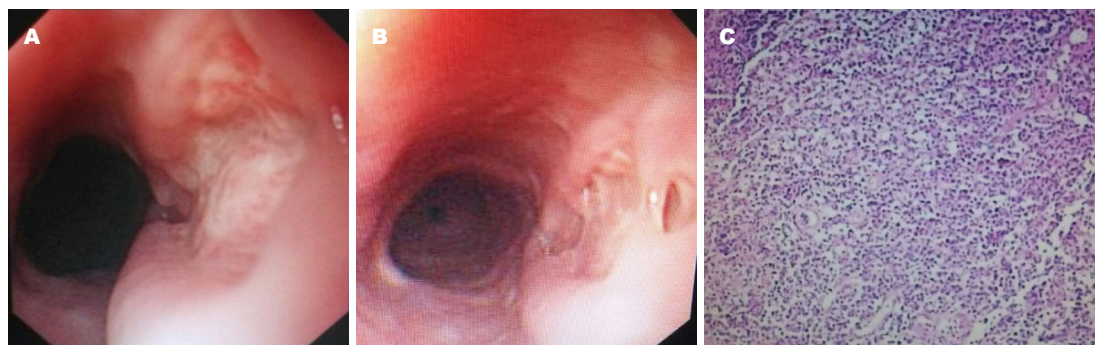


图1 病例1. A, B: 内镜下食管黏膜损伤照片(可见黏膜桥); C: 病理照片(HE染色,  $\times 100$ ).

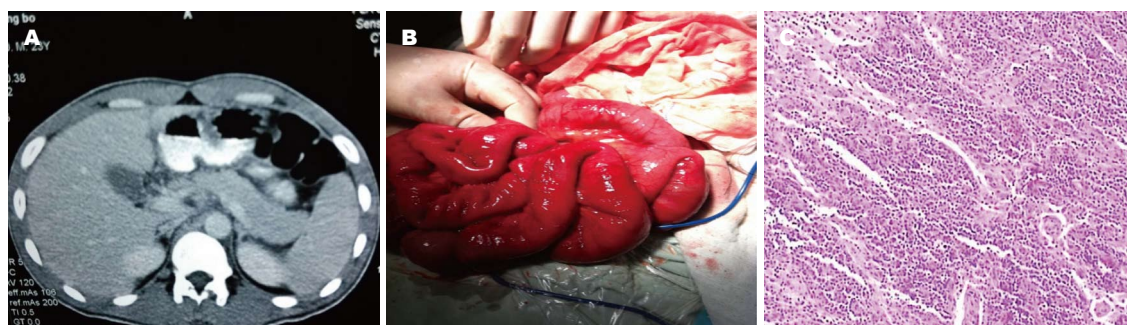


图2 病例2. A: 胰腺CT; B: 术中小肠图片; C: 小肠病理照片(HE染色  $\times 100$ ).

## 1 病例报告

病例1, 王某某, 女, 58岁, 因突发颈胸前疼痛、吞咽困难4 d于2012-09-27入院. 入院前4 d进食干饼时突然出现胸骨后持续性疼痛, 伴吞咽疼痛、吞咽困难, 2 d后出现颈前肿胀、发热, 体温 $38.2^{\circ}\text{C}$ . 既往无胸骨疼痛、吞咽不适病史. 入科查体: T  $38.8^{\circ}\text{C}$ , 急性痛苦面容颈前及锁骨上红肿、触痛, 余未见异常. 外周血白细胞(WBC) $12.3 \times 10^9/\text{L}$ , 嗜中性粒细胞比(GR)92%; 胸部CT: 咽喉后间隙及胸5水平以上椎前间隙弥漫性水肿、增厚, 散在类圆形低密度区, 提示咽后壁、喉后壁及后纵隔炎症, 局部小脓肿形成. 入科后诊断急性纵膈炎, 给予静滴头孢噻肟钠、左氧氟沙星抗感染治疗, 3 d后吞咽疼痛、颈胸前肿痛减轻, 1 wk后疼痛基本消失. 全消化系钡透检查示食道上段长约3 cm狭窄、并有一长径约1 cm不规则龛影, 余未见异常; 胸部CT示食道上段壁增厚, 原渗出吸收; 胃镜检查距门齿18-21 cm处黏膜不规则肿胀, 见 $1.5 \text{ cm} \times 0.8 \text{ cm}$ 不规则纵行深溃疡, 其下方有黏膜桥形成; 食道黏膜活检病理学检查: 大量淋巴细胞及少许中性粒细胞浸润, 并见一非干酪肉芽结节; 结肠镜检查回肠末段、直结肠未见异常; 裂隙灯检查

角膜正常. 最后诊断: 食道CD急性穿孔并上纵膈炎, 给服柳氮磺胺吡啶及强的松, 2 mo后渐停强的松, 柳氮磺胺吡啶维持, 至今无不适(图1).

病例2: 袁某某, 男, 23岁, 因“上腹痛、黑便2 d”于2013-01-26入院. 入院后胃镜检查见十二指肠球部多发性直径0.3-0.5 cm浅小溃疡、附白苔, 降段见散在片状糜烂, 按十二指肠球部溃疡予抑酸、黏膜保护剂治疗, 腹痛无缓解. 2013-01-31腹痛加剧, 出现左上腹压痛、反跳痛. 外周血WBC  $18.8 \times 10^9/\text{L}$ 、GR 85.4%, 血淀粉酶452 U/L, 尿淀粉酶1069 U/L; 腹部CT显示胰腺形态饱满, 胰周、双肾前间隙、腹膜后见液性密度影, 诊断急性胰腺炎. 给予禁食、胃肠减压, 静滴善宁、洛赛克、泰能等治疗, 病情仍渐加重. 2013-02-06起解暗红色黏液血便. 复查腹部强化CT: 胰腺体尾部明显肿胀, 胰周片状低密度影, 边界模糊, 肠管紊乱, 管壁不均匀增厚, 周边及腹膜后见液性密度影. 2013-02-09出现全腹痛, 腹部膨隆、有压痛及反跳痛, 腹腔穿刺液有核细胞数 $820 \times 10^6/\text{L}$ 、红细胞 $21240 \times 10^6/\text{L}$ 、李凡他试验阳性. 外科剖腹探查, 术中见: 距屈氏韧带约2.3 m以下小肠弥漫性充血、肿胀肠壁节段性增厚, 肠系膜根部及腹膜后多发淋巴结肿大.

淋巴结病理学检查为反应性增生. 术后诊断为CD(小肠型、初发型、重度、活动期), 予强的松40 mg/d, 美沙拉嗪缓释颗粒4 g/d治疗, 患者腹痛渐减轻至消失, 现维持治疗中, 无明显不适(图2).

## 2 讨论

CD是一种诊断、治疗均较困难的全消化系透壁性慢性炎症性疾病, 可累及自口腔至肛门的全消化道的任一段或多段, 65%以上累及回肠末段及邻近的结肠, 侵及上消化道者占全部病例的0.5%-13.0%, 多是胃、食道同时受累, 而单累及食道者少见, 临床上称之为食道克罗恩病(esophageal Crohn disease, ECD), 占CD的0.3%-2.0%. 常被误诊为食管溃疡、食管白塞氏病, 临床诊断较困难. 儿童ECD患者稍多于成人, 可达6.5%. 80% ECD发生在食道下1/3段, 15%在中段, 侵犯全食道者占5%, 累及食道近段者只有个案报道<sup>[2]</sup>. ECD主要症状是吞咽困难、吞咽疼痛, 少数患者可有食道-气管瘘、食道-纵隔瘘. 病例1患者病变位于食道上段, 既往无胸骨后不适、吞咽疼痛、吞咽困难等食道损伤的表现, 而以急性食道穿孔引起纵隔脓肿就诊, 尚未见类似文献报道. 临床上易被误诊为食管溃疡而给予抑酸药物治疗, 但效果往往较差, 对于按食管溃疡治疗但效果不佳的患者, 要想到行肠镜检查, 虽然可能无腹痛、腹泻等不适, 往往肠镜检查可见结肠病变, 如病理检查提示克罗恩, 则给我们的临床治疗可带来很大帮助.

ECD的一线治疗药物仍是5-ASA制剂及糖皮质激素. D'Haens等<sup>[3]</sup>报道63%ECD用5-ASA及糖皮质激素治疗2-4 wk后痊愈. 质子泵抑制剂有助于改善症状, 但不能单独用于治疗ECD. 6-巯基嘌呤、硫唑嘌呤及环孢素A等免疫调节剂可作为对糖皮质激素耐药或抵抗患者的二线治疗药物. 英夫利昔单抗及阿达木单抗均可快速减少炎症细胞浸润、促进溃疡愈合, 是中、重度患者及皮质激素抵抗或耐药者的理想选择. 约有30%患者可能有食道狭窄, 食道扩张及支架置入能显著改善症状<sup>[3,4]</sup>.

急性胰腺炎是CD患者一个少见的肠外并发症, 已有多项流行病学研究表明CD患者急性胰腺炎的发病率显著高于普通人群. 在瑞士、北日德兰半岛及丹麦的对照研究中发现CD患者患急性胰腺炎的危险性较普通人群高出3-4倍<sup>[5]</sup>. CD

患者并发急性胰腺炎的原因尚不明了, 可能是多方面的. Moolsintong等<sup>[6]</sup>观察分析了梅奥诊所1976-2001年收治的46例CD合并急性胰腺炎患者临床资料. CD诊断的年龄中位数是31岁(11-81岁), 急性胰腺炎诊断的年龄中位数是47岁(14-91岁), CD和急性胰腺炎确诊的时间间距中位数为7.7年(范围20-49年). 并发急性胰腺炎的可能病因分依次是胆结石(21%)、大量酒精摄入(15%)、摄入嘌呤类似物(13%)、克罗恩氏病累及十二指肠(12%)、外科手术后并发症(12%)、ERCP(10%)、使用其他药物(4%)和特发性(8%), 其他作者也有类似报道<sup>[7]</sup>. 本例患者既往身体健康, 无长期用药史, 而以急性胰腺炎突发起病, 临床罕见. 其发生胰腺炎的可能原因是十二指肠或临近胰腺的小肠受CD病变损害所致, 及可能之前即存在CD, 胰腺受CD变损害而发生炎症, 但该患者克罗恩的典型症状未表现, 而是以急性胰腺炎起病. 但该患者按急性胰腺炎治疗效果较差, 且出现暗红色黏液血便、全腹痛等症状加重现象, 外科剖腹探查发现克罗恩证据, 按CD治疗后患者症状逐渐缓解. 临床确属罕见. 临床上急性胰腺炎处理较简单, 但如果治疗效果差, 且出现外科手术指征需要剖腹探查时, 要想到CD的可能.

## 3 参考文献

- 1 Feagans J, Victor D, Joshi V. Crohn disease of the esophagus: a review of the literature. *South Med J* 2008; 101: 927-930 [PMID: 18708983 DOI: 10.1097/SMJ.0b013e31818047be]
- 2 Ebach DR, Vanderheyden AD, Ellison JM, Jensen CS. Lymphocytic esophagitis: a possible manifestation of pediatric upper gastrointestinal Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 45-49 [PMID: 20848529 DOI: 10.1002/ibd.21347]
- 3 D'Haens G, Rutgeerts P, Geboes K, Vantrappen G. The natural history of esophageal Crohn's disease: three patterns of evolution. *Gastrointest Endosc* 1994; 40: 296-300 [PMID: 8056231]
- 4 Musto D, Martorelli L, Cirillo A, Selvaggi F, Esposito P, Russo MI, Riegler G. Distal esophageal involvement in Crohn disease: short treatment with adalimumab. *Endoscopy* 2010; 42 Suppl 2: E299 [PMID: 21113880 DOI: 10.1055/s-0030-1255788]
- 5 Trikudanathan G, Navaneethan U. Association of pancreatitis with inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 83 [PMID: 20495468 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181d9f935]
- 6 Moolsintong P, Loftus EV, Chari ST, Egan LJ, Tremaine WJ, Sandborn WJ. Acute pancreatitis in patients with Crohn's disease: clinical features and outcomes. *Inflamm Bowel Dis* 2005; 11: 1080-1084 [PMID: 16306770]
- 7 van Geenen EJ, de Boer NK, Stassen P, Linskens RK, Bruno MJ, Mulder CJ, Stegeman CA, van Bodegraven

## ■同行评价

本文对临床有一定的提示和警示意义.

AA. Azathioprine or mercaptopurine-induced acute  
pancreatitis is not a disease-specific phenomenon.

*Aliment Pharmacol Ther* 2010; 31: 1322-1329 [PMID:  
20222913 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04287.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



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

• 消息 •

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

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



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

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

Journals》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

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

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。

《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

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

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq$  分母  $\leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

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

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

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

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

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

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com



《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

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

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

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

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

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

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

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

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

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

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

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上

角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

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

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>



## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授  
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

白浪 副教授  
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈海龙 教授  
大连医科大学附属第一医院院办

陈进宏 副主任医师  
复旦大学附属华山医院普外科

陈贻胜 教授  
福建省立医院

崔莲花 副教授  
青岛大学医学院公共卫生系

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院

巩鹏 教授  
大连医科大学附属第一医院普外二科

郝纯毅 主任医师  
北京肿瘤医院肿瘤外科

李君文 研究员  
中国人民解放军军事医学科学院卫生学环境医学研究所

李孟森 教授  
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李胜 研究员  
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李增山 副教授  
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

林潮双 副教授  
中山大学附属第三医院感染科

刘丽江 教授  
江汉大学医学院病理学

禄韶英 博士  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

缪应雷 主任医师  
昆明医科大学第一附属医院消化内科

潘阳林 副教授  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

宋新明 教授  
中山大学附属第一医院胃肠外科

唐文富 副教授  
四川大学华西医院中西医结合科

徐泱 副主任医师  
上海复旦大学附属中山医院

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

俞继卫 副主任医师  
上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张进祥 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院

赵春玲 副教授  
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授  
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

郑素军 副教授  
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科

邹小明 教授  
哈尔滨医科大学附属第二医院普外二科

## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



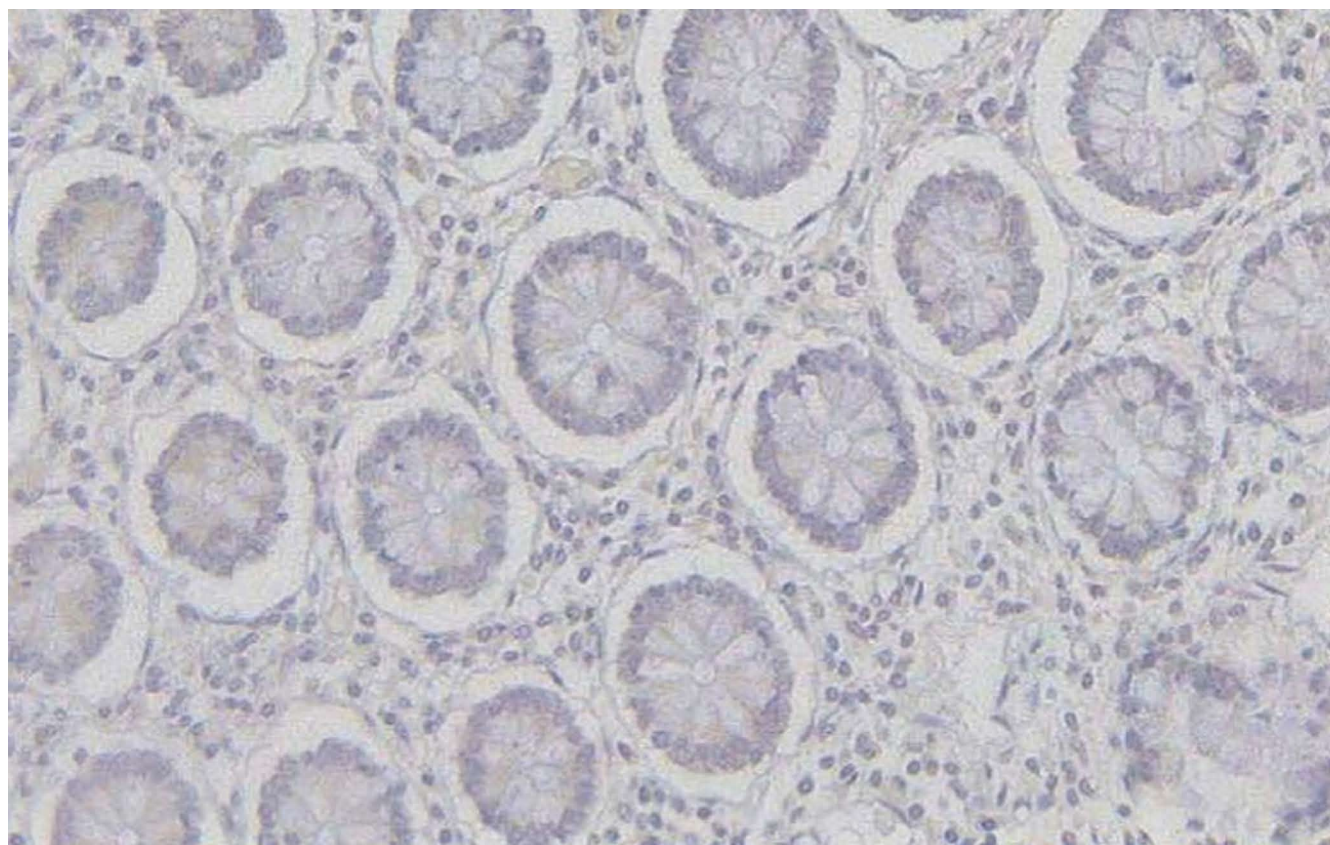


# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 3 月 18 日      第 22 卷      第 8 期      (Volume 22 Number 8)**



**8/2014**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

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

### 总顾问

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

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

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

### 编委

#### 消化内科学

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

房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
甘华田教授  
高凌副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
郝丽萍副教授  
何继满教授  
何松教授

洪天配教授  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
季国忠教授  
江米足教授  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
廖家智副主任医师

林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘亮明副教授  
陆伦根教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛恩强教授  
毛高平教授  
孟庆华教授  
缪应雷主任医师  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
潘阳林副教授  
朴云峰教授

秦成勇教授  
任粉玉教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
度必光教授  
宛新建副教授

王邦茂教授  
王炳元教授  
王承党教授  
王江滨教授  
王蔚虹教授  
王晓艳副教授  
夏冰教授  
夏时海副教授  
徐灿霞教授  
徐可树教授  
杨建民教授  
张国主任医师  
姚树坤教授  
张国梁主任医师  
张军教授  
张庆瑜教授  
张小晋主任医师  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永教授  
郑鹏远教授  
郑素军副主任医师  
郑勇教授  
周国雄主任医师  
周宇教授  
邹晓平主任医师  
诸琦教授  
于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师  
白雪巍副主任医师  
白玉作教授  
蔡开琳副教授  
蔡三军主任医师  
曹杰主任医师

陈炳官教授  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏副主任医师  
陈凇教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
杜顺达副教授  
房林教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅思源副教授  
傅晓辉副教授  
傅志仁主任医师  
高毅主任医师  
葛海燕教授  
巩鹏副教授  
谷俊朝主任医师  
顾国利副主任医师  
顾岩教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
郝立强副教授  
何超教授  
何向辉教授  
何晓顺教授  
何裕隆教授  
胡安斌副教授  
黄志勇教授  
季加孚教授  
姜卫东教授  
姜波健教授  
金山主任医师  
康春博副主任医师  
孔静副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

李升平教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔教授  
李正荣副教授  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超教授  
刘宏鸣副教授  
刘建教授  
刘亮副主任医师  
刘颖斌主任医师  
卢军华教授  
陆云飞教授  
禄韶英副教授  
吕凌副教授  
吕云福教授  
麻勇研究员  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民主任医师  
邱伟华主任医师  
仇毓东教授  
崔清波副教授  
单云峰副主任医师  
沈柏用副教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君研究员  
宋新明教授  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙文兵教授  
孙星副教授  
孙学英教授  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤绍涛教授  
唐南洪教授



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

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

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

### 消化中医药学

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

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

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

### 消化影像学

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

### 消化内镜及介入治疗学

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

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

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

### 消化基础研究

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

汤静主管药师  
滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赓宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授



# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 3 月 18 日 第 22 卷 第 8 期 (总第448期)

述 评	1051 STAT3信号通路在肝损伤保护中的作用 陈欣黎, 孟强, 刘克辛
基础研究	1058 VEGF <sub>165</sub> 重组蛋白与贝伐珠单抗对人胃癌裸鼠移植瘤CD34表达及细胞凋亡的影响 吴海荣, 关云艳, 吴锡平, 诸静芬
临床研究	1064 人前梯度蛋白2在结肠癌组织中的表达及其意义 李涵, 王进, 杨丽敏, 宁寒冰
文献综述	1070 甲胎蛋白具有诱导肝细胞恶性转化的生物学功能及其作为肝癌治疗的新靶点 朱明月, 夏华, 李孟森 1076 肠神经胶质细胞在炎症性肠病发生发展中作用的研究进展 齐国卿, 谢瑞霞, 张德奎 1081 O <sup>6</sup> -甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶在结直肠癌中的研究进展 王柏清, 孙光斌, 姜文辉, 南寿山, 张宝芹 1087 抑癌基因甲基化与结直肠癌临床关系的研究进展 柴秀坤, 尉宏燕, 白文元 1093 FK506、CsA致移植后糖尿病机制的异同及应对策略 李智涛, 黄汉飞, 曾仲
研究快报	1101 衣霉素诱导的内质网应激对胃癌细胞侵袭力的影响及机制 付政祺, 邹丰, 王绪明, 李艳, 刘丽江 1106 通过阻断花生四烯酸代谢途径抑制胰腺癌细胞增殖 朱陈, 周国雄 1112 乌司他丁联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能的保护作用 周松, 张行健, 薛小军, 刘强, 张文华, 聂凯, 陈达丰, 江秀文
临床经验	1121 扩张术、扩张加注射术及支架扩张术治疗贲门失弛缓症的疗效对比 涂征艳, 石硕, 何庆梅, 高妮娜 1127 胃底腺息肉患者的临床特征及其与幽门螺旋杆菌感染的相关性 张茹, 徐正磊, 张定国, 李银鹏, 黄庆娟, 王立生 1131 经内镜或手术病理证实原发性胃肠道淋巴瘤患者的临床特点 刘振华, 雷宏伟, 宋伟庆 1135 新疆地区隐源性肝硬化的临床特征及可能病因 布鲁汗·哈兰, 冯娟, 范晓棠, 希尔娜依·阿不都黑力力, 石绣江, 陈兰, 阿丽亚·热哈提, 何方平 1141 三叶因子3在肝细胞癌组织中的表达及临床意义 尚允利, 钱叶本 1146 Ki-67和p130在肝细胞癌穿刺组织中的表达对TACE治疗的临床意义 苏赓, 马亦龙, 欧盛秋, 赵昌, 宋庆峰 1153 针状刀预切开治疗胆管插管困难疾病52例 梁运啸, 梁列新, 农兵, 王彩英, 潘咏, 骆丹华 1157 内镜治疗胆总管结石复发的危险因素分析及对策 常志恒, 党彤, 孟宪梅, 潘小平, 胡淑清, 田继刚 1162 胆管恶性梗阻经内镜支架置入术后胆管炎的危险因素 闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓 1166 内镜下逆行胰胆管造影术尽早经胰管括约肌预切开的安全性 葛祥丽, 毛涛, 孙学国, 鞠辉, 江月萍, 赵清喜, 田宇彬 1171 血清脂肪酶和淀粉酶在早期急性胰腺炎中诊断价值的Meta分析 杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳 1179 奥美拉唑联合生长抑素治疗SAP的临床疗效和安全性 夏永欣, 刘晓政, 张向东, 尚品杰, 郭洁 1184 内镜下局部切除联合化疗药物注射治疗十二指肠乳头癌 陈莉丽, 卜平, 朱海杭, 邓登豪, 陈娟, 陈超伍, 刘军

	1188 电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍的临床疗效 张丹丹, 房辉, 张雅中, 田金莉
附 录	I - V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志 谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消 息	1100 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1105 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1111 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1126 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1145 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊 1161 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费
封面故事	李涵, 王进, 杨丽敏, 宁寒冰. 人前梯度蛋白2在结肠癌组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1064-1069 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1064.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1064.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1064">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1064</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(旬刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2014-03-18

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035 手机: 13901166126

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## March 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 8

<b>EDITORIAL</b>	1051 Role of STAT3 signaling pathway in repair of liver injury <i>Chen XL, Meng Q, Liu KX</i>
<b>BASIC RESEARCH</b>	1058 Effect of recombinant human VEGF <sub>165</sub> b protein and bevacizumab on expression of CD34 and cell apoptosis in human gastric carcinoma xenografts in nude mice <i>Wu HR, Guan YY, Wu XP, Zhu JF</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	1064 Clinical significance of expression of anterior gradient-2 in colon adenocarcinoma <i>Li H, Wang J, Yang LM, Ning HB</i>
<b>REVIEW</b>	1070 Alpha fetoprotein can induce malignant transformation of liver cells and be used as a therapeutic target for hepatocellular carcinoma <i>Zhu MY, Xia H, Li MS</i> 1076 Role of enteric glial cells in inflammatory bowel disease <i>Qi GQ, Xie RX, Zhang DK</i> 1081 Role of O <sup>6</sup> -methylguanine-DNA methyltransferase in pathogenesis of colorectal cancer <i>Wang BQ, Sun GB, Lou WH, Nan SS, Zhang BQ</i> 1087 Relationship between methylation of tumor suppressor genes and colorectal cancer <i>Chai XK, Ju HY, Bai WY</i> 1093 Pathogenesis and management of FK506- and CsA-induced post-transplant diabetes mellitus: Similarities and differences <i>Li ZT, Huang HF, Zeng Z</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	1101 Involvement of tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in invasion of gastric cancer cells <i>Fu ZQ, Zou F, Wang XM, Li Y, Liu LJ</i> 1106 Inhibition of arachidonic acid metabolism to decrease pancreatic cancer cell proliferation <i>Zhu C, Zhou GX</i> 1112 Protective effect of ulinastatin combined with Xuebijing injection against intestinal mucosa injury in rats with seawater-immersed open abdominal injury <i>Zhou S, Zhang XJ, Xue XJ, Liu Q, Zhang WH, Nie K, Chen DF, Jiang XW</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	1121 Comparative study of efficacy of dilatation, dilatation with botulinum toxin injection and stenting in treatment of achalasia <i>Tu ZY, Shi S, He QM, Gao NN</i> 1127 Clinical features of fundic gland polyps and relationship between fundic gland polyps and <i>Helicobacter pylori</i> infection <i>Zhang R, Xu ZL, Zhang DG, Li YP, Huang QJ, Wang LS</i> 1131 Clinical features of primary gastrointestinal lymphoma: Analysis of 28 cases <i>Liu ZH, Lei HW, Song WQ</i> 1135 Clinical features and possible etiology of cryptogenic cirrhosis in Xinjiang <i>Halan•Buluhan, Feng J, Fan XT, Abuduheilili•Xiernayi, Shi XJ, Chen L, Rehati•Aliya, He FP</i> 1141 Clinical significance of expression of trefoil factor 3 in hepatocellular carcinoma <i>Shang YL, Qian YB</i> 1146 Clinical significance of Ki-67 and p130 expression in liver needle biopsy from patients with hepatocellular carcinoma treated by transcatheter arterial chemoembolization <i>Su G, Ma YL, Ou SQ, Zhao C, Song QF</i> 1153 Needle-knife precut papillotomy for difficult biliary cannulation <i>Liang YX, Liang LX, Nong B, Wang CY, Pan Y, Luo DH</i> 1157 Risk factors and countermeasures for recurrence of common bile duct stones after endoscopic treatment <i>Chang ZH, Dang T, Meng XM, Pan XP, Hu SQ, Tian JG</i> 1162 Risk factors for cholangitis after endoscopic stent placement for malignant biliary obstruction <i>Min H, Chen ZR, Gong F, Wang H</i> 1166 Safety of early transpancreatic duct precut during endoscopic retrograde cholangiopancreatography <i>Ge XL, Mao T, Sun XG, Ju H, Jiang YP, Zhang QX, Tian ZB</i> 1171 Value of serum amylase and lipase in early diagnosis of acute pancreatitis: A Meta-analysis <i>Yang J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Xie F, Li RY</i> 1179 Efficacy and safety of omeprazole combined with somatostatin in treatment of severe acute pancreatitis <i>Xia YX, Liu XZ, Zhang XD, Shang PJ, Guo J</i> 1184 Endoscopic local resection combined with chemotherapy drug injection for duodenal papillary carcinoma <i>Chen LL, Bu P, Zhu HH, Deng DH, Chen J, Chen CW, Liu J</i>



	1188 Electroacupuncture combined with omeprazole for treatment of gastric dysmotility in patients with diabetic gastroparesis <i>Zhang DD, Fang H, Zhang YZ, Tian JL</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Li H, Wang J, Yang LM, Ning HB.</i> Clinical significance of expression of anterior gradient-2 in colon adenocarcinoma. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(8): 1064-1069 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1064.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1064.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1064">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1064</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Peng Guo</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** March 18, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-59080035 13901166126

Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza,

315-321 Lockhart Road, Wan Chai,

Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.

# STAT3信号通路在肝损伤保护中的作用

陈欣黎, 孟强, 刘克辛

陈欣黎, 孟强, 刘克辛, 大连医科大学药学院临床药理教研室 辽宁省大连市 116044

刘克辛, 教授, 博士生导师, 主要从事肝脏转运体与肝病药物治疗研究.

国家自然科学基金资助项目, No. 81273580

作者贡献分布: 本文综述由陈欣黎与孟强完成; 刘克辛审校.

通讯作者: 刘克辛, 教授, 116044, 辽宁省大连市旅顺口区旅顺南路西段9号, 大连医科大学药学院临床药理教研室.

kexinliu@dlmedu.edu.cn

电话: 0411-86110407

收稿日期: 2014-01-14 修回日期: 2014-01-31

接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Role of STAT3 signaling pathway in repair of liver injury

Xin-Li Chen, Qiang Meng, Ke-Xin Liu

Xin-Li Chen, Qiang Meng, Ke-Xin Liu, Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, Dalian 116044, Liaoning Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81273580

Correspondence to: Ke-Xin Liu, Professor, Department of Clinical Pharmacology, College of Pharmacy, Dalian Medical University, 9 Lvshun South Road, Lvshunkou District, Dalian 116044, Liaoning Province, China. kexinliu@dlmedu.edu.cn

Received: 2014-01-14 Revised: 2014-01-31

Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

Liver injury is a complicated pathological process caused by multiple biological and chemical factors. The repair mechanism after liver injury is the focus of liver research, involving numerous signaling pathways, cytokines and transcription factors. Signal transducer and activator of transcription 3 (STAT3) is a cytoplasmic signal transcription factor which belongs to the signal transducers and activators of transcription family and plays a critical role in the process of liver injury repair. STAT3 activation boosts the process of liver repair by promoting hepatocyte proliferation, maintains homeostasis by regulating metabolism of carbohydrates and lipids, and prevents the liver from bacterial infection and acute liver injury induced by toxic chemicals and drugs by increasing the expression of beneficial

acute phase proteins. This review focuses on the composition of STAT3 signaling pathway and its role in liver injury repair.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: STAT3; Liver injury; Cytokines

Chen XL, Meng Q, Liu KX. Role of STAT3 signaling pathway in repair of liver injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1051-1057 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1051.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1051>

## 摘要

肝损伤是各种生物及化学因素引起的肝组织病理性损伤. 肝损伤后的修复工作一直是肝脏研究的重点内容, 其机制涉及许多信号通路、细胞因子和转录因子. 细胞转导子和转录活化子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)是细胞转导子和转录活化子家族(STATs)的一员, 是位于胞质内的信号转录因子. 近年研究发现, STAT3的激活在肝损伤后修复过程中发挥重要作用, 通过促进肝细胞增殖, 加快损伤肝脏修复速度. 通过调节糖类及脂质代谢, 维持机体内环境稳态. 通过激活肝保护性急性期蛋白表达, 增强肝脏对抗细菌感染, 化学物质及药物导致的急性肝损伤的能力. 本文将从STAT3相关信号通路的构成, 调节方式及肝损伤后修复作用做一综述.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: STAT3; 肝损伤; 细胞因子

**核心提示:** 本文着重介绍了细胞转导子和转录活化子3(signal transducers and activators of transcription 3)在肝损伤后保护中的重要作用, 包括促进肝细胞增殖, 维持肝脏糖脂代谢稳定以及增强肝脏受损后的保护性急性期反应.

陈欣黎, 孟强, 刘克辛. STAT3信号通路在肝损伤保护中的作用. *世界华人消化杂志* 2014; 22(8): 1051-1057 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1051.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1051>

## ■背景资料

药物滥用、酗酒等因素导致的急性肝损伤的发病率逐年增加. 研究发现, 肝损伤后内环境稳态的维护以及肝细胞的再生代偿过程对于损伤后肝脏修复过程至关重要. 细胞转导子和转录活化子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)是细胞转导子和转录活化子家族(STATs)的重要成员, 能够以同源二聚体的形式进入细胞核内, 直接参与基因的转录过程. 在胞内主要与酪氨酸蛋白激酶家族JAK(janus kinase)偶联, 以JAK-STAT3通路形式参与白介素-6(interleukin-6, IL-6), 白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF)等胞外信号分子在肝细胞内的信号传递过程并具有显著的抗凋亡和促有丝分裂活性. 近来研究发现, STAT3能够直接或间接的调节肝修复过程中重要基因的表达, 成为肝修复必不可少的调节因子.

## ■同行评议者

金山, 主任医师, 内蒙古医学院附属医院普通外科

## ■ 研发前沿

STAT3及相关信号通路肝保护作用机制是目前肝脏研究的热点,如何通过调节相关细胞因子及通路,诱导STAT3在损伤后肝脏中的适度表达是目前肝脏研究中新的方向。

## 0 引言

近年来,随着人们生活水平的提高以及对药物的过度依赖,肝损伤的发病率逐年增加<sup>[1]</sup>。对于肝损伤的患者,如果未进行及时有效的治疗,往往会导致肝纤维化发生,最终导致肝脏的衰竭坏死<sup>[2]</sup>。如何维持肝损伤后肝脏内环境的稳态以及肝细胞的再生代偿能力,进而提高损伤后肝脏恢复效果已成为当今急需解决的课题之一。细胞转导子和转录活化子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)作为细胞转导子和转录活化子家族(STATs)的一员,与肝脏的关系最为密切,是构成JAK-STAT通路的重要组成部分<sup>[3-7]</sup>,并与多种细胞因子直接相关。本文简要阐述了肝损伤机制,细胞转导子和转录活化子家族各成员在肝脏中的作用,STAT3的基本性质,着重对STAT3的肝保护机制做一综述。

## 1 肝损伤

肝脏是人体最大的代谢器官,担负着人体重要的生理功能。目前常见的肝损伤类型主要包括肝炎病毒、细菌或寄生虫等导致的生物性肝损伤以及药物、工业毒物或乙醇等导致的化学性肝损伤。其中药物、乙醇等导致的化学性肝损伤最为严重。根据美国急性肝衰竭研究组织(United States Acute Liver Failure Study Group, USALFSG)公布的消息显示,药物诱导的肝损伤已经占到急性肝衰竭的50%<sup>[8]</sup>。为此,美国食品和药物监督管理局(U.S. Food and Drug Administration, FDA)已经宣布,溴芬酸钠、乙溴替丁及曲格列酮3种药物在某些情况下会对肝脏造成一定的损害而退市<sup>[9-11]</sup>。目前虽然化学性肝损伤的很多机制仍然未知,但总体可以概括为两条途径:直接肝脏毒性及不良免疫反应<sup>[1]</sup>,一方面,具有生物活性的化学物质进入体内后,可以和蛋白质、脂质、核酸等生物大分子相互作用,从而导致蛋白质功能障碍、脂质过氧化、DNA损伤及氧化应激反应等,最终导致细胞内离子梯度紊乱和钙库功能失调,从而引起肝细胞死亡<sup>[12]</sup>;另一方面,肝细胞功能丧失及死亡会激活先天性及获得性免疫反应,导致库普弗细胞(Kupffer cells, KC)、自然杀伤细胞(natural killer, NK)、自然杀伤T细胞(natural killer T, NKT)等免疫细胞释放,这些免疫细胞通过产生促炎性因子及分泌趋化因子,进一步加速炎性细胞进入肝脏加重肝损伤<sup>[13,14]</sup>。

## 2 STATs

STATs是Darnell<sup>[15]</sup>在1994年研究干扰素信号通路时发现的一类胞浆转录因子家族。到目前为止,在生物体中总共发现十几种STAT家族成员,其中在哺乳动物中主要存在STAT1-4、STAT5a、STAT5b、STAT6 7种主要基因型<sup>[3,5]</sup>(表1)。STATs既是信号传导子,又是转录因子,同时也是酪氨酸蛋白激酶偶联受体信号通路的重要组成部分,主要与酪氨酸蛋白激酶家族JAK(janus kinase)偶联,以JAK-STAT信号通路的形式参与信号调节过程<sup>[3]</sup>。

STAT主要由以下6个结构域构成: N端结构域、Coiled-coil结构域、DNA结合域、铰链域、SH2结构域和转录活化结构域<sup>[16,17]</sup>(图1)。其中SH2结构域是最为保守和重要的结构域,其上的705位酪氨酸的磷酸化在STAT3形成二聚体的过程中发挥重要作用。其C端的转录活化结构域中含有一些丝氨酸结合位点,能够被丝氨酸激酶所活化,参与到STAT3的转录活性调节中<sup>[17]</sup>。

## 3 JAK-STAT通路调节方式

JAK-STAT通路由一系列蛋白激酶瀑布组成,在哺乳动物中JAK家族包括JAK1、JAK2、JAK3和Tyk2 4位成员<sup>[4,5,18]</sup>。在哺乳动物中, JAK-STAT通路是很多细胞因子及生长因子的重要调节通路,在细胞增殖、分化、迁移和凋亡中发挥重要作用。

JAK-STAT通路主要以如下方式进行调节。(1)信号跨膜转导: 配体与受体 $\alpha$ (或和 $\beta$ )亚基结合,形成活化的 $\alpha$ 、 $\beta$ 二聚体或 $\alpha$ 、 $\beta$ 、 $\gamma$ 三聚体。JAK与受体胞质部分膜旁区Box1结合,催化受体C端酪氨酸残基磷酸化,形成磷酸化酪氨酸位点进而激活STAT磷酸化;(2)STAT活化: STAT借助自身的SH2结构和磷酸化酪氨酸残基形成互补的活性二聚体;(3)STAT由胞质向核内转位: 活化的STAT二聚体由胞质向核内转位,与DNA特定序列结合,调控基因表达,STAT与DNA结合还需自身一些丝氨酸和苏氨酸残基的磷酸化,可能由有丝分裂原激活的蛋白激酶(MAPK-kinase)参与磷酸化<sup>[4-7]</sup>(图2)。

## 4 STAT3

STAT3的编码基因位于人类第17号染色体,STAT3最初因其致癌作用被归为癌基因,是细胞信号传导的关键节点。随着对STAT3研究的不断深入,进一步发现STAT3具有显著的抗凋亡



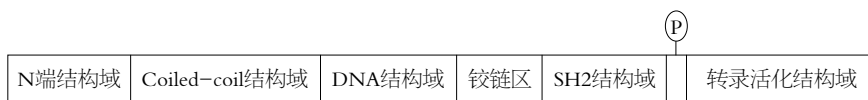


图 1 STAT3结构.

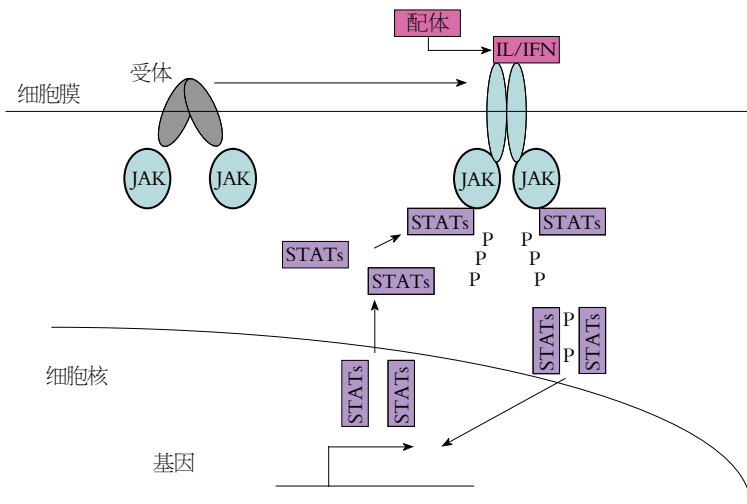


图 2 JAK-STAT通路调节方式. IL: 白介素; IFN: 干扰素; JAK: Janus激酶; STAT: 细胞转导子和转录活化子.

## ■ 相关报道

Inoue等研究者发现, 肝特异性 $STAT3$ 基因敲除小鼠相对于野生小鼠, 胰岛素浓度明显偏高, 出现胰岛素抵抗症状. 注射含有 $STAT3$ 活性基因的腺病毒AxCSTAT-3C后, 胰岛素抵抗症状减弱, 且糖异生关键基因 $Pck1$ 和 $G6pc$ 表达明显的降低.

表 1 STATs家族成员在肝脏中的作用

STATs	相关通路因子	肝脏中的作用
STAT1	IFN- $\alpha/\beta$	抗病毒
	IFN- $\gamma$	抗肿瘤, 抗炎和促凋亡作用
STAT2	IFN- $\alpha/\beta$	抗病毒作用
	IFN- $\gamma$ (IL-28/IL-29)	
STAT3	IL-6和相关细胞因子	急性期反应
	IL-22	肝再生及肝保护作用
STAT4	IL-12	加重缺血再灌注损伤
STAT5	生长激素	包括代谢酶, 生长因子在内的众多肝脏基因的调节
STAT6	IL-4	促进T细胞肝炎
	IL-13	减轻缺血再灌注损伤

STAT: 细胞转导子和转录活化子; IL: 白介素; IFN: 干扰素.

和促有丝分裂活性, 能够上调一系列细胞存活及增殖相关基因<sup>[19-21]</sup>. 这暗示着STAT3可能在各个器官尤其是人体唯一具有再生功能的肝脏的有丝分裂及抗凋亡过程中有着更为广泛的作用. 随后的多年研究发现, STAT3在肝脏中可以被白介素-6(interleukin-6, IL-6), 白血病抑制因子(leukemia inhibitory factor, LIF), 睫状神经营养因子(ciliary neurotrophic factor, CNTF)等细胞因子激活, 近来又发现HCV NS5A和HBX等肝炎病毒也同样能够激活肝脏中STAT3的磷酸化, 进而将胞外信号分子传入细胞核中激活或抑制相关基因表达<sup>[22-27]</sup>.

## 5 STAT3在肝保护中的重要作用

STAT3作为转录因子家族的一员, 主要负责调控*Bcl-2*、*Bcl-xL*、*Mcl-1*、*FLIP*、*Ref-1*、*Cyclin D1*、*c-myc*等基因的转录过程. 近年来, STAT3在肝保护中的重要作用逐渐被阐明, 总结起来, 主要表现在3个方面: (1)STAT3的激活可以促进肝损伤后肝细胞的增殖; (2)STAT3维持肝脏糖平衡及脂质代谢稳定; (3)STAT3增强肝脏急性期反应.

5.1 STAT3的激活可以促进肝损伤后肝细胞的增殖 肝脏在受到损伤后, 非损伤部位肝组织的再生对于恢复肝脏功能至关重要. 1995年, Cressman等<sup>[28]</sup>发现, 部分肝切除后30 min, STAT3与DNA结合能力有所增加, 并在3 h后达到最初的30倍. 有报道显示, STAT3能够延长肝细胞周期 $G_1$ 期, 进而使肝细胞有更为充裕的时间合成再生所需的各种蛋白质、糖类、脂类、RNA等生物物质<sup>[29]</sup>. Li等<sup>[21]</sup>使用 $STAT3$ 基因敲除小鼠Alb- $STAT3^{fl/fl}$ 发现, 当 $STAT3$ 基因缺失时, 5-溴脱氧尿嘧啶核苷(5-bromo-2-deoxyuridine, BrdU)标记阳性小鼠肝细胞数明显减少, 说明Alb- $STAT3^{fl/fl}$ 小鼠肝细胞DNA合成能力减弱, 细胞增殖明显延缓. 且 $G_1$ 期细胞周期素家族CyclinD1表达降低, Cyclin E表达时间延迟. 另一方面, STAT3能够激活包括*c-myc*、*c-jun*等原癌基因表达, 研究发现*c-myc*、*c-jun*通过JNK/c-Jun通路诱导细胞周期由 $G_0$ 期向 $G_1$ 期转变加快细胞周期, 同时激活

### ■创新盘点

本文简要概述了肝损伤过程, STATs家族分型, STAT3的基本性质包括其结构, 作用方式及上游调节因子. 着重阐述了STAT3与肝保护的关系, 并在此基础上进一步分析了STAT3发挥肝保护作用的机制, 对研发肝保护治疗的药物有重要的指导意义.

Cyclin D1表达促进细胞增殖<sup>[30,31]</sup>. 上述结果表明, 当肝脏发生损伤时, 一方面, STAT3表达应急性上调并且与DNA的结合能力增强. 另一方面, STAT3直接或间接激活细胞周期素Cyclin D1和Cyclin E表达, 加快细胞有丝分裂, 通过两方面联合作用促进肝损伤后的肝细胞增殖.

**5.2 STAT3维持肝脏糖平衡及脂质代谢稳定** 肝脏在机体能量平衡及糖脂代谢过程中起重要作用, 肝脏能够通过糖原释放及糖异生作用维持血糖平衡, 通过分泌胆汁, 合成脂肪、脂肪酸及胆固醇等维持脂质代谢稳定. 当肝组织广泛受损时, 肝细胞表面胰岛素受体大量受损, 胰岛素抵抗症状明显加重. 同时, 肝细胞将葡萄糖合成糖原的能力大大降低, 糖异生作用增强, 使得血糖浓度进一步升高, 破坏体内糖平衡<sup>[32,33]</sup>.

**5.2.1 STAT3维持糖代谢平衡:** 研究表明, STAT3能够抑制肝脏糖异生作用, 改善胰岛素抵抗症状. 2004年, Inoue等<sup>[34]</sup>将肝特异性*STAT3*基因敲除小鼠(L-ST3KO)与野生小鼠相比较, 正常状态下血糖浓度大致相同, 但胰岛素浓度明显偏高, 分别对两种小鼠注射等量胰岛素, L-ST3KO小鼠血糖浓度下降速率明显慢于野生鼠. 表明L-ST3KO小鼠较野生小鼠出现了明显的胰岛素抵抗症状. 对L-ST3KO小鼠注射带有STAT3活性基因的腺病毒AxCSTAT-3C并使其在小鼠体内稳定表达后发现, 小鼠血糖和血浆胰岛素浓度明显降低, 并且糖异生基因磷酸烯醇丙酮酸羧基酶1基因(phosphoenolpyruvate carboxykinase 1, *Pck1*)和葡萄糖-6-磷酸酶基因(glucose-6-phosphatase, *G6pc*)的表达明显下调. *Pck1*和*G6pc*基因是糖异生关键基因. *Pck1*基因编码磷酸烯醇丙酮酸羧激酶, 是糖异生作用在肝脏和肾脏进行的关键酶. *G6pc*基因编码葡萄糖-6-磷酸酶. 葡萄糖-6-磷酸酶催化糖原分解和糖异生的最后一步环节. 两者都在糖异生作用的最关键环节发挥着调节作用. 进一步研究发现, 给予正常小鼠葡萄糖或者静脉注射胰岛素能诱导STAT3的磷酸化, 在肝脏特异性*STAT3*基因敲除小鼠中, 颅内室注射胰岛素的降血糖作用减弱, 表明STAT3促进胰岛素在大脑中的作用, 并进一步抑制肝脏葡萄糖合成<sup>[35]</sup>. 上述结果表明, STAT3在维持体内糖平衡过程中发挥很大作用, 且此作用与抑制糖异生基因*Pck1*和*G6pc*的表达及促进胰岛素在大脑中作用的发挥有直接的关系.

**5.2.2 STAT3改善肝细胞脂质代谢:** 肝脏作为脂肪酸合成和脂蛋白合成的中心场所, 在脂质

代谢中扮演重要的角色. 当肝脏脂质代谢紊乱时, 包括B型氧化作用, 极低密度脂蛋白分泌和胆汁酸合成途径在内的多种肝脏功能将会发生机能障碍<sup>[36]</sup>. 目前包括法尼醇X受体(farnesoid X receptor, FXR), 维甲酸X受体(retinoid-X receptor, RXR)等核受体及Cyp3A1等胆汁酸合成酶参与肝脏脂质代谢过程中. 有研究表明, IL-6诱导的STAT3通路可能参与到肝损伤后的肝脏脂质代谢过程中. 长期给予IL-6能够改善高脂和酒精饮食肝脏甘油三酯分泌及肝脏胆汁酸 $\beta$ -氧化过程. 使用油红O染色发现, IL-6处理10 d后, 高脂和酒精饮食肝脏中的大脂肪滴明显降低, 肝功能改善<sup>[37,38]</sup>. 上述结果说明, IL-6能改善肝脏中的脂质代谢. 进一步的研究发现, IL-6处理后, 正常老鼠中STAT3的磷酸化高于肥胖的OB/OB老鼠, 说明STAT3的磷酸化与肝脏的脂质的代谢之间有着直接的联系. 另有研究说明, 将显性抑制的*STAT3*基因转入视网膜血管内皮细胞后, 瘦素激活血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达的作用几乎完全消失<sup>[39]</sup>. VEGF可刺激血管细胞生成、分化和生长, 在肝再生过程中毛细血管的出芽生长中发挥重要作用, 为葡萄糖、脂质等进入肝细胞, 保障受损肝组织生长提供了有利条件<sup>[40-43]</sup>.

**5.3 STAT3增强肝脏急性期反应** 急性期反应是人体受到感染、组织损伤、手术、肿瘤生长或免疫失调等应激源致使机体部分或整体功能失调时, 在短时间内(数小时至数日)机体自主产生包括促炎性细胞因子释放, 脉管系统和免疫细胞激活, 急性期蛋白生成等在内的显著性变化<sup>[44-46]</sup>. 大多数急性期蛋白例如铜蓝蛋白补体因子3(ceruloplasmin and complement factor-3, C3), 结合珠蛋白(haptoglobin), C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP), 血清淀粉样蛋白A(serum amyloid A protein, SAA)等都是抑制细菌生长, 恢复机体内环境稳态等保护蛋白, 在肝脏对抗细菌感染, 化学物质及药物导致的急性肝损伤过程中发挥重要作用<sup>[47-49]</sup>. Alonzi等<sup>[45]</sup>使用*STAT3*基因选择性敲除小鼠MX+STAT3 fl/fl与对照组小鼠对比发现, 在LPS以及IL-6诱导的急性期反应过程中, C3、SAA等急性期蛋白在MX+STAT3 fl/fl小鼠中表达明显低于对照组小鼠. STAT3与细胞核因子- $\kappa$ B p65亚基(NF- $\kappa$ B p65, RelA)的基因突变小鼠中, 肝炎引起的肝脏急性期反应几乎停滞<sup>[50]</sup>. 进一步研究发现, STAT3通过自身反应元件与大多数急性期蛋白基因的5'-调节区结合, 直接调

节基因表达强弱. 除此之外, STAT3还能够在包括翻译、转录稳定性及翻译后调节等方面对至少部分急性期蛋白基因进行转录后调节<sup>[51-53]</sup>. 上述研究表明, STAT3在肝脏的急性期反应的产生、发展以及急性期蛋白的激活表达中发挥至关重要的作用.

## 6 结论

STAT3能够被IL-6家族细胞因子、IL-22及肝脏病毒蛋白在内的众多细胞因子及病毒蛋白激活. 活化后的STAT3在肝保护过程中发挥重要的作用, 主要表现在: (1)部分肝切除后, STAT3能够通过应急性激活, 直接或间接诱导肝脏细胞内Cyclin D1及Cyclin E的表达, 调控细胞周期, 促进肝细胞增殖; (2)STAT3在糖及脂质代谢过程中, 通过加强胰岛素在脑中作用强度、抑制糖异生关键基因*Pck1*和*G6pc*减缓糖异生作用, 降低血糖含量以及减轻胰岛素抵抗的症状. 同时通过加强血管内皮生长因子的表达等方式改善肝脏脂质代谢; (3)STAT3能够增强急性期反应蛋白C3、SAA等表达量, 进而恢复肝脏内环境稳态, 有益于肝损伤后肝脏的恢复效果.

总之, STAT3信号通路在肝保护过程中发挥着必不可少的调控作用. 在不远的将来, 很可能会有专门针对STAT3信号通路的肝保护药物用于急慢性肝损伤的治疗过程. 深入研究STAT3信号通路有利与我们更好地理解肝损伤的复杂机制, 能够进一步为患者提供药理学或基因水平的更加安全有效的治疗方案.

## 7 参考文献

- Holt MP, Ju C. Mechanisms of drug-induced liver injury. *AAPS J* 2006; 8: E48-E54 [PMID: 16584133 DOI: 10.1208/aapsj080106]
- Battaller R, Brenner DA. Liver fibrosis. *J Clin Invest* 2005; 115: 209-218 [PMID: 15690074 DOI: 10.1172/JCI200524282]
- Al Zaid Siddiquee K, Turkson J. STAT3 as a target for inducing apoptosis in solid and hematological tumors. *Cell Res* 2008; 18: 254-267 [PMID: 18227858 DOI: 10.1038/cr.2008.18]
- O'Shea JJ, Gadina M, Schreiber RD. Cytokine signaling in 2002: new surprises in the Jak/Stat pathway. *Cell* 2002; 109 Suppl: S121-S131 [PMID: 11983158 DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00701-8]
- Kisseleva T, Bhattacharya S, Braunstein J, Schindler CW. Signaling through the JAK/STAT pathway, recent advances and future challenges. *Gene* 2002; 285: 1-24 [PMID: 12039028 DOI: 10.1016/S0378-1119(02)00398-0]
- Gimeno R, Lee CK, Schindler C, Levy DE. Stat1 and Stat2 but not Stat3 arbitrate contradictory growth signals elicited by alpha/beta interferon in T lymphocytes. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 5456-5465 [PMID: 15964802 DOI: 10.1128/MCB.25.13.5456-5465.2005]
- Murray PJ. The JAK-STAT signaling pathway: input and output integration. *J Immunol* 2007; 178: 2623-2629 [PMID: 17312100]
- Ostapowicz G, Fontana RJ, Schiødt FV, Larson A, Davern TJ, Han SH, McCashland TM, Shakil AO, Hay JE, Hynan L, Crippin JS, Blei AT, Samuel G, Reisch J, Lee WM. Results of a prospective study of acute liver failure at 17 tertiary care centers in the United States. *Ann Intern Med* 2002; 137: 947-954 [PMID: 12484709 DOI: 10.7326/0003-4819-137-12-200212170-00007]
- Hunter EB, Johnston PE, Tanner G, Pinson CW, Awad JA. Bromfenac (Duract)-associated hepatic failure requiring liver transplantation. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 2299-2301 [PMID: 10445569 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.01321.x]
- Withdrawal of medicinal products containing ebrotidine: liver toxicity. WHO Inform Exchange Syst 1998; 72: 1
- Kohlroser J, Mathai J, Reichheld J, Banner BF, Bonkovsky HL. Hepatotoxicity due to troglitazone: report of two cases and review of adverse events reported to the United States Food and Drug Administration. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 272-276 [PMID: 10638596 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2000.01707.x]
- Blazka ME, Wilmer JL, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Role of proinflammatory cytokines in acetaminophen hepatotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 1995; 133: 43-52 [PMID: 7597709 DOI: 10.1006/taap.1995.1125]
- Blazka ME, Elwell MR, Holladay SD, Wilson RE, Luster MI. Histopathology of acetaminophen-induced liver changes: role of interleukin 1 alpha and tumor necrosis factor alpha. *Toxicol Pathol* 1996; 24: 181-189 [PMID: 8992608 DOI: 10.1177/019262339602400206]
- Reilly TP, Brady JN, Marchick MR, Bourdi M, George JW, Radonovich MF, Pise-Masison CA, Pohl LR. A protective role for cyclooxygenase-2 in drug-induced liver injury in mice. *Chem Res Toxicol* 2001; 14: 1620-1628 [PMID: 11743745 DOI: 10.1021/tx0155505]
- Darnell JE, Kerr IM, Stark GR. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. *Science* 1994; 264: 1415-1421 [PMID: 8197455 DOI: 10.1126/science.8197455]
- Ren Z, Mao X, Mertens C, Krishnaraj R, Qin J, Mandal PK, Romanowski MJ, McMurray JS, Chen X. Crystal structure of unphosphorylated STAT3 core fragment. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 374: 1-5 [PMID: 18433722 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.04.049]
- Hoey T, Schindler U. STAT structure and function in signaling. *Curr Opin Genet Dev* 1998; 8: 582-587 [PMID: 9794817 DOI: 10.1016/S0959-437X(98)80015-4]
- Rawlings JS, Rosler KM, Harrison DA. The JAK/STAT signaling pathway. *J Cell Sci* 2004; 117: 1281-1283 [PMID: 15020666 DOI: 10.1242/jcs.00963]
- Bromberg JF, Wrzeszczynska MH, Devgan G, Zhao Y, Pestell RG, Albanese C, Darnell JE. Stat3 as an oncogene. *Cell* 1999; 98: 295-303 [PMID: 10458605 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)81959-5]
- Fukada T, Hibi M, Yamanaka Y, Takahashi-Tezuka

## ■应用要点

STAT3可能作为肝保护药物的治疗靶点, 通过药物激活JAK-STAT3通路或许可以成为肝脏损伤后修复的新的靶点, 为临床肝病治疗提供新的思路.



## ■同行评价

本文为综述性文章, 层次、逻辑、整体把握较好。

- M, Fujitani Y, Yamaguchi T, Nakajima K, Hirano T. Two signals are necessary for cell proliferation induced by a cytokine receptor gp130: involvement of STAT3 in anti-apoptosis. *Immunity* 1996; 5: 449-460 [PMID: 8934572 DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80501-4]
- 21 Li W, Liang X, Kellendonk C, Poli V, Taub R. STAT3 contributes to the mitogenic response of hepatocytes during liver regeneration. *J Biol Chem* 2002; 277: 28411-28417 [PMID: 12032149 DOI: 10.1074/jbc.M202807200]
- 22 Nguyen VA, Gao B. Cross-talk between alpha(1B)-adrenergic receptor (alpha(1B)AR) and interleukin-6 (IL-6) signaling pathways. Activation of alpha(1b)AR inhibits il-6-activated STAT3 in hepatic cells by a p42/44 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *J Biol Chem* 1999; 274: 35492-35498 [PMID: 10585421 DOI: 10.1074/jbc.274.50.35492]
- 23 Chen J, Kunos G, Gao B. Ethanol rapidly inhibits IL-6-activated STAT3 and C/EBP mRNA expression in freshly isolated rat hepatocytes. *FEBS Lett* 1999; 457: 162-168 [PMID: 10486586 DOI: 10.1016/S0014-5793(99)01031-5]
- 24 Auernhammer CJ, Melmed S. Leukemia-inhibitory factor-neuroimmune modulator of endocrine function. *Endocr Rev* 2000; 21: 313-345 [PMID: 10857556 DOI: 10.1210/edrv.21.3.0400]
- 25 Sleeman MW, Anderson KD, Lambert PD, Yancopoulos GD, Wiegand SJ. The ciliary neurotrophic factor and its receptor, CNTFR alpha. *Pharm Acta Helv* 2000; 74: 265-272 [PMID: 10812968 DOI: 10.1016/S0165-7208(00)80028-8]
- 26 Waris G, Huh KW, Siddiqui A. Mitochondrially associated hepatitis B virus X protein constitutively activates transcription factors STAT-3 and NF-kappa B via oxidative stress. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 7721-7730 [PMID: 11604508 DOI: 10.1128/MCB.21.2.7721-7730.2001]
- 27 Gong G, Waris G, Tanveer R, Siddiqui A. Human hepatitis C virus NS5A protein alters intracellular calcium levels, induces oxidative stress, and activates STAT-3 and NF-kappa B. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 9599-9604 [PMID: 11481452 DOI: 10.1073/pnas.171311298]
- 28 Cressman DE, Diamond RH, Taub R. Rapid activation of the Stat3 transcription complex in liver regeneration. *Hepatology* 1995; 21: 1443-1449 [PMID: 7737651 DOI: 10.1002/hep.1840210531]
- 29 Taub R. Liver regeneration 4: transcriptional control of liver regeneration. *FASEB J* 1996; 10: 413-427 [PMID: 8647340]
- 30 Morello D, Fitzgerald MJ, Babinet C, Fausto N. c-myc, c-fos, and c-jun regulation in the regenerating livers of normal and H-2K/c-myc transgenic mice. *Mol Cell Biol* 1990; 10: 3185-3193 [PMID: 2111449 DOI: 10.1128/MCB.10.6.3185]
- 31 Schwabe RF, Bradham CA, Uehara T, Hatano E, Bennett BL, Schoonhoven R, Brenner DA. c-Jun-N-terminal kinase drives cyclin D1 expression and proliferation during liver regeneration. *Hepatology* 2003; 37: 824-832 [PMID: 12668975 DOI: 10.1053/jhep.2003.50135]
- 32 Taylor SI. Deconstructing type 2 diabetes. *Cell* 1999; 97: 9-12 [PMID: 10199397 DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80709-6]
- 33 Radziuk J, Pye S. Hepatic glucose uptake, gluconeogenesis and the regulation of glycogen synthesis. *Diabetes Metab Res Rev* 2001; 17: 250-272 [PMID: 11544610 DOI: 10.1002/dmrr.217]
- 34 Inoue H, Ogawa W, Ozaki M, Haga S, Matsumoto M, Furukawa K, Hashimoto N, Kido Y, Mori T, Sakaue H, Teshigawara K, Jin S, Iguchi H, Hiramatsu R, LeRoith D, Takeda K, Akira S, Kasuga M. Role of STAT-3 in regulation of hepatic gluconeogenic genes and carbohydrate metabolism in vivo. *Nat Med* 2004; 10: 168-174 [PMID: 14716305 DOI: 10.1038/nm980]
- 35 Inoue H, Ogawa W, Asakawa A, Okamoto Y, Nishizawa A, Matsumoto M, Teshigawara K, Matsuki Y, Watanabe E, Hiramatsu R, Notohara K, Katayose K, Okamura H, Kahn CR, Noda T, Takeda K, Akira S, Inui A, Kasuga M. Role of hepatic STAT3 in brain-insulin action on hepatic glucose production. *Cell Metab* 2006; 3: 267-275 [PMID: 16581004 DOI: 10.1016/j.cmet.2006.02.009]
- 36 Nguyen P, Leray V, Diez M, Serisier S, Le Bloc'h J, Siliart B, Dumon H. Liver lipid metabolism. *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2008; 92: 272-283 [PMID: 18477307 DOI: 10.1111/j.1439-0396.2007.00752.x]
- 37 孟强, 刘克辛. 核受体FXR在肝再生中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 881-886
- 38 Hong F, Radaeva S, Pan HN, Tian Z, Veech R, Gao B. Interleukin 6 alleviates hepatic steatosis and ischemia/reperfusion injury in mice with fatty liver disease. *Hepatology* 2004; 40: 933-941 [PMID: 15382116 DOI: 10.1002/hep.20400]
- 39 Suganami E, Takagi H, Ohashi H, Suzuma K, Suzuma I, Oh H, Watanabe D, Ojima T, Suganami T, Fujio Y, Nakao K, Ogawa Y, Yoshimura N. Leptin stimulates ischemia-induced retinal neovascularization: possible role of vascular endothelial growth factor expressed in retinal endothelial cells. *Diabetes* 2004; 53: 2443-2448 [PMID: 15331557 DOI: 10.2337/diabetes.53.9.2443]
- 40 Ninomiya M, Shirabe K, Terashi T, Ijichi H, Yonemura Y, Harada N, Soejima Y, Taketomi A, Shimada M, Maehara Y. Deceleration of regenerative response improves the outcome of rat with massive hepatectomy. *Am J Transplant* 2010; 10: 1580-1587 [PMID: 20642684 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2010.03150.x]
- 41 Ding BS, Nolan DJ, Butler JM, James D, Babazadeh AO, Rosenwaks Z, Mittal V, Kobayashi H, Shido K, Lyden D, Sato TN, Rabbany SY, Rafii S. Inductive angiocrine signals from sinusoidal endothelium are required for liver regeneration. *Nature* 2010; 468: 310-315 [PMID: 21068842 DOI: 10.1038/nature09493]
- 42 Hernandez-Gea V, Friedman SL. Pathogenesis of liver fibrosis. *Annu Rev Pathol* 2011; 6: 425-456 [PMID: 21073339 DOI: 10.1146/annurev-pathol011110-130246]
- 43 Fernández M, Semela D, Bruix J, Colle I, Pinzani M, Bosch J. Angiogenesis in liver disease. *J Hepatol* 2009; 50: 604-620 [PMID: 19157625 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.011]
- 44 Gruys E, Toussaint MJ, Niewold TA, Koopmans SJ. Acute phase reaction and acute phase proteins. *J Zhejiang Univ Sci B* 2005; 6: 1045-1056 [PMID: 16252337 DOI: 10.1631/jzus.2005.B1045]
- 45 Alonzi T, Maritano D, Gorgoni B, Rizzuto G, Libert C, Poli V. Essential role of STAT3 in the control of the acute-phase response as revealed by induc-

- ible gene inactivation [correction of activation] in the liver. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 1621-1632 [PMID: 11238899 DOI: 10.1128/MCB.21.5.1621-1632.2001]
- 46 Ebersole JL, Machen RL, Steffen MJ, Willmann DE. Systemic acute-phase reactants, C-reactive protein and haptoglobin, in adult periodontitis. *Clin Exp Immunol* 1997; 107: 347-352 [PMID: 9030874 DOI: 10.1111/j.1365-2249.1997.270-ce1162.x]
- 47 Christensen MB, Sørensen JC, Jacobsen S, Kjellaard-Hansen M. Investigation of the solubility and the potentials for purification of serum amyloid A (SAA) from equine acute phase serum--a pilot study. *BMC Res Notes* 2013; 6: 152 [PMID: 23590853 DOI: 10.1186/1756-0500-6-152]
- 48 Christenson K, Björkman L, Ahlin S, Olsson M, Sjöholm K, Karlsson A, Bylund J. Endogenous Acute Phase Serum Amyloid A Lacks Pro-Inflammatory Activity, Contrasting the Two Recombinant Variants That Activate Human Neutrophils through Different Receptors. *Front Immunol* 2013; 4: 92 [PMID: 23626589 DOI: 10.3389/fimmu.2013.00092]
- 49 Okemefuna AI, Nan R, Miller A, Gor J, Perkins SJ. Complement factor H binds at two independent sites to C-reactive protein in acute phase concentrations. *J Biol Chem* 2010; 285: 1053-1065 [PMID: 19850925 DOI: 10.1074/jbc.M109.044529]
- 50 Quinton LJ, Blahna MT, Jones MR, Allen E, Ferrari JD, Hilliard KL, Zhang X, Sabharwal V, Algül H, Akira S, Schmid RM, Pelton SI, Spira A, Mizgerd JP. Hepatocyte-specific mutation of both NF- $\kappa$ B RelA and STAT3 abrogates the acute phase response in mice. *J Clin Invest* 2012; 122: 1758-1763 [PMID: 22466650 DOI: 10.1172/JCI59408]
- 51 Bode JG, Albrecht U, Häussinger D, Heinrich PC, Schaper F. Hepatic acute phase proteins--regulation by IL-6- and IL-1-type cytokines involving STAT3 and its crosstalk with NF- $\kappa$ B-dependent signaling. *Eur J Cell Biol* 2012; 91: 496-505 [PMID: 22093287 DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.09.008]
- 52 Fort A, Borel C, Migliavacca E, Antonarakis SE, Fish RJ, Neerman-Arbez M. Regulation of fibrinogen production by microRNAs. *Blood* 2010; 116: 2608-2615 [PMID: 20570858 DOI: 10.1182/blood-2010-02-268011]
- 53 Nishikawa T, Hagihara K, Serada S, Isobe T, Matsumura A, Song J, Tanaka T, Kawase I, Naka T, Yoshizaki K. Transcriptional complex formation of c-Fos, STAT3, and hepatocyte NF-1  $\alpha$  is essential for cytokine-driven C-reactive protein gene expression. *J Immunol* 2008; 180: 3492-3501 [PMID: 18292576]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# VEGF<sub>165</sub>b重组蛋白与贝伐珠单抗对人胃癌裸鼠移植瘤CD34表达及细胞凋亡的影响

吴海荣, 关云艳, 吴锡平, 诸静芬

## ■背景资料

恶性肿瘤已超过心脑血管疾病而位居致死原因的首位。胃癌是常见消化系统恶性肿瘤之一, 严重危害人类生命和健康, 如何提高治疗效果仍然是世界范围内关注的课题。

吴海荣, 关云艳, 吴锡平, 南京中医药大学无锡附属医院ICU 江苏省无锡市 214001

诸静芬, 南京中医药大学无锡附属医院消化科 江苏省无锡市 214001

吴海荣, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤与脏器保护方面的研究。无锡市医管中心立项基金资助项目, No. YGZ1021

作者贡献分布: 本课题由吴海荣与关云艳设计; 研究过程由吴锡平与诸静芬指导; 吴海荣、关云艳、吴锡平及诸静芬共同操作完成; 论文写作与数据分析由吴海荣与关云艳完成。

通讯作者: 关云艳, 副主任医师, 214001, 江苏省无锡市后西溪33号, 南京中医药大学无锡附属医院ICU. guanyun@163.com

收稿日期: 2013-08-06 修回日期: 2013-09-08

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-18

## Effect of recombinant human VEGF<sub>165</sub>b protein and bevacizumab on expression of CD34 and cell apoptosis in human gastric carcinoma xenografts in nude mice

Hai-Rong Wu, Yun-Yan Guan, Xi-Ping Wu, Jing-Fen Zhu

Hai-Rong Wu, Yun-Yan Guan, Xi-Ping Wu, ICU, Affiliated Wuxi Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Wuxi 214001, Jiangsu Province, China

Jing-Fen Zhu, Department of Gastroenterology, Affiliated Wuxi Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, Wuxi 214001, Jiangsu Province, China

Supported by: the Science Foundation of Wuxi Medical Center, No. YGZ1021

Correspondence to: Yun-Yan Guan, Associate Chief Physician, ICU, Affiliated Wuxi Hospital, Nanjing University of Traditional Chinese Medicine, 33 Houxixi Road, Wuxi 214001, Jiangsu Province, China. guanyun@163.com

Received: 2013-08-06 Revised: 2013-09-08

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of recombinant human VEGF<sub>165</sub>b protein (rhVEGF<sub>165</sub>b) and bevacizumab on expression of CD34 and cell apoptosis in human gastric carcinoma xenografts in nude mice.

**METHODS:** Thirty male nude mice were used to establish the human gastric carcinoma xenograft model. The mice were randomly divided into three groups: a rhVEGF<sub>165</sub>b group (intraperitoneal injection, 10 µg/kg), a bevacizumab

group (intraperitoneal injection, 5 mg/kg) and a control group. Tumor growth was detected by measuring tumor volume and weight. The expression of CD34 and apoptosis of tumor cells were detected by immunohistochemistry and TdT-mediated dUTP nick end labeling (TUNEL) assay at weeks 1, 2 and 3, respectively.

**RESULTS:** Tumor volume and weight at weeks 1 and 2 in the rhVEGF<sub>165</sub>b group (week 1:  $0.546 \pm 0.132$  vs  $0.637 \pm 0.084$ ,  $1.894 \pm 0.599$  vs  $0.46 \pm 0.093$ ; week 2:  $1.894 \pm 0.599$  vs  $2.238 \pm 0.29$ ,  $1.537 \pm 0.568$  vs  $2.013 \pm 0.833$ ;  $P < 0.05$  for all) and at weeks 1, 2 and 3 in the bevacizumab group (week 1:  $0.453 \pm 0.119$  vs  $0.637 \pm 0.084$ ,  $0.320 \pm 0.097$  vs  $0.460 \pm 0.093$ ; week 2:  $1.691 \pm 0.381$  vs  $2.238 \pm 0.290$ ,  $1.168 \pm 0.524$  vs  $2.013 \pm 0.833$ ; week 3:  $1.709 \pm 0.474$  vs  $4.872 \pm 0.594$ ,  $1.747 \pm 0.557$  vs  $3.463 \pm 0.986$ ,  $P < 0.05$  for all) were significantly smaller than those in the control group. At week 3, tumor volume and weight were significantly larger in the rhVEGF<sub>165</sub>b group than in the bevacizumab group ( $3.843 \pm 1.339$  vs  $1.709 \pm 0.474$ ,  $3.066 \pm 1.281$  vs  $1.747 \pm 0.557$ ,  $P < 0.05$  for both). Microvascular density (MVD) and apoptosis index (AI) at weeks 1, 2 and 3 in the rhVEGF<sub>165</sub>b group and bevacizumab group were significantly different from those in the control group. MVD and AI also differed significantly between the rhVEGF<sub>165</sub>b group and bevacizumab group.

**CONCLUSION:** Both rhVEGF<sub>165</sub>b and bevacizumab can inhibit the growth of human gastric carcinoma cells possibly by inhibiting angiogenesis and inducing apoptosis, with rhVEGF<sub>165</sub>b having a more significant effect in early stage.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Recombinant human VEGF<sub>165</sub>b protein; Bevacizumab; Gastric carcinoma; Microvascular density; Apoptosis

Wu HR, Guan YY, Wu XP, Zhu JF. Effect of recombinant human VEGF<sub>165</sub>b protein and bevacizumab on expression

## ■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院; 蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心



of CD34 and cell apoptosis in human gastric carcinoma xenografts in nude mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1058-1063 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1058.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1058>

## 摘要

**目的:** 对比观察VEGF<sub>165</sub>b重组蛋白(recombinant human VEGF<sub>165</sub>b protein, rhVEGF<sub>165</sub>b)与贝伐珠单抗对人胃癌裸鼠移植瘤生长的影响及作用机制。

**方法:** 用人胃癌细胞BGC-823接种于裸鼠皮下, 建立裸鼠移植瘤模型, 随机分为3组, 每组21只: rhVEGF<sub>165</sub>b组(腹腔注射rhVEGF<sub>165</sub>b 10 μg/kg)、贝伐珠单抗组(腹腔注射贝伐珠单抗5 mg/kg)、对照组(腹腔注射生理盐水10 mL/kg), 分别于1、2、3 wk测量裸鼠移植瘤体积及瘤质量, 免疫组织化学方法检测肿瘤组织中CD34表达(以阳性细胞数计算肿瘤微血管密度), TUNEL方法检测肿瘤组织细胞凋亡。

**结果:** 贝伐珠单抗组移植瘤体积(cm<sup>3</sup>)及瘤质量(g)在第1、2、3周均小于对照组(1 wk: 0.453±0.119 vs 0.637±0.084, 0.32±0.097 vs 0.46±0.093; 2 wk: 1.691±0.381 vs 2.238±0.29, 1.168±0.524 vs 2.013±0.833; 3 wk: 1.709±0.474 vs 4.872±0.594, 1.747±0.557 vs 3.463±0.986, 均 $P<0.05$ ), 而rhVEGF<sub>165</sub>b组仅在第1、2周较对照组小(1 wk: 0.546±0.132 vs 0.637±0.084, 1.894±0.599 vs 0.46±0.093; 2 wk: 1.894±0.599 vs 2.238±0.29, 1.537±0.568 vs 2.013±0.833, 均 $P<0.05$ ), 第3周其体积及瘤质量大于贝伐珠单抗组(3 wk: 3.843±1.339 vs 1.709±0.474, 3.066±1.281 vs 1.747±0.557,  $P<0.05$ ), 与对照组无明显差异。rhVEGF<sub>165</sub>b组、贝伐珠单抗组CD34的表达水平在第1、2、3周均低于对照组( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ), 凋亡指数高于对照组( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 与贝伐珠单抗组相比, 第1周rhVEGF<sub>165</sub>b组CD34的表达水平更低( $P<0.05$ ), 但第2、3周却高于贝伐珠单抗组( $P<0.01$ ); rhVEGF<sub>165</sub>b组的凋亡指数在第1周明显高于贝伐珠单抗组( $P<0.01$ ), 而第2、3周却低于贝伐珠单抗组( $P<0.05$ )。

**结论:** rhVEGF<sub>165</sub>b、贝伐珠单抗对人胃癌移植瘤的生长有明显抑制作用, rhVEGF<sub>165</sub>b早期抑制血管生成、促进细胞凋亡表现更为明显。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** VEGF<sub>165</sub>b重组蛋白; 贝伐珠单抗; 胃癌; 微

## 血管密度; 凋亡

**核心提示:** VEGF<sub>165</sub>b重组蛋白(recombinant human VEGF<sub>165</sub>b protein, rhVEGF<sub>165</sub>b)、贝伐珠单抗对人胃癌移植瘤的生长有明显抑制作用, rhVEGF<sub>165</sub>b早期抑制血管生成、促进细胞凋亡表现更为明显。

吴海荣, 关云艳, 吴锡平, 诸静芬. VEGF<sub>165</sub>b重组蛋白与贝伐珠单抗对人胃癌裸鼠移植瘤CD34表达及细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(8): 1058-1063 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1058.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1058>

## 0 引言

目前, 恶性肿瘤已超过心脑血管疾病而位居致死原因的首位<sup>[1,2]</sup>。有研究表明, 肿瘤的生长与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达密切相关<sup>[3,4]</sup>, VEGF<sub>165</sub>是体内最多的亚型。VEGF<sub>165</sub>b作为VEGF的新型剪接变构体, 具有抑制VEGF<sub>165</sub>所诱导的血管内皮细胞增殖、迁移生成的作用<sup>[5]</sup>, 目前尚无VEGF<sub>165</sub>b对胃癌作用方面的研究。本研究通过与贝伐珠单抗比较, 探讨rhVEGF<sub>165</sub>b对胃癌的治疗作用、机制, 从而为能否以VEGF<sub>165</sub>b为新靶点治疗该病提供初步的理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞株BGC-823为本实验室传代培养; ♀Balb/c裸鼠, 4-5周龄, 体质量12-15 g, 购自上海斯莱克实验动物有限公司, SPF级条件饲养; 贝伐珠单抗注射液: Roche Pharma(Schweiz) Ltd, 批号: B3426; rhVEGF<sub>165</sub>b: R&D, 批号: HNC0910101; TUNEL原位检测试剂盒, 南京凯基, 货号: KGA7022; CD34抗体, 武汉博士德生物有限公司, 货号: BA0532; SP试剂盒, 福州迈新生物科技有限公司, 货号: kit-9999; 日本OLYMPUS显微镜IX51。

### 1.2 方法

**1.2.1 移植瘤模型建立:** 收集培养的人低分化前胃癌细胞BGC-823悬液, 浓度为 $1 \times 10^7$ 个/mL, 取0.1 mL接种于裸鼠右侧腋窝皮下, 注射局部出现明显皮丘, 8 d后所有裸鼠均出现75-100 mm<sup>3</sup>大小的皮下结节, 移植瘤模型建立成功。

**1.2.2 分组:** 已成功建立皮下移植瘤模型的裸鼠随机分为对照组、贝伐珠单抗组及rhVEGF<sub>165</sub>b组, 每组21只, 3 d给药1次。贝伐珠单抗组予腹腔注射贝伐珠单抗5 mg/kg, rhVEGF<sub>165</sub>b组予腹腔

## ■ 研发前沿

研究表明肿瘤的生长与血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)表达密切相关, VEGF<sub>165</sub>是体内最多的亚型, 其生物活性最强且cDNA扩增丰度最高, VEGF<sub>165</sub>b作为VEGF的新型剪接变构体, 具有抑制VEGF<sub>165</sub>所诱导的血管内皮细胞增殖、迁移生成的作用。

## ■ 相关报道

有研究表明, 补充VEGF<sub>165</sub>b对肾细胞癌、前列腺癌、结肠癌新生血管生成及肿瘤的生长有一定的抑制作用.

表 1 移植瘤体积的比较 (cm<sup>3</sup>)

分组	第1周	第2周	第3周
贝伐珠单抗组	0.453 ± 0.119 <sup>a</sup>	1.691 ± 0.381 <sup>a</sup>	1.709 ± 0.474 <sup>a</sup>
rhVEGF <sub>165</sub> b组	0.546 ± 0.132 <sup>a</sup>	1.894 ± 0.599 <sup>a</sup>	3.843 ± 1.339 <sup>c</sup>
对照组	0.637 ± 0.084	2.238 ± 0.29	4.872 ± 0.594

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 贝伐珠单抗组.

表 2 移植瘤质量的比较 (g)

分组	第1周	第2周	第3周
贝伐珠单抗组	0.32 ± 0.097 <sup>a</sup>	1.168 ± 0.524 <sup>a</sup>	1.747 ± 0.557 <sup>a</sup>
rhVEGF <sub>165</sub> b组	0.41 ± 0.111 <sup>a</sup>	1.537 ± 0.568 <sup>a</sup>	3.066 ± 1.281 <sup>c</sup>
对照组	0.46 ± 0.093	2.013 ± 0.833	3.463 ± 0.986

<sup>a</sup>*P* < 0.05 vs 对照组; <sup>c</sup>*P* < 0.05 vs 贝伐珠单抗组.

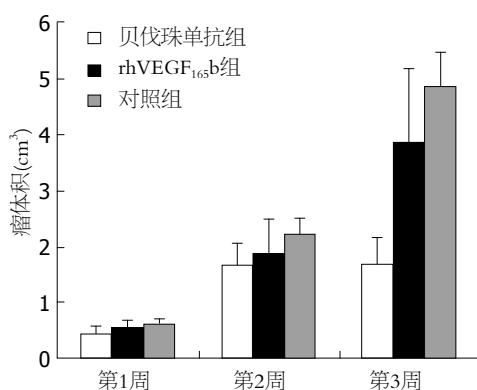


图 1 各组移植瘤不同时间点瘤体积.

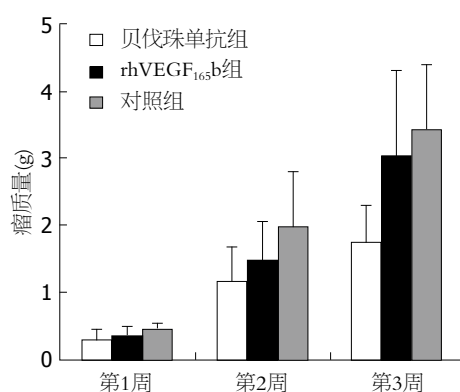


图 2 各组移植瘤不同时间点瘤质量.

注射rhVEGF<sub>165</sub>b 10 μg/kg, 对照组给予等量生理盐水溶液. 于第1、2、3周测量瘤体体积及瘤质量, 并留取标本.

1.2.3 移植瘤体积及瘤质量测定: 于第1、2、3周分别用游标卡尺测量肿瘤的长度、宽度, 肿瘤体积  $V = 1/2 \times a \times b^2$ . *V* 为肿瘤体积, *a*、*b* 分别为肿瘤的长短径. 处死裸鼠后剥离瘤组织, 称取瘤质量.

1.2.4 CD34的表达: 瘤体甲醛固定, 石蜡包埋切片, 脱蜡, 采用CD34抗体, SP免疫组织化学方法, DAB显色, 苏木素复染, 棕黄色环形为血管阳性表达. 微血管密度(microvascular density, MVD)计数结果判定, 参照Weidner方法<sup>[6]</sup>, 先在低倍镜(×10)下扫视整个切片, 选取高血管密度区, 再在高倍镜(×40)下计数被染成棕黄色的血管数目, 取3个视野的平均值.

1.2.5 TUNEL方法检测细胞凋亡: 按照试剂盒说明书进行操作, 用DNA酶处理过的切片为阳性对

照, 以PBS替代TUNEL反应液为阴性对照, 光学显微镜下取5个高倍视野观察拍照, 凋亡细胞为棕黄色, 正常细胞为蓝紫色, 计算出细胞凋亡指数(AI) = 凋亡细胞数/肿瘤细胞总数 × 100%.

统计学处理 用Stata8.0软件进行分析, 计量资料数据均以mean ± SD表示, 统计采用*t*检验, *P* < 0.05为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 移植瘤体积、瘤质量的变化 贝伐珠单抗组移植瘤体积及瘤质量在第1、2、3周均小于对照组(*P* < 0.05), 而rhVEGF<sub>165</sub>b组仅在第1、2周较对照组小(*P* < 0.05), 第3周其体积及瘤质量大于贝伐珠单抗组(*P* < 0.05), 与对照组无明显差异(表1, 2, 图1, 2).

2.2 移植瘤组织CD34的表达及MVD CD34主要表达于血管内皮细胞胞膜, 呈棕黄色至棕褐色, 逗点状、小管状或条索状, 分布不均呈异质性. rh-

表 3 移植瘤MVD值

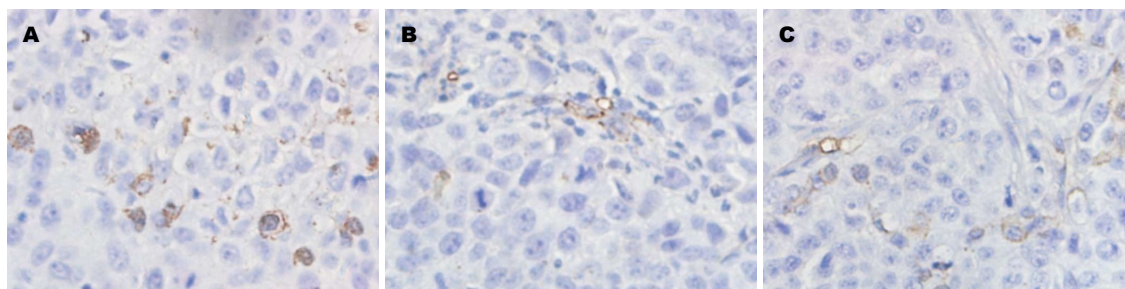
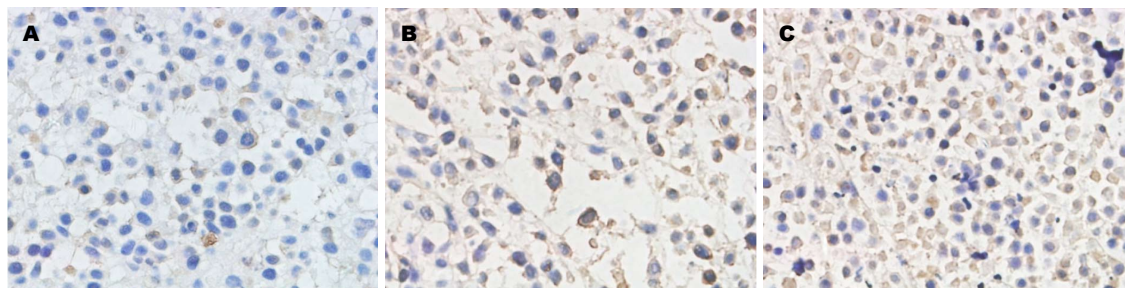
分组	第1周	第2周	第3周
贝伐珠单抗组	20.86 ± 4.18 <sup>a</sup>	20 ± 2.517 <sup>b</sup>	16.14 ± 2.41 <sup>b</sup>
rhVEGF <sub>165</sub> b组	16.57 ± 2.299 <sup>bc</sup>	20.14 ± 3.671 <sup>b</sup>	36.57 ± 3.207 <sup>bd</sup>
对照组	27.43 ± 2.992	38.14 ± 6.914	48.86 ± 5.872

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 贝伐珠单抗组.

表 4 移植瘤凋亡指数

分组	第1周	第2周	第3周
贝伐珠单抗组	2.08 ± 2.092 <sup>a</sup>	14.25 ± 1.394 <sup>b</sup>	29.88 ± 5.179 <sup>b</sup>
rhVEGF <sub>165</sub> b组	6.11 ± 1.479 <sup>bd</sup>	10.13 ± 1.688 <sup>bd</sup>	19.91 ± 3.082 <sup>bd</sup>
对照组	0.25 ± 0.176	1.42 ± 0.725	1.07 ± 0.721

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 贝伐珠单抗组.

图 3 各组移植瘤组织CD34的表达( $\times 200$ ). A: 对照组; B: 贝伐珠单抗组; C: rhVEGF<sub>165</sub>b组.图 4 移植瘤组织TUNEL检测细胞凋亡( $\times 200$ ). A: 对照组; B: 贝伐珠单抗组; C: rhVEGF<sub>165</sub>b组.

VEGF<sub>165</sub>b组、贝伐珠单抗组MVD在第1、2、3周均低于对照组( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ ), 而rhVEGF<sub>165</sub>b组在第1周时MVD较贝伐珠单抗组低( $P < 0.05$ ), 第3周却高于贝伐珠单抗组( $P < 0.01$ )(表3, 图3).

**2.3 移植瘤细胞的凋亡指数** TUNEL检测阳性反应物质呈棕黄色, 主要位于细胞核中, 凋亡细胞呈散在或簇状分布. 与对照组相比, rhVEGF<sub>165</sub>b组、贝伐珠单抗组凋亡指数均明显增加, 第1、2、3周均有显著差异( $P < 0.05$ 、 $P < 0.01$ ); 但rhVEGF<sub>165</sub>b组凋亡指数于第1周明显高于贝伐珠单抗组( $P < 0.01$ ), 第2、3周却低于贝伐珠单抗组( $P < 0.01$ )(表4, 图4).

### 3 讨论

肿瘤的生长和转移均依赖于血管的形成, 在促进血管生成因子中, 作用最强且研究最广泛的就是VEGF. VEGF<sub>165</sub>是体内最多的亚型, 其生物活性最强且cDNA扩增丰度最高, 故在临床和动物实验中应用最广. 但在2002年Bates等<sup>[7]</sup>分离出VEGF的新型剪接变构体-VEGF<sub>165</sub>b, 其选择性剪接发生于外显子8的远端, 在结构上与VEGF<sub>165</sub>相比, 仅表现为终末6个氨基酸的不同, 但其可和VEGF<sub>165</sub>竞争性地与VEGFR<sub>2</sub>结合, 但仅能部分激动VEGFR<sub>2</sub><sup>[8]</sup>, 从而起到抑制VEGF<sub>165</sub>所诱导的

### ■创新盘点

目前尚无VEGF<sub>165</sub>b对胃癌作用方面的研究, 通过与贝伐珠单抗比较, 探讨rhVEGF<sub>165</sub>b对胃癌的治疗作用、机制.



### ■应用要点

rhVEGF<sub>165</sub>b具有抑制瘤体血管生成和促进癌细胞凋亡的作用,抑制了胃癌裸鼠移植瘤的生长,以VEGF<sub>165</sub>b为新靶点治疗提供初步的理论依据。

内皮细胞增殖、迁移及血管舒张、血管生成的作用。VEGF<sub>165</sub>b也能与VEGFR<sub>1</sub>受体结合,但亲和力的大小目前还不明确<sup>[9]</sup>。研究显示VEGF<sub>165</sub>b广泛表达于正常组织中,而在肾细胞癌、前列腺癌、恶性黑色素瘤、糖尿病患者眼组织中及先兆子痫胎盘中表达均下调<sup>[10-12]</sup>,在且应用外源性VEGF<sub>165</sub>b抑制了新生血管及肿瘤的生长<sup>[13]</sup>。另外,VEGF<sub>165</sub>/VEGF<sub>165</sub>b的变化也与肾脏足细胞分化状态有关,在分化的足细胞VEGF<sub>165</sub>b表达增高<sup>[14,15]</sup>。Rennel等<sup>[16]</sup>将结肠癌细胞种植于裸鼠颈背部皮下,24 h后或肿瘤直径达4-5 mm时开始皮下或腹腔内注射重组VEGF<sub>165</sub>b蛋白,结果也显示VEGF<sub>165</sub>b抑制了该肿瘤的生长,且这一作用呈剂量依赖型,但不影响血液动力学及肝脏的功能和形态学变化。除此之外,VEGF<sub>165</sub>b也有抑制激光诱导的脉络膜新生血管生成的作用<sup>[17]</sup>。

目前针对VEGF的靶向治疗主要包括VEGF单克隆抗体、VEGFR酪氨酸激酶抑制剂。贝伐珠单抗属于单克隆抗体,是直接作用于VEGF的人源化单克隆抗体,含有93%人IgG骨架及7%鼠源结合区域。可与VEGF结合,阻止其与内皮细胞表面的VEGFR结合,特异封闭VEGF的生物学功能,如内皮细胞有丝分裂原活性、血管通透性、血管生成活性等<sup>[18,19]</sup>。临床试验显示,贝伐珠单抗与抗肿瘤方案联合治疗胃癌,可明显提高生存率、显著延长患者的生存期<sup>[20]</sup>,但目前尚缺乏评估对该药敏感性的生物学指标。Yamashita-Kashima等<sup>[21]</sup>应用9种不同类型的人胃癌细胞株构建移植瘤模型,其中有6种胃癌细胞株(包括GXF97、MKN-45、MKN-28、4-1ST、SC-08-JCK和SC-09-JCK)对贝伐珠单抗敏感,另外3种(SCH、SC-10-JCK和NCI-N87)对其不敏感,而且VEGF表达水平可以作为判断对该药是否敏感的生物学指标。由此可见,贝伐珠单抗并不是对所有类型的胃癌有效,且由于单克隆抗体常有免疫原性,而且在某些组织中可诱导血管退化性变<sup>[22]</sup>,而实验显示VEGF<sub>165</sub>b对生理性血管生成没有影响<sup>[23]</sup>,因此从这方面看来VEGF<sub>165</sub>b比贝伐珠单抗具有一定的优越性。

我们的前期实验显示,与癌旁正常组织相比,胃癌组织中也有VEGF<sub>165</sub>b表达的下调,因此我们推测rhVEGF<sub>165</sub>b也具有抑制胃癌生长的作用。在实验中,我们以BGC-823细胞株构建了胃癌的动物模型,观察并比较了rhVEGF<sub>165</sub>b和贝伐珠单抗对胃癌移植瘤的作用,结果显示

rhVEGF<sub>165</sub>b具有抑制瘤体血管生成和促进癌细胞凋亡的作用,因此也就抑制了胃癌裸鼠移植瘤的生长,这种效应在第1、2周比较明显,但第3周时rhVEGF<sub>165</sub>b作用则弱于贝伐珠单抗,这可能与后期随着肿瘤的增长VEGF<sub>165</sub>b重组蛋白的剂量亦需相应增加有关。尽管如此,我们可以看出rhVEGF<sub>165</sub>b有望成为治疗胃癌的新选择。

### 4 参考文献

- 1 Hotta K, Oyama T, Akamatsu T, Tomori A, Hasebe O, Nakamura N, Kojima E, Suga T, Miyabayashi H, Ohta H. A comparison of outcomes of endoscopic submucosal dissection (ESD) For early gastric neoplasms between high-volume and low-volume centers: multi-center retrospective questionnaire study conducted by the Nagano ESD Study Group. *Intern Med* 2010; 49: 253-259 [PMID: 20154428 DOI: 10.2169/internalmedicine.49.2816]
- 2 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010; 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 3 Martins SF, Reis RM, Rodrigues AM, Baltazar F, Filho AL. Role of endoglin and VEGF family expression in colorectal cancer prognosis and anti-angiogenic therapies. *World J Clin Oncol* 2011; 2: 272-280 [PMID: 21773077]
- 4 Li SG, Ye ZY, Zhao ZS, Tao HQ, Wang YY, Niu CY. Correlation of integrin beta3 mRNA and vascular endothelial growth factor protein expression profiles with the clinicopathological features and prognosis of gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 421-427 [PMID: 18200665 DOI: 10.3748/wjg.14.421]
- 5 孙旭东, 欧希龙, 关云艳, 孙为豪, 余磊, 叶强, 罗培培, 袁翠林. HIF-1 $\alpha$ 与VEGF165在胃癌的表达及其意义. *江苏医药* 2011; 11: 1288-1290
- 6 Weidner N. Intratumor microvessel density as a prognostic factor in cancer. *Am J Pathol* 1995; 147: 9-19 [PMID: 7541613]
- 7 Bates DO, Cui TG, Doughty JM, Winkler M, Sgionio M, Shields JD, Peat D, Gillatt D, Harper SJ. VEGF165b, an inhibitory splice variant of vascular endothelial growth factor, is down-regulated in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 2002; 62: 4123-4131 [PMID: 12124351]
- 8 Cébe Suarez S, Pieren M, Cariolato L, Arn S, Hoffmann U, Bogucki A, Manlius C, Wood J, Ballmer-Hofer K. A VEGF-A splice variant defective for heparan sulfate and neuropilin-1 binding shows attenuated signaling through VEGFR-2. *Cell Mol Life Sci* 2006; 63: 2067-2077 [PMID: 16909199 DOI: 10.1007/s00018-006-6254-9]
- 9 Glass CA, Harper SJ, Bates DO. The anti-angiogenic VEGF isoform VEGF165b transiently increases hydraulic conductivity, probably through VEGF receptor 1 in vivo. *J Physiol* 2006; 572: 243-257 [PMID: 16423853]
- 10 Pritchard-Jones RO, Dunn DB, Qiu Y, Valey AH, Orlando A, Rigby H, Harper SJ, Bates DO. Expression of VEGF(xxx)b, the inhibitory isoforms of VEGF, in malignant melanoma. *Br J Cancer* 2007; 97: 223-230 [PMID: 17595666 DOI: 10.1038/sj.bjc.6603839]

- 11 Perrin RM, Konopatskaya O, Qiu Y, Harper S, Bates DO, Churchill AJ. Diabetic retinopathy is associated with a switch in splicing from anti- to pro-angiogenic isoforms of vascular endothelial growth factor. *Diabetologia* 2005; 48: 2422-2427 [PMID: 16193288 DOI: 10.1007/s00125-005-1951-8]
- 12 Bates DO, MacMillan PP, Manjaly JG, Qiu Y, Hudson SJ, Bevan HS, Hunter AJ, Soothill PW, Read M, Donaldson LF, Harper SJ. The endogenous anti-angiogenic family of splice variants of VEGF, VEGF<sub>xxx</sub>b, are down-regulated in pre-eclamptic placentae at term. *Clin Sci (Lond)* 2006; 110: 575-585 [PMID: 16451124 DOI: 10.1042/CS20050292]
- 13 Woolard J, Wang WY, Bevan HS, Qiu Y, Morbidelli L, Pritchard-Jones RO, Cui TG, Sugiono M, Waite E, Perrin R, Foster R, Digby-Bell J, Shields JD, Whittles CE, Mushens RE, Gillatt DA, Ziche M, Harper SJ, Bates DO. VEGF165b, an inhibitory vascular endothelial growth factor splice variant: mechanism of action, in vivo effect on angiogenesis and endogenous protein expression. *Cancer Res* 2004; 64: 7822-7835 [PMID: 15520188 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-0934]
- 14 Cui TG, Foster RR, Saleem M, Mathieson PW, Gillatt DA, Bates DO, Harper SJ. Differentiated human podocytes endogenously express an inhibitory isoform of vascular endothelial growth factor (VEGF165b) mRNA and protein. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004; 286: F767-F773 [PMID: 14644752 DOI: 10.1152/ajprenal.00337.2003]
- 15 Schumacher VA, Jeruschke S, Eitner F, Becker JU, Pitschke G, Ince Y, Miner JH, Leuschner I, Engers R, Everding AS, Bulla M, Royer-Pokora B. Impaired glomerular maturation and lack of VEGF165b in Denys-Drash syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 719-729 [PMID: 17267748 DOI: 10.1681/ASN.2006020124]
- 16 Rennel ES, Hamdollah-Zadeh MA, Wheatley ER, Magnussen A, Schüler Y, Kelly SP, Finucane C, Ellison D, Cebe-Suarez S, Ballmer-Hofer K, Mather S, Stewart L, Bates DO, Harper SJ. Recombinant human VEGF165b protein is an effective anti-cancer agent in mice. *Eur J Cancer* 2008; 44: 1883-1894 [PMID: 18657413 DOI: 10.1016/j.ejca.2008.05.027]
- 17 Tayama M, Furuhashi T, Inafuku Y, Okita K, Nishidate T, Mizuguchi T, Kimura Y, Hirata K. Vascular endothelial growth factor 165b expression in stromal cells and colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4867-4874 [PMID: 22171127 DOI: 10.3748/wjg.v17.i44.4867]
- 18 Ferrara N, Hillan KJ, Gerber HP, Novotny W. Discovery and development of bevacizumab, an anti-VEGF antibody for treating cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 391-400 [PMID: 15136787 DOI: 10.1038/nrd1381]
- 19 王玉, 方明治. 贝伐单抗在部分实体肿瘤中临床应用的研究进展. *肿瘤* 2011; 31: 379-384
- 20 Shah MA, Ramanathan RK, Ilson DH, Levrnor A, D'Adamo D, O'Reilly E, Tse A, Trocola R, Schwartz L, Capanu M, Schwartz GK, Kelsen DP. Multicenter phase II study of irinotecan, cisplatin, and bevacizumab in patients with metastatic gastric or gastroesophageal junction adenocarcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 5201-5206 [PMID: 17114652 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.0887]
- 21 Yamashita-Kashima Y, Fujimoto-Ouchi K, Yoroizu K, Kurasawa M, Yanagisawa M, Yasuno H, Mori K. Biomarkers for antitumor activity of bevacizumab in gastric cancer models. *BMC Cancer* 2012; 12: 37 [PMID: 22273502]
- 22 Baffert F, Le T, Sennino B, Thurston G, Kuo CJ, Hu-Lowe D, McDonald DM. Cellular changes in normal blood capillaries undergoing regression after inhibition of VEGF signaling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2006; 290: H547-H559 [PMID: 16172161 DOI: 10.1152/ajpheart.00616.2005]
- 23 Konopatskaya O, Churchill AJ, Harper SJ, Bates DO, Gardiner TA. VEGF165b, an endogenous C-terminal splice variant of VEGF, inhibits retinal neovascularization in mice. *Mol Vis* 2006; 12: 626-632 [PMID: 16735996]

## ■同行评价

本文设计合理, 实验方法得当, 结论可信, 论文质量较好, 有科学性。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 人前梯度蛋白2在结肠癌组织中的表达及其意义

李涵, 王进, 杨丽敏, 宁寒冰

## ■背景资料

结肠癌是临床常见的恶性肿瘤之一, 随着生活方式及饮食结构改变, 我国结肠癌的发病率迅速上升, 且早期结肠癌常无症状, 多数患者确诊时已处中晚期。因此结肠癌早期诊断在临床中越来越重要。

李涵, 王进, 杨丽敏, 宁寒冰, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

李涵, 在读硕士研究生, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由王进与李涵设计; 研究过程由所有作者共同完成; 数据分析由李涵完成; 论文写作由李涵与宁寒冰共同完成。

通讯作者: 王进, 教授, 主任医师, 450052, 河南省郑州市建设东路1号, 郑州大学第一附属医院消化内科。

wangjin3@medmail.com.cn

电话: 0371-66862072

收稿日期: 2013-12-08 修回日期: 2014-01-14

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-18

## Clinical significance of expression of anterior gradient-2 in colon adenocarcinoma

Han Li, Jin Wang, Li-Min Yang, Han-Bing Ning

Han Li, Jin Wang, Li-Min Yang, Han-Bing Ning, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Jin Wang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. wangjin3@medmail.com.cn

Received: 2013-12-08 Revised: 2014-01-14

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of anterior gradient-2 (AGR2) in colon adenocarcinoma and the relationship between AGR2 expression and clinicopathological features of colon adenocarcinoma.

**METHODS:** AGR2 mRNA and protein expression in colon adenocarcinoma and tumor-adjacent non-cancerous tissues was detected by semi-quantitative RT-PCR, Western blot and immunohistochemistry.

**RESULTS:** The expression of AGR2 mRNA and protein in colon adenocarcinoma was significantly higher than that in tumor-adjacent non-cancerous tissues ( $0.95 \pm 0.03$  vs  $0.21 \pm 0.06$ ,  $0.93 \pm 0.03$  vs  $0.31 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$  for both). The

positive rate of AGR2 expression in colon adenocarcinoma was significantly higher than that in tumor-adjacent non-cancerous tissues (75% vs 29.4%,  $P < 0.05$ ). The expression of AGR2 was correlated with Dukes stage, histopathological grade and lymph node metastasis ( $P < 0.05$  for all), but not with other clinicopathologic factors.

**CONCLUSION:** Our findings indicate that the expression of AGR2 is closely related to the tumorigenesis, progression and metastasis of colon adenocarcinoma. AGR2 may be used as a diagnostic marker for colon adenocarcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Anterior gradient-2; Colonic adenocarcinoma; Cancer marker; Semi-quantitative RT-PCR; Western blot; Immunohistochemistry

Li H, Wang J, Yang LM, Ning HB. Clinical significance of expression of anterior gradient-2 in colon adenocarcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1064-1069 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1064.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1064>

## 摘要

**目的:** 检测人前梯度蛋白2(anterior gradient-2, AGR2)在结肠癌组织中的表达及其与结肠癌临床病理参数之间关系。

**方法:** 采用半定量反转录-聚合酶链反应(semi-quantitative RT-PCR)检测结肠癌及癌旁正常组织中AGR2 mRNA表达情况, 应用蛋白质印迹(Western blot)、免疫组织化学S-P法检测结肠癌及癌旁正常组织中AGR2蛋白的表达情况, 并结合临床病理参数进行分析。

**结果:** 半定量PCR及Western blot结果显示, AGR2 mRNA及蛋白在结肠癌的表达水平均明显高于癌旁正常组织(mRNA:  $0.95 \pm 0.03$  vs  $0.21 \pm 0.06$ ,  $P < 0.05$ ; 蛋白:  $0.93 \pm 0.03$  vs  $0.31 \pm 0.02$ ,  $P < 0.05$ ); 免疫组织化学结果显示, AGR2在结肠癌组织中阳性表达率明显高于癌旁正常组织(75% vs 29.4%,  $P < 0.05$ ), AGR2

## ■同行评议者

卢晓梅, 教授, 研究员, 新疆医科大学第一附属医院临床医学研究院



在结肠癌组织中的表达与年龄、性别无相关性( $P>0.05$ ), 与Dukes分期、组织学分级、淋巴结转移均显著相关( $P<0.05$ ).

**结论:** AGR2在结肠癌组织中的表达上调可能与结肠癌的发生、发展、转移相关, 有望成为结肠癌的早期诊断指标.

© 2014年版权归归世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 人前梯度蛋白2; 结肠癌; 肿瘤标志物; 半定量反转录-聚合酶链反应; 免疫印迹; 免疫组织化学

**核心提示:** 本研究发现人前梯度蛋白2(anterior gradient-2, AGR2)mRNA及蛋白在结肠癌组织中的表达明显高于癌旁正常组织, 且与淋巴结转移相关, 提示AGR2在结肠癌组织中的表达上调可能与结肠癌的发生、发展、转移相关, 有望成为结肠癌的早期诊断指标.

李涵, 王进, 杨丽敏, 宁寒冰. 人前梯度蛋白2在结肠癌组织中的表达及其意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1064-1069  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1064.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1064>

## 0 引言

结肠癌是临床常见的恶性肿瘤之一, 在我国常见恶性肿瘤中, 发病率位于第5位<sup>[1]</sup>, 且具有逐年升高趋势, 因此结肠癌早期诊断日益重要. 众多研究发现人前梯度蛋白2(anterior gradient-2, AGR2)在多种人类肿瘤中过表达<sup>[2-7]</sup>, 与肿瘤形成和转移密切相关<sup>[8-10]</sup>. 最近研究发现前列腺癌组织中AGR2异常表达, 而且AGR2在前列腺癌患者尿液中过表达<sup>[11]</sup>. 基于AGR2在一些肿瘤组织中过表达及易于检测等性质, AGR2可作为潜在的肿瘤检测指标进一步研究. 国外最新研究发现在结肠癌患者外周血中AGR2 mRNA明显升高<sup>[12]</sup>, 且在多数结肠癌细胞系中AGR2高表达<sup>[13]</sup>. 目前AGR2在结肠癌组织中表达情况尚未见相关文献报道, 本实验采用半定量PCR、免疫印迹、免疫组织化学方法, 检测AGR2在结肠癌组织中的表达情况, 探讨其在结肠癌发生、发展过程中的作用及临床意义.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集郑州大学第一附属医院2012-10/2013-05结肠癌手术切除标本68例, 所有标本收集均经患者同意并签署知情同意书, 并通过伦理委员会批准. 每例标本取材于癌组织及其癌旁组织

(距癌灶边缘5.0 cm及以上), 液氮10 min后置于-80 °C保存, 所有患者诊断均经病理证实, 术前均未接受过放疗、化疗和生物治疗. 其中男33例, 女35例, 年龄32-84岁, 中位年龄55.4岁. Duke分期分为A期15例、B期16例、C期29例、D期8例. 按分化程度分为高分化17例、中分化28例、低分化23例. 淋巴结转移32例, 无淋巴结转移36例. 取其中32例淋巴结转移组癌组织及其对应癌旁组织行半定量-PCR及免疫印迹. Trizol购自美国Invitrogen公司, RT-PCR试剂盒购自上海生工公司, PCR引物序列由上海生工公司合成, AGR2引物序列: 上游5'-CTGGC-CAGAGATACCACAGTC-3', 下游5'-AGTTG-GTCACCCCAACCTC-3', 产物片段101 bp; 以 $\beta$ -actin为内参基因. 兔抗人AGR2多克隆抗体购自美国Abgent公司(Cat.AJ1020a); 兔抗人 $\beta$ -actin多克隆抗体购自北京博奥森公司(bs-0061R); HRP标记山羊抗兔二抗、ECL发光液、BCA蛋白浓度测定试剂盒均购自碧云天; 即用型S-P试剂盒及DAB显色剂均购自北京博奥森生物技术有限公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 Semi-quantitative RT-PCR检测:** 组织总RNA提取按照Trizol试剂盒提供的说明书操作, 提取总RNA经琼脂糖凝胶电泳, 采用紫外分光光度法测定总RNA含量和纯度. 按逆转录试剂盒说明书进行逆转录, AGR2反应条件为95 °C 5 min, 95 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 45 s, 共30个循环, 终末延伸72 °C 5 min. 取PCR产物经琼脂糖凝胶电泳, 凝胶成像分析系统进行电泳条带分析, 用目的条带灰度值与 $\beta$ -actin条带灰度值的比值表示标本相对mRNA水平.

**1.2.2 Western blot检测:** 采用RIPA裂解液分别提取32例结肠癌组织及癌旁正常组织总蛋白, 按照蛋白定量试剂盒说明书BCA法进行总蛋白定量, 取50  $\mu$ g蛋白质样品进行10%SDS-PAGE凝胶电泳后将蛋白转移至PVDF膜. 5%脱脂牛奶封闭后, 加入1:1000稀释的兔抗人AGR2多克隆抗体、1:200稀释的兔抗人 $\beta$ -actin多克隆抗体4 °C孵育过夜, TBST洗涤后加入HRP标记山羊抗兔二抗室温孵育1 h, TBST洗涤后ECL化学发光试剂自显影, 照相. 以目的蛋白与 $\beta$ -actin的灰度比进行半定量分析.

**1.2.3 免疫组织化学检测:** 全部68例标本均经10%甲醛固定, 常规石蜡包埋, 4  $\mu$ m厚连续切片, 常规脱蜡, 高温高压修复, 具体操作步骤严格按

### ■ 研究前沿

目前国内外对人前梯度蛋白2(anterior gradient-2, AGR2)的研究主要集中在两个方面. 一方面是与肿瘤发生的相关性研究, 研究结果表明其在一系列肿瘤组织中都存在异常表达, 提示其与肿瘤的发生、发展相关. 另一方面是机制研究, 主要包括在分子水平促进肿瘤发生、发展的机制, 具体机制目前尚未清楚.

## ■ 相关报道

2012年Manuel等通过检测结肠癌患者外周血中AGR2 mRNA, 提出AGR2可作为检测结肠癌的潜在标志物。Lee等应用Western blot方法发现大多数结肠癌细胞系中AGR2异常表达, 并提出AGR2可作为结肠癌生物免疫治疗的潜在分子靶标进行深入研究。

表 1 AGR2 mRNA及蛋白表达条带灰度分析比值 ( $n = 68$ , mean  $\pm$  SD)

分组	AGR2 mRNA	AGR2蛋白
癌组织	$0.95 \pm 0.03^a$	$0.93 \pm 0.03^a$
癌旁组织	$0.21 \pm 0.06$	$0.31 \pm 0.02$

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 癌旁组织。AGR2: 人前梯度蛋白2。

表 2 AGR2在结肠癌及癌旁组织中的表达 ( $n = 68$ ,  $n(\%)$ )

组织类型	AGR2		
	阳性	$\chi^2$ 值	$P$ 值
癌旁组织	20(29.4)	28.32	0.000
癌组织	51(75)		

AGR2: 人前梯度蛋白2。

照试剂盒说明书进行。AGR2一抗浓度均为1:100, 用PBS代替一抗作为空白对照, 用已知阳性切片作为阳性对照。AGR2蛋白阳性信号定位于细胞质, 呈黄色或棕黄色颗粒, 首先按染色强度进行评分: 未染色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 深棕黄色为3分; 然后以阳性细胞比例进行评分: 阴性细胞为0分, 阳性细胞 $<10\%$ 为1分,  $11\%-50\%$ 为2分,  $51\%-75\%$ 为3分,  $>75\%$ 为4分。免疫组织化学染色结果以染色强度评分与阳性细胞比例评分乘积表示,  $\leq 3$ 为阴性表达,  $>3$ 为阳性表达。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件行统计学分析, 结肠癌、癌旁正常组织中mRNA和蛋白表达量数据采用mean  $\pm$  SD表示, 进行配对资料 $t$ 检验, 免疫组织化学计数资料进行 $\chi^2$ 检验, 以 $\alpha = 0.05$ 为检验水准。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 半定量RT-PCR结果** AGR2 mRNA在结肠癌组织、癌旁组织中相对表达量分别为 $0.95 \pm 0.03$ 、 $0.21 \pm 0.06$ , 结肠癌中表达量明显高于癌旁正常组织( $P < 0.05$ , 表1, 图1)。

**2.2 Western blot结果** AGR2在结肠癌组织、癌旁组织中相对表达量分别为 $0.93 \pm 0.03$ 、 $0.31 \pm 0.02$ , 结肠癌组织中表达量明显高于癌旁正常组织( $P < 0.05$ , 表1, 图2)。

**2.3 免疫组织化学结果** AGR2在结肠癌组织、癌旁组织中阳性表达率分别为75%(51/68)、29.4%(20/68), 结肠癌组织阳性表达率明显高于

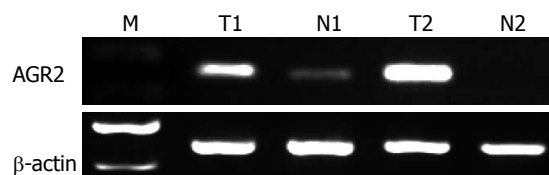


图 1 AGR2 mRNA在结肠癌组织及其对应癌旁正常组织中表达情况。M: DL500 DNA Marker; T: 结肠癌组织; N: 癌旁组织。AGR2: 人前梯度蛋白2;  $\beta$ -actin:  $\beta$ -肌动蛋白。

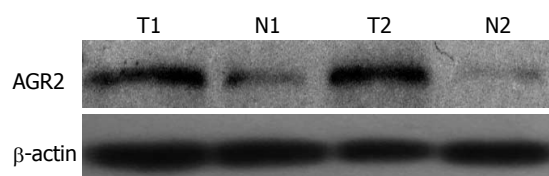


图 2 AGR2在结肠癌组织及其对应癌旁正常组织中表达情况。T: 结肠癌组织; N: 癌旁组织。AGR2: 人前梯度蛋白2;  $\beta$ -actin:  $\beta$ -肌动蛋白。

癌旁正常组织( $\chi^2 = 28.32$ ,  $P < 0.05$ ), (表2, 图3)。

**2.4 AGR2在结肠癌组织中表达情况与结肠癌患者临床病理参数之间的关系** AGR2在结肠癌中的表达与年龄、性别无相关性( $P > 0.05$ ), 与Dukes分期、组织学分级均有关( $P < 0.05$ )(表3)。

## 3 讨论

随着人们生活水平提高、饮食习惯改变, 我国结肠癌的发病率迅速上升<sup>[14]</sup>, 且结肠癌的发病呈年轻化<sup>[15]</sup>。早期结肠癌常无症状, 随着癌肿的增大与并发症的发生才出现症状, 多数患者确诊时已处中晚期, 8%-25%已发生肝转移。目前结肠癌的治疗是以手术为主, 术后辅助化疗为了减少复发与转移, 5年生存率徘徊在25%-50%之间<sup>[16]</sup>。因此结肠癌早期诊断在临床中越来越重要。

AGR2基因位于染色体7p21.3, 编码一种分泌性蛋白质, 是非洲爪蛙黏液腺基因 $xAG2$ (*xenopus laevis* anterior gradient-2)的人型同源物<sup>[17]</sup>。AGR2最早由Kuang等<sup>[18]</sup>在雌激素受体阳性表达的乳腺癌细胞株差异表达中发现。目前国内外对AGR2的研究主要集中在两个方向。一方面是与肿瘤发生的相关性研究, 相关研究表明其在一系列肿瘤组织中都存在异常表达, 例如胃癌<sup>[2]</sup>、卵巢癌<sup>[3]</sup>、乳腺癌<sup>[19-20]</sup>、前列腺癌<sup>[21,22]</sup>、胰腺癌<sup>[23]</sup>等肿瘤中高表达, 提示其与肿瘤的发生、发展相关<sup>[24]</sup>。Ramachandran等<sup>[25]</sup>发现AGR2在转移性胰腺癌细胞中高表达, 而抑制AGR2表达后肿瘤细胞生长受到明显抑制, 侵袭行为明显减少, 且细胞对于抗肿瘤药物

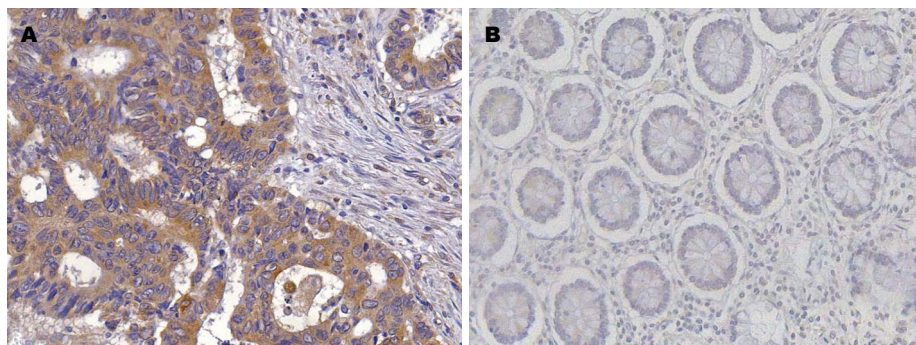


图3 免疫组织化学检测AGR2在结肠癌及癌旁正常组织中表达(SP×200)。A: 结肠癌组织; B: 对应癌旁组织。

#### ■创新盘点

目前在结肠癌组织中AGR2的表达情况尚未见相关报道。本实验应用半定量RT-PCR、Western blot及免疫组织化学方法检测结肠癌组织中AGR2 mRNA及蛋白表达情况。

表3 AGR2表达与结肠癌临床病理因素之间的关系 n(%)

临床病理因素	n	AGR2		
		+	$\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)			0.982	0.322
≤55	29	20(69)		
>55	39	31(79.5)		
性别			0.962	0.327
男	33	23(69.7)		
女	35	28(80.0)		
Dukes分期			8.715	0.003
A+B	31	18(58.1)		
C+D	37	33(89.2)		
分化程度			7.906	0.005
高、中分化	45	29(64.4)		
低分化	23	21(95.7)		
淋巴结转移			7.870	0.005
无	36	22(61.6)		
有	32	29(90.6)		

AGR2: 人前梯度蛋白2。

的敏感性增加。Zhang等<sup>[26]</sup>发现过量AGR2表达可以促进前列腺癌细胞的侵袭行为和迁移能力, 沉默AGR2后其侵袭行为和迁移能力受到抑制。Hrstka等<sup>[27]</sup>在研究AGR2在乳腺癌抗激素药物耐药所起的作用时, 发现使用他莫昔芬治疗后, AGR2的表达量有所上升, 提示AGR2可能与乳腺癌耐药性有关。上述研究表明AGR2可能与肿瘤转移及耐药有关, 这为AGR2作为肿瘤诊断指标和治疗靶点进一步研究提供支持。另一方面是机制研究, 主要包括在分子水平促进肿瘤发生、发展的机制。目前陆续发现了一些与AGR2结合的蛋白, 例如人肠黏蛋白(mucin2, MUC2)<sup>[28,29]</sup>、ATP结合蛋白reptin<sup>[30]</sup>等。Dong等<sup>[31]</sup>发现AGR2通过激活Yes相关蛋白(Yes-associated protein, YAP)去磷酸化, 来诱导双调蛋白(amphiregulin,

AREG)的表达, 从而促进肿瘤的形成。其中YAP为新发现的信号转导通路Hippo通路下游主要的转录因子<sup>[32]</sup>, 表明AGR2与Hippo信号通路、EGF信号通路在促肿瘤形成过程中相关。现阶段对AGR2促进肿瘤形成、转移的具体分子机制尚不清楚, 可作为潜在肿瘤标志物进一步研究。

国外相关研究发现, AGR2在结肠癌患者外周血及结肠癌细胞系中异常表达。Valladares-Ayerbes等<sup>[12]</sup>通过检测结肠癌患者外周血中AGR2 mRNA, 提出AGR2可作为检测结肠癌的潜在标志物。Lee等<sup>[13]</sup>应用Western blot方法发现大多数结肠癌细胞系中AGR2表达上调, 例如DK01、DLD1、HCT-8等, 提出AGR2可作为结肠癌生物免疫治疗的潜在分子靶标进行深入研究。目前在结肠癌组织中AGR2的表达情况尚未见相关报道。

本实验应用半定量RT-PCR、Western blot及免疫组织化学方法检测结肠癌组织中AGR2 mRNA及蛋白表达情况。本实验结果显示AGR2 mRNA及蛋白在结肠癌组织中的表达明显高于癌旁正常组织, 差异具有统计学意义, 且在结肠癌组织中的表达随着临床分期进展、分化程度降低, 其表达水平不断升高, 与国外文献报道结肠癌患者外周血及结肠癌细胞系中表达情况基本一致, 提示AGR2高表达与结肠癌的发生、发展有关。

本研究结果还发现淋巴结转移的结肠癌组织中AGR2阳性表达率明显高于无淋巴结转移的结肠癌组织, 提示AGR2高表达与结肠癌的淋巴结转移有关。结合国外研究结果, 可推测AGR2异常表达可能促进结肠癌的发生、发展及转移, 因此AGR2可作为结肠癌潜在肿瘤标志物进行深入研究。

#### 4 参考文献

- 1 Zhao P, Dai M, Chen W, Li N. Cancer trends in China. *Jpn J Clin Oncol* 2010; 40: 281-285 [PMID:



## ■应用要点

- AGR2有可能作为结肠癌早期诊断的肿瘤标志物,并有可能成为结肠癌生物免疫治疗的潜在分子靶标。
- 20085904 DOI: 10.1093/jjco/hyp187]
  - 2 Bai Z, Ye Y, Liang B, Xu F, Zhang H, Zhang Y, Peng J, Shen D, Cui Z, Zhang Z, Wang S. Proteomics-based identification of a group of apoptosis-related proteins and biomarkers in gastric cancer. *Int J Oncol* 2011; 38: 375-383 [PMID: 21165559 DOI: 10.3892/ijo.2010.873]
  - 3 Park K, Chung YJ, So H, Kim K, Park J, Oh M, Jo M, Choi K, Lee EJ, Choi YL, Song SY, Bae DS, Kim BG, Lee JH. AGR2, a mucinous ovarian cancer marker, promotes cell proliferation and migration. *Exp Mol Med* 2011; 43: 91-100 [PMID: 21200134]
  - 4 Rice GE, Edgell TA, Autelitano DJ. Evaluation of midkine and anterior gradient 2 in a multimarker panel for the detection of ovarian cancer. *J Exp Clin Cancer Res* 2010; 29: 62 [PMID: 20525245 DOI: 10.1186/1756-9966-29-62]
  - 5 Dumartin L, Whiteman HJ, Weeks ME, Hariharan D, Dmitrovic B, Iacobuzio-Donahue CA, Brentnall TA, Bronner MP, Feakins RM, Timms JF, Brennan C, Lemoine NR, Crnogorac-Jurcevic T. AGR2 is a novel surface antigen that promotes the dissemination of pancreatic cancer cells through regulation of cathepsins B and D. *Cancer Res* 2011; 71: 7091-7102 [PMID: 21948970 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-11-1367]
  - 6 Durán MC, Vega F, Moreno-Bueno G, Artiga MJ, Sanchez L, Palacios J, Ridley A, Timms JF. Characterisation of tumoral markers correlated with ErbB2 (HER2/Neu) overexpression and metastasis in breast cancer. *Proteomics Clin Appl* 2008; 2: 1313-1326 [PMID: 21136925 DOI: 10.1002/prca.200780020]
  - 7 Kovalev LI, Shishkin SS, Khasigov PZ, Dzeranov NK, Kazachenko AV, Toropygin Iu, Mamykina SV. [Identification of AGR2 protein, a novel potential cancer marker, using proteomics technologies]. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 2006; 42: 480-484 [PMID: 17022460]
  - 8 Wu ZS, Wu Q, Ding XD, Wang HQ, Shen YX, Fang SY. [Expression of a novel metastasis-inducing protein human anterior gradient-2 (AGR2) in breast cancer and its clinical and prognostic significance]. *Zhonghua Binglixue Zazhi* 2008; 37: 109-113 [PMID: 18681322]
  - 9 Ambolet-Camoit A, Bui LC, Pierre S, Chevallier A, Marchand A, Coumoul X, Garlatti M, Andreau K, Barouki R, Aggerbeck M. 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin counteracts the p53 response to a genotoxicant by upregulating expression of the metastasis marker agr2 in the hepatocarcinoma cell line HepG2. *Toxicol Sci* 2010; 115: 501-512 [PMID: 20299546 DOI: 10.1093/toxsci/kfq082]
  - 10 Sweeny L, Liu Z, Bush BD, Hartman Y, Zhou T, Rosenthal EL. CD147 and AGR2 expression promote cellular proliferation and metastasis of head and neck squamous cell carcinoma. *Exp Cell Res* 2012; 318: 1788-1798 [PMID: 22659167 DOI: 10.1016/j.yexcr.2012.04.022]
  - 11 Bu H, Bormann S, Schäfer G, Horninger W, Massoner P, Neeb A, Lakshmanan VK, Maddalo D, Nestl A, Sültmann H, Cato AC, Klocker H. The anterior gradient 2 (AGR2) gene is overexpressed in prostate cancer and may be useful as a urine sediment marker for prostate cancer detection. *Prostate* 2011; 71: 575-587 [PMID: 20945500 DOI: 10.1002/pros.21273]
  - 12 Valladares-Ayerbes M, Blanco-Calvo M, Reboredo M, Lorenzo-Patiño MJ, Iglesias-Díaz P, Haz M, Díaz-Prado S, Medina V, Santamarina I, Pértiga S, Figueroa A, Antón-Aparicio LM. Evaluation of the Adenocarcinoma-Associated Gene AGR2 and the Intestinal Stem Cell Marker LGR5 as Biomarkers in Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2012; 13: 4367-4387 [PMID: 22605983 DOI: 10.3390/ijms13044367]
  - 13 Lee HJ, Hong CY, Jin CJ, Kim MH, Lee YK, Nguyen-Pham TN, Lee H, Park BC, Chung JJ, Kim HJ, Lee JJ. Identification of novel HLA-A\*0201-restricted epitopes from anterior gradient-2 as a tumor-associated antigen against colorectal cancer. *Cell Mol Immunol* 2012; 9: 175-183 [PMID: 22231555 DOI: 10.1038/cmi.2011.52]
  - 14 Freeman HJ. Early stage colon cancer. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 8468-8473 [PMID: 24379564]
  - 15 梁冀望, 王振宁, 宋永喜, 徐惠绵. 结直肠癌旁肿瘤沉积的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17: 3620-3622
  - 16 陈灏珠, 林果为. *实用内科学*. 第13版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 2028-2029
  - 17 Liu D, Rudland PS, Sibson DR, Platt-Higgins A, Barraclough R. Human homologue of cement gland protein, a novel metastasis inducer associated with breast carcinomas. *Cancer Res* 2005; 65: 3796-3805 [PMID: 15867376]
  - 18 Kuang WW, Thompson DA, Hoch RV, Weigel RJ. Differential screening and suppression subtractive hybridization identified genes differentially expressed in an estrogen receptor-positive breast carcinoma cell line. *Nucleic Acids Res* 1998; 26: 1116-1123 [PMID: 9461476]
  - 19 吴正升, 吴强, 丁向东, 王红群, 沈玉先, 方圣云. 一种新型转移诱导蛋白AGR2在乳腺癌中的表达及其临床和预后意义. *中华病理学杂志* 2008; 37: 109-113
  - 20 Salmans ML, Zhao F, Andersen B. The estrogen-regulated anterior gradient 2 (AGR2) protein in breast cancer: a potential drug target and biomarker. *Breast Cancer Res* 2013; 15: 204 [PMID: 23635006]
  - 21 Kani K, Malihi PD, Jiang Y, Wang H, Wang Y, Ruderman DL, Agus DB, Mallick P, Gross ME. Anterior gradient 2 (AGR2): blood-based biomarker elevated in metastatic prostate cancer associated with the neuroendocrine phenotype. *Prostate* 2013; 73: 306-315 [PMID: 22911164 DOI: 10.1002/pros.22569]
  - 22 Bu H, Schweiger MR, Manke T, Wunderlich A, Timmermann B, Kerick M, Pasqualini L, Shehu E, Fuchsberger C, Cato AC, Klocker H. Anterior gradient 2 and 3—two prototype androgen-responsive genes transcriptionally upregulated by androgens and by oestrogens in prostate cancer cells. *FEBS J* 2013; 280: 1249-1266 [PMID: 23294566 DOI: 10.1111/febs.12118]
  - 23 Sun C, Rosendahl AH, Ansari D, Andersson R. Proteome-based biomarkers in pancreatic cancer. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 4845-4852 [PMID: 22171124 DOI: 10.3748/wjg.v17.i44.4845]
  - 24 Chevet E, Fessart D, Delom F, Mulot A, Vojtesek B, Hrstka R, Murray E, Gray T, Hupp T. Emerging roles for the pro-oncogenic anterior gradient-2 in cancer development. *Oncogene* 2013; 32: 2499-2509 [PMID: 22945652 DOI: 10.1038/onc.2012.346]
  - 25 Ramachandran V, Arumugam T, Wang H, Logsdon CD. Anterior gradient 2 is expressed and secreted during the development of pancreatic cancer and promotes cancer cell survival. *Cancer Res* 2008; 68: 7811-7818 [PMID: 18829536 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-1320]

- 26 Zhang Y, Ali TZ, Zhou H, D'Souza DR, Lu Y, Jaffe J, Liu Z, Passaniti A, Hamburger AW. ErbB3 binding protein 1 represses metastasis-promoting gene anterior gradient protein 2 in prostate cancer. *Cancer Res* 2010; 70: 240-248 [PMID: 20048076 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-09-2904]
- 27 Hrstka R, Nenutil R, Fourtouna A, Maslon MM, Naughton C, Langdon S, Murray E, Larionov A, Petrakova K, Muller P, Dixon MJ, Hupp TR, Vojtesek B. The pro-metastatic protein anterior gradient-2 predicts poor prognosis in tamoxifen-treated breast cancers. *Oncogene* 2010; 29: 4838-4847 [PMID: 20531310 DOI: 10.1038/onc.2010.228]
- 28 Higa A, Mulot A, Delom F, Bouche-careilh M, Nguyễn DT, Boismenu D, Wise MJ, Chevet E. Role of pro-oncogenic protein disulfide isomerase (PDI) family member anterior gradient 2 (AGR2) in the control of endoplasmic reticulum homeostasis. *J Biol Chem* 2011; 286: 44855-44868 [PMID: 22025610 DOI: 10.1074/jbc.M111.275529]
- 29 Imai Y, Yamagishi H, Fukuda K, Ono Y, Inoue T, Ueda Y. Differential mucin phenotypes and their significance in a variation of colorectal carcinoma. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3957-3968 [PMID: 23840140 DOI: 10.3748/wjg.v19.i25.3957]
- 30 Maslon MM, Hrstka R, Vojtesek B, Hupp TR. A divergent substrate-binding loop within the pro-oncogenic protein anterior gradient-2 forms a docking site for Reptin. *J Mol Biol* 2010; 404: 418-438 [PMID: 20888340 DOI: 10.1016/j.jmb.2010.09.035]
- 31 Dong A, Gupta A, Pai RK, Tun M, Lowe AW. The human adenocarcinoma-associated gene, AGR2, induces expression of amphiregulin through Hippo pathway co-activator YAP1 activation. *J Biol Chem* 2011; 286: 18301-18310 [PMID: 21454516 DOI: 10.1074/jbc.M110.215707]
- 32 Yu FX, Zhao B, Panupinthu N, Jewell JL, Lian I, Wang LH, Zhao J, Yuan H, Tumaneng K, Li H, Fu XD, Mills GB, Guan KL. Regulation of the Hippo-YAP pathway by G-protein-coupled receptor signaling. *Cell* 2012; 150: 780-791 [PMID: 22863277 DOI: 10.1016/j.cell.2012.06.037]

#### 同行评价

本文作者分析并探讨人AGR2的表达与临床病理学的关系,为AGR2作为潜在的肿瘤检测指标进一步提供了理论依据。该研究具有较好的创新性,实验对照设置完整,行文较为流畅。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 甲胎蛋白具有诱导肝细胞恶性转化的生物学功能及其作为肝癌治疗的新靶点

朱明月, 夏华, 李孟森

## ■背景资料

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)在全球范围内肿瘤相关性死亡因素中排名第3, 其预防和治疗是世界性医学难题, 至今仍缺乏有效防治手段。甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是目前临床上用于诊断肝癌的高特异性标志物, 但在肿瘤的发生与发展过程中的作用尚不清楚。本文综合概括了AFP在肝癌发生发展过程中的生物学作用与机制研究的最新成果。

朱明月, 夏华, 李孟森, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室 海南医学院 海南省海口市 571199  
朱明月, 海南大学农学院 海南省海口市 570228  
夏华, 广西医科大学研究生学院 广西壮族自治区南宁市 530021  
李孟森, 海南医学院分子生物学重点实验室 海南省海口市 571199  
朱明月, 助理研究员, 主要从事肿瘤分子生物学方面的研究。国家自然科学基金资助项目, Nos. 81360307, 81260306, 81160261, 31060164, 30960153  
教育部新世纪优秀人才支持计划基金资助项目, No. NCET-10-0124  
教育部科学技术研究重点基金资助项目, No. 211146  
海南省重点科技基金资助项目, No. DZX20110038  
海南省自然科学基金资助项目, Nos. 309034, 310044  
作者贡献分布: 朱明月与夏华负责文献资料的收集、查阅及整理; 朱明月负责论文的撰写; 李孟森负责对论文内容格式的设计与审核。  
通讯作者: 李孟森, 教授, 571199, 海南省海口市龙华区学院路3号, 海南省肿瘤发生和干预重点实验室, 海南医学院。  
mengsenli@163.com  
电话: 0898-66895322  
收稿日期: 2013-12-06 修回日期: 2014-01-13  
接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-18

Received: 2013-12-06 Revised: 2014-01-13  
Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-18

## Abstract

Alpha-fetoprotein (AFP) is associated with the development of hepatocellular carcinoma (HCC) and widely used as a golden tumor marker for diagnosing HCC since the AFP gene is activated in the early stage of malignant transformation of liver cells. However, the molecular mechanisms responsible for the role of AFP in hepatocarcinogenesis remain poorly understood. Recently, we found that hepatitis B virus (HBV) preferentially induces the expression of AFP when triggering malignant transformation of hepatocytes, and AFP activates phosphoinositide-3-kinase (PI3K)/protein kinase B (AKT) signaling by inhibiting the activity of phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten (PTEN). Our results also indicated that AFP not only impedes all-trans retinoid acid receptor- $\beta$  (RAR- $\beta$ ) regulated expression of target genes, but also blocks the transduction of apoptotic signaling by suppressing the activity of Caspase3. Inhibited expression of AFP is able to augment HCC sensitivity to tumor necrosis factor-related apoptosis-induced ligand (TRAIL) and all-trans retinoid acid. These data indicate that AFP can drive the malignant transformation of liver cells and antagonize apoptosis induced by agents for HCC. Taken together, these findings suggest that AFP may drive the malignant transformation of liver cells and can be used as a target for therapy of HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Alpha fetoprotein; Malignant transformation; Liver cells; Apoptosis; Hepatocellular carcinoma

Zhu MY, Xia H, Li MS. Alpha fetoprotein can induce malignant transformation of liver cells and be used as a therapeutic target for hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1070-1075 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1070>

## Alpha fetoprotein can induce malignant transformation of liver cells and be used as a therapeutic target for hepatocellular carcinoma

Ming-Yue Zhu, Hua Xia, Meng-Sen Li

Ming-Yue Zhu, Hua Xia, Meng-Sen Li, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China  
Ming-Yue Zhu, College of Agriculture, Hainan University, Haikou 570228, Hainan Province, China  
Hua Xia, College of Postgraduate, Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Province, China  
Meng-Sen Li, Key Laboratory of Molecular Biology of Hainan Medical College, Haikou 571199, Hainan Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81360307, 81260306, 81160261, 31060164, and 30960153; Program for New Century Excellent Talents in University of China, No. NCET-10-0124; Key Program of Science and Technology, Ministry of Education of China, No. 211146; Key Program of Science and Technology of Hainan Province, No. DZX20110038; Natural Science Foundation of Hainan Province, Nos. 309034 and 310044  
Correspondence to: Meng-Sen Li, Professor, Hainan Provincial Key Laboratory of Carcinogenesis and Intervention, Hainan Medical College, 3 Xueyuan Road, Longhua District, Haikou 571199, Hainan Province, China. mengsenli@163.com

## ■同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科



## 摘要

甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)在肝癌发生过程中所起的生物学作用一直是个谜. 由于其是肝癌细胞高特异性表达的蛋白质, 临床上作为诊断肝癌的金标准, 但是AFP在肝癌发生过程如何发挥作用并不清楚. 最近作者的研究发现, 乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导肝细胞恶性转化的过程, 优先激活AFP基因表达; 而且AFP通过抑制人第10号染色体缺失的磷酸酶及张力蛋白同源的蛋白(phosphatase and tensin homolog deleted on chromosome ten)活性促进磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide-3-kinase)/蛋白激酶B(protein kinase B)等生长信号途径; 笔者研究也发现AFP具有信息调控分子样作用, AFP不仅能与维甲酸受体- $\beta$ (retinoic acid receptor-beta, RAR- $\beta$ )结合, 阻遏RAR- $\beta$ 进入细胞核内调节靶基因的表达, 同时也能抑制Caspase3的活性, 阻断凋亡信号的传递. 靶向抑制AFP表达能增加肝癌细胞对肿瘤坏死因子相关凋亡诱导配体(tumor necrosis factor-related apoptosis inducing ligand)和全反式维甲酸(all trans retinoid acid)的敏感性. 提示AFP不仅有驱动肝细胞恶性转化的生物学作用, 而且其还具有抗凋亡诱导的功能. 新发现AFP的这些功能, 预示其是肝细胞恶性转化的先锋因子以及肝癌细胞耐药的新靶点, 为肝癌的生物治疗提供新的思路和策略.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 甲胎蛋白; 肝细胞恶性转化; 细胞凋亡; 肝癌治疗

**核心提示:** 该文综述了甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)在肝癌发生发展过程中的生物学作用与机制研究的最新成果, 显示AFP不仅有驱动肝细胞恶性转化的生物学作用, 而且其还具有抗凋亡诱导的新功能, 所以研究AFP对肝细胞恶性转化信号的调控作用以及对癌基因表达的调节机制是探索AFP发挥其驱动肝癌细胞恶性行为的生物学作用的关键问题, 也是利用AFP作为治疗肝癌新靶点的前期基础研究.

朱明月, 夏华, 李孟森. 甲胎蛋白具有诱导肝细胞恶性转化的生物学功能及其作为肝癌治疗的新靶点. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1070-1075 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1070.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1070>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是严重

威胁人类健康的重大疾病, 是癌症发病谱中最常见的癌症类型之一, 在全球范围内肿瘤相关性死亡因素中排名第3位<sup>[1,2]</sup>, 全球每年有超过60万新发病例. 肝癌的发生与肝炎病毒感染密切相关, 由于我国是肝炎病毒感染的高发国家, 因而我国肝癌发病率远高于世界平均水平, 我国每年约有11万例死于肝癌<sup>[3]</sup>. 肝癌发生过程有很大的隐蔽性, 且有易发生早期转移、浸润至邻近及更远组织的倾向, 所以肝癌的预防和治疗是世界性医学难题, 至今仍缺乏有效防治手段. 因而预警肝癌发生以及肝癌发病机制的研究受到国内外医学界和生命科学界的广泛关注. 由于甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)是目前临床上用于诊断肝癌的高特异性标志物, 所以近期对AFP在肝癌发生过程发挥的作用进行一系列研究, 试图探索AFP在肝细胞恶性转化、肝癌细胞增殖和调控过程中的作用机制, 对重新认识AFP的生物学功能及其在肝癌靶向治疗的价值具有重要的科学意义.

## 1 乙型肝炎病毒对AFP表达的优先选择性在肝细胞恶性转化过程的作用

肝细胞感染乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导AFP表达激活癌形成信号. HBV是诱发肝癌的重要因素, 80%以上的肝癌发生与感染HBV或丙型肝炎病毒有关<sup>[4-6]</sup>. 尽管HBV没有直接诱导肝细胞恶性转化的功能<sup>[7,8]</sup>, 但是HBV的X蛋白(hepatitis B virus X, HBx)则能通过调节细胞内的信号传递, 包括激活磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphoinositide-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶B(protein kinase B, AKT)信号, 促进肝细胞的恶性转化<sup>[9,10]</sup>和癌细胞的抗凋亡<sup>[11]</sup>, 并且有诱导肝癌血管生成和促进癌细胞转移的作用<sup>[12]</sup>. AFP是肝癌细胞合成的高特异性蛋白质, 许多肝癌患者(70%-80%)在发病期间有AFP基因高表达的特征. AFP是一种胚原蛋白, 其基因在胎儿发育过程开放表达, 而在人出生两年后基本处于关闭状态, 但是在成年人肝细胞恶性转化的早期, 肝细胞内的AFP基因重新被激活而大量表达, 所以在临床上, AFP被用作诊断肝癌的经典肿瘤标志物和金标准, 但是, 肝癌细胞分泌的AFP在肝癌发生过程中发挥何种作用并不清楚. 大量研究发现, AFP具有刺激肝癌细胞增殖的功能<sup>[13-16]</sup>, 近期作者研究发现, AFP具有激活PI3K/AKT信号的功能, 通过该信号途径诱导癌基因Ras、Src等的表达, 促进肝癌细胞增殖<sup>[17]</sup>, 这些研究结果

## ■研究前沿

AFP基因在肝癌的演进过程其表达发生改变, 特别是在肝炎病毒的胁迫下其基因从关闭到开放的表观遗传修饰改变. 所以研究AFP基因以及其翻译后的表观遗传修饰改变是探索AFP功能的关键问题, 也是探索AFP作为治疗肝癌新靶点的核心问题.

## ■相关报道

目前研究已经证明AFP和肝细胞的恶性转化密切相关,提示AFP可能是一个诱导肝癌发生的重要分子,而且肝炎病毒感染肝细胞后通过抑制p53对AFP启动子的阻遏作用促进AFP表达,肝炎病毒利用AFP激活肿瘤发生相关信号或癌基因表达诱导肝细胞恶性转化以及肝癌细胞的生长和转移。

提示,AFP具有诱导肝癌细胞增殖的生物学功能。然而在肝细胞感染乙型肝炎病毒后是否通过激活AFP基因表达,驱动肝细胞恶性转化?因为AFP表达是肝细胞恶性转化过程的早期事件,暗示AFP基因表达可能与肝细胞恶性转化密切相关。有研究表明,HBx能通过抑制p53对AFP基因的阻遏作用,导致AFP基因被激活而表达<sup>[18,19]</sup>,由于HBx具有激活PI3K/AKT信号传递诱导肝癌发生的功能<sup>[20,21]</sup>,所以可以确定,PI3K/AKT活化与HBx诱导肝癌发生密切相关,但是HBx如何激活PI3K/AKT信号并不清楚。近期作者用在体的肝癌标本以及体外细胞研究HBx在诱导肝细胞恶性转化过程中AFP发挥的作用,研究结果表明,在HBx诱导肝细胞恶性转化的进程中,AFP优先于其他癌基因如Src、Ras等基因的表达,进一步研究发现,AFP能激活PI3K/AKT信号,通过该信号途径促进Src、Ras蛋白的合成<sup>[22]</sup>,这些研究结果,提供一条清晰的信息调节通路:HBx抑制p53对AFP启动子的阻遏活性,AFP表达升高,激活PI3K/AKT信号,诱导Src、Ras等基因的表达,促进肝细胞恶性转化。所以,HBx对AFP表达的优先选择性具有间接激活PI3K/AKT的作用,提示HBx通过AFP促进肝细胞恶性转化和细胞增殖,这是HBx诱导肝癌发生的重要环节,解释了临床上能在早期肝癌患者检测到AFP表达,以及AFP可做为肝癌特异性标志物的内在机制。

## 2 AFP对肝癌细胞增殖和抗凋亡的影响

AFP与肿瘤细胞增殖和凋亡的相关性。AFP是肝癌细胞表达的高特异性蛋白质,肝炎病毒是诱发肝癌的关键生物因素,在活动性肝炎或肝硬化后期,血清中可检验出高含量的AFP存在,这是肝细胞向肝癌转化的重要标志。一些研究发现AFP在肿瘤发生过程中所起的作用,表现出“双向性”,对于乳腺癌细胞,其有抑制癌细胞增殖作用<sup>[23-27]</sup>,但是AFP基因的转录抑制因子ATBF1A的高表达能增加乳腺癌患者良好的预后效果<sup>[28]</sup>;对于消化系统肿瘤,AFP的表达与肿瘤的增殖和转移密切相关,近期研究发现AFP能促进胃癌细胞的增殖和转移<sup>[29-32]</sup>;对于肝癌,早期研究已经发现AFP具有促进肝癌细胞增殖的生物学功能<sup>[13,14]</sup>,近期Hung等<sup>[33]</sup>用66例肝癌患者的癌组织和其配对的肝组织为对象,采用蛋白质杂交和免疫组织化学方法观察发现,抑制AFP表达的转录调节因子同源盒基因(LM hemeobox gene-4, LHX4)在癌组织表达明显降低,提示AFP

的高表达具有促进肝癌发生的生物学作用,而且Ho等<sup>[34]</sup>研究发现纤维细胞生长因子受体-4通过其介导的信号促进AFP表达从而驱动肝癌发生的进程;体外和动物实验也证明抑制AFP的表达能有效的诱导肝癌细胞在体内的凋亡<sup>[35-37]</sup>。作者的研究结果也表明,AFP与其受体结合,通过激活Ca<sup>2+</sup>信号途径,促进癌基因c-fos、c-jun、ras等基因的表达,刺激肝癌细胞生长<sup>[15,38]</sup>。这些研究结果显示,AFP在肝癌的发生过程中具有促进癌细胞增殖作用,提示AFP有抗凋亡诱导的生物学功能。

## 3 AFP作为治疗肝癌新靶点的科学依据

AFP是肝癌细胞耐药的新靶点。尽管AFP能促进肝癌细胞增殖,但是AFP通过何种机制促进肝癌细胞增殖并不清楚,而且AFP是否通过促增殖的方式对抗凋亡诱导?研究已经发现,肝癌细胞不仅能抵抗体内分泌的TRAIL等细胞因子诱导的凋亡<sup>[39]</sup>,而且也有耐受化学药物毒性的特性<sup>[40]</sup>,但是肝癌细胞内哪些因子在肝癌耐药过程中发挥重要作用,是研究生物治疗肝癌的重大问题。Tang等<sup>[41]</sup>和Gao等<sup>[42]</sup>研究发现靶向抑制AFP表达,能阻止肝癌细胞的增殖并能诱导肝癌细胞凋亡。AFP是肝癌细胞分泌的高特异性蛋白,笔者推测,在肝癌的发生过程中,癌细胞高表达的AFP不仅仅作为一个标志物,而是具有调控细胞生长的细胞因子,因为按照细胞高度利用蛋白质特性,其不可能合成一种没有生物活性的蛋白质,所以肝癌细胞表达AFP在细胞内外必定有曾未发现的生物学功能。我们近期已经发现在人肝癌细胞<sup>[15]</sup>、人子宫颈癌细胞<sup>[43]</sup>、NIH3T3细胞<sup>[44]</sup>膜表面存在不同亲和常数的受体,既然有受体的存在,就有其调节细胞生长活性的可能性。我们研究发现,AFP与细胞膜受体结合后能通过影响细胞内的第二信息物质cAMP和Ca<sup>2+</sup>等的浓度,从而调控转录调节因子的作用,影响癌基因的表达<sup>[15,43]</sup>;尽管有些肝癌患者的血清检测AFP的含量是阴性,但是,并不是这些患者的肝癌细胞不合成AFP,可能的原因是癌细胞合成的AFP并不分泌到血液,或者分泌的AFP与肝癌细胞膜上的受体结合的缘故,这些在细胞内的AFP或与受体结合的AFP发挥同样的抗凋亡作用。作者研究发现,肝癌细胞内的AFP选择性促进凋亡信号的关键物质Caspase3结合,抑制TRAIL受体介导的信号传递<sup>[45]</sup>,而且AFP还具有抑制全反式维甲酸受体RAR-β的功能,阻止



RAR- $\beta$ 向胞核转移, 抑制其转录功能, 而RAR- $\beta$ 是一个重要的肿瘤抑制因子, 其能抑制survivin等基因的表达, 所以AFP也能通过抑制RAR- $\beta$ 的作用调控survivin等基因的表达<sup>[46]</sup>. 近期研究发现, AFP通过抑制RAR- $\beta$ 导致可诱导生长抑制和DNA损伤的蛋白153(growth arrest-DNA damage-inducible 153, GADD153)表达下降<sup>[47]</sup>以及Fn14表达升高<sup>[48]</sup>, 因为GADD153是诱导肿瘤细胞凋亡的细胞因子, 而Fn14则是促进肿瘤细胞增殖蛋白, 也就是AFP不仅影响凋亡信号的传递, 同时也能影响凋亡相关基因的表达, 通过这些作用方式增加肝癌细胞抵抗ATRA的作用. 近期作者研究也发现, AFP能与PTEN结合, 通过抑制PTEN的酶活性, 激活肝癌细胞内PI3K和AKT活性, 通过激活PI3K/AKT信号途径促使肝癌细胞耐受凋亡的诱导<sup>[17,49,50]</sup>. 这些研究结果提示, AFP是肝癌细胞耐受凋亡诱导的一个关键的靶分子, 分泌在细胞外的AFP, 不仅通过与其受体的作用, 激活生长信号的传递; 而且细胞内的AFP也能通过抑制凋亡信号的转导和激活生长信号的传递, 促使肝癌细胞耐受化学药物和生物药物诱导的凋亡. 所以, AFP的抗凋亡作用不仅通过促增殖而且也能通过抑制凋亡信号以及激活生长信号的作用对抗体内细胞因子、化学药物诱导凋亡. 这些研究, 逐步揭示了甲胎蛋白所隐藏的生物学功能及其作用机制, 这是AFP具有信息调节分子样作用和作为靶分子治疗肝癌的新发现, 为肝癌的生物治疗提供新的策略, 也将为肝癌的药物治疗带来新希望.

#### 4 发现AFP新功能的科学意义

目前, AFP在肝癌的发生和抗凋亡过程中的作用机制并没有完全清楚, 当前的研究结果已经显示, AFP在肝癌的发生过程中发挥关键性作用, 而且其已经是医学界公认的为数不多的高特异性肿瘤标志物, 其生物学功能得到广泛的关注. 由于AFP基因在肝癌的演进过程并未发现与耐药相关的任何突变, 而是基因表达发生改变, 特别是在肝炎病毒的胁迫下其基因如何从关闭到开放的表现遗传修饰改变, 不同于突变, 表现遗传改变是细胞快速应对环境变化的重要机制. 所以研究AFP基因以及其翻译后的表现遗传修饰改变是探索AFP功能的关键问题, 也是探索AFP作为治疗肝癌新靶点的核心问题. 深入研究AFP基因表现遗传学的改变, 不仅能阐明AFP在病毒性肝癌发生过程的作用机制, 而且能揭示AFP所隐藏

的生物学功能, 对认识肝癌发生、转移、耐药和靶向生物治疗有非常重要的临床意义.

#### 5 结论

AFP在HBV驱动肝细胞恶性转化过程中发挥重要的促进作用, AFP不仅能预警肝癌发生, 而且也能促进肝癌细胞增殖和癌细胞转移, 以及对抗药物诱导的肝癌细胞凋亡, AFP可作为肝癌治疗的新靶点.

#### 6 参考文献

- 1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 2 Kew MC. Epidemiology of chronic hepatitis B virus infection, hepatocellular carcinoma, and hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma. *Pathol Biol (Paris)* 2010; 58: 273-277 [PMID: 20378277 DOI: 10.1016/j.patbio.2010.01.005]
- 3 Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin* 2011; 61: 69-90 [PMID: 21296855 DOI: 10.3322/caac.20107]
- 4 Xie Q, Chen L, Shan X, Shan X, Tang J, Zhou F, Chen Q, Quan H, Nie D, Zhang W, Huang AL, Tang N. Epigenetic silencing of SFRP1 and SFRP5 by Hepatitis B Virus X protein enhances hepatoma cell tumorigenicity through wnt signaling pathway. *Int J Cancer* 2013 Dec 26. [Epub ahead of print] [PMID: 24374650 DOI: 10.1002/ijc.28697]
- 5 Ding J, Wang H. Multiple interactive factors in hepatocarcinogenesis. *Cancer Lett* 2013 Dec 25. [Epub ahead of print] [PMID: 24374016 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.12.024]
- 6 Liu S, Zhang H, Gu C, Yin J, He Y, Xie J, Cao G. Associations between hepatitis B virus mutations and the risk of hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1066-1082 [PMID: 19574418 DOI: 10.1093/jnci/djp180]
- 7 Kekulé AS, Lauer U, Weiss L, Luber B, Hofschneider PH. Hepatitis B virus transactivator HBx uses a tumour promoter signalling pathway. *Nature* 1993; 361: 742-745 [PMID: 8441471 DOI: 10.1038/361742a0]
- 8 Twu JS, Lai MY, Chen DS, Robinson WS. Activation of protooncogene c-jun by the X protein of hepatitis B virus. *Virology* 1993; 192: 346-350 [PMID: 8390762]
- 9 Arzumanyan A, Sambandam V, Clayton MM, Choi SS, Xie G, Diehl AM, Yu DY, Feitelson MA. Hedgehog signaling blockade delays hepatocarcinogenesis induced by hepatitis B virus X protein. *Cancer Res* 2012; 72: 5912-5920 [PMID: 22986746 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-12-2329]
- 10 Kang-Park S, Im JH, Lee JH, Lee YI. PTEN modulates hepatitis B virus-X protein induced survival signaling in Chang liver cells. *Virus Res* 2006; 122: 53-60 [PMID: 16872708 DOI: 10.1016/j.virusres.2006.06.010]
- 11 Wang FZ, Fei HR, Lian LH, Wang JM, Qiu YY. Hepatitis B x-interacting protein induces HepG2 cell proliferation through activation of the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway. *Exp Biol Med*

#### ■创新盘点

乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)诱导肝细胞恶性转化的过程, 优先激活AFP基因表达; AFP具有抑制PTEN的生物学功能, 导致肝癌细胞耐受全反式维甲酸诱导的凋亡; AFP能抑制Caspase3的活性, 阻断凋亡信号的传递. 本文综合介绍了AFP的这些新功能.



## ■应用要点

- AFP不仅有驱动肝细胞恶性转化的生物学作用,而且其还具有抗凋亡诱导的功能。新发现AFP的这些功能,预示其是肝细胞恶性转化的先锋因子以及肝癌细胞耐药的新靶点,为肝癌的生物学治疗提供新的思路 and 策略。
- (Maywood) 2011; 236: 62-69 [PMID: 21239735 DOI: 10.1258/ebm.2010.010179]
  - 12 Sanz-Cameno P, Martín-Vílchez S, Lara-Pezzi E, Borque MJ, Salmerón J, Muñoz de Rueda P, Solís JA, López-Cabrera M, Moreno-Otero R. Hepatitis B virus promotes angiopoietin-2 expression in liver tissue: role of HBV x protein. *Am J Pathol* 2006; 169: 1215-1222 [PMID: 17003480]
  - 13 Wang XW, Xu B. Stimulation of tumor-cell growth by alpha-fetoprotein. *Int J Cancer* 1998; 75: 596-599 [PMID: 9466662 DOI: 10.1002/(SICI)1097-0215(19980209)75:4]
  - 14 Wang XW, Xie H. Alpha-fetoprotein enhances the proliferation of human hepatoma cells in vitro. *Life Sci* 1999; 64: 17-23 [PMID: 10027738 DOI: 10.1016/S0024-3205(98)00529-3]
  - 15 Li MS, Li PF, He SP, Du GG, Li G. The promoting molecular mechanism of alpha-fetoprotein on the growth of human hepatoma Bel7402 cell line. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 469-475 [PMID: 12046072]
  - 16 Yang X, Zhang Y, Zhang L, Zhang L, Mao J. Silencing alpha-fetoprotein expression induces growth arrest and apoptosis in human hepatocellular cancer cell. *Cancer Lett* 2008; 271: 281-293 [PMID: 18657899 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.06.017]
  - 17 Li M, Li H, Li C, Wang S, Jiang W, Liu Z, Zhou S, Liu X, McNutt MA, Li G. Alpha-fetoprotein: a new member of intracellular signal molecules in regulation of the PI3K/AKT signaling in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2011; 128: 524-532 [PMID: 20473866 DOI: 10.1002/ijc.25373]
  - 18 Ogden SK, Lee KC, Barton MC. Hepatitis B viral transactivator HBx alleviates p53-mediated repression of alpha-fetoprotein gene expression. *J Biol Chem* 2000; 275: 27806-27814 [PMID: 10842185 DOI: 10.1074/jbc.M004449200]
  - 19 Arima T, Nakao K, Nakata K, Ishikawa H, Ichikawa T, Hamasaki K, Ishii N, Eguchi K. Transactivation of human alpha-fetoprotein gene by X-gene product of hepatitis B virus in human hepatoma cells. *Int J Mol Med* 2002; 9: 397-400 [PMID: 11891535]
  - 20 Liu H, Xu L, He H, Zhu Y, Liu J, Wang S, Chen L, Wu Q, Xu J, Gu J. Hepatitis B virus X protein promotes hepatoma cell invasion and metastasis by stabilizing Snail protein. *Cancer Sci* 2012; 103: 2072-2081 [PMID: 22957763 DOI: 10.1111/cas.12017]
  - 21 Lee YI, Kang-Park S, Do SI, Lee YI. The hepatitis B virus-X protein activates a phosphatidylinositol 3-kinase-dependent survival signaling cascade. *J Biol Chem* 2001; 276: 16969-16977 [PMID: 11278872]
  - 22 Li M, Zhu M, Li W, Lu Y, Xie X, Wu Y, Zheng S. Alpha-fetoprotein receptor as an early indicator of HBx-driven hepatocarcinogenesis and its applications in tracing cancer cell metastasis. *Cancer Lett* 2013; 330: 170-180 [PMID: 23211536 DOI: 10.1016/j.canlet.20]
  - 23 Richardson BE, Hulka BS, Peck JL, Hughes CL, van den Berg BJ, Christianson RE, Calvin JA. Levels of maternal serum alpha-fetoprotein (AFP) in pregnant women and subsequent breast cancer risk. *Am J Epidemiol* 1998; 148: 719-727 [PMID: 9786226 DOI: 10.1093/oxfordjournals.aje.a009691]
  - 24 Lukanova A, Andersson R, Wulff M, Zeleniuch-Jacquotte A, Grankvist K, Dossus L, Afanasyeva Y, Johansson R, Arslan AA, Lenner P, Wadell G, Hallmans G, Toniolo P, Lundin E. Human chorionic gonadotropin and alpha-fetoprotein concentrations in pregnancy and maternal risk of breast cancer: a nested case-control study. *Am J Epidemiol* 2008; 168: 1284-1291 [PMID: 18936438 DOI: 10.1093/aje/kwn254]
  - 25 Parikh RR, Gildener-Leapman N, Narendran A, Lin HY, Lemanski N, Bennett JA, Jacobson HI, Andersen TT. Prevention of N-methyl-N-nitrosourea-induced breast cancer by alpha-fetoprotein (AFP)-derived peptide, a peptide derived from the active site of AFP. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 8512-8520 [PMID: 16322315 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-1]
  - 26 Jacobson HI, Lemanski N, Agarwal A, Narendran A, Turner KE, Bennett JA, Andersen TT. A proposed unified mechanism for the reduction of human breast cancer risk by the hormones of pregnancy. *Cancer Prev Res (Phila)* 2010; 3: 212-220 [PMID: 19934340 DOI: 10.1158/1940-6207.CAPR-09-0050]
  - 27 Sierralta WD, Epuñan MJ, Reyes JM, Valladares LE, Andersen TT, Bennett JA, Jacobson HI, Pino AM. A peptide derived from alpha-fetoprotein inhibits the proliferation induced by estradiol in mammary tumor cells in culture. *Oncol Rep* 2008; 19: 229-235 [PMID: 18097600 DOI: 10.1007/978-0-387-69080-3\_45]
  - 28 Zhang Z, Yamashita H, Toyama T, Sugiura H, Ando Y, Mita K, Hamaguchi M, Kawaguchi M, Miura Y, Iwase H. ATBF1-a messenger RNA expression is correlated with better prognosis in breast cancer. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 193-198 [PMID: 15671546]
  - 29 Iso Y, Sawada T, Shimoda M, Rokkaku K, Ohkura Y, Kubota K. Solitary AFP- and PIVKA-II-producing hepatoid gastric cancer with giant lymph node metastasis. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1930-1932 [PMID: 16334809]
  - 30 Takahashi Y, Inoue T. Des-gamma carboxy prothrombin (PIVKA-II) and alpha-fetoprotein producing gastric cancer with multiple liver metastases. *Pathol Int* 2003; 53: 236-240 [PMID: 12675768 DOI: 10.1046/j.1320-5463.2003.01461.x]
  - 31 Sohma T, Hanano T, Miyamoto H, Kitano Y, Iwata K, Yokoyama M, Irie M, Takeyama Y, Shakado S, Sakisaka S. Spontaneous rupture of metastatic alpha-fetoprotein-producing gastric cancer of the liver. *Hepatol Int* 2008; 2: 258-261 [PMID: 19669313 DOI: 10.1007/s12072-0]
  - 32 Zhang JF, Shi SS, Shao YF, Zhang HZ. Clinicopathological and prognostic features of hepatoid adenocarcinoma of the stomach. *Chin Med J (Engl)* 2011; 124: 1470-1476 [PMID: 21740800]
  - 33 Hung TM, Hu RH, Ho CM, Chiu YL, Lee JL, Jeng YM, Shih DT, Lee PH. Downregulation of alpha-fetoprotein expression by LHX4: a critical role in hepatocarcinogenesis. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1815-1823 [PMID: 21965270 DOI: 10.1093/carcin/bgr219]
  - 34 Ho HK, Pok S, Streit S, Ruhe JE, Hart S, Lim KS, Loo HL, Aung MO, Lim SG, Ullrich A. Fibroblast growth factor receptor 4 regulates proliferation, anti-apoptosis and alpha-fetoprotein secretion during hepatocellular carcinoma progression and represents a potential target for therapeutic intervention. *J Hepatol* 2009; 50: 118-127 [PMID: 19008009 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.08.015]
  - 35 Ma SH, Chen GG, Yip J, Lai PB. Therapeutic effect of alpha-fetoprotein promoter-mediated tBid and chemotherapeutic agents on orthotopic liver tumor in mice. *Gene Ther* 2010; 17: 905-912 [PMID: 20336154 DOI: 10.1038/gt.2010.34]

- 36 Zhang L, He T, Cui H, Wang Y, Huang C, Han F. Effects of AFP gene silencing on apoptosis and proliferation of a hepatocellular carcinoma cell line. *Discov Med* 2012; 14: 115-124 [PMID: 22935208]
- 37 Cai X, Zhou J, Chang Y, Sun X, Li P, Lin J. Targeting gene therapy for hepatocarcinoma cells with the E. coli purine nucleoside phosphorylase suicide gene system directed by a chimeric alpha-fetoprotein promoter. *Cancer Lett* 2008; 264: 71-82 [PMID: 18407409 DOI: 10.1016/j.canlet.2008.01.027]
- 38 Li MS, Li PF, Chen Q, Du GG, Li G. Alpha-fetoprotein stimulated the expression of some oncogenes in human hepatocellular carcinoma Bel 7402 cells. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 819-824 [PMID: 15040024]
- 39 Wirth T, Kühnel F, Fleischmann-Mundt B, Woller N, Djojotubroto M, Rudolph KL, Manns M, Zender L, Kubicka S. Telomerase-dependent virotherapy overcomes resistance of hepatocellular carcinomas against chemotherapy and tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand by elimination of Mcl-1. *Cancer Res* 2005; 65: 7393-7402 [PMID: 16103092 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-04-3664]
- 40 Chen KF, Chen HL, Tai WT, Feng WC, Hsu CH, Chen PJ, Cheng AL. Activation of phosphatidylinositol 3-kinase/Akt signaling pathway mediates acquired resistance to sorafenib in hepatocellular carcinoma cells. *J Pharmacol Exp Ther* 2011; 337: 155-161 [PMID: 21205925 DOI: 10.1124/jpet.110.175786]
- 41 Tang H, Tang XY, Liu M, Li X. Targeting alpha-fetoprotein represses the proliferation of hepatoma cells via regulation of the cell cycle. *Clin Chim Acta* 2008; 394: 81-88 [PMID: 18485897 DOI: 10.1016/j.cca.2008.04.012]
- 42 Gao P, Wang R, Shen JJ, Lin F, Wang X, Dong K, Zhang HZ. Hypoxia-inducible enhancer/alpha-fetoprotein promoter-driven RNA interference targeting STK15 suppresses proliferation and induces apoptosis in human hepatocellular carcinoma cells. *Cancer Sci* 2008; 99: 2209-2217 [PMID: 18803637 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2008.00941.x]
- 43 Li MS, Li PF, Li G, Du GG. Enhancement of proliferation of HeLa cells by the alpha-fetoprotein. *Shengwuxuaxue Yu Shengwuxuuli Xuebao* (Shanghai) 2002; 34: 769-774 [PMID: 12417922]
- 44 Li MS, Li PF, Yang FY, He SP, Du GG, Li G. The intracellular mechanism of alpha-fetoprotein promoting the proliferation of NIH 3T3 cells. *Cell Res* 2002; 12: 151-156 [PMID: 12118941]
- 45 Li M, Li H, Li C, Zhou S, Guo L, Liu H, Jiang W, Liu X, Li P, McNutt MA, Li G. Alpha fetoprotein is a novel protein-binding partner for caspase-3 and blocks the apoptotic signaling pathway in human hepatoma cells. *Int J Cancer* 2009; 124: 2845-2854 [PMID: 19267404 DOI: 10.1002/ijc.24272]
- 46 Li M, Li H, Li C, Guo L, Liu H, Zhou S, Liu X, Chen Z, Shi S, Wei J, McNutt MA, Li G. Cytoplasmic alpha-fetoprotein functions as a co-repressor in RA-RAR signaling to promote the growth of human hepatoma Bel 7402 cells. *Cancer Lett* 2009; 285: 190-199 [PMID: 19501957 DOI: 10.1016/j.canlet.2009.05.014]
- 47 Li C, Wang S, Jiang W, Li H, Liu Z, Zhang C, McNutt MA, Li G. Impact of intracellular alpha fetoprotein on retinoic acid receptors-mediated expression of GADD153 in human hepatoma cell lines. *Int J Cancer* 2012; 130: 754-764 [PMID: 21365646 DOI: 10.1002/ijc.26025]
- 48 Wang S, Jiang W, Chen X, Zhang C, Li H, Hou W, Liu Z, McNutt MA, Lu F, Li G. Alpha-fetoprotein acts as a novel signal molecule and mediates transcription of Fn14 in human hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 57: 322-329 [PMID: 22521346 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.03.029]
- 49 Li M, Xie X, Fu S, Zhu M, Li G. Alpha-fetoprotein up-regulated the expression of c-Src in hepatoma cells is PTEN/AKT signaling pathway dependent or independent. *J Clin Oncol* 2010; 28: e21061
- 50 朱明月, 符史干, 李孟森, 谢协驹, 李刚. 甲胎蛋白抑制 PTEN 活性导致肝癌细胞耐受 ATRA 诱导凋亡. *生物化学与生物物理进展* 2011; 38: 227-238

## 同行评价

本文详细回顾了近年有关 AFP 在肝癌发生过程中作用的相关研究, 尤其重点介绍了 AFP 在肝细胞恶性转化、肝癌细胞增殖和调控过程中的作用机制, 对深入认识 AFP 的生物学功能及其在肝癌靶向治疗的价值有重要的理论与实践意义。该文总体上反映了该领域的研究水平, 有较高的学术价值。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 肠神经胶质细胞在炎症性肠病发生发展中作用的研究进展

齐国卿, 谢瑞霞, 张德奎

## ■背景资料

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病和溃疡性结肠炎, 其病因和发病机制目前尚不清楚。大多数学者认为持续肠道感染、肠黏膜屏障缺损、肠黏膜免疫调节异常、遗传和环境等因素共同参与了其发生过程。肠神经胶质细胞(enteric glial cell, EGC)可通过自身及分泌的细胞因子等在维护肠黏膜屏障完整、纠正肠黏膜免疫异常方面起重要的作用。

齐国卿, 谢瑞霞, 张德奎, 兰州大学第二医院消化内科 甘肃省兰州市 730000

齐国卿, 在读硕士, 主要从事炎症性肠病与消化系统肿瘤相关的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81272661

作者贡献分布: 本文综述由齐国卿与谢瑞霞完成; 张德奎审校。

通讯作者: 张德奎, 教授, 主任医师, 730000, 甘肃省兰州市城关区萃英门82号, 兰州大学第二医院消化内科。

sczdk1972@163.com

收稿日期: 2013-12-16 修回日期: 2014-01-15

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Role of enteric glial cells in inflammatory bowel disease

Guo-Qing Qi, Rui-Xia Xie, De-Kui Zhang

Guo-Qing Qi, Rui-Xia Xie, De-Kui Zhang, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou 730000, Gansu Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81272661

Correspondence to: De-Kui Zhang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Lanzhou University, 82 Cuiyingmen, Chengguan District, Lanzhou 730000, Gansu Province, China. sczdk1972@163.com

Received: 2013-12-16 Revised: 2014-01-15

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

The etiology and pathogenesis of inflammatory bowel disease are currently unknown. It is generally believed that persistent intestinal infection, intestinal mucosal barrier defect, intestinal mucosal immune dysregulation and genetic and environmental factors together contribute to the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Several studies have demonstrated that enteric glial cells play an important role in maintaining the integrity of intestinal mucosal barrier. Enteric glial cell deficiency in mice leads to the destruction of integrity of intestinal mucosal barrier, increases mucosal permeability, and results in intestinal inflammation, hemorrhage and necrosis. This article discusses the role of enteric glial cells in the occurrence and development of inflammatory bowel disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Enteric glial cells; Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease

Qi GQ, Xie RX, Zhang DK. Role of enteric glial cells in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1076-1080 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1076.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1076>

## 摘要

目前炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)病因及发病机制尚不清楚, 大多数学者认为持续肠道感染、肠黏膜屏障缺损、肠黏膜免疫调节异常、遗传和环境等因素共同参与了其发生过程。近来有研究显示肠神经胶质细胞在维持肠黏膜屏障的完整方面发挥重要作用, 肠神经胶质细胞的缺失会导致小鼠肠黏膜屏障完整性丧失, 通透性增加, 产生肠道炎症, 出血及坏死等IBD的表现。本文就肠神经胶质细胞在IBD发生发展中的作用研究现状作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肠神经胶质细胞; 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病

**核心提示:** 神经胶质细胞(enteric glial cell, EGC)可能在肠道炎症-不典型增生-癌变演进序列中发挥重要作用, 肠道慢性炎症时EGC网络逐渐遭破坏, EGC数量减少, 保护性作用减弱, 使得炎-癌进程得以进行。如果在炎症性肠病(inflammatory bowel disease)发病后, 能够保护EGC或者适时补充EGC分泌的各种因子, 很有可能阻断炎-癌进程, 缓解肠道炎症反应, 减小癌变几率。

齐国卿, 谢瑞霞, 张德奎. 肠神经胶质细胞在炎症性肠病发生发展中作用的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(8): 1076-1080 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1076.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1076>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)包括克罗恩病(Crohn's disease, CD)和溃疡性结肠

## ■同行评议者

万军, 教授, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科



炎(ulcerative colitis, UC), 其病因和发病机制尚不清楚, 目前大多学者认为持续肠道感染、肠黏膜屏障缺损、肠黏膜免疫调节异常、遗传和环境等因素共同参与了IBD发生过程<sup>[1-4]</sup>. 研究发现肠神经胶质细胞(enteric glial cell, EGC)的缺失会导致肠黏膜屏障完整性丧失, 通透性增加, 产生肠道炎症, 出血及坏死等炎症性肠病的表现<sup>[5-8]</sup>, 提示EGC在维持肠黏膜屏障的完整性、IBD发病方面发挥重要作用. 此外, 越来越多研究表明EGC在肠道神经-内分泌-免疫网络中扮演重要角色, 可能通过自身及分泌的神经营养因子、神经多肽及细胞因子等对IBD的发生发展有错综复杂的影响<sup>[9,10]</sup>, 现就其在IBD发生发展中的作用研究进展作一综述.

## 1 EGC概述

EGC来源于神经外胚层, 是肠神经系统(enteric nervous system, ENS)的主要成员之一, 主要分布于肠壁黏膜下丛和肠肌间丛神经节<sup>[11]</sup>. 此外, EGC伸出多个突起与神经元和EGC之间相互连接, 在整个胃肠道形成广泛的网络<sup>[12]</sup>, 不仅分布于肌层、黏膜下层, 黏膜固有层也有, 最远可达肠绒毛的顶端<sup>[13-15]</sup>. 成熟EGC表达肠胶质原纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、钙结合蛋白S100B、p57NGFR、Sox8/9/10等<sup>[16,17]</sup>. 先前认为EGC主要有营养和支持神经元, 参与肠道内神经活动的整合和调节, 维持内环境稳定, 调节肠黏膜血管等功能<sup>[18,19]</sup>. 而现在研究证实EGC缺失会导致肠黏膜屏障破坏, 通透性增加, 产生严重的肠道炎症反应<sup>[8,20]</sup>. EGC还可通过分泌多种神经营养因子、神经多肽和细胞因子, 包括GDNF、NGF、neurotrophin-3、GSNO、P物质、NPY、CCK、VIP、甘丙肽、生长抑素、白介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ )、IL-6和肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等, 在IBD的发生发展中发挥更为广泛的作用<sup>[21-24]</sup>.

## 2 EGC与IBD

**2.1 IBD时EGC的改变** 研究显示IBD时EGC的数目显著减少<sup>[21,25]</sup>, 而在实验性结肠炎及IBD患者的活检标本中发现EGC明显增生, 在UC及CD的炎性肠段中EGC增生较非炎性肠段显著, 且UC较CD患者EGC增生显著<sup>[24,26]</sup>. 提示IBD早期, 受漏过黏膜屏障致炎物质及免疫细胞分泌的各种炎性因子的刺激, EGC反应性增生肥大, 合成分泌大量神经营养因子或营养素, 维护肠黏膜屏

障, 抑制炎症反应. 随着炎症的持续存在, EGC网络逐渐遭到破坏, EGC数目减少, 保护性作用减弱, 使得炎症反应持续加重, 甚至癌变.

**2.2 IBD时EGC源性神经营养因子、神经多肽及细胞因子分泌异常** 来源于EGC的神经营养因子包括神经生长因子(nerve growth factor, NGF)、胶质细胞源性神经营养因子(glial-cell-line-derived neurotrophic factor, GDNF)和神经营养因子-3(neurotrophin-3)等<sup>[27,28]</sup>. 早先研究表明在变态反应性炎症中, NGF能够引起肥大细胞趋化, 发生脱颗粒反应, 释放组胺及其他有害因子, 加重炎症反应<sup>[29]</sup>. 而近期研究发现在抗NGF治疗的大鼠结肠炎模型炎症较对照组加重2-3倍<sup>[30]</sup>, 提示NGF在IBD中具有促炎和抗炎的双重作用. NGF可通过抑制T细胞的活化, 下调免疫或炎症反应<sup>[31]</sup>; 抑制单核细胞跨上皮移动, 减少淋巴细胞的浸润及活化, 减少致炎细胞因子的释放<sup>[32]</sup>; 还可降低急性炎症组织血管通透性, 减少炎性渗出<sup>[33]</sup>, 调节单核细胞合成降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptides, CGRP)<sup>[34]</sup>, 增加IL-10的分泌<sup>[35]</sup>, 从而起到抗炎作用. 此外, NGF可促进结肠上皮增殖<sup>[36]</sup>, 有助于损伤肠黏膜上皮自我更新和修复, 中断ENS损伤进程, 纠正免疫异常, 重新恢复肠道稳态, 在IBD时发挥以抗炎为主的综合性保护作用<sup>[37]</sup>.

近年来大量研究证实GDNF直接参与了肠道炎症反应<sup>[38-40]</sup>, von Boyen等<sup>[41]</sup>在体外培养EGC发现GDNF在CD中是显著增加的, 并证实了GDNF是由EGC分泌的, IL-1、TNF- $\alpha$ 及脂多糖等炎性因子激发其分泌GDNF, 具有抗肠上皮细胞凋亡, 维护肠黏膜屏障的完整性作用, 从而参与调节肠道炎症过程. 此外研究证实GDNF在实验性UC小鼠模型及UC患者肠黏膜中表达显著增加, 增加的GDNF在体外通过活化MAPK、PI3K/AKT途径发挥抗结肠上皮SW480细胞凋亡作用<sup>[42]</sup>. 体内GDNF也可抗上皮细胞凋亡, 并上调紧密连接蛋白ZO-1表达而保护肠黏膜屏障, 降低肠黏膜通透性, 同时GDNF在体内通过激活PI3K/AKT通路抑制肠黏膜NF- $\kappa$ B p65而降低致炎性细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ , 从而降低UC小鼠疾病活动指数, 缓解肠道炎症<sup>[25]</sup>. 最新研究表明, CD中GDNF表达增加、Caspase3/7活性增强, 可能存在于一个反馈性的GDNF自分泌环, 通过自分泌的方式有效防止EGC凋亡, 从而起到维持肠黏膜完整, 抑制炎症反应的作用<sup>[40]</sup>.

Savidge等<sup>[43]</sup>研究发现EGC也可通过释放亚

## ■研究前沿

越来越多研究表明IBD时EGC可通过自身及分泌多种细胞因子改善肠黏膜屏障功能, 缓解肠道炎症. 同时其分泌的细胞因子也可作用于EGC本身, 反馈性调节其增殖、凋亡及分泌功能. 但具体作用机制尚不清楚, 亟待进一步研究.

### ■相关报道

越来越多的研究证明EGC不仅通过肠神经元间接影响肠免疫系统,更可能通过自身分泌的神经营养因子、神经多肽及细胞因子等神经递质直接作用于肠黏膜免疫细胞,从而影响肠道炎症的发生发展。

硝基谷胱甘肽(S-nitrosoglutathione, GSNO)保护肠黏膜屏障并减轻炎症,认为GSNO是EGC调控肠黏膜屏障的中介,GSNO通过抑制黏膜核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)活性抑制致炎细胞因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6的产生,免疫抹除(Ablate)EGC后,小鼠肠组织炎症因子TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6显著增加。最新研究发现EGC可分泌GSNO促进肠黏膜紧密连接蛋白ZO-1、occludin和P-MLC表达,降低肠黏膜通透性,从而起到保护肠黏膜屏障,减轻炎症作用<sup>[23,44]</sup>。此外,研究表明EGC在免疫刺激下可表达细胞因子IL-1 $\beta$ 、IL-6和TNF- $\alpha$ <sup>[45]</sup>。而免疫细胞分泌的细胞因子亦可反作用于EGC,其中IL-1 $\beta$ 可通过结合IL-1受体增强IL-6的表达并反馈性抑制自身IL-1 $\beta$ 的分泌<sup>[46]</sup>,还可作用于EGC本身抑制其增生<sup>[41]</sup>。近期研究发现炎症细胞因子可直接激活EGC表达MHC II和c-fos,有效增加S100B和GFAP的表达及NO的释放,促使EGC增生、增殖<sup>[47]</sup>。

总之,IBD时EGC可通过分泌多种神经营养因子、神经多肽及细胞因子改善肠黏膜屏障功能,缓解肠道炎症。同时其分泌的神经营养因子、神经多肽及细胞因子也作用于EGC本身,反馈性调节其增殖、凋亡及分泌功能。

### 3 EGC与结直肠癌

目前EGC与结直肠癌的相关研究较少,且均为静态横断面研究。Bach-Ngohou等<sup>[48]</sup>认为EGC通过其分泌15dPGJ2活化PPAR $\gamma$ ,从而抑制Caco-2结肠癌细胞的增殖,上调分化相关基因的表达。而Neunlist等<sup>[49]</sup>报道EGC通过自分泌的TGF-B1途径可以抑制人结肠癌细胞Caco-2、HT-29和T84细胞的增殖,使共培养的上述细胞数目显著减少,外源性加入TGF-B1可影响癌细胞密度和表面积,加入TGF-B1中和抗体后则会改变EGC这一效应。此外,还观察到在结肠癌组织中EGC标志物S100 $\beta$ 表达减少,而癌组织边缘及远处S100 $\beta$ 表达逐渐增加<sup>[49]</sup>。提示EGC参与结肠癌的发生发展,很可能起到抑制癌细胞生长转移作用。然而,EGC是否可抑制结肠癌细胞的生长,通过何种途径发挥其抑癌作用,能否能抑制癌细胞的侵袭转移,目前尚不清楚。

### 4 结论

目前IBD的病因及发病机制尚不清楚,研究表明肠黏膜屏障缺损、肠黏膜免疫调节异常在IBD的发生发展中具有关键作用<sup>[50,51]</sup>。肠黏膜屏障破

坏,通透性增加,炎症因子分泌增多,黏膜NF- $\kappa$ B活化等均是IBD发病及反复发作,迁延不愈以至癌变的主要原因。不管在体内(EGC抹除实验)<sup>[43]</sup>还是体外(EGC与Caco-2共培养)<sup>[52]</sup>,EGC都具有维护肠黏膜屏障完整,降低肠黏膜通透性,缓解肠道炎症作用。因此有理由认为,在肠道炎症-不典型增生-癌变过程中,EGC网络逐渐遭破坏,EGC数量减少,保护性作用减弱,使得炎-癌进程得以进行。如果在IBD发病后,能够保护EGC或者适时补充EGC分泌的各种因子,很有可能阻断炎-癌进程,缓解炎症反应,减小癌变几率。故未来研究应重视EGC在“炎症-不典型增生-癌变”动态进程中的作用。

### 5 参考文献

- 1 Baumgart DC, Sandborn WJ. Crohn's disease. *Lancet* 2012; 380: 1590-1605 [PMID: 22914295 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60026-9.]
- 2 Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *Lancet* 2012; 380: 1606-1619 [PMID: 22914296 DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60150-0.]
- 3 Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 599-608 [PMID: 22907164 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.152.]
- 4 Jostins L, Ripke S, Weersma RK, Duerr RH, McGovern DP, Hui KY, Lee JC, Schumm LP, Sharma Y, Anderson CA, Essers J, Mitrovic M, Ning K, Cleynen I, Theate E, Spain SL, Raychaudhuri S, Goyette P, Wei Z, Abraham C, Achkar JP, Ahmad T, Amininejad L, Ananthakrishnan AN, Andersen V, Andrews JM, Baidoo L, Balschun T, Bampton PA, Bitton A, Boucher G, Brand S, Büning C, Cohain A, Cichon S, D'Amato M, De Jong D, Devaney KL, Dubinsky M, Edwards C, Ellinghaus D, Ferguson LR, Franchimont D, Fransen K, Gearry R, Georges M, Gieger C, Glas J, Haritunians T, Hart A, Hawkey C, Hedl M, Hu X, Karlsten TH, Kupcinskis L, Kugathasan S, Latiano A, Laukens D, Lawrance IC, Lees CW, Louis E, Mahy G, Mansfield J, Morgan AR, Mowat C, Newman W, Palmieri O, Ponsioen CY, Potocnik U, Prescott NJ, Regueiro M, Rotter JJ, Russell RK, Sanderson JD, Sans M, Satsangi J, Schreiber S, Simms LA, Sventoraityte J, Targan SR, Taylor KD, Tremelling M, Verspaget HW, De Vos M, Wijmenga C, Wilson DC, Winkelmann J, Xavier RJ, Zeissig S, Zhang B, Zhang CK, Zhao H, Silverberg MS, Annese V, Hakonarson H, Brant SR, Radford-Smith G, Mathew CG, Rioux JD, Schadt EE, Daly MJ, Franke A, Parkes M, Vermeire S, Barrett JC, Cho JH. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature* 2012; 491: 119-124 [PMID: 23128233 DOI: 10.1038/nature11582]
- 5 Bush TG, Savidge TC, Freeman TC, Cox HJ, Campbell EA, Mucke L, Johnson MH, Sofroniew MV. Fulminant jejuno-ileitis following ablation of enteric glia in adult transgenic mice. *Cell* 1998; 93: 189-201 [PMID: 9568712 DOI: 10.1016/S0092-8674.2800.2981]

- 571-8]
- 6 Reinshagen M, Rohm H, Steinkamp M, Lieb K, Geerling I, Von Herbay A, Flämig G, Eysselein VE, Adler G. Protective role of neurotrophins in experimental inflammation of the rat gut. *Gastroenterology* 2000; 119: 368-376 [PMID: 10930372 DOI: 10.1053/gast.2000.9307]
- 7 Cornet A, Savidge TC, Cabarrocas J, Deng WL, Colombel JF, Lassmann H, Desreumaux P, Liblau RS. Enterocolitis induced by autoimmune targeting of enteric glial cells: a possible mechanism in Crohn's disease? *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 13306-13311 [PMID: 11687633 DOI: 10.1073/pnas.231474098]
- 8 De Giorgio R, Giancola F, Boschetti E, Abdo H, Lardeux B, Neunlist M. Enteric glia and neuroprotection: basic and clinical aspects. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G887-G893 [PMID: 22878122 DOI: 10.1152/ajpgi.00096.2012]
- 9 von Boyen G, Steinkamp M. The role of enteric glia in gut inflammation. *Neuron Glia Biol* 2010; 6: 231-236 [PMID: 21774866 DOI: 10.1017/S1740925X11000068]
- 10 陈曦, 甘华田. 肠神经胶质细胞对肠黏膜免疫细胞的影响及其在炎症性肠病发生发展中的作用. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 597-601
- 11 Alexei Verkhratsky, Arthur Morgan Butt. Glial neurobiology. England: John Wiley & Sons Ltd, 2007: 39-80
- 12 Liu YA, Chung YC, Pan ST, Shen MY, Hou YC, Peng SJ, Pasricha PJ, Tang SC. 3-D imaging, illustration, and quantitation of enteric glial network in transparent human colon mucosa. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e324-e338 [PMID: 23495930 DOI: 10.1111/nmo.12115]
- 13 Cabarrocas J, Savidge TC, Liblau RS. Role of enteric glial cells in inflammatory bowel disease. *Glia* 2003; 41: 81-93 [PMID: 12465048 DOI: 10.1002/glia.10169]
- 14 Furness JB. The enteric nervous system and neurogastroenterology. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 286-294 [PMID: 22392290 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.32]
- 15 Sasselli V, Pachnis V, Burns AJ. The enteric nervous system. *Dev Biol* 2012; 366: 64-73 [PMID: 22290331 DOI: 10.1016/j.ydbio.2012.01.012]
- 16 Hoff S, Zeller F, von Weyhern CW, Wegner M, Schemann M, Michel K, Rühl A. Quantitative assessment of glial cells in the human and guinea pig enteric nervous system with an anti-Sox8/9/10 antibody. *J Comp Neurol* 2008; 509: 356-371 [PMID: 18512230 DOI: 10.1002/cne.21769]
- 17 Cirillo C, Sarnelli G, Esposito G, Turco F, Steardo L, Cuomo R. S100B protein in the gut: the evidence for enteroglial-sustained intestinal inflammation. *World J Gastroenterol* 2011; 17: 1261-1266 [PMID: 21455324 DOI: 10.3748/wjg.v17.i10.1261]
- 18 Grundy D, Al-Chaer ED, Aziz Q, Collins SM, Ke M, Taché Y, Wood JD. Fundamentals of neurogastroenterology: basic science. *Gastroenterology* 2006; 130: 1391-1411 [PMID: 16678554 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.11.060]
- 19 Bassotti G, Villanacci V, Fisogni S, Rossi E, Baronio P, Clerici C, Maurer CA, Cathomas G, Antonelli E. Enteric glial cells and their role in gastrointestinal motor abnormalities: introducing the neurogliopathies. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4035-4041 [PMID: 17696219]
- 20 Snoek SA, Verstege MI, Boeckstaens GE, van den Wijngaard RM, de Jonge WJ. The enteric nervous system as a regulator of intestinal epithelial barrier function in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2010; 4: 637-651 [PMID: 20932148 DOI: 10.1586/egh.10.51]
- 21 von Boyen GB, Schulte N, Pflüger C, Spaniol U, Hartmann C, Steinkamp M. Distribution of enteric glia and GDNF during gut inflammation. *BMC Gastroenterol* 2011; 11: 3 [PMID: 21235736 DOI: 10.1186/1471-230X-11-3]
- 22 Gougeon PY, Lourenssen S, Han TY, Nair DG, Ropeleski MJ, Blennerhassett MG. The pro-inflammatory cytokines IL-1 $\beta$  and TNF $\alpha$  are neurotrophic for enteric neurons. *J Neurosci* 2013; 33: 3339-3351 [PMID: 23426662 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.3564-12.2013]
- 23 Cheadle GA, Costantini TW, Lopez N, Bansal V, Eliceiri BP, Coimbra R. Enteric glia cells attenuate cytotoxic-induced intestinal epithelial barrier breakdown. *PLoS One* 2013; 8: e69042 [PMID: 23840906 DOI: 10.1371/journal.pone.0069042]
- 24 张德奎, 甘华田. 重视研究肠道神经系统在炎症性肠病发病中作用. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3200-3203
- 25 Zhang DK, He FQ, Li TK, Pang XH, Cui de J, Xie Q, Huang XL, Gan HT. Glial-derived neurotrophic factor regulates intestinal epithelial barrier function and inflammation and is therapeutic for murine colitis. *J Pathol* 2010; 222: 213-222 [PMID: 20632386 DOI: 10.1002/path.2749]
- 26 von Boyen GB, Steinkamp M, Geerling I, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Proinflammatory cytokines induce neurotrophic factor expression in enteric glia: a key to the regulation of epithelial apoptosis in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 346-354 [PMID: 16670534 DOI: 10.1097/01.MIB.0000219350.72483.44]
- 27 von Boyen G, Steinkamp M. [The enteric glia and neurotrophic factors]. *Z Gastroenterol* 2006; 44: 985-990 [PMID: 16981072 DOI: 10.1055/s-2006-926968]
- 28 von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Nerve growth factor secretion in cultured enteric glia cells is modulated by proinflammatory cytokines. *J Neuroendocrinol* 2006; 18: 820-825 [PMID: 17026531 DOI: 10.1111/j.1365-2826.2006.01478.x]
- 29 Sawada J, Itakura A, Tanaka A, Furusaka T, Matsuda H. Nerve growth factor functions as a chemoattractant for mast cells through both mitogen-activated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase signaling pathways. *Blood* 2000; 95: 2052-2058 [PMID: 10706874]
- 30 Ralainirina N, Brons NH, Ammerlaan W, Hoffmann C, Hentges F, Zimmer J. Mouse natural killer (NK) cells express the nerve growth factor receptor TrkA, which is dynamically regulated. *PLoS One* 2010; 5: e15053 [PMID: 21152021 DOI: 10.1371/journal.pone.0015053]
- 31 Wei R, Jonakait GM. Neurotrophins and the anti-inflammatory agents interleukin-4 (IL-4), IL-10, IL-11 and transforming growth factor-beta1 (TGF-beta1) down-regulate T cell costimulatory molecules B7 and CD40 on cultured rat microglia. *J Neuroimmunol* 1999; 95: 8-18 [PMID: 10229111 DOI: 10.1016/S0165-5728.2898.2900248-3.]
- 32 Flügel A, Matsumuro K, Neumann H, Klinkert WE,

## ■创新盘点

本文全面回顾了近年来关于EGC在IBD发生发展中的作用研究结果,发现EGC在IBD发生发展中具有重要作用,未来研究应重视EGC在“炎症-不典型增生-癌变”动态进程中作用。



## ■同行评价

本文为今后的研究重点提供了方向,具有一定理论指导意义及潜在临床诊治价值。

- 33 Amico-Roxas M, Caruso A, Leone MG, Scifo R, Vanella A, Scapagnini U. Nerve growth factor inhibits some acute experimental inflammations. *Arch Int Pharmacodyn Ther* 1989; 299: 269-285 [PMID: 2774768]
- 34 Bracci-Laudiero L, Aloe L, Buanne P, Finn A, Stenfors C, Vigneti E, Theodorsson E, Lundeberg T. NGF modulates CGRP synthesis in human B-lymphocytes: a possible anti-inflammatory action of NGF? *J Neuroimmunol* 2002; 123: 58-65 [PMID: 11880150 DOI: 10.1016/S0165-5728.2801.2900475-1]
- 35 Ma D, Wolvers D, Stanisz AM, Bienenstock J. Interleukin-10 and nerve growth factor have reciprocal upregulatory effects on intestinal epithelial cells. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2003; 284: R1323-R1329 [PMID: 12676754 DOI: 10.1152/ajp-regu.00756.2002]
- 36 Inan MS, Tolmacheva V, Wang QS, Rosenberg DW, Giardina C. Transcription factor NF-kappaB participates in regulation of epithelial cell turnover in the colon. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G1282-G1291 [PMID: 11093952]
- 37 余建杰, 张德奎. 神经生长因子及其受体在溃疡性结肠炎中的作用研究进展. *中国全科医学* 2012; 15: 3809-3811
- 38 Brun P, Giron MC, Qesari M, Porzionato A, Caputi V, Zoppellaro C, Banzato S, Grillo AR, Spagnol L, De Caro R, Pizzuti D, Barbieri V, Rosato A, Sturnio GC, Martinez D, Zaninotto G, Palù G, Castagliuolo I. Toll-like receptor 2 regulates intestinal inflammation by controlling integrity of the enteric nervous system. *Gastroenterology* 2013; 145: 1323-1333 [PMID: 23994200 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.08.047]
- 39 尹静, 甘华田. 胶质细胞源性神经营养因子在炎症性肠病中的作用. *华西医学* 2008; 23: 650-651
- 40 Steinkamp M, Gundel H, Schulte N, Spaniol U, Pflueger C, Zizer E, von Boyen GB. GDNF protects enteric glia from apoptosis: evidence for an autocrine loop. *BMC Gastroenterol* 2012; 12: 6 [PMID: 22251670 DOI: 10.1186/1471-230X-12-6]
- 41 von Boyen GB, Steinkamp M, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Proinflammatory cytokines increase glial fibrillary acidic protein expression in enteric glia. *Gut* 2004; 53: 222-228 [PMID: 14724154 DOI: 10.1136/gut.2003.012625]
- 42 Steinkamp M, Geerling I, Seufferlein T, von Boyen G, Egger B, Grossmann J, Ludwig L, Adler G, Reinshagen M. Glial-derived neurotrophic factor regulates apoptosis in colonic epithelial cells. *Gastroenterology* 2003; 124: 1748-1757 [PMID: 12806607 DOI: 10.1016/S0016-5085.2803.2900404-9]
- 43 Savidge TC, Newman P, Pothoulakis C, Ruhl A, Neunlist M, Bourreille A, Hurst R, Sofroniew MV. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitrosoglutathione. *Gastroenterology* 2007; 132: 1344-1358 [PMID: 17408650 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.051]
- 44 Flamant M, Aubert P, Rolli-Derkinderen M, Bourreille A, Neunlist MR, Mahé MM, Meurette G, Marteyn B, Savidge T, Galmiche JP, Sansonetti PJ, Neunlist M. Enteric glia protect against Shigella flexneri invasion in intestinal epithelial cells: a role for S-nitrosoglutathione. *Gut* 2011; 60: 473-484 [PMID: 21139062 DOI: 10.1136/gut.2010.229237]
- 45 von Boyen GB, Degenkolb N, Hartmann C, Adler G, Steinkamp M. The endothelin axis influences enteric glia cell functions. *Med Sci Monit* 2010; 16: BR161-BR167 [PMID: 20512083]
- 46 Rühl A, Franzke S, Stremmel W. IL-1beta and IL-10 have dual effects on enteric glial cell proliferation. *Neurogastroenterol Motil* 2001; 13: 89-94 [PMID: 11169130 DOI: 10.1046/j.1365-2982.2001.00245.x]
- 47 Cirillo C, Sarnelli G, Turco F, Mango A, Grosso M, Aprea G, Masone S, Cuomo R. Proinflammatory stimuli activates human-derived enteroglia cells and induces autocrine nitric oxide production. *Neurogastroenterol Motil* 2011; 23: e372-e382 [PMID: 21762414 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2011.01748.x]
- 48 Bach-Ngohou K, Mahé MM, Aubert P, Abdo H, Boni S, Bourreille A, Denis MG, Lardeux B, Neunlist M, Masson D. Enteric glia modulate epithelial cell proliferation and differentiation through 15-deoxy-12,14-prostaglandin J2. *J Physiol* 2010; 588: 2533-2544 [PMID: 20478974 DOI: 10.1113/jphysiol.2010.188409]
- 49 Neunlist M, Aubert P, Bonnaud S, Van Landeghem L, Coron E, Wedel T, Naveilhan P, Ruhl A, Lardeux B, Savidge T, Paris F, Galmiche JP. Enteric glia inhibit intestinal epithelial cell proliferation partly through a TGF-beta1-dependent pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G231-G241 [PMID: 16423922 DOI: 10.1152/ajp-gi.00276.2005]
- 50 Jäger S, Stange EF, Wehkamp J. Inflammatory bowel disease: an impaired barrier disease. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 1-12 [PMID: 23160753 DOI: 10.1007/s00423-012-1030-9]
- 51 Cader MZ, Kaser A. Recent advances in inflammatory bowel disease: mucosal immune cells in intestinal inflammation. *Gut* 2013; 62: 1653-1664 [PMID: 24104886 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303955]
- 52 Soret R, Coquenlorge S, Cossais F, Meurette G, Rolli-Derkinderen M, Neunlist M. Characterization of human, mouse, and rat cultures of enteric glial cells and their effect on intestinal epithelial cells. *Neurogastroenterol Motil* 2013; 25: e755-e764 [PMID: 23991747 DOI: 10.1111/nmo.12200]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶在结直肠癌中的研究进展

王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹

王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹, 天津市第五中心医院消化科 天津市 300450

王柏清, 硕士, 主要从事消化系肿瘤发病机制的研究。

作者贡献分布: 此课题由王柏清与孙光斌设计; 研究过程由王柏清、娄文辉、南寿山及张宝芹完成; 数据分析由王柏清完成; 本论文写作由王柏清与孙光斌完成。

通讯作者: 孙光斌, 主任医师, 300450, 天津市塘沽区浙江路41号, 天津市第五中心医院消化科。sun19660901@sina.com  
电话: 022-65665412

收稿日期: 2013-12-19 修回日期: 2014-01-14

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Role of O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase in pathogenesis of colorectal cancer

Bai-Qing Wang, Guang-Bin Sun, Wen-Hui Lou, Shou-Shan Nan, Bao-Qin Zhang

Bai-Qing Wang, Guang-Bin Sun, Wen-Hui Lou, Shou-Shan Nan, Bao-Qin Zhang, the Fifth Central Hospital of Tianjin, Tianjin 300450, China

Correspondence to: Guang-Bin Sun, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Fifth Central Hospital of Tianjin, 41 Zhejiang Street, Tanggu District, Tianjin 300450, China. sun19660901@sina.com

Received: 2013-12-19 Revised: 2014-01-14

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

As the fourth most common malignancy, colorectal cancer poses a serious threat to human health. With the changes in lifestyle and diet, the incidence of colorectal cancer is increasing year by year. Inactivation of tumor suppressor genes, activation of oncogenes and abnormal overexpression of DNA repair genes have been known to be responsible for the pathogenesis of colorectal cancer. O<sup>6</sup>-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) is a DNA repair enzyme that can remove the adducts on DNA and repair the DNA damage. Studies have found that methylation of the MGMT gene is closely related to the occurrence of colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All

rights reserved.

**Key Words:** O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase; Colorectal cancer; Methylation

Wang BQ, Sun GB, Lou WH, Nan SS, Zhang BQ. Role of O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase in pathogenesis of colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1081-1086 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1081>

## 摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)位居恶性肿瘤的第4位, 严重威胁着人类的健康。随着人们生活方式及饮食结构的改变, CRC的发生率呈逐年上升的趋势。CRC的发生机制包括: 抑癌基因的失活、癌基因的激活及DNA修复机制的异常过度表达。O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)是一种DNA修复酶, 他通过去除鸟嘌呤O<sup>6</sup>位烷基基团来防止细胞DNA发生突变, 并可以修复损伤的DNA。研究发现, 该基因的甲基化与CRC的发生密切相关, 近年来已成为研究的新热点。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶; 结直肠癌; 甲基化

**核心提示:** O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)基因与结直肠癌的发生密切相关, MGMT基因的甲基化引起一系列后续变化, 在肿瘤进展过程中起重要作用。探索MGMT基因与结直肠癌的发生、发展的关系, 对于肿瘤的早期诊断、评估肿瘤的危险性、改进化疗方案等方面均具有重要的意义。

王柏清, 孙光斌, 娄文辉, 南寿山, 张宝芹。O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶在结直肠癌中的研究进展。世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1081-1086 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1081.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1081>

## ■背景资料

随着人们生活方式及饮食结构的改变, 结直肠癌的发生率呈逐年上升的趋势, 严重威胁着人类的健康。O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, MGMT)是一种DNA修复酶, 他通过去除鸟嘌呤O<sup>6</sup>位烷基基团来防止细胞DNA发生突变, 并可以修复损伤的DNA。研究发现, 该基因的甲基化与结直肠癌的发生密切相关, 近年来已成为研究的新热点。

## ■同行评议者

白雪, 副主任医师, 中国人民解放军北京军区总医院普通外科

## ■ 研发前沿

*MGMT*基因的甲基化在肿瘤发生、发展中具有重要作用。有关*MGMT*在肿瘤发生、发展中的表达调控机制仍在深入的研究。在肿瘤化疗方面, 如何达到肿瘤化疗的最佳效果, 也是肿瘤治疗的一个研究热点。*MGMT*基因与结肠癌关系的对肿瘤的早期诊断、评估肿瘤的危险性、改进化疗方案等方面均具有重要的意义。

## 0 引言

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是常见的消化系恶性肿瘤, 严重威胁着人类的健康。随着生活方式及饮食结构的改变, 结直肠癌的发生呈上升的趋势<sup>[1-3]</sup>。O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶(O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase, *MGMT*)是一种可以通过去除鸟嘌呤O<sup>6</sup>位烷基基团来防止细胞DNA发生突变的一种DNA修复酶。由于结肠黏膜直接暴露于环境致癌物下, 因此具有一套有效的DNA修复系统对于防止DNA突变是非常重要的<sup>[4-7]</sup>。本文就*MGMT*在结直肠癌中的最新研究进展做一综述。

## 1 *MGMT*的基本特点及作用机制

*MGMT*是含有207个氨基酸的含磷蛋白, 分子量为21700(22 kDa), 基因全长约170 kb, 是一种高效的DNA直接修复酶。该基因位于第10号染色体(10q26)上, 由5个外显子、4个内含子组成, 其中第1个外显子是启动子区, 不翻译, 主要作用是参与基因的表达调控。在该区3端存在一个59 bp增强子序列, 他可强烈影响到*MGMT*基因, 提高转录水平<sup>[8-11]</sup>。*MGMT*的cDNA序列全长769 bp, 活性位点位于145位半胱氨酸残基上, 含一个621 bp的开放阅读框, 可编码207个氨基酸。

烷化剂是一种常见的致癌物质, 可形成O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤, O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤在复制的过程中, 与胸腺嘧啶(thymine, T)配对, 导致G:C转换为A:T。O<sup>6</sup>-鸟嘌呤加合物可与相对的胞嘧啶残基交联导致DNA复制封闭, 从而引起基因突变, 这是肿瘤发生的一个重要步骤。*MGMT*是一种重要的DNA修复酶, 可将O<sup>6</sup>-鸟嘌呤加合物从DNA上移除, 把O<sup>6</sup>-甲基鸟嘌呤的烷基基团转移到自身半胱氨酸残基上, 从而防止基因甲基化导致G:C→A:T的基因突变, 在DNA损伤发生前, 在没有其他蛋白或辅助因子参与下对DNA损伤进行修复<sup>[12,13]</sup>。

## 2 *MGMT*在组织中的表达及影响因素

*MGMT*主要分布于细胞浆中, 当发生DNA损伤时细胞核中水平会明显升高, 在不同细胞、组织中表达差别较大。已有实验提示在正常组织中, 肝脏、淋巴结中*MGMT*基因表达较强, 肺、神经组织中表达较弱。而在肿瘤组织中, 乳腺癌、胃癌、肺癌组织中*MGMT*基因表达较强, 食管癌、结直肠癌中表达较弱<sup>[14-18]</sup>。

一些物质也会影响*MGMT*基因的表达。

Vielhauer<sup>[19]</sup>认为锌可影响*MGMT*酶的活性, 通过*MGMT*转基因小鼠实验, 锌使*MGMT*酶的活性增加了8倍; 二乙基亚硝胺及乙基亚硝基脒同样可增加肝细胞*MGMT*酶的活性, 提高其基因转录水平, 增强其抗烷化剂损伤的作用<sup>[20,21]</sup>。

## 3 *MGMT*甲基化和结直肠癌

已有实验证明*MGMT*可以保护机体免受通过甲基化DNA诱导结肠癌的N-亚硝基化合物的损害。*MGMT*的这种机制可以保护肿瘤细胞免受烷基化化疗药物的杀伤作用, 但一个*MGMT*分子只能参与一个酶反应, 因为其活性位点不能再生, *MGMT*完成酶反应后就要通过泛素化被降解。鉴于这种自杀机制, 一个细胞修复异常聚合物的能力取决于现有的*MGMT*分子数和*MGMT*合成的速率<sup>[22,23]</sup>。鉴于这种理论, 人们做出了很多努力试图寻找一种可以临床使用的*MGMT*抑制剂来消除其产生的化疗耐受。但是, 目前发现的抑制剂在不同的临床试验中都没有表现出优越性。

已有研究提示结直肠癌的*MGMT*基因启动子区存在过甲基化, 导致其蛋白表达缺失, 不能及时修复DNA损伤, 这是结直肠癌的发生机制之一。*MGMT*丢失在结肠直肠癌发生中的作用是复杂的, 现在对他的认识还有限。在异常隐窝灶检测到了结肠癌发展中最早的前体损伤, 即*MGMT*甲基化, 表明*MGMT*甲基化是瘤生成途径中的早期事件。这个发现表明*MGMT*甲基化在散发性结肠癌发生中扮演一种局部缺陷诱导角色, 这种局部缺陷的定义是分子异常的一个组织区域出现在癌之前且可以促使癌的发展<sup>[24-26]</sup>。因此, 有人提出*MGMT*状态或许是散发性结肠癌早期检测和风险评估的有用标志物。目前人们提出了散发性结肠癌中的两个通路: CpG岛甲基化表型(CpG island methylator phenotype, CIMP)通路和染色体不稳定(chromosomal instability, CI)通路。*MGMT*丢失和CpG甲基化之间的强相关性把*MGMT*和CIMP通路联系在一起, 而后者和BRAF-V600E突变和微卫星高度不稳定(microsatellite instability-high, MSI-H)有关<sup>[27-29]</sup>。

*MGMT*甲基化在结直肠腺瘤或息肉中已被发现。最近的一篇研究报道称在46.7%的增生性息肉, 60%的不伴有发育不良的平坦型锯齿状腺瘤和75%的伴有发育不良的平坦型锯齿状腺瘤中发生了*MGMT*甲基化<sup>[30]</sup>。Svrcek等<sup>[31]</sup>报道的*MGMT*缺失导致的局部缺陷与MSI-H的关联较与微卫星稳定(microsatellite stable, MSS)更紧密;



另一方面, MGMT缺失与*K-ras*和*p53*突变基因G-A转换之间的关联性使MGMT和结肠直肠癌的CI通路联系在一起, 而后者表现为微卫星稳定或者低度不稳定(MSI-L)<sup>[32]</sup>.

最近通过对776例结直肠癌研究发现, *K-ras*基因突变与MGMT基因和*p16*基因共同甲基化有关; *K-ras*突变且伴有甲基化的细胞更容易发展为息肉, 这与不同的MSI状态有关, 认为两个主要结肠直肠癌通路中存在所谓融合通路, 而MGMT位于这个通路的交叉点. 一些伴有发育不良的锯齿状息肉中存在*p53*基因突变(可能和MGMT甲基化有关), 为这种联系提供了一种证据<sup>[33]</sup>. 另一种可能在两种通路中起桥联作用的是绒毛状腺瘤, 一方面, 他可能是CI通路中一种晚期病变, 经常和*K-ras*突变联系在一起; 另一方面, 这种病变形态学和锯齿状息肉相似, 同时部分研究也提示*K-ras*突变可能和MGMT甲基化有关<sup>[25,34,35]</sup>.

#### 4 MGMT基因多态性与结直肠癌

MGMT的启动子区有97个CpG位点, 但这些位点中的甲基化不是均匀分布的. 为了寻找出可以预测基因沉默的特异性CpG位点, 进行了深入的研究. Everhard等<sup>[36]</sup>提示在6个独立的CpG位点(CpGs228、186、C95、C113、C135和C137)以及2个CpG区域(186到172和C93到C153), 甲基化和表达一致性至少在81.5%以上. 此外, 在结肠直肠癌和正常结肠黏膜细胞中发现MGMT甲基化和MGMT基因中第一个外显子中的C到T的单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)(rs16906252)具有关联性<sup>[37,38]</sup>. Everhard等<sup>[36]</sup>研究发现在结肠癌细胞中MGMT丢失和*K-ras*基因中G到A突变有关联, 随后发现胃癌中也存在这种现象<sup>[22,39]</sup>.

#### 5 MGMT基因甲基化检测方法

MGMT基因中有一个含有启动子的CpG岛, 其表达受DNA甲基化的调控, DNA甲基化后可导致MGMT不表达. 目前对于哪种方法能够最可靠的评估MGMT甲基化水平还不明确. 甲基化特异性聚合酶链反应(methylation specific PCR, MSP)是目前广泛使用的方法, 他具有较高的特异性和灵敏度<sup>[22,40,41]</sup>. 但是, MSP的可信度取决于DNA的质量, 而通常在甲醛固定, 甲醛固定石蜡包埋(formalin fixation paraffin embedding, FFPE)的样本中不容易获得高质量的DNA. 另外, MSP

不能够定量测定MGMT甲基化. 这些不足之处限制了其在临床中的使用. 焦磷酸测序、结合重亚硫酸盐的限制性内切酶法、甲基化荧光定量法、甲基化敏感的高分辨率融解分析和甲基化特异性的多重连接依赖的探针扩增是用来评估MGMT启动子甲基化的定量或者半定量方法<sup>[42-45]</sup>.

#### 6 MGMT和结肠直肠癌治疗

在对替莫唑胺治疗的胶质细胞瘤患者的研究发现启动子甲基化和MGMT表达缺失的患者对治疗较敏感, 有较高的存活率, 而MGMT的正常表达则意味着对治疗耐受和较差的存活率<sup>[46]</sup>. 正如前所讨论的那样, 这种效应可能是MGMT在肿瘤细胞中抵抗烷基化试剂的作用造成的. MGMT在结肠直肠癌中的表达意义这方面研究较少. 早期一项研究表明不伴有MGMT启动子甲基化的结直肠癌患者接受化疗后复发率风险是不接受化疗患者的5.3倍<sup>[47]</sup>. 还不清楚导致这种现象的具体机制, 因为5-氟尿嘧啶(5-fluorouracil, 5-FU)是一种抗代谢药, 不通过DNA烷基化起作用. 不管如何, 该发现表明伴有MGMT正常表达的结直肠癌患者不适合使用5-FU进行化疗. 考虑到MGMT缺失使肿瘤细胞对烷基化试剂敏感化, 最近的几项努力试图筛选这些药物的合适患者. 使用达卡巴嗪治疗常规疗法无效的转移性结直肠癌患者的临床试验中发现, 临床应答局限于MGMT甲基化的患者<sup>[48]</sup>. 在采用单一的替莫唑胺治疗的MGMT甲基化的转移性患者中发现了同样的结果<sup>[49]</sup>. 该结果为有效治疗MGMT缺失的结肠癌患者打开了新的途径.

#### 7 结论

MGMT基因与结直肠癌的发生密切相关, MGMT基因的甲基化引起一系列后续变化, 在肿瘤进展过程中起重要作用. 目前, 虽然对MGMT基因结构、基因多态性有所了解, 但对其在肿瘤发生、发展中的表达调控机制以及如何与抑癌基因一起对肿瘤进行调控仍需深入的研究. 在肿瘤化疗方面, 如何达到肿瘤化疗的最佳效果, 也是肿瘤治疗的一个研究热点. 探索MGMT基因与结直肠癌的发生、发展的关系, 对于肿瘤的早期诊断、评估肿瘤的危险性、改进化疗方案等方面均具有重要的意义.

#### 8 参考文献

- 1 Stern MC, Conti DV, Siegmund KD, Corral R, Yuan

#### ■ 相关报道

已有研究提示结直肠癌的MGMT基因启动子区存在过甲基化, 导致其蛋白表达缺失, 不能及时修复DNA损伤, 这是结直肠癌的发生机制之一. 最近对776例结直肠癌的研究发现, *K-ras*基因突变与MGMT基因和*p16*基因共同甲基化有关; *K-ras*突变且伴有甲基化的细胞更容易发展为息肉; 部分研究也提示*K-ras*突变可能和MGMT甲基化有关.

## ■创新盘点

一些研究发现 MGMT 启动子区的甲基化情况与一些肿瘤如食管癌、胃癌、宫颈癌的发生、发展有关。近年来有关 MGMT 与结直肠癌关系的研究也是目前的一个研究热点, 我们现将 MGMT 与结直肠癌的研究进展做一综述, 以提供一定的参考。

- 1 JM, Koh WP, Yu MC. DNA repair single-nucleotide polymorphisms in colorectal cancer and their role as modifiers of the effect of cigarette smoking and alcohol in the Singapore Chinese Health Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007; 16: 2363-2372 [PMID: 18006925 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-07-0268]
- 2 Tranah GJ, Bugni J, Giovannucci E, Ma J, Fuchs C, Hines L, Samson L, Hunter DJ. O6-methylguanine-DNA methyltransferase Leu84Phe and Ile143Val polymorphisms and risk of colorectal cancer in the Nurses' Health Study and Physicians' Health Study (United States). *Cancer Causes Control* 2006; 17: 721-731 [PMID: 16633920]
- 3 Kim HC, Roh SA, Ga IH, Kim JS, Yu CS, Kim JC. CpG island methylation as an early event during adenoma progression in carcinogenesis of sporadic colorectal cancer. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1920-1926 [PMID: 16336454]
- 4 Bye H, Prescott NJ, Matejic M, Rose E, Lewis CM, Parker MJ, Mathew CG. Population-specific genetic associations with oesophageal squamous cell carcinoma in South Africa. *Carcinogenesis* 2011; 32: 1855-1861 [PMID: 21926110]
- 5 Middleton MR, Margison GP. Improvement of chemotherapy efficacy by inactivation of a DNA-repair pathway. *Lancet Oncol* 2003; 4: 37-44 [PMID: 12517538 DOI: 10.1016/S1470-2045(03)00959-8]
- 6 Shah MA, Shaff SM, Lone GN, Jan SM. Lack of influence of MGMT codon Leu84Phe and codon Ile143Val polymorphisms on esophageal cancer risk in the Kashmir Valley. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3047-3052 [PMID: 22994708]
- 7 Shen M, Purdue MP, Kricker A, Lan Q, Grulich AE, Vajdic CM, Turner J, Whitby D, Chanock S, Rothman N, Armstrong BK. Polymorphisms in DNA repair genes and risk of non-Hodgkin's lymphoma in New South Wales, Australia. *Haematologica* 2007; 92: 1180-1185 [PMID: 17666372 DOI: 10.3324/haematol.11324]
- 8 Chae MH, Jang JS, Kang HG, Park JH, Park JM, Lee WK, Kam S, Lee EB, Son JW, Park JY. O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase gene polymorphisms and the risk of primary lung cancer. *Mol Carcinog* 2006; 45: 239-249 [PMID: 16385589 DOI: 10.1002/mc.20171]
- 9 Hall J, Hashibe M, Boffetta P, Gaborieau V, Moullan N, Chabrier A, Zaridze D, Shangina O, Szeszenia-Dabrowska N, Mates D, Janout V, Fabiánová E, Holcatova I, Hung RJ, McKay J, Canzian F, Brennan P. The association of sequence variants in DNA repair and cell cycle genes with cancers of the upper aerodigestive tract. *Carcinogenesis* 2007; 28: 665-671 [PMID: 17040931 DOI: 10.1093/carcin/bgl160]
- 10 吴力娟, 王发亮, 薄爱华, 吴迎爽, 周宁, 朱玉平. O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶在大肠癌中表达及意义. *现代肿瘤医学杂志* 2008; 16: 396-397
- 11 薄爱华, 邢立强, 卢广平, 孙素梅. 修复酶(MGMT)在人胃肠癌中表达的临床意义. *中国组织化学与细胞化学杂志* 2006; 15: 284-287
- 12 Ishikawa T, Zhang SS, Qin X, Takahashi Y, Oda H, Nakatsuru Y, Ide F. DNA repair and cancer: lessons from mutant mouse models. *Cancer Sci* 2004; 95: 112-117 [PMID: 14965359 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2004.tb03190.x]
- 13 Preuss I, Eberhagen I, Haas S, Eibl RH, Kaufmann M, von Minckwitz G, Kaina B. O6-methylguanine-DNA methyltransferase activity in breast and brain tumors. *Int J Cancer* 1995; 61: 321-326 [PMID: 7729942]
- 14 谭纪伏, 孙茂民, 夏春林. 乳腺癌组织中O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶的表达. *中国工业医学杂志* 2005; 18: 296-297
- 15 邱雪杉, 徐德祥, 单彬, 代葳. 肿瘤研究新视点-MGMT. *辽宁大学学报* 2001; 28: 279-283
- 16 何绍亚, 韩盛玺. MGMT在肿瘤发生中作用的研究进展. *西部医学* 2009; 21: 1215-1215
- 17 肖家雯, 孙素华. MGMT在胃癌中的研究进展. *中国医学创新* 2010; 7: 180-181
- 18 Kokkinakis DM, Ahmed MM, Delgado R, Fruitwala MM, Mohiuddin M, Albores-Saavedra J. Role of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in the resistance of pancreatic tumors to DNA alkylating agents. *Cancer Res* 1997; 57: 5360-5368 [PMID: 9393761]
- 19 Vielhauer V, Sarafoff M, Gais P, Rabes HM. Cell type-specific induction of O6-alkylguanine-DNA alkyltransferase mRNA expression in rat liver during regeneration, inflammation and preneoplasia. *J Cancer Res Clin Oncol* 2001; 127: 591-602 [PMID: 11599795]
- 20 杨军, 陈建民, 章扬培. O6-甲基鸟嘌呤-DNA-甲基转移酶基因表达提高肿瘤细胞的烷化抗性. *科学通报* 1996; 22: 253
- 21 Palmisano WA, Divine KK, Saccomanno G, Gilliland FD, Baylin SB, Herman JG, Belinsky SA. Predicting lung cancer by detecting aberrant promoter methylation in sputum. *Cancer Res* 2000; 60: 5954-5958 [PMID: 11085511]
- 22 Minoo P. Toward a Molecular Classification of Colorectal Cancer: The Role of MGMT. *Front Oncol* 2013; 3: 266 [PMID: 24151575 DOI: 10.3389/fonc.2013.00266]
- 23 Cankovic M, Nikiforova MN, Snuderl M, Adesina AM, Lindeman N, Wen PY, Lee EQ. The role of MGMT testing in clinical practice: a report of the association for molecular pathology. *J Mol Diagn* 2013; 15: 539-555 [PMID: 23871769]
- 24 Esteller M, Toyota M, Sanchez-Cespedes M, Capella G, Peinado MA, Watkins DN, Issa JP, Sidransky D, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is associated with G to A mutations in K-ras in colorectal tumorigenesis. *Cancer Res* 2000; 60: 2368-2371 [PMID: 10811111]
- 25 Jass JR, Baker K, Zlobec I, Higuchi T, Barker M, Buchanan D, Young J. Advanced colorectal polyps with the molecular and morphological features of serrated polyps and adenomas: concept of a 'fusion' pathway to colorectal cancer. *Histopathology* 2006; 49: 121-131 [PMID: 16879389 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2006.02466.x]
- 26 Maltzman T, Knoll K, Martinez ME, Byers T, Stevens BR, Marshall JR, Reid ME, Einspahr J, Hart N, Bhattacharyya AK, Kramer CB, Sampliner R, Alberts DS, Ahnen DJ. Ki-ras proto-oncogene mutations in sporadic colorectal adenomas: relationship to histologic and clinical characteristics. *Gastroenterology* 2001; 121: 302-309 [PMID: 11487539 DOI: 10.1053/gast.2001.26278]
- 27 Bhalla A, Zulfiqar M, Weindel M, Shidham VB. Molecular diagnostics in colorectal carcinoma. *Clin Lab Med* 2013; 33: 835-859 [PMID: 24267189 DOI: 10.1016/j.cllm.2013.05.001]

- 10.1016/j.cll.2013.10.001]
- 28 Weisenberger DJ, Siegmund KD, Campan M, Young J, Long TI, Faasse MA, Kang GH, Widschwendter M, Weener D, Buchanan D, Koh H, Simms L, Barker M, Leggett B, Levine J, Kim M, French AJ, Thibodeau SN, Jass J, Haile R, Laird PW. CpG island methylator phenotype underlies sporadic microsatellite instability and is tightly associated with BRAF mutation in colorectal cancer. *Nat Genet* 2006; 38: 787-793 [PMID: 16804544 DOI: 10.1038/ng1834]
  - 29 Kim KM, Lee EJ, Ha S, Kang SY, Jang KT, Park CK, Kim JY, Kim YH, Chang DK, Odze RD. Molecular features of colorectal hyperplastic polyps and sessile serrated adenoma/polyps from Korea. *Am J Surg Pathol* 2011; 35: 1274-1286 [PMID: 21836485 DOI: 10.1097/PAS.0b013e318224cd2e]
  - 30 Worthley DL, Whitehall VL, Buttenshaw RL, Irahara N, Greco SA, Ramsnes I, Mallitt KA, Le Leu RK, Winter J, Hu Y, Ogino S, Young GP, Leggett BA. DNA methylation within the normal colorectal mucosa is associated with pathway-specific predisposition to cancer. *Oncogene* 2010; 29: 1653-1662 [PMID: 19966864 DOI: 10.1038/ncr.2009.449]
  - 31 Svrcek M, Buhard O, Colas C, Coulet F, Dumont S, Massaoudi I, Lamri A, Hamelin R, Cosnes J, Oliveira C, Seruca R, Gaub MP, Legrain M, Collura A, Lascols O, Turet E, Fléjou JF, Duval A. Methylation tolerance due to an O<sup>6</sup>-methylguanine DNA methyltransferase (MGMT) field defect in the colonic mucosa: an initiating step in the development of mismatch repair-deficient colorectal cancers. *Gut* 2010; 59: 1516-1526 [PMID: 20947886 DOI: 10.1136/gut.2009.194787]
  - 32 Buccoliero AM, Castiglione F, Rossi Degl'Innocenti D, Paglierani M, Maio V, Gheri CF, Garbini F, Moncini D, Taddei A, Sardi I, Sanzo M, Giordano F, Mussa F, Genitori L, Taddei GL. O<sup>6</sup>-Methylguanine-DNA-methyltransferase in recurring anaplastic ependymomas: PCR and immunohistochemistry. *J Chemother* 2008; 20: 263-268 [PMID: 18467255]
  - 33 Hawkins NJ, Lee JH, Wong JJ, Kwok CT, Ward RL, Hitchins MP. MGMT methylation is associated primarily with the germline C&gt;T SNP (rs16906252) in colorectal cancer and normal colonic mucosa. *Mod Pathol* 2009; 22: 1588-1599 [PMID: 19734844 DOI: 10.1038/modpathol.2009.130]
  - 34 Khatami F, Noorinayer B, Mohebi SR, Ghiasi S, Mohebi R, Hashemi M, Zali MR. Effects of amino acid substitution polymorphisms of two DNA methyltransferases on susceptibility to sporadic colorectal cancer. *Asian Pac J Cancer Prev* 2009; 10: 1183-1188 [PMID: 20192566]
  - 35 O'Brien MJ, Yang S, Clebanoff JL, Mulcahy E, Farfay FA, Amoroso M, Swan N. Hyperplastic (serrated) polyps of the colorectum: relationship of CpG island methylator phenotype and K-ras mutation to location and histologic subtype. *Am J Surg Pathol* 2004; 28: 423-434 [PMID: 15087661 DOI: 10.1097/0000478-200404000-00001]
  - 36 Everhard S, Tost J, El Abdalaoui H, Crinière E, Busato F, Marie Y, Gut IG, Sanson M, Mokhtari K, Laigle-Donadey F, Hoang-Xuan K, Delattre JY, Thillet J. Identification of regions correlating MGMT promoter methylation and gene expression in glioblastomas. *Neuro Oncol* 2009; 11: 348-356 [PMID: 19224763 DOI: 10.1215/15228517-2009-001]
  - 37 Ogino S, Hazra A, Tranah GJ, Kirkner GJ, Kawasaki T, Nosho K, Ohnishi M, Suemoto Y, Meyerhardt JA, Hunter DJ, Fuchs CS. MGMT germline polymorphism is associated with somatic MGMT promoter methylation and gene silencing in colorectal cancer. *Carcinogenesis* 2007; 28: 1985-1990 [PMID: 17621591 DOI: 10.1093/carcin/bgm160]
  - 38 Gerson SL. MGMT: its role in cancer aetiology and cancer therapeutics. *Nat Rev Cancer* 2004; 4: 296-307 [PMID: 15057289 DOI: 10.1038/nrc1319]
  - 39 Nakamura M, Watanabe T, Yonekawa Y, Kleihues P, Ohgaki H. Promoter methylation of the DNA repair gene MGMT in astrocytomas is frequently associated with G>C>A: T mutations of the TP53 tumor suppressor gene. *Carcinogenesis* 2001; 22: 1715-1719 [PMID: 11577014 DOI: 10.1093/carcin/22.10.1715]
  - 40 Esteller M, Hamilton SR, Burger PC, Baylin SB, Herman JG. Inactivation of the DNA repair gene O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter hypermethylation is a common event in primary human neoplasia. *Cancer Res* 1999; 59: 793-797 [PMID: 10029064]
  - 41 Shen L, Kondo Y, Rosner GL, Xiao L, Hernandez NS, Vilaythong J, Houlihan PS, Krouse RS, Prasad AR, Einspahr JG, Buckmeier J, Alberts DS, Hamilton SR, Issa JP. MGMT promoter methylation and field defect in sporadic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1330-1338 [PMID: 16174854 DOI: 10.1093/jnci/dji275]
  - 42 Tournier B, Chapusot C, Courcet E, Martin L, Lepage C, Faivre J, Piard F. Why do results conflict regarding the prognostic value of the methylation status in colon cancers? The role of the preservation method. *BMC Cancer* 2012; 12: 12 [PMID: 22243995 DOI: 10.1186/1471-2407-12-12]
  - 43 Quillien V, Lavenue A, Karayan-Tapon L, Carpentier C, Labussière M, Lesimple T, Chinot O, Wager M, Honnorat J, Saikali S, Fina F, Sanson M, Figarella-Branger D. Comparative assessment of 5 methods (methylation-specific polymerase chain reaction, MethyLight, pyrosequencing, methylation-sensitive high-resolution melting, and immunohistochemistry) to analyze O<sup>6</sup>-methylguanine-DNA-methyltransferase in a series of 100 glioblastoma patients. *Cancer* 2012; 118: 4201-4211 [PMID: 22294349 DOI: 10.1002/cncr.27392]
  - 44 Jiang G, Wei ZP, Pei DS, Xin Y, Liu YQ, Zheng JN. A novel approach to overcome temozolomide resistance in glioma and melanoma: Inactivation of MGMT by gene therapy. *Biochem Biophys Res Commun* 2011; 406: 311-314 [PMID: 21329652 DOI: 10.1016/j.bbrc.2011.02.042]
  - 45 Lotfi M, Afsharnezhad S, Raziee HR, Ghaffarzadegan K, Sharif S, Shamsara J, Lary S, Behravan J. Immunohistochemical assessment of MGMT expression and p53 mutation in glioblastoma multiforme. *Tumori* 2011; 97: 104-108 [PMID: 21528672]
  - 46 Stupp R, Hegi ME, Mason WP, van den Bent MJ, Taphoorn MJ, Janzer RC, Ludwin SK, Allgeier A, Fisher B, Belanger K, Hau P, Brandes AA, Gijtenbeek J, Marosi C, Vecht CJ, Mokhtari K, Wesseling P, Villa S, Eisenhauer E, Gorlia T, Weller M, Lacombe D, Cairncross JG, Mirmanoff RO. Effects of radiotherapy with concomitant and adjuvant temozolomide versus radiotherapy alone on survival in glioblastoma in a randomised phase III study: 5-year analysis of the EORTC-NCIC trial. *Lancet Oncol* 2009; 10: 459-466 [PMID: 19269895 DOI: 10.1016/

**■应用要点**  
探索MGMT基因与结直肠癌的发生、发展的关系以及MGMT在肿瘤发生、发展中的表达调控机制,对于结直肠癌的早期诊断、评估肿瘤的危险性、改进化疗方案等方面均具有重要的意义。



## ■同行评价

本文研究的内容重要,具有一定新颖性,具有一定指导意义.

- 47 Nagasaka T, Sharp GB, Notohara K, Kambara T, Sasamoto H, Isozaki H, MacPhee DG, Jass JR, Tanaka N, Matsubara N. Hypermethylation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter may predict nonrecurrence after chemotherapy in colorectal cancer cases. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5306-5312 [PMID: 14614014]
- 48 Amatu A, Sartore-Bianchi A, Moutinho C, Belotti A, Bencardino K, Chirico G, Cassingena A, Rusconi F, Esposito A, Nichelatti M, Esteller M, Siena S. Promoter CpG island hypermethylation of the DNA repair enzyme MGMT predicts clinical response to dacarbazine in a phase II study for metastatic colorectal cancer. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 2265-2272 [PMID: 23422094 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-3518]
- 49 Shacham-Shmueli E, Beny A, Geva R, Blachar A, Figer A, Aderka D. Response to temozolomide in patients with metastatic colorectal cancer with loss of MGMT expression: a new approach in the era of personalized medicine? *J Clin Oncol* 2011; 29: e262-e265 [PMID: 21220612 DOI: 10.1200/JCO.2010.32.0242]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 抑癌基因甲基化与结直肠癌临床关系的研究进展

柴秀坤, 剧宏燕, 白文元

柴秀坤, 剧宏燕, 白文元, 河北医科大学第二医院消化内科  
河北省石家庄市 050000

作者贡献分布: 本文综述由柴秀坤与剧宏燕完成; 白文元审校。

通讯作者: 白文元, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市新华区  
和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科. sjzbwy@163.com  
电话: 0311-66002954

收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-01-22

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-18

## Relationship between methylation of tumor suppressor genes and colorectal cancer

Xiu-Kun Chai, Hong-Yan Ju, Wen-Yuan Bai

Xiu-Kun Chai, Hong-Yan Ju, Wen-Yuan Bai, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China  
Correspondence to: Wen-Yuan Bai, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Xinhua District, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. sjzbwy@163.com

Received: 2014-01-08 Revised: 2014-1-22

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-18

## Abstract

Colorectal cancer is ranked third both in incidence and mortality rate among malignant tumor diseases worldwide, posing a serious threat to human health. The improvement of people's living standards and changes in dietary habits and structure have led to a rapid increase in the incidence and mortality rate of colorectal cancer. The methylation of tumor suppressor genes (TSGs) participates in the genesis and progression of colorectal cancer and has become a hotspot in colorectal cancer research in recent years. Elucidation of the clinical significance of methylation of TSG can be helpful in the early screening and diagnosis, recurrence and metastasis monitoring, effective treatment, and evaluation of prognosis of this malignancy. This article reviews the recent progress in understanding the relationship between TSG methylation and colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Tumor suppressor genes; Methylation; Colorectal cancer; CIMP; Clinical significance

Chai XK, Ju HY, Bai WY. Relationship between methylation of tumor suppressor genes and colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1087-1092 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1087.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1087>

## 摘要

结直肠癌(colorectal cancer, CRC), 也称大肠癌是世界上发病率和死亡率均排第3位的恶性肿瘤性疾病, 严重威胁着人类健康。随着人们生活水平的提高, 饮食习惯和结构的改变, 其发病率和死亡率增长迅速。近年来抑癌基因异常甲基化成为CRC的研究热点, 他参与了肿瘤的发生、发展全过程。抑癌基因甲基化可广泛应用于CRC早期筛查和诊断、有效治疗、监测复发和转移及预后评估等, 与CRC临床关系密切。本文主要从抑癌基因甲基化与CRC临床关系及其临床意义方面的研究进展做一简要综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 抑癌基因; 甲基化; 结直肠癌; CIMP; 临床意义

**核心提示:** 大肠癌(colorectal cancer, CRC)发病率和死亡率很高。抑癌基因异常甲基化参与了CRC的发生、发展全过程。对抑癌基因甲基化在CRC临床早期筛查和诊断、有效治疗、监测复发和转移及预后评估等方面的深入研究, 可降低CRC发病率和死亡率。

柴秀坤, 剧宏燕, 白文元. 抑癌基因甲基化与结直肠癌临床关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(8): 1087-1092  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1087.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1087>

## 0 引言

结直肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 其发病率和死亡率在世界恶性肿瘤中均排第3位<sup>[1]</sup>, 在我国恶性肿瘤性疾病中发病率排第3位, 死亡

## ■背景资料

结直肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一, 发病率和死亡率很高, 抑癌基因异常甲基化与大肠癌密切相关, 贯穿于肿瘤发生发展的整个过程。抑癌基因甲基化可广泛应用于大肠癌早期筛查和诊断、有效治疗、监测复发和转移及预后评估等, 可降低发病率和死亡率。

## ■同行评议者

王阔, 教授, 中国人民解放军第三军医大学第三附属医院

## ■ 研发前沿

本文重点阐述抑癌基因甲基化、甲基子表型等在大肠癌筛查、早期诊断、治疗,以及病情监测、预后判断中的重要作用。同时提出甲基化致肿瘤的机制、优化甲基化检测方法、针对特定基因研究定点的去甲基化以实现肿瘤治疗的个体化、确定能监测病情或判断预后的特定的基因甲基化等问题亟待研究。

率第5位<sup>[2]</sup>,并且发病率和死亡率在迅速增长。结直肠癌变是一个涉及原癌基因激活、抑癌基因失活等多基因、多阶段、多步骤的复杂的积累过程。研究发现抑癌基因异常甲基化与大肠癌密切相关,可以导致基因表达沉默,引起结直肠癌的形成、免疫潜逃与转移,即甲基化贯穿于肿瘤发生发展的整个过程<sup>[3]</sup>。基因甲基化状态与疾病进展、肿瘤大小和恶性程度及转移都有着密切的关系。因此,抑癌基因异常甲基化与结直肠癌临床关系的深入研究,对结直肠癌早期筛查及诊断、治疗、监测复发和转移、判断预后等具有重要意义<sup>[4]</sup>。

## 1 DNA甲基化概念

DNA甲基化是目前研究最多最清楚的一种原核和真核生物普遍存在的表观遗传学调控机制,由DNA甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)介导,在胞嘧啶的第5位碳原子上加上一甲基基团,使之变成5-甲基胞嘧啶(5-mC)的化学修饰过程<sup>[5]</sup>。DNA甲基化修饰所起的生物学效应是使基因长期处于沉默状态。由基因甲基化导致的遗传改变具有可逆性<sup>[6]</sup>。哺乳动物DNMT成员有3类(5种),分别是DNMT1、DNMT2和DNMT3(DNMT3a、DNMT3b和DNMT3L)<sup>[7]</sup>,DNMT3参与从头甲基化,催化新的甲基化位点形成,DNMT1促进子链DNA半甲基化位点甲基化,维持复制过程中甲基化位点的遗传稳定性<sup>[8]</sup>,DNMT2作用尚不明确。

## 2 抑癌基因甲基化与肿瘤关系

肿瘤形成是一个多因素作用,涉及多基因、多阶段的过程,其中癌基因激活和抑癌基因失活与肿瘤发生发展密切相关<sup>[9]</sup>。DNA异常甲基化已被证明在多种人类癌症的发生发展中发挥着重要作用。研究表明,全基因组的低甲基化可导致癌基因活化<sup>[10]</sup>,抑癌基因局部区域(CpG岛)高甲基化可导致基因表达失活<sup>[11]</sup>。两种甲基化状态均可导致肿瘤发生。近年来抑癌基因异常甲基化致基因表达失活成为肿瘤研究的热点。在真核生物体内抑癌基因异常甲基化大多发生在启动子区CpG岛,即人类基因组中碱基CG出现频率较高的区域,p代表磷酸二酯键。CpG序列在人类基因组中出现的频率约为10%,分为两大类,其中70%-80%是甲基化状态,称为甲基化的CpG序列,20%-30%为非甲基化状态,称为CpG岛<sup>[12]</sup>。健康个体抑癌基因CpG岛内CpG序列为非甲基化

状态,若发生异常甲基化,即高甲基化,就不能正常转录、翻译合成抑癌蛋白及发挥抑癌作用,细胞就有可能发生单克隆增生形成肿瘤。最早报道的发生高甲基化的抑癌基因是视网膜母细胞瘤(retinoblastoma, RB)。研究发现,DNA CpG岛高甲基化可能通过以下3个途径抑制转录引发肿瘤:DNA的胞嘧啶发生甲基化以后,会改变DNA空间构象,进而影响转录因子与DNA的结合;甲基化的DNA会与CpG结合蛋白(methyl-CpG binding proteins, MeCPs)结合,改变染色质的结构,以抑制基因转录;序列特异性甲基化连接蛋白与基因启动子区甲基化CpG岛结合,阻止转录因子与启动子区靶序列的结合,从而影响了基因的转录<sup>[13]</sup>。

## 3 CIMP与CRC

CpG岛甲基子表型(CpG island methylation phenotype, CIMP)是反映多个抑癌基因同时出现过甲基化的现象,是肿瘤中的一种高甲基化亚型,由Toyota在1999年研究结肠癌时提出。Toyota等<sup>[14]</sup>发现根据基因多个部位CpG岛的甲基化状态可把结肠癌分为CpG岛甲基化多见的高甲基化类型(CIMP<sup>+</sup>)和甲基化罕见的低甲基化类型(CIMP<sup>-</sup>)。文献中并没有明确指明多少基因同时甲基化才称高甲基化表型。许多研究以5个基因标记中至少有3个发生高甲基化(3/5)为阳性;也有将2/3、4/5或6/8作为标准。由于单个基因甲基化位点在肿瘤研究中的局限性,人们开始研究CIMP在临床筛查、诊断、治疗中的广泛应用价值<sup>[4]</sup>。Bae等<sup>[15,16]</sup>发现CIMP是直肠癌整体存活率和无病生存期的一个不良预后因素,CIMP<sup>+</sup>多与近端结肠癌、微卫星不稳定性、BRAF突变有关,并发现由癌前病变及锯齿状腺瘤转变的大肠癌CIMP阳性,普通腺瘤发展的大肠癌CIMP阴性。Kim等<sup>[17]</sup>联合检测CIMP和MLH1甲基化与CRC患者临床病理关系,发现CIMP-H合并MLH1非甲基化的亚型在男性、较大肿瘤组织、KRAS高突变、进展期肿瘤中多见。Jo等<sup>[18]</sup>研究发现,CIMP<sup>+</sup>(3个特定基因甲基化)增加了直肠癌远处转移的可能性。另外,人们发现基因甲基化存在肿瘤特异性。Paz等<sup>[19]</sup>研究了15种抑癌基因在12种肿瘤的70个细胞系中的甲基化情况,发现hMLH1、O<sup>6</sup>-MGMT启动子的高甲基化在CRC细胞系中可见,但在乳腺癌细胞系中hMLH1从不发生甲基化,仅O<sup>6</sup>-MGMT启动子出现高甲基化。在这基础上,同一类肿瘤用多个基



因的甲基化状态来标记, 构成了这一类肿瘤的甲基化图谱. 随着甲基化深入研究, 相信CRC特异性相关的CIMP甲基化谱, 会在临床上对CRC筛查及诊治中发挥重要作用<sup>[20]</sup>.

#### 4 抑癌基因甲基化与CRC临床病理关系

抑癌基因甲基化贯穿于大肠癌的发生发展全过程, 其可以影响细胞周期、DNA修复、致癌物质代谢、细胞与细胞之间相互作用、细胞凋亡、血管生成等<sup>[21]</sup>. 虽然目前甲基化致肿瘤的具体机制尚不明确, 但已有很多研究发现抑癌基因甲基化与CRC临床关系密切. Wani等<sup>[22]</sup>通过甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)对术中切除的CRC标本及临近正常组织检测p16甲基化情况, 发现前者明显高于后者(分别为66%和20%)并且与p16表达缺失明显相关, 表明p16异常甲基化可能是CRC发生机制. 许多研究发现在结肠正常组织及异常隐窝灶内可见MGMT部分甲基化, Minoo<sup>[23]</sup>研究发现40%CRC组织中出现MGMT异常高甲基化, 提示MGMT甲基化可能是CRC早期事件. Mirchev等<sup>[24]</sup>研究结肠癌及相应正常组织中hMLH1、p16INK、TIMP3及TPEF甲基化情况, 发现年长患者多出现hMLH1、p16INK高甲基化, 近端肿瘤多出现hMLH1、p16INK、TIMP3高甲基化, 肿瘤低分化与p16INK高甲基化相关, 大肠癌肝转移者TIMP3甲基化低于无肿瘤转移者. 以上研究说明基因甲基化与大肠癌发生发展、临床分期、肿瘤转移等相关, 可用于CRC早期筛查、治疗、监测复发及判断预后<sup>[25]</sup>.

#### 5 临床意义

5.1 早期筛查及诊断 研究表明, 早期的大肠癌可以治愈, 进展期则预后较差, CRC I 期患者5年生存率85%-90%, IV期则<5%<sup>[26]</sup>, 而我国1/3的患者确诊时已处于进展期. 为此, 早期发现CRC是降低其死亡率的关键. 粪便隐血试验(faecal occult blood test, FOBT)是目前应用最广泛的大肠癌的筛查方法, 然而其灵敏度及特异性并不高, 并且对早期CRC及癌前病变检出率很低. 结肠镜检查虽然有效但是其有创、花费高、前期大量肠道准备以及涉及患者隐私等限制了其作为筛查手段的广泛开展. 研究发现, 基因甲基化状态的改变往往是细胞癌变的早期事件, 而且随着表观遗传学理论和技术的发展, 基因甲基化标志物的检查应用于早期大肠癌的筛查显示出很

大潜力<sup>[27]</sup>. 肿瘤细胞可脱落至肠道或释放DNA到外周血, 可经PCR扩增检测. 已经证实血清和粪便样本DNA CpG岛甲基化可作为诊断CRC的一个有用的诊断标志物, 利用这些潜在标志靶点可以广泛的筛选CRC患者<sup>[28]</sup>. 《美国胃肠病学学会结直肠癌筛查指南》已经明确将粪便DNA甲基化作为推荐筛查方法<sup>[29]</sup>. Huang等<sup>[30]</sup>检测结直肠癌患者粪便标本, 发现分泌型卷曲相关蛋白2(SFRP2)超甲基化, 认为其可作为早期诊断结直肠癌的一种方法. 另外, 研究表明, 联合检测多基因甲基化, 即CIMP检测, 能有效提高检测的阳性率<sup>[31]</sup>. Kang等<sup>[32]</sup>检测69例CRC患者粪便中MAL、CDKN2A和MGMT甲基化率, 分别为78.3%、52.5%和55.1%, 联合检测三者甲基化率为92.8%, 灵敏度提高, 而FOBT检测阳性率仅为29.0%. 另外, DNA甲基化检测与DNA突变或FOBT联合, 用于CRC诊断, 其敏感性会显著增高. 基因甲基化检测具有早期、无创、快捷、灵敏度高等优点, 同时也存在过程复杂、费用昂贵、难以推广等缺点, 但相信随着诊断试剂和仪器的成本的降低, 实验方法的改进和普及, 基因甲基化检测将成为CRC早期筛查和诊断的广泛应用而有效的手段.

#### 5.2 治疗

5.2.1 甲基化抑制药物: DNA甲基化是在DNA甲基转移酶(DNMT)催化下完成的, 应用DNMT抑制剂抑制DNMT的活性后, 可以逆转DNA甲基化, 即去甲基化, 使因甲基化失活的抑癌基因活化<sup>[33]</sup>, 可阻止癌症进一步的发生发展, 甚至逆转或杀死肿瘤细胞. 目前5-氮杂-2-脱氧胞苷(5-aza-2-deoxycytidine, 5-aza-CdR, AZA, 地西他滨)是已进入临床试验阶段的最具有代表性DNMT抑制剂, 在2006年经美国FDA批准, 应用于多发性骨髓瘤及部分白血病的治疗<sup>[34]</sup>. Ren等<sup>[35]</sup>研究人结肠癌细胞HCT116裸鼠种植瘤模型在应用AZA后种植瘤生长情况、CDH13甲基化及表达情况, 发现给药组移植瘤体积明显小于对照组, 给药组同时伴有CDH13非甲基化及mRNA、蛋白的表达, 对照组则为甲基化和表达阴性, 揭示AZA能使甲基化的CDH13去甲基化, 并恢复表达, 这可能是抑制肿瘤生长的机制. 可见, DNMT抑制剂抑制用于肿瘤治疗方面具有很大潜力, 但目前存在以下问题: (1)甲基化酶存在3类, DNMT1、DNMT2和DNMT3, 在甲基化中所起作用不同, 而5-氮胞苷类不能针对某一甲基化酶或某一基因进行靶向治疗; (2)DNMT抑制剂应

#### ■ 相关报道

国内有研究在“结直肠癌的DNA甲基化研究进展”一文中介绍了表观遗传学、年龄相关性甲基化、甲基化与大肠癌发生发展的关系, 以及基因甲基化在早期诊断、疗效、预后评价中的应用, 强调甲基化研究对大肠癌临床诊疗的指导意义, 思路清晰实践性强.

## ■创新盘点

本文系统介绍了抑癌基因甲基化与大肠癌之间密切的临床关系,表现在早期筛查诊断、监测病情、治疗以及判断预后等方面,论述详细,应用性强。详细阐述了抑癌基因甲基化对大肠癌的临床意义的同时介绍国内外最新研究进展以及需要解决的问题,为创新之处。

用于临床因其涉及全基因组甲基化故而作用靶点分散,可造成全基因组低甲基化,给治疗带来较大不良反应;(3)目前DNMT抑制剂在肿瘤中的治疗除在血液疾病临床应用外,其他实体瘤的治疗大多处于实验阶段,还未设计开展专门针对结直肠癌的临床实验。但是随着药物设计不断改进,我们相信DNMT抑制剂有望成为结直肠癌治疗的一个新途径<sup>[36]</sup>。

**5.2.2 甲基化与基因治疗:**已经研究发现,抑癌基因可以由于发生甲基化导致失活,引起肿瘤发生发展。除应用DNA甲基转移酶抑制剂逆转甲基化治疗肿瘤外,我们还可以导入由于发生甲基化而失活的抑癌基因,治疗肿瘤。Grodén等<sup>[37]</sup>将APC基因分别导入转染3种不同的人大肠癌细胞株,结果发现这些细胞形态学发生变化,致瘤性下降。这种方法可部分逆转由于APC基因甲基化导致的表达缺失,抑制肿瘤细胞的生长。由此可见该方法或许可成为大肠癌基因治疗的新方法,激活因甲基化而失活的抑癌基因治疗癌症,但这种基因治疗方案尚处于理论研究和动物实验阶段,理论和技术上的一些难题仍使这种治疗方法应用于临床还有一段很长的距离。

**5.2.3 指导药物选择:**肿瘤细胞中某些DNA甲基化状态可能影响到肿瘤细胞对特定化疗药物的敏感性。Hasina等<sup>[38]</sup>研究发现MGMT甲基化的食管癌细胞株Kyse-140对替莫唑胺(temozolomide, TMZ)敏感,MGMT非甲基化者不敏感,并且对于MGMT高甲基化的细胞株Kyse-140移植瘤模型,TMZ能抑制超过60%肿瘤的生长。Miyoshi等<sup>[39]</sup>的研究提示RASSF基因甲基化的基因型对顺铂耐有很好的耐受性。这些研究为DNA甲基化异常作为临床化疗敏感性预测手段提供依据,我们可以将基因甲基化状态与药物敏感性相结合,指导药物选择,从而实现个体化治疗,有效治疗肿瘤。但是关于那些基因甲基化特异性地与药物敏感或耐药相关,有无其他影响因素等仍需进一步研究。

**5.2.4 监测转移、复发及判断预后:**近年来,尽管结直肠癌的死亡率有所下降,但将近50%的患者会发生局部复发或远处转移<sup>[27]</sup>。然而到目前为止,并没有明确的能够预测大肠癌术后患者存在肿瘤转移、复发风险的临床、病理或分子标志物<sup>[40]</sup>。研究发现,基因甲基化可应用于肿瘤转移及复发监测。Sanchez-Cespedes等<sup>[41]</sup>检测321例伴单一肝转移的大肠癌患者的外周淋巴结p16甲基化情况,结果显示:20%(16/80)存在启动子

区高甲基化。提示我们抑癌基因甲基化状态可作为肿瘤转移复发的指标。大肠癌的预后评估在临床治疗方法选择时发挥着关键作用。即使在根治术后,超过1/5患者因为大肠癌的高复发转移特性出现复发转移,生存率大大降低<sup>[42]</sup>。研究发现,抑癌基因甲基化状态与临床肿瘤分期相结合可用于判断患者的预后。Liang等<sup>[43]</sup>检测84例经手术切除的T3M0N0大肠癌标本p16甲基化情况,并追踪随访,发现p16甲基化者生存时间短和存活率均比非甲基化者差。Xing等<sup>[44]</sup>研究发现CDKN2A的高甲基化与淋巴管浸润、淋巴结转移密切相关。另外,抑癌基因甲基化与基因突变或微卫星不稳定性检测相结合可用于判断肿瘤复发与预后<sup>[45]</sup>。Kohonen-Corish<sup>[46]</sup>研究发现,CDKN2A异常甲基化联合KRAS高突变率预示复发和预后不良。然而不是所有CRC相关抑癌基因的甲基化均提示预后不良。Shima等<sup>[47]</sup>发现MGMT甲基化及表达缺失均与大肠癌预后无关,而Nagasaka等<sup>[48]</sup>及Hegi等<sup>[49]</sup>的研究却提示MGMT启动子区甲基化可能是某一类肿瘤患者预后良好的一个重要因素。可见特定的基因启动子区甲基化状态能否作为患者的预后评估指标尚不明确,我们还需要大规模的进一步研究,以确定特异性强的甲基化的基因作为评价CRC转移、复发及预后的分子标志物。

## 6 结论

抑癌基因甲基化致表达沉默贯穿于CRC发生发展的整个过程,与CRC临床关系密切,可应用于早期筛查和诊断,监测肿瘤复发、转移及判断预后。而且因为甲基化过程是可逆的,故其有望成为CRC治疗新靶点。但基因甲基化应用于临床仍存在以下问题:甲基化致肿瘤的机制尚不明确;需优化甲基化检测方法,使其广泛应用于临床早期筛查CRC;针对特定基因研究定点的去甲基化,开发特异性强、不良反应少的甲基化抑制剂,以实现肿瘤治疗的个体化;进一步深入研究以确定能预测CRC复发、转移并判断预后的特定的基因甲基化;CRC的CIMP甲基化图谱需要深入完善。相信基因甲基化技术和理论的进一步研究,必将为临床攻克大肠癌做出重要贡献。

## 7 参考文献

- 1 Ferlay J, Shin HR, Bray F, Forman D, Mathers C, Parkin DM. Estimates of worldwide burden of cancer in 2008: GLOBOCAN 2008. *Int J Cancer* 2010;

- 127: 2893-2917 [PMID: 21351269 DOI: 10.1002/ijc.25516]
- 2 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. *中国肿瘤* 2013; 22: 2-12
- 3 Silva TD, Vidigal VM, Felipe AV, DE Lima JM, Neto RA, Saad SS, Forones NM. DNA methylation as an epigenetic biomarker in colorectal cancer. *Oncol Lett* 2013; 6: 1687-1692 [PMID: 24260063]
- 4 Tokarz P, Blasiak J. [Role of DNA methylation in colorectal cancer]. *Postepy Biochem* 2013; 59: 267-279 [PMID: 24364209]
- 5 Bardhan K, Liu K. Epigenetics and colorectal cancer pathogenesis. *Cancers (Basel)* 2013; 5: 676-713 [PMID: 24216997 DOI: 10.3390/cancers5020676]
- 6 Lyko F, Brown R. DNA methyltransferase inhibitors and the development of epigenetic cancer therapies. *J Natl Cancer Inst* 2005; 97: 1498-1506 [PMID: 16234563]
- 7 Jin B, Robertson KD. DNA methyltransferases, DNA damage repair, and cancer. *Adv Exp Med Biol* 2013; 754: 3-29 [PMID: 22956494 DOI: 10.1007/978-1-4419-9967-2\_1]
- 8 Logan PC, Mitchell MD, Lobie PE. DNA methyltransferases and TETs in the regulation of differentiation and invasiveness of extra-villous trophoblasts. *Front Genet* 2013; 4: 265 [PMID: 24363660]
- 9 Grady WM, Carethers JM. Genomic and epigenetic instability in colorectal cancer pathogenesis. *Gastroenterology* 2008; 135: 1079-1099 [PMID: 18773902 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.07.076]
- 10 Zouridis H, Deng N, Ivanova T, Zhu Y, Wong B, Huang D, Wu YH, Wu Y, Tan IB, Liem N, Gopalakrishnan V, Luo Q, Wu J, Lee M, Yong WP, Goh LK, Teh BT, Rozen S, Tan P. Methylation subtypes and large-scale epigenetic alterations in gastric cancer. *Sci Transl Med* 2012; 4: 156ra140 [PMID: 23076357 DOI: 10.1126/scitranslmed.3004504]
- 11 Simmer F, Brinkman AB, Assenov Y, Matarese F, Kaan A, Sabatino L, Villanueva A, Huertas D, Esteller M, Lengauer T, Bock C, Colantuoni V, Altucci L, Stunnenberg HG. Comparative genome-wide DNA methylation analysis of colorectal tumor and matched normal tissues. *Epigenetics* 2012; 7: 1355-1367 [PMID: 23079744 DOI: 10.4161/epi.22562]
- 12 Esteller M, Herman JG. Cancer as an epigenetic disease: DNA methylation and chromatin alterations in human tumours. *J Pathol* 2002; 196: 1-7 [PMID: 11748635]
- 13 Mompalmer RL, Bovenzi V. DNA methylation and cancer. *J Cell Physiol* 2000; 183: 145-154 [PMID: 10737890]
- 14 Toyota M, Ahuja N, Ohe-Toyota M, Herman JG, Baylin SB, Issa JP. CpG island methylator phenotype in colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 8681-8686 [PMID: 10411935]
- 15 Bae JM, Kim JH, Cho NY, Kim TY, Kang GH. Prognostic implication of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancers depends on tumour location. *Br J Cancer* 2013; 109: 1004-1012 [PMID: 23900220 DOI: 10.1038/bjc.2013.430]
- 16 Bae JM, Kim JH, Kang GH. Epigenetic alterations in colorectal cancer: the CpG island methylator phenotype. *Histol Histopathol* 2013; 28: 585-595 [PMID: 23341177]
- 17 Kim JH, Rhee YY, Bae JM, Kwon HJ, Cho NY, Kim MJ, Kang GH. Subsets of microsatellite-unstable colorectal cancers exhibit discordance between the CpG island methylator phenotype and MLH1 methylation status. *Mod Pathol* 2013; 26: 1013-1022 [PMID: 23370766 DOI: 10.1038/modpathol.2012.241]
- 18 Jo P, Jung K, Grade M, Conradi LC, Wolff HA, Kitz J, Becker H, Rüschoff J, Hartmann A, Beissbarth T, Müller-Dornieden A, Ghadimi M, Schneider-Stock R, Gaedcke J. CpG island methylator phenotype infers a poor disease-free survival in locally advanced rectal cancer. *Surgery* 2012; 151: 564-570 [PMID: 22001634]
- 19 Paz MF, Fraga MF, Avila S, Guo M, Pollan M, Herman JG, Esteller M. A systematic profile of DNA methylation in human cancer cell lines. *Cancer Res* 2003; 63: 1114-1121 [PMID: 12615730]
- 20 Ashktorab H, Rahi H, Wansley D, Varma S, Shokrani B, Lee E, Daremipouran M, Laiyemo A, Goel A, Carethers JM, Brim H. Toward a comprehensive and systematic methylome signature in colorectal cancers. *Epigenetics* 2013; 8: 807-815 [PMID: 23975090 DOI: 10.4161/epi.25497]
- 21 Carmona FJ, Esteller M. Epigenomics of human colon cancer. *Mutat Res* 2010; 693: 53-60 [PMID: 20691710 DOI: 10.1016/j.mrfmmm.2010.07.007]
- 22 Wani HA, Beigh MA, Amin S, Bhat AA, Bhat S, Khan H, Mattoo AA, Showkat M, Masood A, Majid S. Methylation profile of promoter region of p16 gene in colorectal cancer patients of Kashmir valley. *J Biol Regul Homeost Agents* 2013; 27: 297-307 [PMID: 23830381]
- 23 Minoo P. Toward a Molecular Classification of Colorectal Cancer: The Role of MGMT. *Front Oncol* 2013; 3: 266 [PMID: 24151575]
- 24 Mirchev MB, Kahl P, Friedrichs N, Kotzev IA, Buettner R. DNA methylation in patients with colorectal cancer--correlation with some clinical and morphological features and with local tumour invasion. *Folia Med (Plovdiv)* 2010; 52: 22-30 [PMID: 20836393]
- 25 Draht MX, Riedl RR, Niessen H, Carvalho B, Meijer GA, Herman JG, van Engeland M, Melotte V, Smits KM. Promoter CpG island methylation markers in colorectal cancer: the road ahead. *Epigenomics* 2012; 4: 179-194 [PMID: 22449189]
- 26 Kim MS, Lee J, Sidransky D. DNA methylation markers in colorectal cancer. *Cancer Metastasis Rev* 2010; 29: 181-206 [PMID: 20135198 DOI: 10.1007/s10555-010-9207-6]
- 27 Rawson JB, Bapat B. Epigenetic biomarkers in colorectal cancer diagnostics. *Expert Rev Mol Diagn* 2012; 12: 499-509 [PMID: 22702366 DOI: 10.1586/erm.12.39]
- 28 Hong L, Ahuja N. DNA methylation biomarkers of stool and blood for early detection of colon cancer. *Genet Test Mol Biomarkers* 2013; 17: 401-406 [PMID: 23406208 DOI: 10.1089/gtmb.2012.0478]
- 29 Rex DK, Johnson DA, Anderson JC, Schoenfeld PS, Burke CA, Inadomi JM. American College of Gastroenterology guidelines for colorectal cancer screening 2009 [corrected]. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 739-750 [PMID: 19240699 DOI: 10.1038/ajg.2009.104]
- 30 Huang Z, Li L, Wang J. Hypermethylation of SFRP2 as a potential marker for stool-based detection of colorectal cancer and precancerous lesions. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 2287-2291 [PMID: 17410438]
- 31 Nowinski RC, Hays EF. Oncogenicity of AKR en-

## ■应用要点

本文章深刻阐述了抑癌基因甲基化对大肠癌的临床意义, 研究其在早期筛查诊断, 监测病情, 治疗以及判断预后中的应用进展以及存在问题。随着深入研究, 人们能够有效筛查并早期诊断大肠癌, 利用去甲基化有效治疗大肠癌, 并能有效监测病情判断预后。



## ■同行评价

本文条理清楚, 结构严谨, 内容深刻, 研究意义深远。

- 32 Kang YP, Cao FA, Chang WJ, Lou Z, Wang H, Wu LL, Fu CG, Cao GW. [Gene methylation in stool for the screening of colorectal cancer and pre-malignant lesions]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2011; 14: 52-56 [PMID: 21271382]
- 33 Flohr H, Breull W. Effect of etafenone on total and regional myocardial blood flow. *Arzneimittelforschung* 1975; 25: 1400-1403 [PMID: 23 DOI: 10.1053/j.seminhematol.2013.01.001]
- 34 Han H, Yang X, Pandiyan K, Liang G. Synergistic re-activation of epigenetically silenced genes by combinatorial inhibition of DNMTs and LSD1 in cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e75136 [PMID: 24040395 DOI: 10.1371/journal.pone.0075136]
- 35 Ren JZ, Huo JR. [5-aza-2'-deoxycytidine-induced inhibition of CDH13 expression and its inhibitory effect on methylation status in human colon cancer cells in vitro and on growth of xenograft in nude mice]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2012; 34: 6-10 [PMID: 22490847]
- 36 Jia Y, Guo M. Epigenetic changes in colorectal cancer. *Chin J Cancer* 2013; 32: 21-30 [PMID: 22059907 DOI: 10.5732/cjc.011.10245]
- 37 Groden J, Joslyn G, Samowitz W, Jones D, Bhattacharyya N, Spirio L, Thliveris A, Robertson M, Egan S, Meuth M. Response of colon cancer cell lines to the introduction of APC, a colon-specific tumor suppressor gene. *Cancer Res* 1995; 55: 1531-1539 [PMID: 7882361]
- 38 Hasina R, Surati M, Kawada I, Arif Q, Carey GB, Kanteti R, Husain AN, Ferguson MK, Vokes EE, Villafior VM, Salgia R. O-6-methylguanine-deoxyribonucleic acid methyltransferase methylation enhances response to temozolomide treatment in esophageal cancer. *J Carcinog* 2013; 12: 20 [PMID: 24319345 DOI: 10.4103/1477-3163.120632]
- 39 Koul S, McKiernan JM, Narayan G, Houldsworth J, Bacik J, Dobrzynski DL, Assaad AM, Mansukhani M, Reuter VE, Bosl GJ, Chaganti RS, Murty VV. Role of promoter hypermethylation in Cisplatin treatment response of male germ cell tumors. *Mol Cancer* 2004; 3: 16 [PMID: 15149548]
- 40 Pellegrini ML, Argibay P, Gómez DE. [Genetics and epigenetics of colorectal cancer]. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2011; 41: 247-261 [PMID: 22233005]
- 41 Sanchez-Cespedes M, Esteller M, Hibi K, Cope FO, Westra WH, Piantadosi S, Herman JG, Jen J, Sidransky D. Molecular detection of neoplastic cells in lymph nodes of metastatic colorectal cancer patients predicts recurrence. *Clin Cancer Res* 1999; 5: 2450-2454 [PMID: 10499618]
- 42 Siena S, Sartore-Bianchi A, Di Nicolantonio F, Balfour J, Bardelli A. Biomarkers predicting clinical outcome of epidermal growth factor receptor-targeted therapy in metastatic colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 2009; 101: 1308-1324 [PMID: 19738166 DOI: 10.1093/jnci/djp280]
- 43 Liang JT, Chang KJ, Chen JC, Lee CC, Cheng YM, Hsu HC, Wu MS, Wang SM, Lin JT, Cheng AL. Hypermethylation of the p16 gene in sporadic T3N0M0 stage colorectal cancers: association with DNA replication error and shorter survival. *Oncology* 1999; 57: 149-156 [PMID: 10461063]
- 44 Xing X, Cai W, Shi H, Wang Y, Li M, Jiao J, Chen M. The prognostic value of CDKN2A hypermethylation in colorectal cancer: a meta-analysis. *Br J Cancer* 2013; 108: 2542-2548 [PMID: 23703248 DOI: 10.1038/bjc.2013.251]
- 45 Dahlin AM, Palmqvist R, Henriksson ML, Jacobsson M, Eklöf V, Rutegård J, Oberg A, Van Guelpen BR. The role of the CpG island methylator phenotype in colorectal cancer prognosis depends on microsatellite instability screening status. *Clin Cancer Res* 2010; 16: 1845-1855 [PMID: 20197478 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-09-2594]
- 46 Kohonen-Corish MR, Tseung J, Chan C, Currey N, Dent OF, Clarke S, Bokey L, Chapuis PH. KRAS mutations and CDKN2A promoter methylation show an interactive adverse effect on survival and predict recurrence of rectal cancer. *Int J Cancer* 2013 Nov 21. [Epub ahead of print] [PMID: 24259266 DOI: 10.1002/ijc.28619]
- 47 Shima K, Morikawa T, Baba Y, Noshio K, Suzuki M, Yamauchi M, Hayashi M, Giovannucci E, Fuchs CS, Ogino S. MGMT promoter methylation, loss of expression and prognosis in 855 colorectal cancers. *Cancer Causes Control* 2011; 22: 301-309 [PMID: 21140203 DOI: 10.1007/s10552-010-9698-z]
- 48 Nagasaka T, Sharp GB, Notohara K, Kambara T, Sasamoto H, Isozaki H, MacPhee DG, Jass JR, Tanaka N, Matsubara N. Hypermethylation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter may predict nonrecurrence after chemotherapy in colorectal cancer cases. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5306-5312 [PMID: 14614014]
- 49 Hegi ME, Diserens AC, Godard S, Dietrich PY, Regli L, Ostermann S, Otten P, Van Melle G, de Tribolet N, Stupp R. Clinical trial substantiates the predictive value of O-6-methylguanine-DNA methyltransferase promoter methylation in glioblastoma patients treated with temozolomide. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 1871-1874 [PMID: 15041700]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# FK506、CsA致移植后糖尿病机制的异同及应对策略

李智涛, 黄汉飞, 曾 仲

李智涛, 黄汉飞, 曾仲, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心 云南省昆明市 650032

李智涛, 在读硕士, 主要从事肝脏缺血再灌注损伤与移植免疫的研究。

作者贡献分布: 本文综述由黄汉飞设计课题; 李智涛完成文献检索与写作; 曾仲审核。

通讯作者: 曾仲, 教授, 主任医师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心。

zzong@medmail.com.cn

电话: 0871-65324888-2438

收稿日期: 2013-12-02 修回日期: 2014-01-12

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Pathogenesis and management of FK506- and CsA-induced post-transplant diabetes mellitus: Similarities and differences

Zhi-Tao Li, Han-Fei Huang, Zhong Zeng

Zhi-Tao Li, Han-Fei Huang, Zhong Zeng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Correspondence to: Zhong Zeng, Professor, Chief Physician, Organ Transplantation Center, Kunming Municipal Hospital, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zzong@medmail.com.cn

Received: 2013-12-02 Revised: 2014-01-12

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

Tacrolimus (FK506) and cyclosporine (CsA) are clinically commonly used immunosuppressive agents, and both of them belong to calcineurin inhibitors. FK506 is more excellent in anti-rejection therapy. They are similar in pharmacological mechanism, but FK506 is more likely to induce post-transplant diabetes mellitus than CsA. This paper analyzes and compares the similarities and differences in the pathogenesis and management between FK506- and CsA-induced post-transplant diabetes mellitus.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Tacrolimus; FK506; Cyclosporine; CsA; Post-transplant diabetes mellitus; PTDM; Diabetes

mellitus

Li ZT, Huang HF, Zeng Z. Pathogenesis and management of FK506- and CsA-induced post-transplant diabetes mellitus: Similarities and differences. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1093-1100 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1093.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1093>

## 摘要

他克莫司(tacrolimus, FK506)和环孢素(cyclosporine, CsA)均为临床常用的免疫抑制剂,二者均属于钙调神经磷酸酶抑制剂(calcineurin inhibitor, CNI)。FK506抗排斥效果优异,虽然二者药理机制相似,但FK506较CsA更易导致移植术后糖尿病。本文分析比较二者致糖尿病机制异同与FK506、CsA引起移植术后糖尿病的应对策略。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 他克莫司; 环孢素; 移植术后糖尿病; 糖尿病

**核心提示:** 钙调磷酸酶(calcineurin, CaN)受抑制是钙调神经磷酸酶抑制剂(calcineurin inhibitor)致糖尿病的主要原因。他克莫司(tacrolimus, FK506)对CaN的抑制能力强于环孢素(cyclosporine, CsA)及FKBP12.6分布的β细胞富集性是造成FK506致移植术后糖尿病(post transplantation diabetes mellitus)风险高于CsA的主要原因。

李智涛, 黄汉飞, 曾仲. FK506、CsA致移植后糖尿病机制的异同及应对策略. *世界华人消化杂志* 2014; 22(8): 1093-1100 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1093.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1093>

## 0 引言

他克莫司(tacrolimus, FK506)、环孢素(cyclosporine A, CsA)同属钙调神经磷酸酶抑制剂(calcineurin inhibitor, CNI)类免疫抑制剂,通过与相应亲免蛋白结合形成免疫抑制剂-亲免蛋白复合物(immunosuppressant-immunophilin complexes, IP-IS)抑制钙调磷酸酶(calcineurin, CaN),从而抑

## ■背景资料

钙调磷酸酶抑制剂(calcineurin inhibitors, CNIs)是目前最常用的一类免疫抑制剂,主要包括他克莫司(tacrolimus, FK506)、环孢素(cyclosporine, CsA)、匹美莫司, FK506属于CsA继承者,免疫抑制效果约为CsA的100倍,但其致糖尿病风险约为CsA的5倍,而其中的原因尚无系统阐述。临床中遇到患者使用FK506后出现糖尿病该如何调整免疫抑制方案缺乏理论指导。

## ■同行评议者

宁钧宇, 副研究员, 北京市疾病预防控制中心卫生毒理所

## ■研发前沿

他克莫司结合蛋白(FK binding protein 12.6 kDa, FKBP12.6)到底对胰岛素的分泌合成有什么影响亟待进一步研究,他克莫司(tacrolimus, FK506)与FKBP12.6、兰尼碱受体之间又有何关系有待研究。

制T细胞活化及T细胞依赖的B细胞增殖,并可抑制白介素2(interleukin 2, IL-2)、IL-3、干扰素(interferon, IFN)分泌。FK506与CsA相比,免疫抑制效果更佳,同时具有肾毒性、血脂异常、高血压、牙龈增生、多毛症等不良反应发生率低的优势<sup>[1]</sup>,但大样本量临床对照试验<sup>[2,3]</sup>分析显示FK506致移植术后糖尿病(post transplantation diabetes mellitus, PTDM)的风险是CsA的5倍左右<sup>[1-3]</sup>。PTDM又叫新发糖尿病,是指移植前没有糖尿病的患者移植后出现持续性血糖升高并达到糖尿病诊断标准的病症。PTDM明显增加移植患者感染、心血管疾病、肾脏病变、视网膜病变的罹患风险,增加移植物失活率和患者死亡率。

### 1 FK506、CsA致PTDM的机制异同

FK506、CsA均通过抑制CaN发挥免疫抑制作用, CaN受抑制是二者致PTDM的主要原因,但具体作用机制存在一定差异性,现将二者致PTDM机制异同总结如下。

**1.1 TORC2去磷酸化受阻** 葡萄糖可刺激小肠内分泌细胞分泌肠源性胰高血糖素样肽-1(glucagon-like peptide-1, GLP-1), GLP-1受体属于G蛋白偶联受体, GLP-1作用于β细胞受体后通过cAMP-蛋白激酶A途径增加盐诱导激酶-2(salt inducible kinase 2, SIK2)磷酸化而抑制SIK2活性,因此SIK2对cAMP反应结合蛋白活性调节转导子(CREB-regulated transcription coactivator 2, TORC2)的磷酸化减少,去磷酸化的TORC2由胞浆转入胞核与cAMP反应结合蛋白(CAMP-response element binding protein, CREB)结合并发挥多种转录活性, TORC2除了受cAMP调节外,还受Ca<sup>2+</sup>调节。Ca<sup>2+</sup>通过活化胞浆内的CaN而促进TORC2的去磷酸化, CsA可以引起SIK2磷酸化减少而造成TORC2去磷酸化减少,从而阻断TORC2入核与CREB结合发挥转录活性。FK506可能也通过此机制影响TORC2<sup>[4]</sup>, TORC2是CaN的下游因子,故FK506和CsA均可通过CaN阻碍TORC2激活<sup>[5]</sup>。CREB是β细胞增殖、成熟分化、凋亡、胰岛素基因转录的重要调控因子<sup>[6]</sup>,过表达CREB或激活CREB可以明显增加β细胞胰岛素受体底物-2(insulin receptor substrate 2, IRS-2)表达, IRS-2是β细胞的重要抗凋亡、促繁殖因子<sup>[7]</sup>, CRTC2-CREB复合体是细胞能量代谢的重要调节因子, CNIs长期抑制CREB激活可导致cAMP抑制因子反馈性增加,从而减少胰岛素分泌<sup>[6]</sup>, GLP-1<sup>[8]</sup>类似物艾塞那肽(exendin4, exe-4)

可以激动GLP-1受体,增加β细胞分泌胰岛素,减少β细胞凋亡并促进其繁殖再生,从而改善CNIs引起的PTDM。维达列汀(vildagliptin)可以抑制GLP-1的水解而增强GLP-1的作用<sup>[9]</sup>,与exe-4均属于有效的新型口服辅助降糖药物。

**1.2 NFATc去磷酸化受阻** CaN激活后可促进胞浆中T细胞活化核因子(cytosolic nuclear factor of activated T cell, NFATc)去磷酸化,去磷酸化的NFATc由胞浆转入胞核与核内的T细胞活化核因子(nuclear factor of activated T cells nuclear, NFATn)结合组成具有功能的转录因子并结合启动子区域,这是T细胞激活的关键环节, NFATc可影响多种下游基因的转录,白介素-2<sup>[11]</sup>、如增加细胞周期蛋白D1、周期蛋白D2(cyclinD1, D2)<sup>[10]</sup>、肝细胞核因子(hepatic nuclear factor, HNF)<sup>[1,11]</sup>、IRS-2<sup>[12,13]</sup>、胰岛素基因<sup>[14,15]</sup>等的表达。cyclin D1、cyclinD2、IRS-2、HNF均是β细胞增殖与存活的促进因子,2型糖尿病鼠的HNF表达水平低于正常鼠, HNF基因突变是青少年成年发病型糖尿病的特点之一<sup>[11,16]</sup>,过表达IRS-2可以增加β细胞繁殖<sup>[17]</sup>, NFATc还可以增加骨骼肌慢纤维的表达,慢纤维富含线粒体,对胰岛素刺激葡萄糖摄取较敏感,对提高机体胰岛素敏感性具有重要意义<sup>[7]</sup>。NFATc直接可以结合胰岛素基因启动子促进胰岛素mRNA转录<sup>[15]</sup>。CaN是TORC2、NFATc的上游调控因子,而FK506、CsA分别与亲免蛋白FKBP12.6(FK binding protein 12.6, FKBP12.6)、亲环蛋白(cyclophilin, Cyp)结合形成IP-IS而抑制CaN,进而抑制TORC2、NFATc的去磷酸化激活。FKBP12.6具有β细胞富集性,加之FK506抑制CaN能力强于CsA<sup>[18,19]</sup>,故而FK506对β细胞的CaN抑制较其他细胞严重。Cyp则在心肌、肝、肾组织相对富集,这可能就是FK506致PTDM风险高于CsA的重要原因。

**1.3 损害β细胞与促凋亡** Drachenberg<sup>[20]</sup>对服用CsA或FK506胰腺移植患者行胰腺组织针吸活检,发现大量β细胞凋亡。CsA、FK506使用剂量与β细胞损害严重程度呈正相关,且FK506较CsA严重。FK506、CsA造成β细胞凋亡共同机制:(1)NFATc<sup>[13,15]</sup>、TORC2<sup>[4,6]</sup>的去磷酸受阻;(2)增加Caspase3<sup>[21]</sup>和Bcl/Bax活性<sup>[22]</sup>;(3)FK506和CsA抑制CaN而导致双亮氨酸拉链激酶过度激活,导致β细胞凋亡<sup>[23]</sup>;(4)CaN受抑制后增加细胞内质网应激而导致β细胞凋亡<sup>[24]</sup>;(5)CaN受抑制后减少了蛋白激酶B(protein kinase B, 也



叫Akt)的磷酸化,从而抑制PI3K/Akt途径(phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway, PI3K/Akt), PI3K/Akt通路对 $\beta$ 细胞增殖与存活具有促进作用<sup>[7]</sup>;此外FK506可促进线粒体释放促凋亡蛋白Smac<sup>[25]</sup>, CsA通过上调 $\beta$ 细胞固醇受体结合蛋白SREBP-1c<sup>[22]</sup>增加 $\beta$ 细胞凋亡。不过CsA也有抗凋亡的一面, CsA可以作用于线粒体膜通道的CypD蛋白(cyclophilin D, CypD),维持线粒体跨膜电压稳定,减少 $\beta$ 细胞凋亡<sup>[26]</sup>, CsA与FK506均能以多种途径导致 $\beta$ 细胞凋亡,总的来说FK506更易导致 $\beta$ 细胞凋亡,这可能与CaN是 $\beta$ 细胞凋亡重要上游调控因子有关, CsA的抗凋亡作用可能也起到一定作用。最近研究表明,  $\beta$ 细胞可以通过旁分泌胰岛素促进邻近 $\beta$ 细胞增殖并减少凋亡,而FK506抑制 $\beta$ 细胞分泌胰岛素作用强于CsA,这可能也是FK506较CsA更易导致 $\beta$ 细胞凋亡的机制之一<sup>[27]</sup>, 罗格列酮<sup>[28]</sup>、exe-4<sup>[8]</sup>均可通过抗凋亡作用改善CsA和FK506导致的PTDM。体外实验证实 $\beta$ 细胞导入抗凋亡基因*XIAP*<sup>[24]</sup>、抑制Caspase3<sup>[29]</sup>可以减少 $\beta$ 细胞凋亡,增加胰岛素分泌,  $\gamma$ -氨基丁酸体外实验可以减少FK506导致的 $\beta$ 细胞凋亡,并增加胰岛素释放,目前尚未见体内实验报道,  $\gamma$ -氨基丁酸有望成为寻找治疗PTDM方法新的突破点<sup>[30]</sup>。

**1.4 减少胰岛素合成与分泌** 多个实验已证实CsA、FK506孵育 $\beta$ 后,胰岛素合成与分泌明显减少<sup>[5,21,22]</sup>, CNIs减少胰岛素合成主要在转录水平<sup>[31]</sup>, NFATc、TORC2均可影响胰岛素mRNA的表达<sup>[14,15]</sup>, FK506、CsA可以抑制 $\beta$ 细胞对胰岛素的分泌,且FK506抑制作用更强、起效作用更快, FK506孵育 $\beta$ 细胞早期即可出现胰岛素分泌减少,但此时 $\beta$ 细胞内的胰岛素颗粒储量并未减少, CsA孵育的细胞出现胰岛素分泌减少出现则相对滞后<sup>[21,22]</sup>。目前出现这一现象的原因尚无定论, FK506、CsA抑制胰岛素分泌可能与CaN、NFATc活性受抑制有关<sup>[22]</sup>, 敲除*CaN*基因或*NFAT*突变均导致 $\beta$ 细胞胰岛素分泌减少<sup>[15]</sup>。Ca<sup>2+</sup>信号是胰岛分泌的关键信号, FK506可以抑制 $\beta$ 细胞葡萄糖激酶(glucose kinase, Gck)而抑制 $\beta$ 细胞因葡萄糖刺激引起的胰岛素分泌(glucose stimulated insulin secretion, GSIS)<sup>[31]</sup>, 生理情况下,葡萄糖易化扩散入 $\beta$ 胞内,通过糖酵解产生ATP,胞浆[ATP]↑,进而引起K<sup>+</sup>-ATP通道关闭和细胞去极化,进一步引起胞膜L-Ca<sup>2+</sup>通道开放和Ca<sup>2+</sup>内流, Ca<sup>2+</sup>通过CaN-NFATc途径增加胰岛素合成与分泌,而Gck是糖酵解过程的限速酶, CsA

对Gck则无抑制作用。此外FK506可能还通过FKBP12.6影响GSIS, Noguchi等<sup>[32]</sup>研究指出 $\beta$ 细胞糖酵解产生ATP时,环腺苷二磷酸核糖(cyclic ADP-ribose, cADPR)浓度也同时增加, cADPR通过结合FKBP12.6并激活内质网的兰尼碱受体(ryanodine receptor, RyR),激活的RyR开放导致内质网Ca<sup>2+</sup>向胞浆释放,胞浆中Ca<sup>2+</sup>再通过激活CaN而增加胰岛素合成与分泌。FKBP12.6<sup>-/-</sup>小鼠表现出GSIS减弱,但Chen等<sup>[33]</sup>研究则发现, FKBP12.6<sup>-/-</sup>小鼠正常喂养时血清中胰岛素水平显著升高,饥饿时的胰岛素水平和野生型没有差别,也就是说FKBP12.6<sup>-/-</sup>鼠的GSIS作用增强,这前后两个研究似乎有些矛盾, FKBP12.6到底如何影响胰岛素合成分泌尚不清楚,造成上述矛盾结果可能与实验中小鼠遗传背景及基因敲出时抑制的外显子不同。而FK506、FKBP12.6、RyR之间如何互相影响也尚无研究阐述, Cyp对RyR则无影响, FK506还可以增加 $\beta$ 细胞的Rab27、GDH蛋白表达,二者均为胰岛素囊泡在胞浆的锚定蛋白,其表达增加可能将更多胰岛素囊泡滞留于胞内<sup>[34]</sup>,从而减少胰岛素分泌, CsA则无此作用,从胰岛素分泌时相影响看, CsA对第一、二时相的分泌均有影响,而FK506主要影响第二时相<sup>[35]</sup>。

**1.5 胰岛素抵抗** 临床上发现使用CNIs作为基础免疫抑制方案的移植患者血胰岛素水平明显升高<sup>[36]</sup>,这提示患者存在外周胰岛素抵抗。动物实验证实FK506、CsA均可增加胰岛素抵抗<sup>[5,37]</sup>, FK506较CsA更明显, CNIs引起胰岛素抵抗可能与CaN受抑制有关。敲除*CaN*基因后胰岛素抵抗明显增加<sup>[38]</sup>, IRS-2表达减少可能也是原因之一, *IRS-2*基因缺失除造成 $\beta$ 细胞增殖减少及大量死亡外<sup>[12]</sup>,骨骼肌慢纤维是重要的糖代谢场所, NFATc受抑制后其表达减少可能是造成胰岛素抵抗一大原因<sup>[7]</sup>。此外Shiraishi等<sup>[39]</sup>发现CsA、FK506可降低细胞膜表面的胰岛素受体(insulin receptor, IR)与胰岛素的结合能力,原因可能为FK506、CsA分别抑制了FKBP12.6和Cyp的顺反肽酰脯氨酸异构酶活性,从而减少IR分子成熟外化。此外CsA增加胰岛素抵抗因子SREBP-1c也是造成胰岛素抵抗的原因, FK506对SREBP-1c表达无影响<sup>[22]</sup>,但CNIs造成的胰岛素抵抗在PTDM发生中的意义并不大,大部分CNIs所致PTDM患者胰岛素治疗有效。

**1.6 抑制外周组织葡萄糖利用** Krentz等<sup>[40]</sup>研究CsA、FK506对肝移植患者糖代谢的影响时发

#### ■ 相关报道

本文从分子生物学角度深入总结FK506、CsA导致糖尿病的机制,并对比总结异同。并总结了使用二者出现糖尿病的应对策略。

## ■创新盘点

FK506致糖尿病风险高于CsA的主要原因因为FK506抑制钙调磷酸酶能力强于CsA、FK506亲免疫蛋白FKBP12.6具有β细胞聚集性,FKBP12.6、FK506、兰尼碱受体之间的关系可能与FK506致糖尿病有关,多个基因多态性与移植术后糖尿病发病风险有关。

现CsA、FK506治疗的患者空腹乳酸浓度较低,后来其他学者发现CsA能通过多种机制干扰能量代谢,如抑制丙酮酸脱氢酶复合体、丙酮酸脱羧酶活性,天门冬氨酸/苹果酸穿梭机制,引起细胞内高能磷酸键减少<sup>[41]</sup>。Rostambeigi等<sup>[34]</sup>发现FK506也明显减少细胞耗氧量、线粒体数量、高能磷酸键的合成水平,HNF是细胞能量代谢的重要调控因子,激活HNF或过表达HNF基因可以增加葡萄糖转运通道、丙酮酸盐激酶、醛缩酶等糖代谢、葡萄糖转运相关基因表达,而活化的NFATc可结合HNF的启动子调控其转录,CNIs抑制了NFATc的活化而减少HNF表达<sup>[11]</sup>。Razvan等<sup>[31]</sup>发现FK506能明显减少β细胞内Gck,但是FK506是否还影响其他细胞的Gck还有待研究。

1.7 β细胞自身抗体 Lohmann等<sup>[42]</sup>通过随机临床对照研究对比发现服用FK506、CsA的肝移植患者中,FK506组胰岛β细胞抗体性率更高,β细胞自身抗体损害β细胞,对PTDM发生可能起到促进作用<sup>[43]</sup>,但FK506通过何种机制增加β细胞自身免疫抗体原因未明。

1.8 造成胰腺微循环障碍 CsA可以引起肾脏微血管病变和微血栓<sup>[44]</sup>,微循环障碍学说认为CsA可增加胰腺血管血栓烷A2的释放和凝血活酶的生成,减少前列环素产生,诱发血栓形成,造成微循环障碍。临床实验证实山莨菪碱、丹参确实可以减轻CsA导致的PTDM<sup>[45]</sup>,微血栓是CsA较为少见的不良反应,FK506则更为罕见。

## 2 FK506、CsA致PTDM应对策略

使用以FK506、CsA为主要的免疫抑制方案出现PTDM应如何应对,现总结如下:

2.1 CNIs尽早减量 多个研究证实FK506剂量与致糖尿病性呈正相关,尤其是起始剂量<sup>[46-49]</sup>。体外实验证实FK506对胰岛β细胞毒性呈剂量相关性<sup>[18,21]</sup>,不同器官移植FK506用量不一样,总的来说,移植术后2 wk、2-4 wk、6 mo FK506的血药谷浓度理想范围分别为15-20、10-15、5-7 ng/mL,FK506的谷浓度与PTDM关联较强,FK506谷浓度>20 ng/mL时PTDM发生风险极高,<10 ng/mL风险较低<sup>[1]</sup>,Meta分析显示,以相对低剂量的FK506作为维持剂量,虽然一定程度增加排斥风险,但明显减低PTDM发生率,而且可以延长患者生存期和移植存活期<sup>[50]</sup>,而CsA也应在保证安全前提下尽早减量,但CsA最突出的不良反应是肾毒性,而非PTDM,CNIs+MMF+泼尼松

三联方案是CNIs在器官移植免疫抑制常用方案,适当增加MMF量、或引入IL-2拮抗剂,如巴利昔单抗、多利昔单抗有助三联方案中的CNIs减量<sup>[51,52]</sup>。

2.2 免疫抑制剂转换 哺乳动物类雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)抑制剂如西罗莫司(sirolimus, SRL)、依维莫司(everolimus)也是目前常用免疫抑制剂,二者致PTDM作用较CNIs弱,使用CNIs出现PTDM可转换为mTOR抑制剂。由于CNIs所致PTDM具有可逆性,转换后PTDM可获得明显改善,且排斥风险未见增加<sup>[53-55]</sup>。但国外有的中心报道FK506转换为SRL反而增加PTDM发生<sup>[56]</sup>,SRL目前多提倡单用,FK506治疗出现严重PTDM,并且胰岛素治疗无效,还可以考虑转换为CsA,多中心报道成功将FK506转换为CsA,并脱离胰岛素治疗<sup>[57-59]</sup>。不过CsA的免疫抑制效果不及FK506,CsA转换的安全性缺乏大样本调查支持,况且肾损害、高血压、血脂异常是CsA突出的不良反应。相比之下,FK506出现以上不良反应几率较小,PTDM相对肾损害较易控制,这也需要权衡利弊<sup>[60]</sup>。

2.3 加强免疫抑制剂血药浓度检测 如前所述,FK506的血药谷浓度与PTDM发生有很强关联性,由于FK506、CsA存在代谢个体差异、药物代谢间互相影响,同样的服药剂量个体间及同一个体不同时期血药浓度相差很大,故而有必要定期监测FK506血药谷浓度,动态调整药物剂量保持血药浓度在理想浓度,一般认为FK506谷浓度<10 ng/mL可明显减少PTDM风险<sup>[1]</sup>。CsA肾毒性相对突出,CsA剂量往往需要根据肾功能变化调整至理想血药浓度。

2.4 加强血糖监测,合理选择PTDM治疗方案,积极进行糖尿病健康教育 定期监测血糖,若患者出现PTDM或糖耐量异常,选择口服降糖药物或注射胰岛素治疗。美国移植协会推荐空腹血糖(fasting plasma glucose, FPG)在7-13 mmol/L可选口服降糖药物或注射胰岛素,罗格列酮可减少FK506、CsA导致的β细胞凋亡<sup>[28,61]</sup>,治疗PTDM效果确切。ex-4<sup>[8]</sup>、维达列汀<sup>[9]</sup>属于新型辅助降糖药物,对β细胞有一定保护作用,但是口服降糖药物可能干扰FK506和CsA代谢而影响血药浓度,合并肝肾功能不全者慎用口服降糖药物,注射胰岛素安全有效,可作为首选,FPG>13 mmol/L,不建议口服降糖药物<sup>[62,63]</sup>。同时应鼓励患者,让患者明白PTDM也可以像普通糖尿病通过药物、运动、饮食控制获得控制<sup>[64]</sup>。

2.5 加强术前风险筛查 术前充分评估识别PTDM危险因素, 如年龄、性别、种族、BMI、糖尿病家族史、HCV感染史等。对于PTDM高危患者, 免疫抑制方案应把抗排斥放在与预防PTDM同等地位, 如尽早转换为免CNIs免疫抑制方案、减少CNIs使用、减少激素用量<sup>[64]</sup>等。不过目前不主张移植后刚开始就用SRL替代FK506, 这样明显增加排斥风险及形成动脉血栓风险<sup>[51]</sup>。目前研究发现基因多态性与CNIs致PTDM风险有关, 如HNF、锌转运蛋白-8<sup>[65]</sup>、维生素D受体基因<sup>[16]</sup>、钙调蛋白-10<sup>[66]</sup>的基因多态性, 这有望成为PTDM风险筛查新手段。

2.6 通过新技术寻找突破 研发新型免疫抑制剂, 如开发选择性阻断T细胞NFATc去磷酸化的免疫抑制, 利用基因治疗技术增强胰岛素的合成和减少β细胞凋亡, 减轻胰岛素抵抗, 深入研究CNIs致PTDM机制, 寻找新的治疗靶点。

### 3 结论

CsA、FK506导致PTDM主要共同机制是CaN受抑制, CaN控制的下游因子很多, 而FK506不但对CaN抑制能力强于CsA, 且FKBP12.6具有β细胞富集性, 故FK506对β细胞内CaN抑制作用明显较CsA强, 这可能是二者致PTDM差异的主要原因。当然FK506在影响胰岛素合成分泌、β细胞凋亡、胰岛素抵抗、外周组织葡萄糖利用、微血栓形成方面还存其他与CsA不同的机制。

PTDM是CNIs的常见不良反应, FK506尤为明显, 但通过合理使用CNIs, 如尽早减量、保持合理血药浓度可明显减少PTDM发生风险。当出现PTDM可以转换为其他免CNIs免疫抑制方案或减少CNIs剂量, 同时还应通过合理选用降糖药物, 大部分PTDM患者血糖均可获得良好控制。随着医学技术不断进步, 相信不久将来会有更好免疫抑制剂从根本上杜绝PTDM发生。

### 4 参考文献

- 1 Prokai A, Fekete A, Pasti K, Rusai K, Banki NF, Reusz G, Szabo AJ. The importance of different immunosuppressive regimens in the development of posttransplant diabetes mellitus. *Pediatr Diabetes* 2012; 13: 81-91 [PMID: 21595806 DOI: 10.1111/j.1399-5448.2011.00782.x]
- 2 Haddad EM, McAlister VC, Renouf E, Malthaner R, Kjaer MS, Gluud LL. Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; (4): CD005161 [PMID: 17054241 DOI: 10.1002/14651858.CD005161.pub2]
- 3 Almeida CC, Silveira MR, de Araújo VE, de Lemos LL, de Oliveira Costa J, Reis CA, de Assis Acúrcio F,

- 4 Jansson D, Ng AC, Fu A, Depatie C, Al Azzabi M, Srean RA. Glucose controls CREB activity in islet cells via regulated phosphorylation of TORC2. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10161-10166 [PMID: 18626018 DOI: 10.1073/pnas.0800796105]
- 5 Niu YJ, Shen ZY, Xu C, Li CF, Liu XJ, Teng YQ, Chen H, Li L, Cheng HM, Yang XM, Mao S. Establishment of tacrolimus-induced diabetes in rat model and assessment of clinical treatments for post-transplant diabetes mellitus in liver transplant recipients. *Clin Lab* 2013; 59: 869-874 [PMID: 24133918]
- 6 Eberhard CE, Fu A, Reeks C, Srean RA. CRTC2 is required for β-cell function and proliferation. *Endocrinology* 2013; 154: 2308-2317 [PMID: 23677932 DOI: 10.1210/en.2012-2088]
- 7 Chakkeri HA, Mandarino LJ. Calcineurin inhibition and new-onset diabetes mellitus after transplantation. *Transplantation* 2013; 95: 647-652 [PMID: 23076551 DOI: 10.1097/TP.0b013e31826e592e]
- 8 Froud T, Faradji RN, Pileggi A, Messinger S, Baidal DA, Ponte GM, Cure PE, Monroy K, Mendez A, Selvaggi G, Ricordi C, Alejandro R. The use of xenotransplantation in islet transplant recipients with chronic allograft dysfunction: safety, efficacy, and metabolic effects. *Transplantation* 2008; 86: 36-45 [PMID: 18622276 DOI: 10.1097/TP.0b013e31817c4ab3]
- 9 Haidinger M, Werzowa J, Hecking M, Antlanger M, Stemer G, Pleiner J, Kopecky C, Kovarik JJ, Döller D, Pacini G, Säemann MD. Efficacy and safety of vildagliptin in new-onset diabetes after kidney transplantation—a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Am J Transplant* 2014; 14: 115-123 [PMID: 24279801 DOI: 10.1111/ajt.12518]
- 10 Kushner JA, Ciemerych MA, Sicinska E, Wartschow LM, Teta M, Long SY, Sicinski P, White MF. Cyclins D2 and D1 are essential for postnatal pancreatic beta-cell growth. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 3752-3762 [PMID: 15831479 DOI: 10.1128/mcb.25.9.3752-3762.2005]
- 11 Borlak J, Niehof M. HNF4α and HNF1α dysfunction as a molecular rationale for cyclosporine induced posttransplantation diabetes mellitus. *PLoS One* 2009; 4: e4662 [PMID: 19252740 DOI: 10.1371/journal.pone.0004662]
- 12 Demozay D, Tsunekawa S, Briaud I, Shah R, Rhodes CJ. Specific glucose-induced control of insulin receptor substrate-2 expression is mediated via Ca<sup>2+</sup>-dependent calcineurin/NFAT signaling in primary pancreatic islet β-cells. *Diabetes* 2011; 60: 2892-2902 [PMID: 21940781 DOI: 10.2337/db11-0341]
- 13 Soleimanpour SA, Crutchlow MF, Ferrari AM, Raum JC, Groff DN, Rankin MM, Liu C, De León DD, Naji A, Kushner JA, Stoffers DA. Calcineurin signaling regulates human islet {beta}-cell survival. *J Biol Chem* 2010; 285: 40050-40059 [PMID: 20943662 DOI: 10.1074/jbc.M110.154955]
- 14 Lawrence MC, Bhatt HS, Watterson JM, Easom RA. Regulation of insulin gene transcription by a Ca(2+)-responsive pathway involving calcineurin and nuclear factor of activated T cells. *Mol Endocrinol* 2001; 15: 1758-1767 [PMID: 11579208 DOI: 10.1210/mend.15.10.0702]

### ■应用要点

CNIs治疗出现移植术后糖尿病时可以转换为以西罗莫司为主的免CNIs方案或减少CNIs用量, 他克莫司血药谷浓度控制在10 ng/mL可明显降低移植术后糖尿病发生风险。



## ■同行评价

本文对两种临床常用的器官移植术后免疫抑制剂FK506和CsA致PTDM的分子机制及针对FK506所致PTDM临床应对方案进行了综述,具有一定的学术及应用价值。

- 15 Heit JJ. Calcineurin/NFAT signaling in the beta-cell: From diabetes to new therapeutics. *Bioessays* 2007; 29: 1011-1021 [PMID: 17876792 DOI: 10.1002/bies.20644]
- 16 Bai JP, Lesko LJ, Burckart GJ. Understanding the genetic basis for adverse drug effects: the calcineurin inhibitors. *Pharmacotherapy* 2010; 30: 195-209 [PMID: 20099993 DOI: 10.1592/phco.30.2.195]
- 17 Hennige AM, Burks DJ, Ozcan U, Kulkarni RN, Ye J, Park S, Schubert M, Fisher TL, Dow MA, Leshan R, Zakaria M, Mossa-Basha M, White MF. Upregulation of insulin receptor substrate-2 in pancreatic beta cells prevents diabetes. *J Clin Invest* 2003; 112: 1521-1532 [PMID: 14617753 DOI: 10.1172/jci18581]
- 18 Rodriguez-Rodriguez AE, Triñanes J, Velazquez-Garcia S, Porrini E, Vega Prieto MJ, Diez Fuentes ML, Arevalo M, Salido Ruiz E, Torres A. The higher diabetogenic risk of tacrolimus depends on pre-existing insulin resistance. A study in obese and lean Zucker rats. *Am J Transplant* 2013; 13: 1665-1675 [PMID: 23651473 DOI: 10.1111/ajt.12236]
- 19 Smit NP, Van Rossum HH, Romijn FP, Sellar KJ, Breetveld M, Gibbs S, Van Pelt J. Calcineurin activity and inhibition in skin and (epi)dermal cell cultures. *J Invest Dermatol* 2008; 128: 1686-1690 [PMID: 18200052 DOI: 10.1038/sj.jid.5701244]
- 20 Drachenberg CB, Klassen DK, Weir MR, Wiland A, Fink JC, Bartlett ST, Cangro CB, Blahut S, Papadimitriou JC. Islet cell damage associated with tacrolimus and cyclosporine: morphological features in pancreas allograft biopsies and clinical correlation. *Transplantation* 1999; 68: 396-402 [PMID: 10459544]
- 21 Johnson JD, Ao Z, Ao P, Li H, Dai LJ, He Z, Tee M, Potter KJ, Klimek AM, Meloche RM, Thompson DM, Verchere CB, Warnock GL. Different effects of FK506, rapamycin, and mycophenolate mofetil on glucose-stimulated insulin release and apoptosis in human islets. *Cell Transplant* 2009; 18: 833-845 [PMID: 19500470 DOI: 10.3727/096368909x471198]
- 22 Øzbay LA, Smidt K, Mortensen DM, Carstens J, Jørgensen KA, Rungby J. Cyclosporin and tacrolimus impair insulin secretion and transcriptional regulation in INS-1E beta-cells. *Br J Pharmacol* 2011; 162: 136-146 [PMID: 20825407 DOI: 10.1111/j.1476-5381.2010.01018.x]
- 23 Plaumann S, Blume R, Borchers S, Steinfelder HJ, Knepel W, Oetjen E. Activation of the dual-leucine-zipper-bearing kinase and induction of beta-cell apoptosis by the immunosuppressive drug cyclosporin A. *Mol Pharmacol* 2008; 73: 652-659 [PMID: 18042735 DOI: 10.1124/mol.107.040782]
- 24 Ciechomska IA, Gabrusiewicz K, Szczepankiewicz AA, Kaminska B. Endoplasmic reticulum stress triggers autophagy in malignant glioma cells undergoing cyclosporine a-induced cell death. *Oncogene* 2013; 32: 1518-1529 [PMID: 22580614 DOI: 10.1038/onc.2012.174]
- 25 Hui H, Khoury N, Zhao X, Balkir L, D'Amico E, Bullotta A, Nguyen ED, Gambotto A, Perfetti R. Adenovirus-mediated XIAP gene transfer reverses the negative effects of immunosuppressive drugs on insulin secretion and cell viability of isolated human islets. *Diabetes* 2005; 54: 424-433 [PMID: 15677500]
- 26 Fujimoto K, Chen Y, Polonsky KS, Dorn GW. Targeting cyclophilin D and the mitochondrial permeability transition enhances beta-cell survival and prevents diabetes in Pdx1 deficiency. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010; 107: 10214-10219 [PMID: 20479245 DOI: 10.1073/pnas.0914209107]
- 27 Leibiger IB, Leibiger B, Berggren PO. Insulin signaling in the pancreatic beta-cell. *Annu Rev Nutr* 2008; 28: 233-251 [PMID: 18481923 DOI: 10.1146/annurev.nutr.28.061807.155530]
- 28 Kim JW, Yang JH, Park HS, Sun C, Lee SH, Cho JH, Yang CW, Yoon KH. Rosiglitazone protects the pancreatic beta-cell death induced by cyclosporine A. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 390: 763-768 [PMID: 19836348 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.10.046]
- 29 Brandhorst D, Brandhorst H, Maataoui V, Maataoui A, Johnson PR. Anti-caspase-3 preconditioning increases proinsulin secretion and deteriorates posttransplant function of isolated human islets. *Apoptosis* 2013; 18: 681-688 [PMID: 23536200 DOI: 10.1007/s10495-013-0834-6]
- 30 Prud'homme GJ, Glinka Y, Hasilo C, Paraskevas S, Li X, Wang Q. GABA protects human islet cells against the deleterious effects of immunosuppressive drugs and exerts immunoinhibitory effects alone. *Transplantation* 2013; 96: 616-623 [PMID: 23851932 DOI: 10.1097/TP.0b013e31829c24be]
- 31 Radu RG, Fujimoto S, Mukai E, Takehiro M, Shimonono D, Nabe K, Shimodahira M, Kominato R, Aramaki Y, Nishi Y, Funakoshi S, Yamada Y, Seino Y. Tacrolimus suppresses glucose-induced insulin release from pancreatic islets by reducing glucokinase activity. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: E365-E371 [PMID: 15479952 DOI: 10.1152/ajpendo.00390.2004]
- 32 Noguchi N, Yoshikawa T, Ikeda T, Takahashi I, Shervani NJ, Uruno A, Yamauchi A, Nata K, Takasawa S, Okamoto H, Sugawara A. FKBP12.6 disruption impairs glucose-induced insulin secretion. *Biochem Biophys Res Commun* 2008; 371: 735-740 [PMID: 18466757 DOI: 10.1016/j.bbrc.2008.04.142]
- 33 Chen Z, Li Z, Wei B, Yin W, Xu T, Kotlikoff MI, Ji G. FKBP12.6-knockout mice display hyperinsulinemia and resistance to high-fat diet-induced hyperglycemia. *FASEB J* 2010; 24: 357-363 [PMID: 19805579 DOI: 10.1096/fj.09-138446]
- 34 Rostambeigi N, Lanza IR, Dzeja PP, Deeds MC, Irving BA, Reddi HV, Madde P, Zhang S, Asmann YW, Anderson JM, Schimke JM, Nair KS, Eberhardt NL, Kudva YC. Unique cellular and mitochondrial defects mediate FK506-induced islet  $\beta$ -cell dysfunction. *Transplantation* 2011; 91: 615-623 [PMID: 21200364 DOI: 10.1097/TP.0b013e3182094a33]
- 35 Ishizuka J, Gugliuzza KK, Wassmuth Z, Hsieh J, Sato K, Tsuchiya T, Townsend CM, Fish JC, Thompson JC. Effects of FK506 and cyclosporine on dynamic insulin secretion from isolated dog pancreatic islets. *Transplantation* 1993; 56: 1486-1490 [PMID: 7506454]
- 36 Hagen M, Hjelmessaeth J, Jenssen T, Morkrid L, Hartmann A. A 6-year prospective study on new onset diabetes mellitus, insulin release and insulin sensitivity in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 2154-2159 [PMID: 13679495 DOI: 10.1093/ndt/gfg338]
- 37 Lopes P, Fuhrmann A, Sereno J, Pereira MJ, Nunes P, Pedro J, Melão A, Reis F, Carvalho E. Effects of cyclosporine and sirolimus on insulin-stimulated glucose transport and glucose tolerance in a rat model. *Transplant Proc* 2013; 45: 1142-1148 [PMID: 23622647]

- DOI: 10.1016/j.transproceed.2013.02.009]
- 38 Suk HY, Zhou C, Yang TT, Zhu H, Yu RY, Olabisi O, Yang X, Branch D, Kim JY, Scherer PE, Frank PG, Lisanti MP, Calvert JW, Lefer DJ, Molkenin JD, Ghigo A, Hirsch E, Jin J, Chow CW. Ablation of calcineurin A $\beta$  reveals hyperlipidemia and signaling cross-talks with phosphodiesterases. *J Biol Chem* 2013; 288: 3477-3488 [PMID: 23258544 DOI: 10.1074/jbc.M112.419150]
  - 39 Shiraishi S, Yokoo H, Kobayashi H, Yanagita T, Uezono Y, Minami S, Takasaki M, Wada A. Post-translational reduction of cell surface expression of insulin receptors by cyclosporin A, FK506 and rapamycin in bovine adrenal chromaffin cells. *Neurosci Lett* 2000; 293: 211-215 [PMID: 11036198]
  - 40 Krentz AJ, Dousset B, Mayer D, McMaster P, Buckels J, Cramb R, Smith JM, Nattrass M. Metabolic effects of cyclosporin A and FK 506 in liver transplant recipients. *Diabetes* 1993; 42: 1753-1759 [PMID: 7694879]
  - 41 Cruz F, Wolf A. Effects of the novel cyclosporine derivative PSC833 on glucose metabolism in rat primary cultures of neuronal and glial cells. *Biochem Pharmacol* 2001; 62: 129-139 [PMID: 11377404]
  - 42 Lohmann T, List C, Lamesch P, Kohlhaw K, Wenzke M, Schwarz C, Richter O, Hauss J, Seissler J. Diabetes mellitus and islet cell specific autoimmunity as adverse effects of immunosuppressive therapy by FK506/tacrolimus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 2000; 108: 347-352 [PMID: 10989953 DOI: 10.1055/s-2000-8127]
  - 43 薛声能, 雷娟, 戚以勤, 徐明彤, 严励. 胰岛自身抗体测定对成人隐匿性自身免疫性糖尿病的诊断价值. *中国卫生检验杂志* 2011; 21: 1228-1229
  - 44 Agustian PA, Bockmeyer CL, Modde F, Wittig J, Heinemann FM, Brundiers S, Dämmrich ME, Schwarz A, Birschmann I, Suwelack B, Jindra PT, Ahlenstiel T, Wohlschläger J, Vester U, Ganzenmüller T, Zilian E, Feldkamp T, Spieker T, Immenshuh S, Kreipe HH, Bröcker V, Becker JU. Glomerular mRNA expression of prothrombotic and antithrombotic factors in renal transplants with thrombotic microangiopathy. *Transplantation* 2013; 95: 1242-1248 [PMID: 23635876 DOI: 10.1097/TP.0b013e318291a298]
  - 45 赵胜利, 刘红, 吴红霞, 翁世文, 秦保明. 山莨菪碱对环孢素A所致大鼠胰腺毒性的防护作用. *河南医科大学学报* 1994; 29: 324-327
  - 46 Rodrigo E, de Cos MA, Fernández-Fresnedo G, Sánchez B, Ruiz JC, Piñera C, Palomar R, Cotorruelo JG, Gómez-Alamillo C, de Castro SS, de Francisco AL, Arias M. Higher initial tacrolimus blood levels and concentration-dose ratios in kidney transplant recipients who develop diabetes mellitus. *Transplant Proc* 2005; 37: 3819-3820 [PMID: 16386549 DOI: 10.1016/j.transproceed.2005.09.196]
  - 47 Burroughs TE, Lentine KL, Takemoto SK, Swindle J, Machnicki G, Hardinger K, Brennan DC, Irish WD, Schnitzler MA. Influence of early posttransplantation prednisone and calcineurin inhibitor dosages on the incidence of new-onset diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 517-523 [PMID: 17699459 DOI: 10.2215/cjn.00620206]
  - 48 van Hooff JP, Christiaans MH, van Duijnhoven EM. Evaluating mechanisms of post-transplant diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19 Suppl 6: vi8-vi12 [PMID: 15575024 DOI: 10.1093/ndt/gfh1063]
  - 49 Boots JM, van Duijnhoven EM, Christiaans MH, Wolffenbuttel BH, van Hooff JP. Glucose metabolism in renal transplant recipients on tacrolimus: the effect of steroid withdrawal and tacrolimus trough level reduction. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 221-227 [PMID: 11752041]
  - 50 Sharif A, Shabir S, Chand S, Cockwell P, Ball S, Borrow R. Meta-analysis of calcineurin-inhibitor-sparing regimens in kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 2107-2118 [PMID: 21949096 DOI: 10.1681/asn.2010111160]
  - 51 de Mare-Bredemeijer EL, Metselaar HJ. Optimization of the use of Calcineurin inhibitors in liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2012; 26: 85-95 [PMID: 22482528 DOI: 10.1016/j.bpg.2012.01.017]
  - 52 Kaposztas Z, Gyurus E, Kahan BD. New-onset diabetes after renal transplantation: diagnosis, incidence, risk factors, impact on outcomes, and novel implications. *Transplant Proc* 2011; 43: 1375-1394 [PMID: 21693204 DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.04.008]
  - 53 鞠卫强, 何晓顺, 王东平, 巫林伟, 邵强, 胡安斌, 马毅, 朱晓峰, 黄洁夫. 肝移植后并发他克莫司不良反应者的西罗莫司单药转换治疗14例. *中华器官移植杂志* 2009; 30: 287-289
  - 54 Ju WQ, Guo ZY, Liang WH, Wu LW, Tai Q, Hu AB, Han M, Zhu XF, He X. Sirolimus conversion in liver transplant recipients with calcineurin inhibitor-induced complications: efficacy and safety. *Exp Clin Transplant* 2012; 10: 132-135 [PMID: 22432756]
  - 55 Veroux M, Tallarita T, Corona D, Sinagra N, Giacquinta A, Zerbo D, Guerrieri C, D'Assoro A, Ciminno S, Veroux P. Conversion to sirolimus therapy in kidney transplant recipients with new onset diabetes mellitus after transplantation. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 496974 [PMID: 23762090 DOI: 10.1155/2013/496974]
  - 56 Teutonico A, Schena PF, Di Paolo S. Glucose metabolism in renal transplant recipients: effect of calcineurin inhibitor withdrawal and conversion to sirolimus. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 3128-3135 [PMID: 16107580 DOI: 10.1681/asn.2005050487]
  - 57 von Zur-Mühlen B, Tufveson G, Korsgren O. Insulin independence after conversion from tacrolimus to cyclosporine in islet transplantation. *Transpl Int* 2012; 25: e108-e110 [PMID: 22897149 DOI: 10.1111/j.1432-2277.2012.01545.x]
  - 58 Neal DA, Gimson AE, Gibbs P, Alexander GJ. Beneficial effects of converting liver transplant recipients from cyclosporine to tacrolimus on blood pressure, serum lipids, and weight. *Liver Transpl* 2001; 7: 533-539 [PMID: 11443583 DOI: 10.1053/jlts.2001.24637]
  - 59 Bouchta NB, Ghisdal L, Abramowicz D, Broeders N, Surquin M, Hoang AD, Wissing KM. Conversion from tacrolimus to cyclosporin is associated with a significant improvement of glucose metabolism in patients with new-onset diabetes mellitus after renal transplantation. *Transplant Proc* 2005; 37: 1857-1860 [PMID: 15919485 DOI: 10.1016/j.transproceed.2005.03.137]
  - 60 Penfornis A, Kury-Paulin S. Immunosuppressive drug-induced diabetes. *Diabetes Metab* 2006; 32: 539-546 [PMID: 17130815]
  - 61 Villanueva G, Baldwin D. Rosiglitazone therapy of posttransplant diabetes mellitus. *Transplantation*

- 2005; 80: 1402-1405 [PMID: 16340782]
- 62 Davidson JA, Wilkinson A. New-Onset Diabetes After Transplantation 2003 International Consensus Guidelines: an endocrinologist's view. *Diabetes Care* 2004; 27: 805-812 [PMID: 14988309]
- 63 常瑛, 文爱东, 曹青, 李红, 田云. 器官移植后新发糖尿病的降糖药物的合理使用. *中华器官移植杂志* 2013; 34: 126-128
- 64 Wilkinson A, Davidson J, Dotta F, Home PD, Keown P, Kiberd B, Jardine A, Levitt N, Marchetti P, Markell M, Naicker S, O'Connell P, Schnitzler M, Standl E, Torregosa JV, Uchida K, Valantine H, Villamil F, Vincenti F, Wissing M. Guidelines for the treatment and management of new-onset diabetes after transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19: 291-298 [PMID: 15877787 DOI: 10.1111/j.1399-0012.2005.00359.x]
- 65 Kim I, Kang ES, Yim YS, Ko SJ, Jeong SH, Rim JH, Kim YS, Ahn CW, Cha BS, Lee HC, Kim CH. A low-risk ZnT-8 allele (W325) for post-transplantation diabetes mellitus is protective against cyclosporin A-induced impairment of insulin secretion. *Pharmacogenomics J* 2011; 11: 191-198 [PMID: 20351753 DOI: 10.1038/tpj.2010.22]
- 66 Kurzawski M, Dziewanowski K, Kedzierska K, Gornik W, Banas A, Drozdik M. Association of calpain-10 gene polymorphism and posttransplant diabetes mellitus in kidney transplant patients medicated with tacrolimus. *Pharmacogenomics J* 2010; 10: 120-125 [PMID: 19752882 DOI: 10.1038/tpj.2009.44]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。



# 衣霉素诱导的内质网应激对胃癌细胞侵袭力的影响及机制

付政祺, 邹丰, 王绪明, 李艳, 刘丽江

付政祺, 邹丰, 王绪明, 刘丽江, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室 湖北省武汉市 430056

付政祺, 李艳, 刘丽江, 江汉大学病理诊断所 湖北省武汉市 430056

付政祺, 讲师, 主要从事胃肠道肿瘤病理学与病理生理学的教学和科研。

国家自然科学基金资助项目, Nos. 30870981, 81272754

湖北省自然科学基金青年基金资助项目, No. 2013CFB215

江汉大学博士科研启动基金资助项目, No. 2010023

作者贡献分布: 此课题由付政祺与刘丽江设计; 研究过程由付政祺、邹丰及李艳操作完成; 研究所用试剂由刘丽江提供; 数据分析由付政祺与王绪明完成; 本论文写作由付政祺完成。

通讯作者: 刘丽江, 教授, 430056, 湖北省武汉市经济技术开发区, 江汉大学医学院病理学与病理生理学教研室。

liulijiang@163.com

电话: 027-84226503

收稿日期: 2013-12-22 修回日期: 2014-01-13

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Involvement of tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in invasion of gastric cancer cells

Zheng-Qi Fu, Feng Zou, Xu-Ming Wang, Yan Li, Li-Jiang Liu

Zheng-Qi Fu, Feng Zou, Xu-Ming Wang, Li-Jiang Liu, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China

Zheng-Qi Fu, Yan Li, Li-Jiang Liu, Pathology Institute, Jiangnan University, Wuhan 430056, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 30870981, 81272754; the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2013CFB215; and the Jiangnan University Doctor Foundation, No. 2010023

Correspondence to: Li-Jiang Liu, Professor, Department of Pathology and Pathophysiology, School of Medicine, Jiangnan University, Economic Development Zone, Wuhan 430056, Hubei Province, China. liulijiang@163.com

Received: 2013-12-22 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the involvement of tunicamycin (TM)-induced endoplasmic reticulum stress in the invasion of gastric cancer cells and the underlying mechanisms.

**METHODS:** SGC7901 cells were treated with TM at a concentration of 3  $\mu\text{mol/L}$  for 24 h. After treatment, the invasion of gastric cancer cells

was evaluated by Transwell chamber assay. The phosphorylation of protein kinase RNA-like endoplasmic reticulum kinase (pPERK) and glycogen synthase kinase-3 $\beta$  (GSK-3 $\beta$ ) at Ser9 was examined by Western blot.

**RESULTS:** TM treatment induced endoplasmic reticulum stress, which was demonstrated by increased pPERK. Endoplasmic reticulum stress decreased the invasion ability of gastric cancer cells and the phosphorylation of GSK-3 $\beta$  at Ser9.

**CONCLUSION:** Endoplasmic reticulum stress induced by TM may decrease the invasion of gastric cancer cells by activation of GSK-3 $\beta$ .

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Endoplasmic reticulum stress; Tunicamycin; Gastric cancer; GSK-3 $\beta$ ; Tumour invasion

Fu ZQ, Zou F, Wang XM, Li Y, Liu LJ. Involvement of tunicamycin-induced endoplasmic reticulum stress in invasion of gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1101-1105 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1101.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1101>

## 摘要

**目的:** 探讨衣霉素(tunicamycin, TM)诱导的内质网应激, 对胃癌细胞侵袭力的影响及机制。

**方法:** 以浓度为3  $\mu\text{mol/L}$ 的TM处理胃癌SGC7901细胞24 h, Transwell侵袭实验检测细胞侵袭能力, 并应用Western blot检测pPERK和GSK-3 $\beta$ 蛋白Ser9位点的表达。

**结果:** Transwell侵袭实验显示, TM处理胃癌SGC7901细胞24 h, 细胞的侵袭性明显减弱。Western blot结果显示, 相对于DMSO对照组, TM处理组pPERK蛋白的表达明显高于DMSO对照组, 而Ser9-GSK-3 $\beta$ 蛋白的表达明显降低, 差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。

**结论:** TM诱导的内质网应激, 通过激活GSK-3 $\beta$ , 降低胃癌细胞的侵袭力。

## ■背景资料

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 易发生侵袭转移是其死亡率高的常见原因。研究发现, 内质网应激在肿瘤的发生发展中发挥重要作用, 但在胃癌细胞侵袭中的作用及机制尚不完全清楚。内质网陪伴分子在胃癌组织中高表达, 且与肿瘤大小、侵袭深度和淋巴结转移等相关。内质网应激可激活GSK-3 $\beta$ , 其在人体胃癌组织中的表达, 与淋巴结浸润、转移和生存率负相关。抑制GSK-3 $\beta$ 表达, 可促进胃癌细胞SGC7901的迁移能力。

## ■同行评议者

余日胜, 主任医师, 浙江大学医学院附属第二医院放射科

## ■ 研究前沿

本研究发现衣霉素(tunicamycin, TM)诱导内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化, 可通过降低GSK-3 $\beta$ 蛋白Ser9位点的磷酸化(非活性位点), 激活GSK-3 $\beta$ , 从而减弱胃癌细胞的侵袭力。但内质网应激调控GSK-3 $\beta$ 影响细胞侵袭的机制有待进一步研究。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 内质网应激; 衣霉素; 胃癌; 糖原合成激酶-3 $\beta$ ; 肿瘤侵袭

**核心提示:** 衣霉素(tunicamycin)诱导的内质网应激, 可通过降低糖原合成激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )的Ser9位点磷酸化, 激活GSK-3 $\beta$ , 从而明显降低胃癌细胞的侵袭力。

付政祺, 邹丰, 王绪明, 李艳, 刘丽江. 衣霉素诱导的内质网应激对胃癌细胞侵袭力的影响及机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1101-1105 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1101.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1101>

## 0 引言

胃癌是我国最常见的恶性肿瘤之一, 易发生侵袭转移是其死亡率高的常见原因<sup>[1-4]</sup>。近年研究发现, 内质网应激在肿瘤的发生发展中发挥重要作用。在胃癌裸鼠移植瘤模型中, 敲除内质网陪伴分子葡萄糖调节蛋白78(glucose-regulated protein, GRP78)可抑制体外肿瘤细胞的侵袭生长与转移<sup>[5]</sup>。内质网应激诱导剂衣霉素(tunicamycin, TM)可通过降低KL-6 mucin(Krebs von den Lungen-6)的表达, 降低人肝内胆管癌RBE细胞的侵袭力<sup>[6]</sup>。但内质网应激在胃癌细胞侵袭中的作用及机制尚不完全清楚。

糖原合成激酶-3 $\beta$ (glycogen synthase kinase-3 $\beta$ , GSK-3 $\beta$ )是Wnt信号转导通路的重要分子。研究发现GSK-3 $\beta$ 参与肿瘤的发生、侵袭与转移<sup>[7]</sup>。在人体胃癌组织中GSK-3 $\beta$ 的阳性率为46%(129/281), 与淋巴结浸润、转移和生存率负相关<sup>[8]</sup>。抑制GSK-3 $\beta$ 表达可促进胃癌细胞SGC7901的迁移能力<sup>[9,10]</sup>。为了探讨GSK-3 $\beta$ 是否受内质网应激调控, 是否参与介导胃癌细胞的侵袭, 本研究拟给予内质网应激特异性诱导剂TM处理胃癌细胞系SGC7901, 通过检测内质网跨膜蛋白pPERK蛋白表达的变化及其与胃癌细胞侵袭力改变的关系, 明确内质网应激对胃癌细胞侵袭力的影响。并通过检测GSK-3 $\beta$ 蛋白Ser9位点表达的改变情况, 探讨GSK-3 $\beta$ 途径在内质网应激调控胃癌细胞侵袭中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胃癌细胞系SGC7901由华中科技大学同济医学院免疫学系惠赠, 为本实验室保存。TM购自Alexis, 溶于DMSO以3 mmol/L浓度

-20 °C保存。pPERK(Thr 981)和 $\beta$ -actin(C4)抗体购自Santa Cruz公司; Transwell侵袭试剂盒购自Millipore公司; Bicinchoninic acid(BCA)蛋白测定试剂盒购自Pierce公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及药物处理:** SGC7901细胞接种在含10%小牛血清的RMPI 1640培养基中, 置于37 °C, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 每2-3 d换1次液。细胞增长至约70%-80%左右融合时胰酶消化传代。TM处理细胞的浓度为3  $\mu$ mol/L, 时间为24 h<sup>[11]</sup>。

**1.2.2 Transwell侵袭实验:** 向侵袭小室(Transwell chamber)中加入制备好的密度为0.5 $\times$ 10<sup>9</sup>/L-1.0 $\times$ 10<sup>9</sup>/L的无血清SGC7901细胞悬液, 将小室置于含10%胎牛血清培养基的24孔板内培养24 h。用棉签轻轻刮除小室内未侵袭的细胞后, 将小室底部置于试剂盒中的染色液里染色20 min, 漂洗数次、风干。在显微镜下观察, 细胞计数。

**1.2.3 Western blot技术检测:** SGC7901细胞收集后, BCA法测蛋白, 进行SDS-PAGE电泳, 电泳后湿转至PVDF膜, 含5%脱脂奶粉的TBS-T(含0.05%Tween-20的TBS)37 °C封闭60 min, 加1:1000稀释的抗pPERK(Thr 981)和 $\beta$ -actin抗体4 °C孵育过夜。TBS-T漂洗5 min $\times$ 3次, 加入1:4000稀释的辣根过氧化物酶标记的羊抗兔和羊抗鼠IgG 37 °C孵育45 min。TBS-T漂洗5 min $\times$ 3次, ECL化学发光试剂检测<sup>[12]</sup>。

**统计学处理** 全部数据经SPSS13.0统计学软件处理, 数据均采用mean $\pm$ SD表示, 相关因素分析采用Spearman等级相关分析。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 TM处理SGC7901细胞诱导内质网应激** Western blot结果显示, TM处理SGC7901细胞24 h后, pPERK蛋白的表达明显高于DMSO对照组(图1), 提示TM处理诱导内质网应激。

**2.2 内质网应激对SGC7901细胞侵袭性的影响** 与对照组(DMSO处理组)相比, TM处理组的SGC7901细胞的侵袭性明显减弱(图2)。

**2.3 TM处理后Ser9-GSK-3 $\beta$ 蛋白的表达改变** 胃癌细胞SGC7901经TM处理24 h后, Ser9-GSK-3 $\beta$ 蛋白表达下降(图3), 提示内质网应激通过降低GSK-3 $\beta$ 的Ser9位点磷酸化, 激活GSK-3 $\beta$ , 影响细胞侵袭能力。

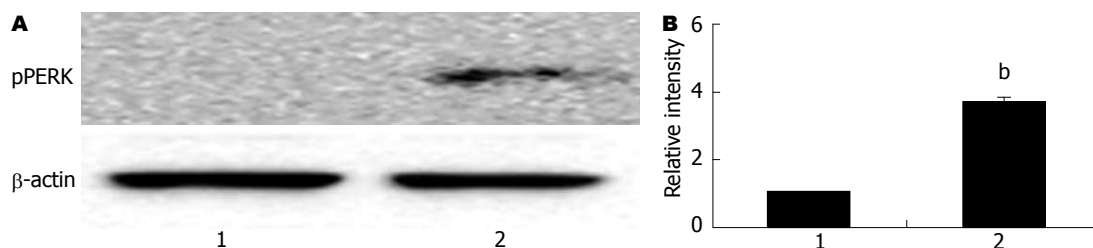


图 1 Western blot方法检测TM处理胃癌细胞SGC7901, pPERK蛋白的表达. A: Western blot图; B: 统计图. 1: 对照组; 2: TM处理组. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组. TM: 衣霉素.

#### ■ 创新盘点

内质网应激在胃癌细胞侵袭中的作用及机制尚不完全清楚. 本研究发现, TM诱导的内质网应激, 可通过降低GSK-3 $\beta$ 的Ser9位点磷酸化, 激活GSK-3 $\beta$ , 从而明显降低胃癌细胞的侵袭力.

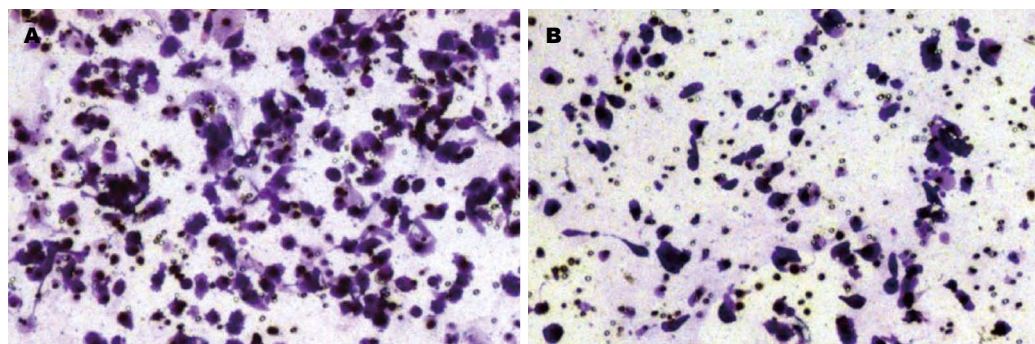


图 2 TM处理胃癌SGC7901细胞后侵袭能力的改变. A: 对照组; B: TM处理组. TM: 衣霉素.

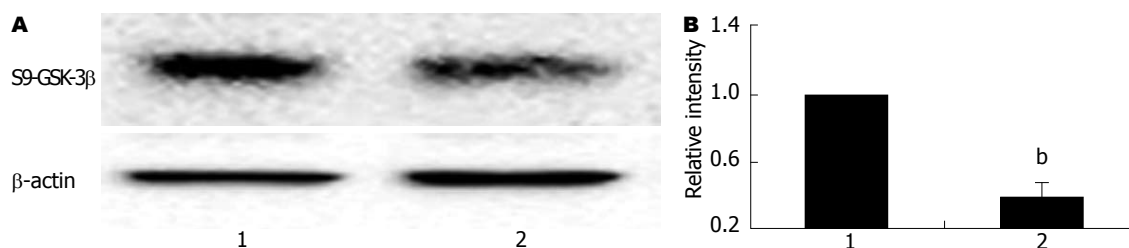


图 3 Western blot方法检测TM处理胃癌细胞SGC7901, S9-GSK-3 $\beta$ 蛋白的表达. A: Western blot图; B: 统计图. 1: 对照组; 2: TM处理组. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组. TM: 衣霉素.

### 3 讨论

内质网是细胞内蛋白质合成、折叠及转运的重要场所, 并利用其严格的质控系统, 保证其输出蛋白具有正常结构功能. 当多种生理或病理因素, 如缺氧、钙超载等, 引起细胞内未折叠/错误折叠蛋白质增多, 内环境失衡时, 将导致内质网应激. 此时, 一系列级联反应即未折叠蛋白反应 (unfolded protein response, UPR) 被激活, 通过限制未折叠/错误折叠蛋白的合成, 加强对蛋白的折叠能力及加速未折叠/错误折叠蛋白的降解对细胞发挥保护作用. 但当这种紊乱持续发展, 超过了自身调节, 将导致细胞的凋亡和死亡<sup>[13,14]</sup>. 近年研究发现, 内质网应激可能在肿瘤的发生、侵袭、转移中发挥重要作用. 内质网陪伴分子GRP78和GRP94在胃癌组织中高表达, 且与肿瘤大小、侵袭深度和淋巴结转移等相关<sup>[15-17]</sup>.

内质网应激诱导剂TM可通过降低KL-6 mucin的表达, 降低RBE细胞的侵袭力<sup>[6]</sup>. 本研究发现TM诱导的内质网应激可降低胃癌细胞的侵袭力.

GSK-3 $\beta$ 是一种丝氨酸/苏氨酸激酶, 活性受其Ser9位点(抑制性)和Tyr216位点(活性)的磷酸化水平调节<sup>[18]</sup>. 研究发现, GSK-3 $\beta$ 参与细胞内多种信号转导通路, 在胃癌细胞的增殖与凋亡中发挥重要作用. 人体胃癌组织中GSK-3 $\beta$ 的阳性率为46%(129/281), 且在早期胃癌组织中阳性率较高, 与淋巴结浸润、转移和生存率负相关<sup>[8]</sup>. 抑制GSK-3 $\beta$ 表达, 可促进胃癌细胞SGC7901的迁移能力<sup>[9,10]</sup>. 蛋白激酶RNA样内质网激酶[protein kinase RNA (PKR)-like endoplasmic reticulum kinase, PERK]是I型内质网跨膜蛋白. 应激状态下, PERK被激活, 与GRP78解聚并发生自身磷酸化, 通过减少蛋白质合成, 以减轻内质网内新生



## ■应用要点

探讨内质网应激在胃癌细胞侵袭中的作用及机制,此成果将对胃癌发生、发展的理论研究以及胃癌治疗新靶点的选择方面,产生重要影响。

蛋白质折叠需求的压力<sup>[19]</sup>。研究发现,内质网应激可激活GSK-3 $\beta$ <sup>[20,21]</sup>。在阿尔茨海默病患者大脑海马神经元中pPERK阳性神经元的GSK-3 $\beta$ 表达丰富<sup>[22]</sup>。肾脏缺血后处理(ischemic postconditioning)及联合曲美他嗪治疗可降低内质网应激蛋白pPERK等的表达,并通过降低GSK-3 $\beta$ 活性,改善肾功能提高大鼠生存率<sup>[23]</sup>。提示,内质网应激时,PERK等通路可通过GSK-3 $\beta$ 途径,影响细胞存活。本研究发现TM诱导的内质网跨膜蛋白PERK的磷酸化,可通过降低GSK-3 $\beta$ 蛋白Ser9位点的磷酸化(非活性位点),激活GSK-3 $\beta$ ,从而减弱胃癌细胞的侵袭力。但内质网应激调控GSK-3 $\beta$ 影响细胞侵袭的机制有待进一步研究。

总之,本研究结果显示:TM诱导的内质网应激,可通过降低GSK-3 $\beta$ 的Ser9位点磷酸化,激活GSK-3 $\beta$ ,从而明显降低胃癌细胞的侵袭力。

## 4 参考文献

- Deng J, Zhang R, Zhang L, Liu Y, Hao X, Liang H. Negative node count improvement prognostic prediction of the seventh edition of the TNM classification for gastric cancer. *PLoS One* 2013; 8: e80082 [PMID: 24348906 DOI: 10.1371/journal.pone.0080082]
- 邹丰, 王绪明, 刘丽江. ER- $\alpha$  36和miR-143介导胃癌细胞的侵袭. *中国病理生理杂志* 2012; 28: 2167-2171
- 王绪明, 刘晶晶, 邓昊, 陈莹, 刘丽江. ER- $\alpha$ 36对胃癌SGC7901细胞在裸鼠体内生长的影响. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 2919-2924
- 邓昊, 镇鸿燕, 陈莹, 付政祺, 刘丽江. IFN- $\gamma$ 通过非依赖STAT1途径对人胃癌组织中P53表达的调控机制. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 1353-1358
- Zhang J, Jiang Y, Jia Z, Li Q, Gong W, Wang L, Wei D, Yao J, Fang S, Xie K. Association of elevated GRP78 expression with increased lymph node metastasis and poor prognosis in patients with gastric cancer. *Clin Exp Metastasis* 2006; 23: 401-410 [PMID: 17187227]
- Xu HL, Inagaki Y, Seyama Y, Sugawara Y, Kokudo N, Nakata M, Wang FS, Tang W. Expression of KL-6 mucin, a human MUC1 mucin, in intrahepatic cholangiocarcinoma and its potential involvement in tumor cell adhesion and invasion. *Life Sci* 2009; 85: 395-400 [PMID: 19631667 DOI: 10.1016/j.lfs.2009.07.004]
- Krausova M, Korinek V. Wnt signaling in adult intestinal stem cells and cancer. *Cell Signal* 2014; 26: 570-579 [PMID: 24308963 DOI: 10.1016/j.cellsig.2013.11.032]
- Cho YJ, Kim JH, Yoon J, Cho SJ, Ko YS, Park JW, Lee HS, Lee HE, Kim WH, Lee BL. Constitutive activation of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  correlates with better prognosis and cyclin-dependent kinase inhibitors in human gastric cancer. *BMC Gastroenterol* 2010; 10: 91 [PMID: 20704706 DOI: 10.1186/1471-230X-10-91]
- Liu J, Zhang Y, Xu R, Du J, Hu Z, Yang L, Chen Y, Zhu Y, Gu L. PI3K/Akt-dependent phosphorylation of GSK3 $\beta$  and activation of RhoA regulate Wnt5a-induced gastric cancer cell migration. *Cell Signal* 2013; 25: 447-456 [PMID: 23123500 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.10.012]
- Ryu YK, Lee YS, Lee GH, Song KS, Kim YS, Moon EY. Regulation of glycogen synthase kinase-3 by thymosin beta-4 is associated with gastric cancer cell migration. *Int J Cancer* 2012; 131: 2067-2077 [PMID: 22328534 DOI: 10.1002/ijc.27490]
- Fu Z, Zou F, Deng H, Zhou H, Liu L. Estrogen protects SGC7901 cells from endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis by the Akt pathway. *Oncol Lett* 2014; 7: 560-564 [PMID: 24396487]
- Liu ZC, Fu ZQ, Song J, Zhang JY, Wei YP, Chu J, Han L, Qu N, Wang JZ, Tian Q. Bip enhanced the association of GSK-3 $\beta$  with tau during ER stress both in vivo and in vitro. *J Alzheimers Dis* 2012; 29: 727-740 [PMID: 22460328 DOI: 10.3233/JAD-2012-111898]
- McCloy RA, Shelley EJ, Roberts CG, Boslem E, Biden TJ, Nicholson RI, Gee JM, Sutherland RL, Musgrove EA, Burgess A, Butt AJ. Role of endoplasmic reticulum stress induction by the plant toxin, persin, in overcoming resistance to the apoptotic effects of tamoxifen in human breast cancer cells. *Br J Cancer* 2013; 109: 3034-3041 [PMID: 24178758 DOI: 10.1038/bjc.2013.693]
- 邢俊丽, 冯若, 李海春, 王亚强, 许培仁, 张钦宪. 衣霉素诱导胃癌细胞内质网应激介导的细胞凋亡. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 1037-1040
- Fu Z, Deng H, Wang X, Yang X, Wang Z, Liu L. Involvement of ER- $\alpha$ 36 in the malignant growth of gastric carcinoma cells is associated with GRP94 overexpression. *Histopathology* 2013; 63: 325-333 [PMID: 23829397 DOI: 10.1111/his.12171]
- Zheng HC, Takahashi H, Li XH, Hara T, Masuda S, Guan YF, Takano Y. Overexpression of GRP78 and GRP94 are markers for aggressive behavior and poor prognosis in gastric carcinomas. *Hum Pathol* 2008; 39: 1042-1049 [PMID: 18482745 DOI: 10.1016/j.humpath.2007.11.009]
- Fu Z, Deng H, Chen Y, Liu L. The involvement of GRP78 on estrogen signaling in gastric cancer. The 2012 International Conference on Biomedical Engineering and Biotechnology. *ICBEB* 2012: 1125-1128
- Park CH, Lee BH, Ahn SG, Yoon JH, Oh SH. Serine 9 and tyrosine 216 phosphorylation of GSK-3 $\beta$  differentially regulates autophagy in acquired cadmium resistance. *Toxicol Sci* 2013; 135: 380-389 [PMID: 23897984 DOI: 10.1093/toxsci/kft158]
- Vaughn LS, Snee B, Patel RC. Inhibition of PKR protects against tunicamycin-induced apoptosis in neuroblastoma cells. *Gene* 2014; 536: 90-96 [PMID: 24334130 DOI: 10.1016/j.gene.2013.11.074]
- Song L, De Sarno P, Jope RS. Central role of glycogen synthase kinase-3 $\beta$  in endoplasmic reticulum stress-induced caspase-3 activation. *J Biol Chem* 2002; 277: 44701-44708 [PMID: 12228224 DOI: 10.1074/jbc.M206047200]
- Fu ZQ, Yang Y, Song J, Jiang Q, Lin ZC, Wang Q, Zhu LQ, Wang JZ, Tian Q. LiCl attenuates thapsigargin-induced tau hyperphosphorylation by inhibiting GSK-3 $\beta$  in vivo and in vitro. *J Alzheimers Dis* 2010; 21: 1107-1117 [PMID: 21504119]
- Hoozemans JJ, van Haastert ES, Nijholt DA, Roze-muller AJ, Eikelenboom P, Scheper W. The unfolded protein response is activated in pretangle neurons in Alzheimer's disease hippocampus. *Am*

- J Pathol* 2009; 174: 1241-1251 [PMID: 19264902 DOI: 10.2353/ajpath.2009.080814]
- 23 Mahfoudh-Boussaid A, Zaouali MA, Hauet T, Hadj-Ayed K, Miled AH, Ghoul-Mazgar S, Saidane-Mosbahi D, Rosello-Catafau J, Ben Abdennebi

H. Attenuation of endoplasmic reticulum stress and mitochondrial injury in kidney with ischemic postconditioning application and trimetazidine treatment. *J Biomed Sci* 2012; 19: 71 [PMID: 22853733 DOI: 10.1186/1423-0127-19-71]

■同行评价  
本文具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊: 序号, 作者(列出全体作者). 文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页.

# 通过阻断花生四烯酸代谢途径抑制胰腺癌细胞增殖

朱 陈, 周国雄

## ■背景资料

胰腺癌是高度恶性肿瘤, 一般发现时患者大部分为中晚期, 五年生存率低, 且目前无特别有效的抗肿瘤药物, 因此对抑制胰腺肿瘤生长的研究尤为重要。

朱陈, 江苏省南通市第三人民医院消化内科 江苏省南通市 226000

周国雄, 江苏省南通大学附属医院消化内科 江苏省南通市 226000

朱陈, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 研究由周国雄教授设计; 具体实验研究与论文由朱陈完成。

通讯作者: 周国雄, 教授, 主任医师, 226000, 江苏省南通市西寺路20号, 江苏省南通大学附属医院消化内科。

zhuchen0802@yahoo.com

电话: 13912269068

收稿日期: 2013-10-11 修回日期: 2014-01-05

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Inhibition of arachidonic acid metabolism to decrease pancreatic cancer cell proliferation

Chen Zhu, Guo-Xiong Zhou

Chen Zhu, Nantong 3<sup>rd</sup> Peoples' Hospital, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Guo-Xiong Zhou, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Guo-Xiong Zhou, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226000, Jiangsu Province, China. zhuchen0802@yahoo.com

Received: 2013-10-11 Revised: 2014-01-05

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the effect of inhibition of arachidonic acid metabolism on proliferation of pancreatic cancer cells.

**METHODS:** Cultured pancreatic cancer SW1990 cells were treated with different concentrations of MK886, celecoxib, or MK886 + celecoxib. After treatment, the expression of leukotriene B4 receptor 1 (BLT1) and vascular endothelial growth factor (VEGF) mRNAs was detected by semi-quantitative RT-PCR and the expression of phosphorylated extracellular regulated protein (p-Erk) was measured by Western blot.

**RESULTS:** Treatment with MK886 significantly decreased the expression of BLT1 and VEGF mRNAs ( $P < 0.01$  for both) and p-Erk ( $P < 0.05$ ).

Treatment with celecoxib did not alter the expression of BLT1 mRNA and decreased the expression of VEGF mRNA compared with untreated cells ( $P < 0.01$ ), but increased the expression of p-Erk compared with the MK886 group ( $P < 0.01$ ). Treatment with MK886 and celecoxib significantly decreased the expression of BLT1 and VEGF mRNAs ( $P < 0.01$  for both), but did not alter the expression of p-Erk.

**CONCLUSION:** Both two pathways of arachidonic acid metabolism are associated with pancreatic cancer cell proliferation, with the pathway involving 5-lipoxygenase being more important.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Pancreatic cancer cells; Arachidonic acid; MK886; Celecoxib; 5-lipoxygenase; Cyclooxygenase 2; LTB4 receptor 1; Vascular endothelial growth factor; Phosphorylated extracellular regulated protein

Zhu C, Zhou GX. Inhibition of arachidonic acid metabolism to decrease pancreatic cancer cell proliferation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1106-1111 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1106.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1106>

## 摘要

**目的:** 探讨通过阻断花生四烯酸(arachidonic acid, AA)代谢途径抑制胰腺癌细胞增殖。

**方法:** 将胰腺癌细胞SW1990分为对照组, MK886干预组、塞来昔布(Celecoxib)干预组, MK886+Celecoxib干预组, 用RT-PCR法检测细胞白三烯B4受体1(leukotriene B4 receptor 1, BLT1)mRNA, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)mRNA的表达量变化, 用Western blot检测磷酸化-Erk(phosphorylated-extracellular regulated protein, p-Erk)表达量变化。

**结果:** MK886作用下, BLT1 mRNA、VEGF mRNA等表达量均减少( $P < 0.01$ ), p-Erk表达

## ■同行评议者

巩鹏, 教授, 大连医科大学附属第一医院普外二科



量明显减少( $P<0.05$ ), Celecoxib作用下, VEGF mRNA表达量明显减少( $P<0.01$ ), BLT1 mRNA表达与对照组无明显差异, p-Erk表达量与MK886组比较明显增加( $P<0.01$ ), MK886+80  $\mu\text{mol/L}$  Celecoxib作用下, BLT1 mRNA、VEGF mRNA表达量明显减少( $P<0.01$ ), p-Erk表达量与对照组无明显差异。

**结论:** 花生四烯酸的两条代谢途径均与胰腺癌的发生及增殖均有密切关系, 而抑制5-脂氧合酶(5-lipoxygenase)途径较环氧化酶2(cyclooxygenase 2)途径相比, 抑制肿瘤细胞增殖作用更强。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胰腺癌细胞; 花生四烯酸; MK886; Celecoxib; 5-脂氧合酶; 环氧化酶-2; BLT1; 血管内皮生长因子; 磷酸化-Erk

**核心提示:** 本文证实了通过阻断花生四烯酸两条代谢途径均可抑制胰腺癌细胞的增殖, 而抑制5-脂氧合酶(5-lipoxygenase)代谢途径起更明显作用, 在联合拮抗中, 阻断环氧化酶2(cyclooxygenase 2)途径对肿瘤细胞增殖的抑制起到明显的辅助作用。

朱陈, 周国雄. 通过阻断花生四烯酸代谢途径抑制胰腺癌细胞增殖. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1106-1111 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1106.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1106>

## 0 引言

胰腺癌是一种高度恶性的肿瘤, 五年生存期低于5%<sup>[1]</sup>, 一旦被确诊为胰腺癌, 则平均寿命为6 mo. 直到现在, 仍未发现有效的治疗方法<sup>[2,3]</sup>, 研究发现, 胰腺癌对大多数传统化疗药物如紫杉醇、顺铂、阿霉素等均不敏感<sup>[4]</sup>, 目前, 吉西他滨和S-1(替加氟+吉莫斯特+氧嗪酸钾)是标准的治疗晚期胰腺癌的唯一方案<sup>[5-8]</sup>, 因此迫切需要有效的化疗药物. 近来多有研究报道花生四烯酸的代谢与胰腺癌的增殖有密切关系, 花生四烯酸代谢有两条途径, 环氧化酶(cyclooxygenase, COX)和脂氧合酶(lipoxygenase, LOX), 探讨阻断该代谢途径在抑制胰腺癌发生发展中的作用机制以及是否具有潜在的临床治疗价值, 目前较少有研究将两条途径的抑制作用进行对比分析. 本研究通过分别抑制两条代谢途径及联合抑制, 分析得出哪一条途径起到更重要作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 胰腺癌细胞株SW1990由上海交通大学附属医院第一人民医院消化内科王兴鹏教授惠赠. MK886(5-LOX拮抗剂)(纯度99.8%): Bimol公司; 塞来昔布(Celecoxib)(纯度99.8%): 上海信合化工有限公司, 高糖型DMEM培养基(Dulbecco's Modified Eagle Medium): 美国Gibco公司; 新生小牛血清: 杭州四季青公司; 目的基因(2A/条)引物和Oligo dT(18)碱基随机引物: 上海由上海生工生物技术有限公司合成; Omniscript<sup>TM</sup>逆转录试剂盒: 德国QIAGEN公司; Gene Ruler<sup>TM</sup> 100 bp DNA-ladder plus(SM0321-50  $\mu\text{g}$ ): Fermentas公司; 琼脂糖(AB0014-10 g): BBI公司; p44/p42 MAP Kinase多克隆抗体, PHospho-p44/p42 MAP Kinase(Thr202/Tyr204)、p44/42 MAP Kinase抗体、辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的羊抗兔IgG: Cell Signaling Technology, USA.

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 用含10%新生小牛血清的DMEM培养液, 置于37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>混合气体恒温箱中按常规方法进行培养. 细胞每2-3天换液1次. 每3-4天以0.25%胰酶-EDTA消化, 按1:3传代, 配制100  $\mu\text{L}$ 细胞悬液, 于96孔板上每孔内接种 $1 \times 10^4$ 个细胞, 在37  $^{\circ}\text{C}$ 、5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱中培养过夜, 吸出原培养液, 加入含有不同浓度MK886、Celecoxib、MK886+Celecoxib的培养液100  $\mu\text{L}$ , 每个剂量组设3个复孔。

**1.2.2 RT-PCR检测细胞白三烯B4受体1(leukotriene B4 receptor 1, BLT1)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF) mRNA的表达:** RNA提取按TRIzol法进行. 引物序列及扩增长度如表1, 扩增产物经琼脂糖凝胶电泳后用捷达801“凝胶分析软件”对条带作半定量分析, 读取其积分光密度值(LA值), 以平均LA/ $\beta$ -actin平均LA值来表示目的基因相对表达强度。

**1.2.3 Western blot 检测磷酸化-Erk(phosphorylated-extracellular regulated protein, p-Erk)的表达:** 将各组细胞弃去上清液, 用冰冷的PBS洗2遍, 然后置于冰台上, 在PBS中用自制的细胞刮刮取培养瓶中的贴壁SW1990细胞, 分别收集于相应的微量离心管中, 10000 r/min离心5 min, 弃上清, 于沉淀中加入200  $\mu\text{L}$ 裂解液(裂解液的量视细胞的数目可有所增减), 冰水浴裂解30 min, 以10000 r/min离心5 min, 上清液为全细胞提取液, 使用改良Lowry法检测蛋白质的含量, 定量后分装冻存。

## ■ 研究前沿

对花生四烯酸代谢产物与肿瘤相关性研究较多, 在胰腺癌方面, 大多对两条途径分别进行研究, 两条途径之间的比较少。

## ■ 相关报道

针对BLT1与肿瘤相关性方面的研究, Aya Ihara等认为BLT1在结肠癌细胞中高表达, 抑制BLT1可阻断结肠癌细胞增值。针对COX2途径与胰腺癌的关系中, 刘江伟的研究表明胰腺癌组织中P53的突变和COX2代谢途径在肿瘤的发生发展中起协同作用。

表 1 BLT1、VEGF、 $\beta$ -actin的引物序列及扩增片段大小

基因名称	Genbank编号	引物	扩增片段(bp)
BLT1	NM_181657	5'-CAGGCATCTGGGTGTTGT-3'	203
		5'-ACGCCCTATCTCCGACTA-3'	
VEGF	NM_003376	5'-GGGCCTCCGAAACCATGAACCT-3'	260
		5'-TCGCATCAGGGGCACACAG-3'	
$\beta$ -actin	NM_001101	5'-AAGTACTCCGTGTGGATCGG-3'	486
		5'-ATGCATTACCTCCCCTGTG-3'	

BLT1: 细胞白三烯B4受体1; VEGF: 血管内皮生长因子。

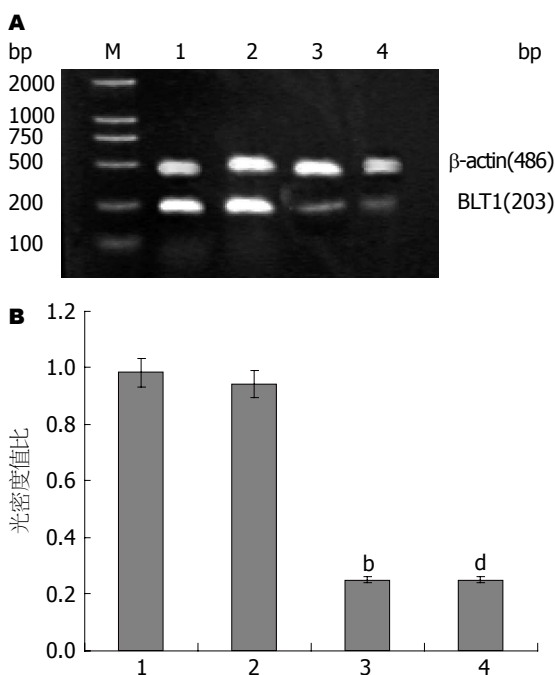


图 1 不同代谢通路拮抗剂对SW1990细胞BLT1基因表达的影响。A: 琼脂糖凝胶电泳图; B: BLT1与 $\beta$ -actin光密度比值。1: 对照组; 2: Celecoxib 100  $\mu$ mol/L; 3: MK886 100  $\mu$ mol/L; 4: MK886 50  $\mu$ mol/L+Celecoxib 80  $\mu$ mol/L。\* $P$ <0.01, <sup>d</sup> $P$ <0.01 vs 对照组。BLT1: 细胞白三烯B4受体1。

蛋白转移至PVDF膜转入一盛有5%脱脂奶粉的平皿中, 室温下摇床包被2 h。封闭结束后, 将膜浸入加有一抗[抗t-Erk(总-Erk)抗体, 抗p-Erk抗体1:1000稀释]的新鲜配置的封闭液, 4℃过夜。次日, 用TBS溶液将膜漂洗3遍, 每遍5 min。向膜的正面滴加含有二抗(羊抗兔IgG/HRP均1:1000稀释)的封闭液, 室温摇床反应2 h。取出滤膜, TBS溶液漂洗3遍, 每遍5 min。用滤纸吸干膜上液体, 备用。等量吸出ECL试剂A和B(每2 cm<sup>2</sup>膜须ECL总量0.1 mL), 混匀后滴加在膜正面。5 min后, 将膜上的多余液体吸干, 封入保鲜膜, 放入压片盒中。在暗室中将胶片放在PVDF膜的正面, 盖上暗盒。曝光1 min后, 取出胶片放入显影液中, 待条带出

现后取出用自来水冲洗, 放入定影液中。取出胶片, 晾干, 待拍照用。如条带不明显, 可再压一张胶片, 约5 min后再洗胶片。胶片曝光显影后将图片扫描保存为电脑文件, 并用GIS1000分析软件将图片上每个特异条带灰度值数字化。

**统计学处理** 采用STATA7.0统计软件进行分析, 计量资料采用多个均数比较采用单因素方差分析, 多个样本率的比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P$ <0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 RT-PCR结果

**2.1.1 代谢通路拮抗剂对SW1990细胞BLT1基因表达的影响:** BLT1是LTB4的高亲和力受体, 一般在白细胞表达, 也在胸腺和脾脏上少量表达。逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)结果显示(图1A), 对照组胰腺癌SW1990细胞表达BLT1的mRNA非常明显, 100  $\mu$ mol/L的MK886和50  $\mu$ mol/L MK886与80  $\mu$ mol/L的Celecoxib联合干预使BLT1 mRNA表达受到抑制, 单独Celecoxib的干预与对照组相比未出现明显变化, 三次独立实验结果进行灰度分析, 统计结果如图1B。

**2.1.2 代谢通路拮抗剂对SW1990细胞VEGF基因表达的影响:** VEGF与肿瘤组织血管生成及肿瘤的转移密切相关, 逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)结果显示(图2A), 100  $\mu$ mol/L的Celecoxib, 100  $\mu$ mol/L的MK886和50  $\mu$ mol/L MK886与80  $\mu$ mol/L的Celecoxib联合干预使VEGF mRNA表达受到抑制, 三次独立实验结果进行灰度分析, 统计结果如图2B。

**2.2 Western blot** 用Western blot法测SW1990细胞的p-Erk表达量, 用MK886 100  $\mu$ mol/L干预, 可见p-Erk表达量明显减少, 而使用Celecoxib 100  $\mu$ mol/L干预, p-Erk表达量较对照组增加, 同时使用MK886 50  $\mu$ mol/L+Celecoxib 80  $\mu$ mol/L未见

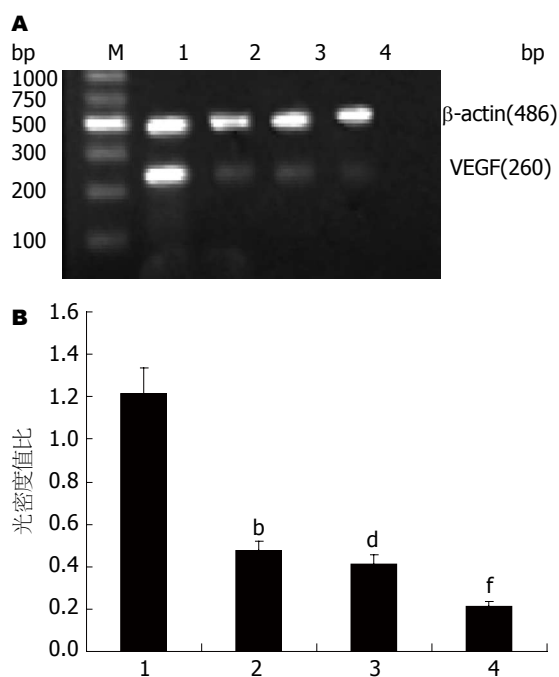


图 2 不同代谢通路拮抗剂对SW1990细胞VEGF基因表达的影响。A: 琼脂糖凝胶电泳图; B: VEGF与 $\beta$ -actin光密度比值。1: 对照组; 2: Celecoxib 100  $\mu\text{mol/L}$ ; 3: MK886 100  $\mu\text{mol/L}$ ; 4: MK886 50  $\mu\text{mol/L}$ +Celecoxib 80  $\mu\text{mol/L}$ 。 $^bP<0.01$ ,  $^dP<0.01$ ,  $^fP<0.01$  vs 对照组。BLT1: 细胞白三烯B4受体1; VEGF: 血管内皮生长因子。

明显变化(图3A), 以t-Erk为内参, 实验结果经凝胶图象分析系统进行灰度扫描, 统计结果如图3B。

### 3 讨论

关于花生四烯酸体内两条主要代谢途径(COX2途径和5-LOX途径)对肿瘤的影响, 早期研究主要集中在前者, 首先报道了COX2在结肠癌中的高表达<sup>[9]</sup>。随后, 通过RT-PCR检测到胰腺癌细胞中COX2 mRNA和蛋白表达的量是正常胰腺细胞的60倍, 在体外实验使用肿瘤诱导剂产生的胰腺癌细胞中COX2 mRNA和蛋白表达得到相似的结果<sup>[10]</sup>, 并有研究发现非甾体类抗炎药对结肠癌、胃癌、食管癌、胰腺癌等多种消化系统肿瘤具有一定的化学预防作用, 并且研究发现, 将COX2拮抗剂和其他抗肿瘤药物联合应用对治疗胰腺癌有明显效果<sup>[11]</sup>。近年来研究发现, 脂氧合酶中的5-LOX也与多种肿瘤的发生、发展和转移有关, 本实验进一步从转录水平上检测MK886对胰腺癌增殖的影响, 以及两条途径进行对比。

LTB4是5-LOX代谢途径的下游产物, 有研究发现LTB4本身刺激胰腺癌细胞生长, LTB4受

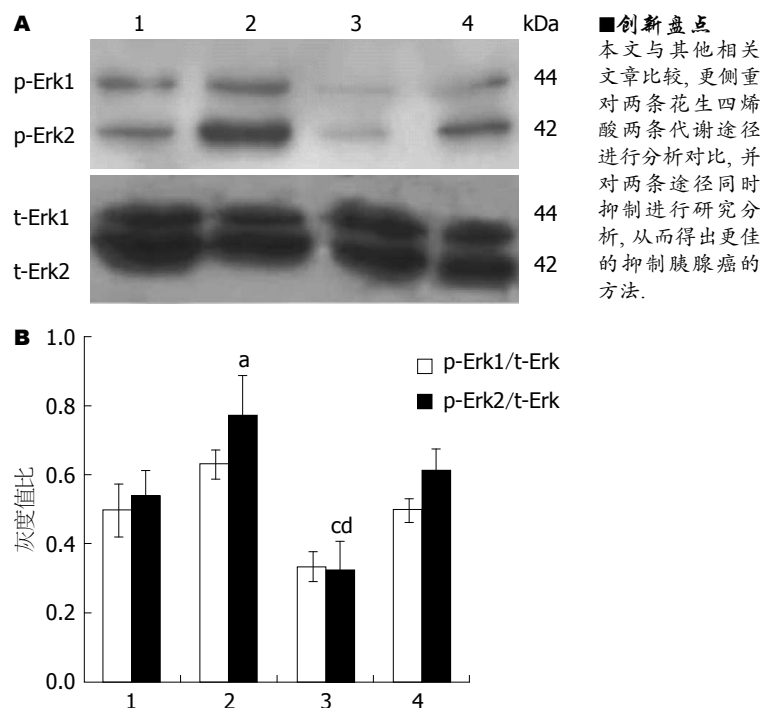


图 3 不同代谢通路拮抗剂对SW1990细胞p-Erk蛋白表达的影响。A: Western blot结果; B: 灰度值比较。1: 对照组; 2: Celecoxib 100  $\mu\text{mol/L}$ ; 3: MK886 100  $\mu\text{mol/L}$ ; 4: MK886 50  $\mu\text{mol/L}$ +Celecoxib 80  $\mu\text{mol/L}$ 。 $^aP<0.05$ ,  $^cP<0.05$  vs 对照组;  $^fP<0.01$  vs Celecoxib 100  $\mu\text{mol/L}$ 。p-Erk: 磷酸化细胞外信号调节激酶; t-Erk: 总细胞外信号调节激酶。

体拮抗剂LY293111在体内外均阻滞胰腺癌生长<sup>[12]</sup>; 通过RT-PCR发现, LTB4的高亲和力受体BLT1也呈高表达。BLT1是G-蛋白偶联受体, 正常情况下, 仅表达于白细胞, 在胸腺和脾脏上少量表达, Hong等<sup>[13]</sup>在对结肠癌的研究中发现通过小干扰RNA敲除BLT1基因抑制BLT1蛋白的表达可减少结肠癌细胞的增殖, 并且使用BLT1抑制剂U75302后对Erk途径也有明显的抑制, 他们的结论LTB4-BLT1信号途径与结肠癌细胞的增殖有关。本实验也对BLT1进行了研究, 通过RT-PCR发现, 在胰腺癌细胞SW1990中BLT1呈高表达, 在使用MK886干预后, BLT1 mRNA的表达受到显著抑制作用, 因此, 在阻断5-LOX代谢途径的同时可以阻断LTB4-BLT1信号途径。

肿瘤细胞肿瘤的生长、浸润和转移都有赖于血管提供营养物质与氧气, 排除代谢产物, 持续的新生血管形成对实体瘤生长是一个关键因素, VEGF是刺激肿瘤血管生长的最主要因子, 在肿瘤新生血管生成中起着极其重要的作用, 研究表明VEGF在刺激血管内皮细胞增殖的同时可作为自分泌生长因子促进肿瘤自身的增殖。在本次实验中, 通过RT-PCR在转录水平上检测

**■创新盘点**  
本文与其他相关文章比较, 更侧重对两条花生四烯酸两条代谢途径进行分析对比, 并对两条途径同时抑制进行研究分析, 从而得出更佳的抑制胰腺癌的方法。



# 同行评价

本文旨在探讨通过阻断花生四烯酸代谢途径抑制胰腺癌细胞增殖。整体上,文章的立意尚可,该方面的报道虽多,但本文重点在于说明花生四烯酸的两条代谢途径均与胰腺癌的发生及增殖均有密切关系,而抑制5-LOX途径较COX2途径相比,抑制肿瘤细胞增殖作用更强。

到Celecoxib、MK886、MK886和Celecoxib的联合干预均可使VEGF的表达量明显减少,且联合干预较单独干预效果更为明显。因此,阻断花生四烯酸的代谢,对抑制肿瘤的生长及转移有明显作用。

MEK/Erk信号传导途径的激活可抑制凋亡, LOX的代谢物5-HETE、12-HETE和LTB4促进MEK/Erk磷酸化,抑制癌细胞凋亡<sup>[14-16]</sup>,本研究通过Western blot结果显示,通过MK886的干预,可使Erk磷酸化明显受到抑制,从而促进细胞的凋亡。而Celecoxib对SW1990细胞Erk磷酸化起促进作用。从而进一步证实了阻断COX2代谢途径会使花生四烯酸5-LOX代谢途径增强,5-LOX代谢途径为花生四烯酸的主要代谢途径,虽然MK886和Celecoxib的联合干预对Erk磷酸化的影响同对照组相比未有明显变化,但肿瘤的凋亡为多基因联合作用,不能因此推断联合干预对胰腺癌的凋亡无明显作用。

本文探讨了花生四烯酸代谢途径与胰腺癌的发生发展的关系,证实了通过阻断花生四烯酸代谢可抑制胰腺癌细胞的增殖。同时提示了在两条代谢途径中,抑制5-LOX代谢途径起到更明显效果,单独拮抗COX2途径虽然对肿瘤细胞增殖的抑制有一定的效果,但作用并不明显,而在联合拮抗中,阻断COX2途径对肿瘤细胞增殖的抑制起到明显的辅助作用,为临床胰腺癌的治疗提供新的思路。

## 参考文献

- Asuthkar S, Rao JS, Gondi CS. Drugs in preclinical and early-stage clinical development for pancreatic cancer. *Expert Opin Investig Drugs* 2012; 21: 143-152 [PMID: 22217246 DOI: 10.1517/13543784.2012.651124]
- Lionetto R, Pugliese V, Bruzzi P, Rosso R. No standard treatment is available for advanced pancreatic cancer. *Eur J Cancer* 1995; 31A: 882-887 [PMID: 7646915 DOI: 10.1016/0959-8049(94)00445-5]
- Philip PA, Benedetti J, Corless CL, Wong R, O'Reilly EM, Flynn PJ, Rowland KM, Atkins JN, Mirtsching BC, Rivkin SE, Khorana AA, Goldman B, Fenoglio-Preiser CM, Abbruzzese JL, Blanke CD. Phase III study comparing gemcitabine plus cetuximab versus gemcitabine in patients with advanced pancreatic adenocarcinoma: Southwest Oncology Group-directed intergroup trial S0205. *J Clin Oncol* 2010; 28: 3605-3610 [PMID: 20606093 DOI: 10.1200/JCO.2009.25.7550]
- Arumugam T, Ramachandran V, Fournier KF, Wang H, Marquis L, Abbruzzese JL, Gallick GE, Logsdon CD, McConkey DJ, Choi W. Epithelial to mesenchymal transition contributes to drug resistance in pancreatic cancer. *Cancer Res* 2009; 69: 5820-5828 [PMID: 19584296 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2819]
- Qiu MT, Ding XX, Hu JW, Tian HY, Yin R, Xu L. Fixed-dose rate infusion and standard rate infusion of gemcitabine in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a meta-analysis of six trials. *Cancer Chemother Pharmacol* 2012; 70: 861-873 [PMID: 23053260 DOI: 10.1007/s00280-012-1974-z]
- Conroy T, Desseigne F, Ychou M, Bouché O, Guimbaud R, Bécouarn Y, Adenis A, Raoul JL, Gourgou-Bourgade S, de la Fouchardière C, Bannoun J, Bachet JB, Khemissa-Akouz F, Péré-Vergé D, Delbaldo C, Assenat E, Chauffert B, Michel P, Montoto-Grillot C, Ducreux M. FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. *N Engl J Med* 2011; 364: 1817-1825 [PMID: 21561347 DOI: 10.1056/NEJMoa1011923]
- Von Hoff DD, Ramanathan RK, Borad MJ, Laheru DA, Smith LS, Wood TE, Korn RL, Desai N, Trieu V, Iglesias JL, Zhang H, Soon-Shiong P, Shi T, Rajeshkumar NV, Maitra A, Hidalgo M. Gemcitabine plus nab-paclitaxel is an active regimen in patients with advanced pancreatic cancer: a phase I/II trial. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4548-4554 [PMID: 21969517 DOI: 10.1200/JCO.2011.36.5742]
- Ko AH, Venook AP, Bergsland EK, Kelley RK, Korn WM, Dito E, Schillinger B, Scott J, Hwang J, Tempero MA. A phase II study of bevacizumab plus erlotinib for gemcitabine-refractory metastatic pancreatic cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2010; 66: 1051-1057 [PMID: 20130876 DOI: 10.1007/s00280-010-1257-5]
- Eberhart CE, Coffey RJ, Radhika A, Giardiello FM, Ferrenbach S, DuBois RN. Up-regulation of cyclooxygenase 2 gene expression in human colorectal adenomas and adenocarcinomas. *Gastroenterology* 1994; 107: 1183-1188 [PMID: 7926468]
- Tucker ON, Dannenberg AJ, Yang EK, Zhang F, Teng L, Daly JM, Soslow RA, Masferrer JL, Woerner BM, Koki AT, Fahey TJ. Cyclooxygenase-2 expression is up-regulated in human pancreatic cancer. *Cancer Res* 1999; 59: 987-990 [PMID: 10070951]
- Ferrari V, Valcamonica F, Amoroso V, Simoncini E, Vassalli L, Marpicati P, Rangoni G, Grisanti S, Tiberio GA, Nodari F, Strina C, Marini G. Gemcitabine plus celecoxib (GECO) in advanced pancreatic cancer: a phase II trial. *Cancer Chemother Pharmacol* 2006; 57: 185-190 [PMID: 16151811 DOI: 10.1007/s00280-005-0028-1]
- Funk CD, Funk LB, FitzGerald GA, Samuelsson B. Characterization of human 12-lipoxygenase genes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89: 3962-3966 [PMID: 1570320]
- Hong SH, Avis I, Vos MD, Martínez A, Treston AM, Mulshine JL. Relationship of arachidonic acid metabolizing enzyme expression in epithelial cancer cell lines to the growth effect of selective biochemical inhibitors. *Cancer Res* 1999; 59: 2223-2228 [PMID: 10232612]
- Yoshimura R, Inoue K, Kawahito Y, Mitsuhashi M, Tsuchida K, Matsuyama M, Sano H, Nakatani T. Expression of 12-lipoxygenase in human renal cell carcinoma and growth prevention by its inhibitor. *Int J Mol Med* 2004; 13: 41-46 [PMID: 14654968]
- Yoshimura R, Matsuyama M, Tsuchida K, Kawahito Y, Sano H, Nakatani T. Expression of lipoxygenase in human bladder carcinoma and growth inhibition by its inhibitors. *J Urol* 2003; 170: 1994-1999 [PMID: 12500000]

14532840 DOI: 10.1097/01.ju.0000080296.54262.c8]  
16 Yoshimura R, Matsuyama M, Mitsuhashi M, Take-  
moto Y, Tsuchida K, Kawahito Y, Sano H, Nakatani

T. Relationship between lipoxygenase and human  
testicular cancer. *Int J Mol Med* 2004; 13: 389-393  
[PMID: 14767568]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团  
有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被引量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢!(《世界华人消化杂志》编辑部)。

# 乌司他丁联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能的保护作用

周松, 张行健, 薛小军, 刘强, 张文华, 聂凯, 陈达丰, 江秀文

## ■背景资料

海水浸泡腹腔开放伤早期即产生大量炎症因子及氧自由基。炎症因子介导的炎症反应及氧化应激损伤是海水浸泡腹腔开放伤后肠黏膜屏障功能障碍的共同发病环节。海水浸泡腹腔开放伤全身并发症的发生与炎症因子及氧自由基所致的损伤有关。凡能减轻炎症反应及清除氧自由基的物质都能防止或减轻海水浸泡腹腔开放伤后全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)的发生, 显著提高伤员救治成功率。

周松, 张行健, 薛小军, 刘强, 张文华, 聂凯, 陈达丰, 江秀文, 中国人民解放军第175医院普通外科 福建省漳州市 363000  
周松, 副教授, 主任医师, 主要从事海水战创伤救治的研究。

南京军区科技创新基金资助项目, No. 08MA079

作者贡献分布: 课题设计由周松与聂凯共同完成; 实验过程张行健、刘强及江秀文共同操作完成; 数据分析由薛小军、张文华与陈达丰完成; 本论文初稿写作、修改及定稿由张行健与周松完成。  
通讯作者: 周松, 副教授, 主任医师, 363000, 福建省漳州市芗城区漳华中路269号, 中国人民解放军第175医院普通外科。

zscxy@sina.com

电话: 0596-2975541

收稿日期: 2013-12-10 修回日期: 2014-01-09

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Protective effect of ulinastatin combined with Xuebijing injection against intestinal mucosa injury in rats with seawater-immersed open abdominal injury

Song Zhou, Xing-Jian Zhang, Xiao-Jun Xue, Qiang Liu, Wen-Hua Zhang, Kai Nie, Da-Feng Chen, Xiu-Wen Jiang

Song Zhou, Xing-Jian Zhang, Xiao-Jun Xue, Qiang Liu, Wen-Hua Zhang, Kai Nie, Da-Feng Chen, Xiu-Wen Jiang, Department of General Surgery, the 175th Hospital of PLA, Southeast Hospital Affiliated to Xiamen University, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China

Supported by: the Military Science and Technology Innovation Project of China, No. 08MA079

Correspondence to: Song Zhou, Associate Professor, Chief Physician, Department of General Surgery, Southeast Hospital Affiliated to Xiamen University, 269 Zhanghua Middle Road, Zhangzhou 363000, Fujian Province, China. zscxy@sina.com

Received: 2013-12-10 Revised: 2014-01-09

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the protective effect of ulinastatin combined with Xuebijing injection against intestinal mucosa injury in rats with seawater-immersed open abdominal injury.

**METHODS:** A total of 104 male Wistar rats were randomly divided into 5 groups that consisted of a normal control group ( $n = 8$ ), a normal saline treated group ( $n = 24$ ), a ulinastatin treated group

( $n = 24$ ), a Xuebijing injection treated group ( $n = 24$ ), and a ulinastatin plus xuebijing injection group ( $n = 24$ ). Except for the normal control group, the other groups were further divided into three subgroups for testing at 1, 3 and 6 h after operation. Blood and intestinal tissues were obtained at different time points after operation. Histopathological changes of the ileum were observed. The contents of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6) and endotoxin (ET) in plasma were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and the activities or contents of nuclear transcription factor- $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), diamine oxidase (DAO) and reactive oxygen species (ROS) in intestinal tissues were measured by non-radioactive electrophoretic mobility shift assay (EMSA), biochemical methods and 2',7'-dichlorofluorescein diacetate (DCFH-DA) staining.

**RESULTS:** Compared with the normal saline treated group, the contents of DAO ( $13.64 \text{ U/mL} \pm 1.08 \text{ U/mL}$ ,  $13.87 \text{ U/mL} \pm 1.19 \text{ U/mL}$  vs  $17.06 \text{ U/mL} \pm 1.56 \text{ U/mL}$ ,  $P < 0.05$ ), ET ( $0.635 \text{ eU/L} \pm 0.037 \text{ eU/L}$ ,  $0.604 \text{ eU/L} \pm 0.027 \text{ eU/L}$  vs  $0.728 \text{ eU/L} \pm 0.038 \text{ eU/L}$ ,  $P < 0.01$ ), TNF- $\alpha$  ( $122.10 \text{ pg/mL} \pm 9.72 \text{ pg/mL}$ ,  $121.93 \text{ pg/mL} \pm 8.67 \text{ pg/mL}$  vs  $143.89 \text{ pg/mL} \pm 8.13 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.01$ ), IL-6 ( $261.60 \text{ pg/mL} \pm 8.73 \text{ pg/mL}$ ,  $268.06 \text{ pg/mL} \pm 6.87 \text{ pg/mL}$  vs  $293.42 \text{ pg/mL} \pm 10.44 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.01$ ) in plasma and the activities or contents of NF- $\kappa$ B p65 ( $122.53 \pm 7.02$ ,  $98.61 \pm 7.86$  vs  $202.60 \pm 8.06$ ,  $P < 0.01$ ), MDA ( $5.29 \text{ nmol/mg} \pm 0.44 \text{ nmol/mg}$ ,  $5.26 \text{ nmol/mg} \pm 0.42 \text{ nmol/mg}$  vs  $6.40 \text{ nmol/mg} \pm 0.53 \text{ nmol/mg}$ ,  $P < 0.01$ ) and ROS ( $83.72 \text{ mg/mL} \pm 2.89 \text{ mg/mL}$ ,  $74.69 \text{ mg/mL} \pm 2.94 \text{ mg/mL}$  vs  $130.13 \text{ mg/mL} \pm 3.89 \text{ mg/mL}$ ,  $P < 0.01$ ) in intestinal tissues at 6 h significantly decreased, while the activities or contents of SOD at 6 h ( $75.34 \text{ U/mg} \pm 4.60 \text{ U/mg}$ ,  $75.01 \text{ U/mg} \pm 4.22 \text{ U/mg}$  vs  $67.38 \text{ U/mg} \pm 4.20 \text{ U/mg}$ ,  $P < 0.05$ ) significantly increased in the ulinastatin treated group and Xuebijing injection treated group. The levels of DAO, ET, TNF- $\alpha$ , IL-6, MDA, ROS, and NF- $\kappa$ B p65 in the combination group were significantly lower than those in the ulinastatin treated group ( $11.39 \text{ U/mL}$

## ■同行评议者

廖必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科



$\pm 1.23 \text{ U/mL}$  vs  $13.64 \text{ U/mL} \pm 1.08 \text{ U/mL}$ ,  $0.528 \text{ eU/L} \pm 0.036 \text{ eU/L}$  vs  $0.635 \text{ eU/L} \pm 0.037 \text{ eU/L}$ ,  $110.40 \text{ pg/mL} \pm 5.99 \text{ pg/mL}$  vs  $122.10 \text{ pg/mL} \pm 9.72 \text{ pg/mL}$ ,  $213.88 \text{ pg/mL} \pm 11.69 \text{ pg/mL}$  vs  $261.60 \text{ pg/mL} \pm 8.73 \text{ pg/mL}$ ,  $4.74 \text{ nmol/mg} \pm 0.25 \text{ nmol/mg}$  vs  $5.29 \text{ nmol/mg} \pm 0.44 \text{ nmol/mg}$ ,  $56.31 \text{ mg/mL} \pm 3.61 \text{ mg/mL}$  vs  $83.72 \text{ mg/mL} \pm 2.89 \text{ mg/mL}$ ,  $61.05 \pm 6.69$  vs  $122.53 \pm 7.02$ ,  $P < 0.05$ ), while the level of SOD was higher in the combination group. There were no significant differences in the above parameters between the ulinastatin treated group and Xuebijing injection treated group.

**CONCLUSION:** Ulinastatin combined with Xuebijing injection has a protective effect against intestinal mucosa injury in rats with seawater immersed open abdominal injury possibly by inhibiting NF- $\kappa$ B activity and inflammatory cytokines and reducing oxidative stress.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Seawater immersion; Open abdominal injury; Intestinal mucosa injury; Ulinastatin; Xuebijing injection

Zhou S, Zhang XJ, Xue XJ, Liu Q, Zhang WH, Nie K, Chen DF, Jiang XW. Protective effects of ulinastatin combined with Xuebijing injection against intestinal mucosa injury in rats with seawater-immersed open abdominal injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1112-1120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1112.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1112>

## 摘要

**目的:** 研究乌司他丁(ulinastatin, UTI)联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能的保护作用及机制。

**方法:** 104只♂Wistar大鼠随机分为13组: 对照组(A组), 海水浸泡腹腔开放伤生理盐水治疗1、3、6 h组(B组), UTI处理1、3、6 h组(C组), 血必净处理1、3、6 h组(D组), UTI联合血必净处理1、3、6 h组(E组); 每组8只, 分别在术后第1、3、6 h采集血液、小肠组织标本, 观察血浆二胺氧化酶、内毒素水平、小肠组织镜下病理学变化。应用酶联免疫分析法检测血浆肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素6(interleukin-6, IL-6)、内毒素(endotoxin, ET)含量, 分光光度法检测血浆中二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO), 黄嘌呤氧化酶法测定小肠超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)活性, 硫代巴比妥酸法检测小肠丙二醛(malondialdehyde,

MDA)含量, 荧光法检测小肠组织细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)水平。非放射性凝胶迁移实验法检测小肠组织核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B) p65活性。

**结果:** 术后6 h, C组和D组较B组血浆SOD( $75.34 \text{ U/mg} \pm 4.60 \text{ U/mg}$ ,  $75.01 \text{ U/mg} \pm 4.22 \text{ U/mg}$  vs  $67.38 \text{ U/mg} \pm 4.20 \text{ U/mg}$ ,  $P < 0.05$ )明显升高, 而血浆DAO( $13.64 \text{ U/mL} \pm 1.08 \text{ U/mL}$ ,  $13.87 \text{ U/mL} \pm 1.19 \text{ U/mL}$  vs  $17.06 \text{ U/mL} \pm 1.56 \text{ U/mL}$ ,  $P < 0.05$ )、ET( $0.635 \text{ eU/L} \pm 0.037 \text{ eU/L}$ ,  $0.604 \text{ eU/L} \pm 0.027 \text{ eU/L}$  vs  $0.728 \text{ eU/L} \pm 0.038 \text{ eU/L}$ ,  $P < 0.01$ )、TNF- $\alpha$ ( $122.10 \text{ pg/mL} \pm 9.72 \text{ pg/mL}$ ,  $121.93 \text{ pg/mL} \pm 8.67 \text{ pg/mL}$  vs  $143.89 \text{ pg/mL} \pm 8.13 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.01$ )、IL-6( $261.60 \text{ pg/mL} \pm 8.73 \text{ pg/mL}$ ,  $268.06 \text{ pg/mL} \pm 6.87 \text{ pg/mL}$  vs  $293.42 \text{ pg/mL} \pm 10.44 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.01$ )、小肠组织镜下病理学评分、小肠组织MDA( $5.29 \text{ nmol/mg} \pm 0.44 \text{ nmol/mg}$ ,  $5.26 \text{ nmol/mg} \pm 0.42 \text{ nmol/mg}$  vs  $6.40 \pm 0.53 \text{ nmol/mg}$ ,  $P < 0.01$ )、ROS含量( $83.72 \text{ mg/mL} \pm 2.89 \text{ mg/mL}$ ,  $74.69 \text{ mg/mL} \pm 2.94 \text{ mg/mL}$  vs  $130.13 \text{ mg/mL} \pm 3.89 \text{ mg/mL}$ ,  $P < 0.01$ )、NF- $\kappa$ B p65( $122.53 \pm 7.02$ ,  $98.61 \pm 7.86$  vs  $202.60 \pm 8.06$ ,  $P < 0.01$ )明显降低。E组较C组血浆DAO、ET、TNF- $\alpha$ 、IL-6、小肠组织镜下病理学评分、小肠组织MDA、ROS、NF- $\kappa$ B p65明显降低( $11.39 \text{ U/mL} \pm 1.23 \text{ U/mL}$  vs  $13.64 \text{ U/mL} \pm 1.08 \text{ U/mL}$ ,  $0.528 \text{ eU/L} \pm 0.036 \text{ eU/L}$  vs  $0.635 \text{ eU/L} \pm 0.037 \text{ eU/L}$ ,  $110.40 \text{ pg/mL} \pm 5.99 \text{ pg/mL}$  vs  $122.10 \text{ pg/mL} \pm 9.72 \text{ pg/mL}$ ,  $213.88 \text{ pg/mL} \pm 11.69 \text{ pg/mL}$  vs  $261.60 \text{ pg/mL} \pm 8.73 \text{ pg/mL}$ , 小肠,  $4.74 \text{ nmol/mg} \pm 0.25 \text{ nmol/mg}$  vs  $5.29 \text{ nmol/mg} \pm 0.44 \text{ nmol/mg}$ ,  $56.31 \text{ mg/mL} \pm 3.61 \text{ mg/mL}$  vs  $83.72 \text{ mg/mL} \pm 2.89 \text{ mg/mL}$ ,  $61.05 \pm 6.69$  vs  $122.53 \pm 7.02$ ,  $P < 0.05$ ), SOD明显升高( $85.49 \text{ U/mg} \pm 3.87 \text{ U/mg}$  vs  $75.34 \text{ U/mg} \pm 4.60 \text{ U/mg}$ ,  $P < 0.05$ ); C、D组相比没有显著差异。

**结论:** UTI联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能有较好的保护作用, 其机制可能与抑制NF- $\kappa$ B及其相关炎症因子表达、减轻氧化应激损伤有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 海水浸泡; 腹腔开放伤; 肠屏障损伤; 乌司他丁; 血必净

**核心提示:** 海水浸泡腹腔开放伤早期即可损伤肠

## ■ 研发前沿

海水浸泡腹腔开放伤后肠黏膜屏障功能障碍的发病机制十分复杂, 目前临床尚无确切的治疗方法。炎症介质及氧化应激导致的肠黏膜损伤, 受到越来越多的关注。

## ■相关报道

既往研究表明乌司他丁及血必净均可显著降低海水浸泡腹部开放伤炎症介质的过度释放,显著改善血流动力学及血电解质紊乱,能够阻断全身炎症反应综合征的病理过程。

屏障功能。炎症因子介导的炎症反应及氧化应激损伤是海水浸泡腹腔开放伤后肠黏膜屏障功能障碍的主要原因。伤后早期联合应用乌司他丁(ulinastatin)、血必净治疗,可明显减轻氧自由基和脂质过氧化损伤,抑制核转录因子- $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)激活及炎症介质的释放,明显保护海水浸泡腹部开放伤后肠屏障功能,有效预防全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome)及多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome)的发生。

周松, 张行健, 薛小军, 刘强, 张文华, 聂凯, 陈达丰, 江秀文. 乌司他丁联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能的保护作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1112-1120 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1112.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1112>

## 0 引言

海战中腹部损伤病员合并海水浸泡极为常见。海水浸泡腹腔开放伤早期即可损伤肠屏障功能,引起的细菌易位和内毒素入侵,导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),进而启动多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)并危及生命<sup>[1-3]</sup>。研究表明,海水浸泡腹腔开放伤后小肠组织炎症介质及细胞因子的过度释放及由于组织缺血再灌注所导致的氧化应激损伤是导致肠屏障功能障碍的重要原因<sup>[4-6]</sup>。本研究拟从大鼠腹部开放伤海水浸泡模型中,观察乌司他丁(ulinastatin, UTI)联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能的作用,探讨UTI联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤肠屏障功能障碍的作用机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** ♂ Wistar大鼠104只购自厦门大学实验动物中心(合格证号: 2007000553749, 体质量250-300 g)。大鼠血浆肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白介素6(interleukin-6, IL-6)、内毒素(endotoxin, ET)ELISA试剂盒、二胺氧化酶(diamine oxidase, DAO)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)测试盒购自南京建成生物工程研究所。非放射性凝胶迁移试剂盒、细胞内活性氧(reactive oxygen species, ROS)检测试剂盒及细胞核蛋白抽提试剂盒购自碧云天生物技术研究所。UTI为广东天普生化医药股份

有限公司产品, 国药准字: H19990132。血必净为天津红日药业股份有限公司产品, 国药准字: Z20040033。实验用人工海水配制: 按国家海洋局第三研究所配方配制<sup>[7,8]</sup>, 其主要指标: 渗透压1250 mmol/L $\pm$ 11.52 mmol/L, pH 8.2, 钠离子浓度630 mmol/L $\pm$ 5.33 mmol/L, 钾离子浓度10.88 mmol/L $\pm$ 0.68 mmol/L, 氯离子浓度658.8 mmol/L $\pm$ 5.25 mmol/L, 温度21 $^{\circ}$ C $\pm$ 2 $^{\circ}$ C。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验动物分组及模型建立:** 将实验动物编号, 利用随机数字表随机分为13组, 每组8只: 对照组(A组), 生理盐水治疗1、3、6 h组(B1、B3、B6组), UTI处理1、3、6 h组(C1、C3、C6组), 血必净处理1、3、6 h组(D1、D3、D6组), UTI联合血必净处理1、3、6 h组(E1、E3、E6组)。A组于术后1 h活杀; B、C、D、E组动物分别于治疗后1、3及6 h活杀, 取腹主动脉血送检。实验前动物禁食24 h, 自由饮水。以速眠新1.0 mg/kg肌肉注射麻醉。脱毛, 酒精消毒皮肤, 按无菌原则铺巾, 取腹部正中切口进入腹腔, 长约3 cm。A组切开腹壁, 敞开腹腔并空气暴露1 h后直接关腹; B、C、D、E组致伤后将动物置于大鼠固定架上, 浸泡入人工海水中, 浸泡平面达剑突水平, 1 h后打捞出水; 出水后尽量控出腹腔内海水, 并以无菌生理盐水100 mL灌洗腹腔后控出, 关腹, 并经尾静脉分别给予生理盐水、UTI(5万U/kg)、血必净(4 mL/kg)、UTI联合血必净(5万U/kg、4 mL/kg)治疗, 液体总量均为10 mL/kg。

**1.2.2 血浆DAO、ET、TNF- $\alpha$ 、IL-6含量的测定:** 各组均于预定时间于腹主动脉抽血, 经离心分离血浆后于-20 $^{\circ}$ C保存待测。DAO含量采用黎君友等<sup>[9]</sup>建立的改良分光光度法测定, ET、TNF- $\alpha$ 、IL-6含量采用ELISA法检测<sup>[10]</sup>, 严格按试剂盒说明书进行操作。

**1.2.3 小肠组织的检测:** 各组均于预定时间腹主动脉抽血后处死大鼠, 距回盲部15 cm, 留取小肠组织各1份。每1份又均分为4部分, 1份留作病理学检测, 另3份迅速置于液氮中保存, 分别用于检测下列小肠组织指标。(1)小肠组织MDA、SOD含量检测: 按体质量体积比1:9加入匀浆介质, 电动匀浆机匀浆, 制备成10%小肠组织匀浆, 采用黄嘌呤氧化酶法<sup>[11,12]</sup>测定SOD活性, 硫代巴比妥酸法<sup>[13]</sup>检测MDA含量, 严格按试剂盒说明书逐步操作;(2)小肠组织ROS含量检测: 采用荧光法<sup>[14,15]</sup>检测小肠组织内ROS水平;(3)小肠组织核转录因子- $\kappa$ B (nuclear transcription

表 1 各组大鼠血浆各项检测指标比较 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	DAO(U/mL)	ET(eU/L)	TNF- $\alpha$ (pg/mL)	IL-6(pg/mL)
A组	7.68 $\pm$ 1.12	0.077 $\pm$ 0.011	56.41 $\pm$ 9.23	129.18 $\pm$ 10.77
B1 h组	25.15 $\pm$ 2.62 <sup>b</sup>	0.183 $\pm$ 0.013 <sup>b</sup>	107.12 $\pm$ 9.61 <sup>b</sup>	222.19 $\pm$ 13.85 <sup>b</sup>
B3 h组	22.47 $\pm$ 1.56 <sup>b</sup>	0.338 $\pm$ 0.035 <sup>b</sup>	125.46 $\pm$ 9.11 <sup>b</sup>	265.46 $\pm$ 11.38 <sup>b</sup>
B6 h组	17.06 $\pm$ 1.56 <sup>b</sup>	0.728 $\pm$ 0.038 <sup>b</sup>	143.89 $\pm$ 8.13 <sup>b</sup>	293.42 $\pm$ 10.44 <sup>b</sup>
C1 h组	16.78 $\pm$ 1.32 <sup>bdj</sup>	0.130 $\pm$ 0.016 <sup>bdj</sup>	88.94 $\pm$ 7.96 <sup>bdj</sup>	187.94 $\pm$ 9.37 <sup>bdj</sup>
C3 h组	15.34 $\pm$ 1.33 <sup>bl</sup>	0.216 $\pm$ 0.015 <sup>bl</sup>	107.70 $\pm$ 7.64 <sup>bl</sup>	222.539 $\pm$ 10.69 <sup>bl</sup>
C6 h组	13.64 $\pm$ 1.08 <sup>bhn</sup>	0.635 $\pm$ 0.037 <sup>bhn</sup>	122.10 $\pm$ 9.72 <sup>bhn</sup>	261.60 $\pm$ 8.73 <sup>bhn</sup>
D1 h组	16.53 $\pm$ 1.54 <sup>bdj</sup>	0.134 $\pm$ 0.013 <sup>bdj</sup>	89.04 $\pm$ 7.06 <sup>bdj</sup>	183.98 $\pm$ 9.10 <sup>bdj</sup>
D3 h组	15.63 $\pm$ 1.26 <sup>bl</sup>	0.213 $\pm$ 0.012 <sup>bl</sup>	110.17 $\pm$ 6.62 <sup>bl</sup>	217.11 $\pm$ 8.48 <sup>bl</sup>
D6 h组	13.87 $\pm$ 1.19 <sup>bhn</sup>	0.604 $\pm$ 0.027 <sup>bhn</sup>	121.93 $\pm$ 8.67 <sup>bhn</sup>	268.06 $\pm$ 6.87 <sup>bhn</sup>
E1 h组	14.04 $\pm$ 1.62 <sup>bd</sup>	0.098 $\pm$ 0.011 <sup>bd</sup>	79.85 $\pm$ 5.68 <sup>bd</sup>	166.40 $\pm$ 5.70 <sup>bd</sup>
E3 h组	13.05 $\pm$ 1.02 <sup>bf</sup>	0.179 $\pm$ 0.010 <sup>bf</sup>	95.24 $\pm$ 5.35 <sup>bf</sup>	180.59 $\pm$ 5.72 <sup>bf</sup>
E6 h组	11.39 $\pm$ 1.23 <sup>bh</sup>	0.528 $\pm$ 0.036 <sup>bh</sup>	110.40 $\pm$ 5.99 <sup>bh</sup>	213.88 $\pm$ 11.69 <sup>bh</sup>
F值	54.982	540.602	49.611	139.469

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs B1 h组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs B3 h组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs B6 h组; <sup>i</sup> $P < 0.01$  vs E1 h组; <sup>j</sup> $P < 0.01$  vs E3 h组; <sup>m</sup> $P < 0.05$ , <sup>n</sup> $P < 0.01$  vs E6 h组。A组: 对照组; B1、B3、B6组: 生理盐水治疗1、3、6 h组; C1、C3、C6组: UTI处理1、3、6 h组; D1、D3、D6: 血必净处理1、3、6 h组; E1、E3、E6组: UTI联合血必净处理1、3、6 h组。DAO: 二胺氧化酶; ET: 内毒素; TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子 $\alpha$ ; IL-6: 白介素6。

factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)p65活性检测: 采用非放射性凝胶迁移实验(electrophoretic mobility shift assay, EMSA)检测NF- $\kappa$ B活性<sup>[16-18]</sup>。取冻存小肠组织300 g, 按细胞核蛋白抽提试剂盒说明书提取核蛋白。取5  $\mu$ g核蛋白与400 fmol生物素标记的双链5'NF- $\kappa$ B寡核苷酸探针(5'-AGTT-GAGGGGACTTTCCCAGGC-3')室温孵育30 min, 6%聚丙烯酰胺凝胶电泳分离DNA-蛋白复合物, 再通过电转移将其转移到带正电荷的尼龙结合膜上, 紫外灯下交联固定10 min, 室温封闭30 min, 再与1:750稀释的Streptavidin-HRP反应液室温孵育20 min, 待化学发光试剂加入结合膜表面后, 立即用Cool imager(Viagene公司)进行化学发光检测。以积分灰度值表示NF- $\kappa$ B活性; (4)小肠组织病理学观察: 将多聚甲醛固定好的小肠组织石蜡包埋、切片、苏木精-伊红染色法(HE)染色后, 采用盲法由病理科医师在光镜下阅片。根据Chiu等<sup>[19]</sup>报道的方法在400倍显微镜下任选5个非重叠视野观察小肠组织损伤程度并评分, 取其平均值用于统计。评分标准如下: 0分: 正常绒毛与腺体; 1分: 部分绒毛顶部上皮轻度受损; 2分: 上皮腺体轻度受损; 3分: 上皮腺间隙扩大, 毛细血管充血; 4分: 上皮与固有层中度分离, 腺体受损; 5分: 部分绒毛顶部脱落; 6分: 绒毛顶部脱落明显, 毛细血管扩张; 7分: 绒

毛固有层脱落, 腺体明显受损; 8分: 固有层开始消化分解。

**统计学处理** 利用SPSS13.0软件进行统计分析。所有数据均以mean $\pm$ SD表示。各组均数差异比较采用单因素方差分析法, 组间多重比较采用LSD法, 等级资料比较采用 $\chi^2$ 检验。  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各组动物血浆DAO、内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-1含量测定结果** 各组大鼠血浆DAO、内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6含量如表1, 与A组相比, 腹腔开放伤合并海水浸泡后大鼠血浆DAO、内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6各时间点含量均显著升高( $P < 0.05$ )。各治疗组与同时点B组相比, 血浆DAO、内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-6水平均明显降低( $P < 0.05$ )。UTI治疗组与血必净治疗组同时点相比, 血浆DAO、内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-1水平无明显改变( $P > 0.05$ )。UTI、血必净合用6 h组与UTI治疗6 h组、血必净治疗6 h组相比, 血浆DAO、内毒素、TNF- $\alpha$ 、IL-1及IL-6水平均明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**2.2 各组动物小肠病理学评分及MDA、SOD、ROS含量测定结果** A组肠黏膜未见损伤; B、C、D、E组均有不同程度的肠黏膜损伤, 小肠

## ■创新盘点

本文研究了联合使用乌司他丁及血必净注射液治疗后对大鼠海水浸泡腹腔开放伤后肠黏膜屏障功能的保护作用, 并探讨其可能作用机制, 为临床救治海水战创伤员提供了新的思路。



## ■应用要点

蛋白酶抑制剂  
UTI联合血必净  
能抑制海水浸泡  
腹腔开放伤大鼠  
NF- $\kappa$ B、TNF- $\alpha$ 、  
IL-6的表达和合  
成,减轻氧化应激  
损伤,减少肠道内  
毒素易位,有效保  
护肠黏膜屏障功  
能,有利于提高海  
水浸泡腹腔开放  
伤患者的救治成  
功率。

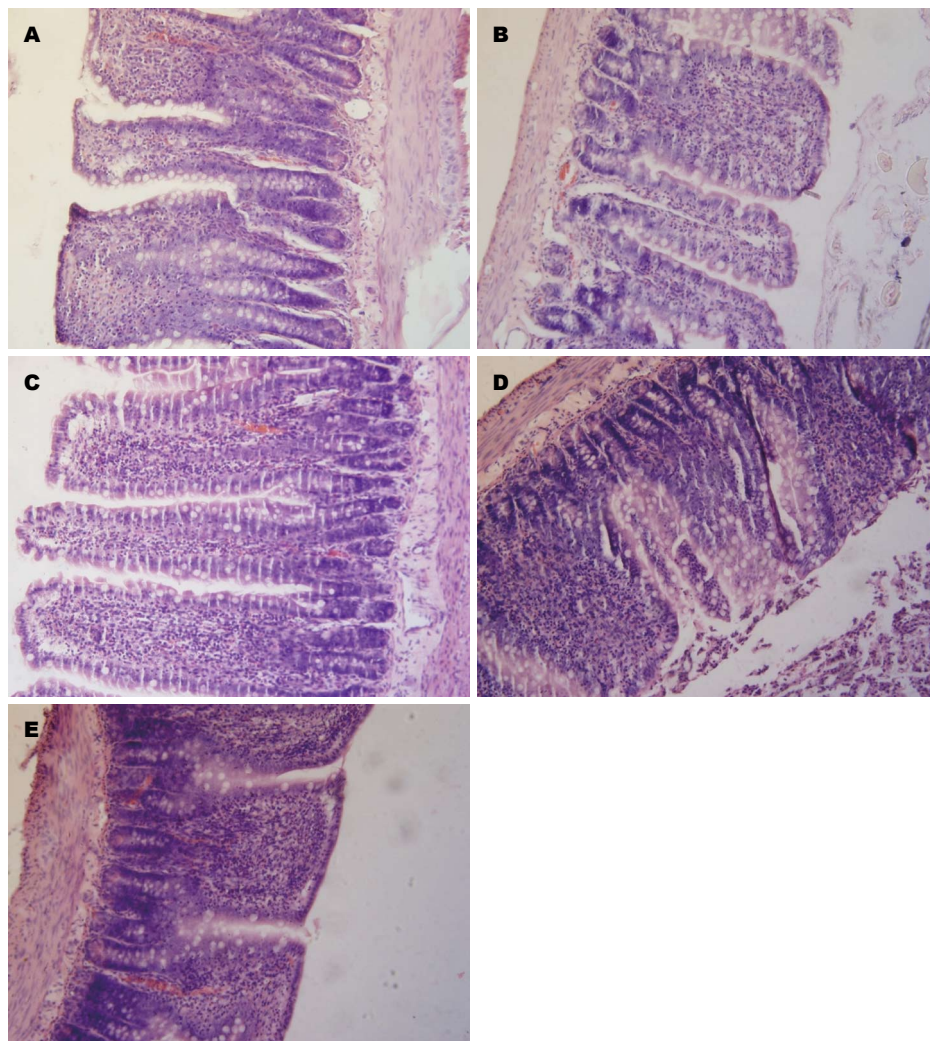


图1 各组大鼠治疗后小肠病理变化(H&E  $\times$  200)。A: A组大鼠回肠组织; B: B6 h组大鼠回肠组织; C: C6 h组大鼠回肠组织; D: D6 h组大鼠回肠组织; E: E6 h组大鼠回肠组织。A组: 对照组; B6 h组: 生理盐水治疗6 h组; C6组: UTI处理6 h组; D6: 血必净处理6 h组; E6组: UTI联合血必净处理6 h组。

表2 各组大鼠小肠病理学评分 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	小肠病理学评分		
	1 h	3 h	6 h
A组	0.50 $\pm$ 0.55		
B组	5.67 $\pm$ 0.82 <sup>b</sup>	5.16 $\pm$ 0.75 <sup>b</sup>	4.50 $\pm$ 0.55 <sup>b</sup>
C组	4.12 $\pm$ 0.75 <sup>bci</sup>	3.67 $\pm$ 0.82 <sup>bfi</sup>	3.50 $\pm$ 0.84 <sup>bhm</sup>
D组	4.33 $\pm$ 0.82 <sup>bci</sup>	3.83 $\pm$ 0.84 <sup>bfi</sup>	3.67 $\pm$ 0.82 <sup>bhn</sup>
E组	3.00 $\pm$ 0.63 <sup>bd</sup>	2.83 $\pm$ 0.75 <sup>bf</sup>	2.50 $\pm$ 0.55 <sup>bh</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs B1 h组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs B3 h组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs B6 h组; <sup>i</sup> $P < 0.05$ , <sup>j</sup> $P < 0.01$  vs E1 h组; <sup>k</sup> $P < 0.05$ , <sup>l</sup> $P < 0.01$  vs E3 h组; <sup>m</sup> $P < 0.05$ , <sup>n</sup> $P < 0.01$  vs E6 h组。A组: 对照组; B组: 生理盐水治疗组; C组: UTI处理组; D: 血必净处理组; E组: UTI联合血必净处理组。

绒毛顶端水肿、间隙增宽; 黏膜下层区域血管扩张、淤血, 固有膜及黏膜下层淋巴细胞浸润(图1)。小肠黏膜组织损伤Haglund评分如表2。各

组大鼠小肠MDA、SOD、ROS含量如表3, 与A组相比, 腹腔开放伤合并海水浸泡后大鼠小肠MDA、ROS及Haglund评分各时点水平均显著

表 3 各组大鼠小肠各项检测指标比较 ( $n = 8$ , mean  $\pm$  SD)

分组	MDA(nmol/mg)	SOD(U/mg)	ROS(mg/mL)	NF- $\kappa$ B活性
A组	1.44 $\pm$ 0.27	93.04 $\pm$ 5.58	24.13 $\pm$ 2.26	16.65 $\pm$ 1.72
B1 h组	3.70 $\pm$ 0.40 <sup>bj</sup>	50.36 $\pm$ 7.85 <sup>bj</sup>	44.02 $\pm$ 3.15 <sup>bj</sup>	66.43 $\pm$ 4.98 <sup>bj</sup>
B3 h组	4.39 $\pm$ 0.41 <sup>bl</sup>	61.84 $\pm$ 5.15 <sup>bl</sup>	83.51 $\pm$ 3.59 <sup>bl</sup>	144.89 $\pm$ 6.17 <sup>bl</sup>
B6 h组	6.40 $\pm$ 0.53 <sup>bn</sup>	67.38 $\pm$ 4.20 <sup>bn</sup>	130.13 $\pm$ 3.89 <sup>bn</sup>	202.60 $\pm$ 8.06 <sup>bn</sup>
C1 h组	2.97 $\pm$ 0.35 <sup>bdi</sup>	66.27 $\pm$ 7.09 <sup>bdi</sup>	36.30 $\pm$ 2.98 <sup>bdi</sup>	22.09 $\pm$ 4.44 <sup>d</sup>
C3 h组	3.59 $\pm$ 0.38 <sup>bfi</sup>	71.04 $\pm$ 5.93 <sup>bfi</sup>	51.49 $\pm$ 3.77 <sup>bfi</sup>	76.97 $\pm$ 8.11 <sup>bfi</sup>
C6 h组	5.29 $\pm$ 0.44 <sup>bhm</sup>	75.34 $\pm$ 4.60 <sup>bhm</sup>	83.72 $\pm$ 2.89 <sup>bhm</sup>	122.53 $\pm$ 7.02 <sup>bhm</sup>
D1 h组	2.97 $\pm$ 0.37 <sup>bdi</sup>	66.31 $\pm$ 6.16 <sup>bdi</sup>	34.51 $\pm$ 3.25 <sup>bdi</sup>	21.80 $\pm$ 3.00 <sup>d</sup>
D3 h组	3.55 $\pm$ 0.33 <sup>bfi</sup>	71.08 $\pm$ 6.47 <sup>bfi</sup>	47.59 $\pm$ 3.60 <sup>bfi</sup>	74.83 $\pm$ 7.32 <sup>bfi</sup>
D6 h组	5.26 $\pm$ 0.42 <sup>bhm</sup>	75.01 $\pm$ 4.22 <sup>bhm</sup>	74.69 $\pm$ 2.94 <sup>bhm</sup>	98.61 $\pm$ 7.86 <sup>bhm</sup>
E1 h组	2.43 $\pm$ 0.33 <sup>b</sup>	73.19 $\pm$ 7.52 <sup>b</sup>	28.11 $\pm$ 3.52 <sup>a</sup>	18.82 $\pm$ 2.36
E3 h组	2.99 $\pm$ 0.44 <sup>b</sup>	78.30 $\pm$ 5.55 <sup>b</sup>	37.93 $\pm$ 3.25 <sup>b</sup>	35.73 $\pm$ 4.67 <sup>b</sup>
E6 h组	4.74 $\pm$ 0.25 <sup>b</sup>	85.49 $\pm$ 3.87 <sup>a</sup>	56.31 $\pm$ 3.61 <sup>b</sup>	61.05 $\pm$ 6.69 <sup>b</sup>
F值	73.725	19.743	481.818	534.031

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs A组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs B1 h组; <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs B3 h组; <sup>h</sup> $P < 0.01$  vs B6 h组; <sup>i</sup> $P < 0.05$ , <sup>j</sup> $P < 0.01$  vs E1 h组; <sup>k</sup> $P < 0.05$ , <sup>l</sup> $P < 0.01$  vs E3 h组; <sup>m</sup> $P < 0.05$ , <sup>n</sup> $P < 0.01$  vs E6 h组. MDA: 丙二醛; SOD: 超氧化物歧化酶; ROS: 活性氧; NF- $\kappa$ B: 核转录因子- $\kappa$ B. A组: 对照组; B1、B3、B6组: 生理盐水治疗1、3、6 h组; C1、C3、C6组: UTI处理1、3、6 h组; D1、D3、D6: 血必净处理1、3、6 h组; E1、E3、E6组: UTI联合血必净处理1、3、6 h组.

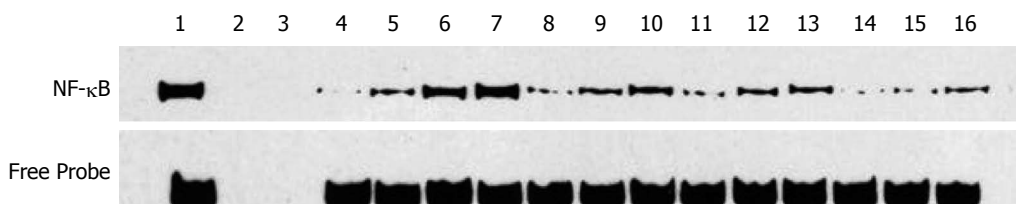


图 2 各组大鼠小肠组织NF- $\kappa$ B表达结果. 1: 为阳性对照; 2: 为阴性对照; 3: 为冷探针竞争; 4: A组; 5-7: B1、3、6 h组; 8-10: C1、3、6 h组; 11-13: D1、3、6 h组; 14-16: E1、3、6 h组. NF- $\kappa$ B: 核转录因子- $\kappa$ B. A组: 对照组; B1、B3、B6组: 生理盐水治疗1、3、6 h组; C1、C3、C6组: UTI处理1、3、6 h组; D1、D3、D6: 血必净处理1、3、6 h组; E1、E3、E6组: UTI联合血必净处理1、3、6 h组.

升高( $P < 0.05$ ), 小肠SOD水平明显降低( $P < 0.05$ ). 各治疗组与同时点B组相比, 小肠MDA、ROS水平及均显著降低( $P < 0.01$ ), 小肠SOD水平均明显升高( $P < 0.05$ ). UTI治疗组与血必净治疗组同时点相比, 小肠MDA、SOD、ROS水平及Haglund评分无明显改变( $P > 0.01$ ). UTI、血必净合用组与UTI治疗组、血必净治疗组同时点相比, 小肠MDA、ROS水平及Haglund评分均显著降低( $P < 0.01$ ), 小肠SOD水平均明显升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ).

2.3 各组动物小肠NF- $\kappa$ B含量测定结果 由表3, 图2可知, 腹腔开放伤合并海水浸泡后1-6 h, NF- $\kappa$ B明显增高, 并随时间逐渐增强, 与假手术组相比, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ). UTI及血必净治疗均可显著降低NF- $\kappa$ B活性, 与生理盐水组

相比差异有统计学意义. UTI治疗组与血必净治疗组同时点相比, 小肠NF- $\kappa$ B含量无明显改变( $P > 0.01$ ). UTI、血必净合用6 h组与UTI治疗6 h组、血必净治疗6 h组同时点相比, 差异有统计学意义( $P < 0.01$ ).

### 3 讨论

海水是一种高渗性液体, 导热系数大、温度低, 并含有数十种致病微生物, 故海水浸泡合并腹腔开放性外伤可对机体造成更严重的损害<sup>[20-22]</sup>. 高渗海水进入腹腔后可通过体腔浆膜透析作用, 导致细胞外液中的水分大量外排, 造成循环血量的急剧减少, 引起高钠、高钾、高氯血症, 进而引起微循环障碍<sup>[23,24]</sup>. 当机体处于失血与高渗性脱水的双重应激状态下, 为保证重要器官的

### 同行评价

本文研究了乌司他丁联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤肠屏障功能障碍的保护作用. 该研究发现乌司他丁联合血必净具有更好的效果, 两者具有协同作用. 其研究结果有一定的临床实用价值.

功能, 交感神经兴奋, 引起广泛肠系膜血管强烈收缩, 转移出大量肠道血液, 导致肠道缺血. 肠黏膜上皮细胞对缺血、缺氧状态耐受力差, 易引起细胞内钠、水潴留, 引起细胞水肿、坏死及细胞连接断裂, 导致肠屏障损伤. 此外, 机体应激及组织缺血再灌注过程中产生的大量具有毒性的活性氧代谢产物及炎症因子亦可加重对肠黏膜屏障的损害, 引起细菌易位及肠源性内毒素血症, 导致SIRS, 最终可导致MODS的发生<sup>[25,26]</sup>. 本研究结果也进一步证实了海水浸泡腹腔开放伤后早期即可损伤肠道屏障功能, 而UTI联合血必净干预可明显降低血浆ET、DAO水平, 抑制炎症因子及氧化应激产物的生成, 并降低肠黏膜的病理损伤程度, 提示其可保护海水浸泡腹腔开放伤大鼠肠屏障功能.

UTI是一种典型的Kuniz型的丝氨酸蛋白酶抑制剂. 他具有很强的抑制水解酶的作用, 能抑制中性粒细胞弹性蛋白酶、胰蛋白酶原、胰蛋白酶、糜蛋白酶等多种丝氨酸蛋白酶的活性, 稳定溶酶体膜、抑制溶酶体酶释放, 减轻器官损伤. 此外, UTI还可降低纤维蛋白原的合成、抑制中性粒细胞聚集、抑制炎症介质释放、抑制细胞凋亡、改善免疫功能, 从而控制过度炎症反应、降低SIRS发生率<sup>[27-31]</sup>. Rui<sup>[32]</sup>研究表明, UTI能抑制NF- $\kappa$ B及其相关炎症因子的活性, 从而降低海水淹溺型急性肺损伤的发生率. Okuhama等<sup>[33]</sup>研究证明, UTI能抑制肝缺血再灌注过程中过量活性氧代谢产物, 减轻其对肝脏的损害. 血必净注射液是从32组中药处方中筛选出的具有对抗细菌毒素、降低内毒素水平、调节免疫功能、抑制炎症介质释放、改善微循环的有效药物, 主要含有红花、赤芍、川芎、丹参、当归等成份. 血必净具有很强的拮抗内毒素作用, 可强效拮抗内毒素诱导单核-巨噬细胞、T淋巴细胞、中性粒细胞等活性细胞产生内源性炎症介质释放, 减轻炎症反应<sup>[34-39]</sup>. 蒋涛等<sup>[40]</sup>研究表明, 血必净可显著降低大鼠脑创伤后MDA水平, 提高SOD活性, 缓解脑水肿, 提示血必净注射液可减轻氧自由基和脂质过氧化损伤. SOD活力的高低间接体现了机体清除氧自由基的能力. MDA含量则可反映机体内脂质过氧化的程度<sup>[41,42]</sup>. 本研究显示, 海水浸泡腹腔开放伤后肠组织MDA、ROS含量显著升高, 同时伴随着SOD含量的降低, 提示海水浸泡腹腔开放伤后活性氧代谢产物在肠屏障功能损伤过程中起着重要的介导作用. 血必净、UTI单独使用时均能

显著降低肠组织MDA、ROS含量, 提高SOD含量, 有效减轻氧自由基和脂质过氧化损伤; 而血必净与UTI联合应用则能显示出更好的效果, 两者具有协同作用.

在海水浸泡腹部开放伤的病理生理过程中, 核转录因子NF- $\kappa$ B的活化对肠屏障功能的损伤起到核心作用<sup>[43,44]</sup>. NF- $\kappa$ B是一类关键性的核转录因子, 是多种炎症因子的细胞内信号传导因子, 对机体内免疫应答及炎症反应起到重要的调节作用. 静息状态下, NF- $\kappa$ B以同二聚体或异二聚体形式存在于多种细胞的胞浆内, 并与其抑制蛋白I $\kappa$ B(inhibitors of NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B)结合并非活性状态存在. 在应激、细菌内毒素、炎症因子、活性氧自由基等刺激下, I $\kappa$ B发生磷酸化, 并与NF- $\kappa$ B二聚体解离, 最终使NF- $\kappa$ B从胞浆转移到核内, 诱导多种细胞因子、炎症介质及黏附分子及蛋白酶类的转录合成, 最终损伤肠屏障功能<sup>[45-50]</sup>. 本研究结果显示, 海水浸泡腹腔开放伤后肠组织NF- $\kappa$ B活性明显增高, 提示NF- $\kappa$ B的激活可能在肠屏障功能障碍中起着中心调控作用. UTI及血必净治疗均可抑制NF- $\kappa$ B活性, TNF- $\alpha$ 、IL-6也随之下调, 与生理盐水对照组相比, 损伤病理评分亦明显降低, 且以两者联合应用疗效最佳. 这一结果从另一侧面证明了NF- $\kappa$ B及其相关炎症因子参与了病变过程, 同时亦提示早期适量使用UTI及血必净能及时阻断NF- $\kappa$ B和炎症因子间正反馈机制, 明显减轻海水浸泡导致的炎症反应和病理损害.

UTI与血必净联合应用, 既能拮抗内毒素作用、减轻氧自由基和脂质过氧化损伤, 又能抑制NF- $\kappa$ B激活及炎症介质的释放, 两者具有协同作用, 可明显保护海水浸泡腹部开放伤后肠屏障功能, 有效预防SIRS及MODS的发生, 为临床救治海水浸泡腹部开放伤提供了新的思路.

#### 4 参考文献

- 1 王志伟, 吴印爱, 刘献棠, 蒋邦好, 罗真东, 胡世雄. 腹腔海水浸泡对大鼠肠黏膜屏障功能的影响. 中华航海医学与高气压医学杂志 2003; 10: 129-132
- 2 孙涛, 李欣, 金博, 刘超群, 浦江, 付山峰, 段蕴铀. 腹部开放伤后海水浸泡对犬肠功能及形态学的影响. 中华航海医学与高气压医学杂志 2007; 14: 261-264
- 3 刘刚, 王强, 王育红, 周丽君, 王欲晓. 腹部开放伤合并人工海水浸泡大鼠肠道免疫屏障功能的变化. 中华航海医学与高气压医学杂志 2008; 15: 131-134
- 4 吴印爱, 王志伟, 刘从棠, 谢尚奎, 蒋邦好, 罗真东. 腹腔开放伤并海水浸泡对犬血浆自由基水平的影响. 中华航海医学与高气压医学杂志 2001; 8: 148-150
- 5 孙涛, 李欣, 刘超群, 金博, 付山峰, 吴珊珊, 胡媛琴, 胡晓红, 段蕴铀. 腹部开放伤后海水浸泡致犬小肠缺血



- 与缺血再灌注损伤的初步研究. 中华航海医学与高气压医学杂志 2010; 17: 85-87
- 6 王育红, 刘刚, 虞积耀, 孟宇宏, 张夕凉, 周丽君, 王大鹏. 核因子- $\kappa$ B与腹部开放伤合并海水浸泡大鼠全身炎症反应综合征的关系. 创伤外科杂志 2009; 11: 163-165
  - 7 王育红, 杨兴东, 段蕴铀, 虞积耀, 姜福亭, 何远翔, 王大鹏. 犬腹部开放伤合并人工海水浸泡的早期综合救治分析. 中华普通外科杂志 2004; 19: 367-369
  - 8 王育红, 鹿尔驯, 虞积耀, 李辉, 王大鹏, 周正谋. 腹部开放性损伤犬经海水浸泡后血液动力学及病理学的变化. 中华外科杂志 2000; 38: 700-702
  - 9 黎君友, 于燕. 分光光度法测定血和小肠组织二胺氧化酶活性. 氨基酸与生物资源 1996; 18: 18-30
  - 10 胡晓骅, 葛艳玲, 辛动, 李海波, 张会英, 孙永华. 乌司他丁对严重烧伤小型猪肠黏膜损伤的影响. 中华烧伤杂志 2003; 19: 18-21
  - 11 Cheon JH, Kim JS, Kim JM, Kim N, Jung HC, Song IS. Plant sterol guggulsterone inhibits nuclear factor-kappaB signaling in intestinal epithelial cells by blocking IkappaB kinase and ameliorates acute murine colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 1152-1161 [PMID: 17119390 DOI: 10.1097/01.mib.0000235830.94057.c6]
  - 12 Ma L, Zhao Y, Li B, Wang Q, Liu X, Chen X, Nan Y, Liang L, Chang R, Liang L, Li P, Jin F. 3,5,4'-Tri-O-acetylresveratrol attenuates seawater aspiration-induced lung injury by inhibiting activation of nuclear factor-kappa B and hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ . *Respir Physiol Neurobiol* 2013; 185: 608-614 [PMID: 23219988 DOI: 10.1016/j.resp.2012.11.016]
  - 13 Rymsa B, Wang JF, de Groot H. O<sub>2</sub>· release by activated Kupffer cells upon hypoxia-reoxygenation. *Am J Physiol* 1991; 261: G602-G607 [PMID: 1656773 DOI: 10.2174/138161206777947614]
  - 14 Rosenkranz AR, Schmalldienst S, Stuhlmeier KM, Chen W, Knapp W, Zlabinger GJ. A microplate assay for the detection of oxidative products using 2',7'-dichlorofluorescein-diacetate. *J Immunol Methods* 1992; 156: 39-45 [PMID: 1431161 DOI: 10.1016/0022-1759(92)90008-I]
  - 15 Sun X, Ai M, Wang Y, Shen S, Gu Y, Jin Y, Zhou Z, Long Y, Yu Q. Selective induction of tumor cell apoptosis by a novel P450-mediated reactive oxygen species (ROS) inducer methyl 3-(4-nitrophenyl) propiolate. *J Biol Chem* 2013; 288: 8826-8837 [PMID: 23382387 DOI: 10.1074/jbc.M112.429316]
  - 16 Huang YL, Kou JP, Ma L, Song JX, Yu BY. Possible mechanism of the anti-inflammatory activity of ruscogenin: role of intercellular adhesion molecule-1 and nuclear factor-kappaB. *J Pharmacol Sci* 2008; 108: 198-205 [PMID: 18946195 DOI: 10.1254/jphs.08083FP]
  - 17 Zhang N, Xu Y, Zhang Z, Xiong W. A nonradioactive method for detecting DNA-binding activity of nuclear transcription factors. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2003; 23: 227-229 [PMID: 14526418 DOI: 10.1007/BF02829498]
  - 18 Wang H, Li ZY, Wu HS, Wang Y, Jiang CF, Zheng QC, Zhang JX. Endogenous danger signals trigger hepatic ischemia/reperfusion injury through toll-like receptor 4/nuclear factor-kappa B pathway. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 509-514 [PMID: 17439747 DOI: 10.3760/j.issn]
  - 19 Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott HJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. I. A morphological, hemodynamic, and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970; 101: 478-483 [PMID: 5457245 DOI: 10.1001/archsurg.1970.01340280030009]
  - 20 薛小军, 张文华, 周松, 李冉冉, 张行健, 陈文有, 陈达丰, 邹耀祥. 伤后早期应用乌司他丁对海水浸泡兔腹部开放伤的干预效果. 解放军医学杂志 2013; 25: 35-38
  - 21 王育红, 杨兴东, 段蕴铀, 虞积耀, 姜福亭, 何远翔, 王大鹏. 犬腹部开放伤合并人工海水浸泡的早期综合救治分析. 中华普通外科杂志 2004; 19: 367-369
  - 22 王育红, 鹿尔驯, 虞积耀, 李辉, 王大鹏, 周正谋. 腹部开放性损伤犬经海水浸泡后血液动力学及病理学的变化. 中华外科杂志 2000; 38: 700-702
  - 23 姜福亭, 王育红, 段蕴铀, 杨兴东, 何远翔, 虞积耀, 王大鹏. 犬腹部开放伤合并人工海水浸泡后水、电解质的变化. 创伤外科杂志 2003; 5: 360-363
  - 24 虞积耀, 赖西南. 海战伤合并海水浸泡伤的伤情特点及救治技术研究进展. 解放军医学杂志 2004; 29: 1017-1019
  - 25 周松, 张文华, 李冉冉, 张行健, 薛小军, 陈文有, 陈达丰, 邹耀祥. 乌司他丁联合血必净对海水浸泡腹腔开放伤兔血流动力学的影响. 西南国防医药杂志 2012; 23: 236-239
  - 26 王育红, 虞积耀, 段蕴铀, 杨兴东, 姜福亭, 何远翔, 王大鹏. 犬腹部开放伤合并人工海水浸泡后重要器官的病理变化. 创伤外科杂志 2004; 6: 34-37
  - 27 Kanai T, Ishiwata T, Kobayashi T, Sato H, Takizawa M, Kawamura Y, Tsujimoto H, Nakatani K, Ishibashi N, Nishiyama M, Hatai Y, Asano Y, Kobayashi T, Takeshita S, Nonoyama S. Ulinastatin, a urinary trypsin inhibitor, for the initial treatment of patients with Kawasaki disease: a retrospective study. *Circulation* 2011; 124: 2822-2828 [PMID: 22104548 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.111.028423]
  - 28 Inoue K, Takano H, Shimada A, Yanagisawa R, Sakurai M, Yoshino S, Sato H, Yoshikawa T. Urinary trypsin inhibitor protects against systemic inflammation induced by lipopolysaccharide. *Mol Pharmacol* 2005; 67: 673-680 [PMID: 15576631 DOI: 10.1124/mol.104.005967]
  - 29 Tanaka R, Fujita M, Tsuruta R, Fujimoto K, Aki HS, Kumagai K, Aoki T, Kobayashi A, Izumi T, Kasaoka S, Yuasa M, Maekawa T. Urinary trypsin inhibitor suppresses excessive generation of superoxide anion radical, systemic inflammation, oxidative stress, and endothelial injury in endotoxemic rats. *Inflamm Res* 2010; 59: 597-606 [PMID: 20148283 DOI: 10.1007/s00011-010-0166-8]
  - 30 Cao YZ, Tu YY, Chen X, Wang BL, Zhong YX, Liu MH. Protective effect of Ulinastatin against murine models of sepsis: inhibition of TNF- $\alpha$  and IL-6 and augmentation of IL-10 and IL-13. *Exp Toxicol Pathol* 2012; 64: 543-547 [PMID: 21159497 DOI: 10.1016/j.etp.2010.11.011]
  - 31 Huang N, Wang F, Wang Y, Hou J, Li J, Deng X. Ulinastatin improves survival of septic mice by suppressing inflammatory response and lymphocyte apoptosis. *J Surg Res* 2013; 182: 296-302 [PMID: 23158408 DOI: 10.1016/j.jss.2012.10.043]
  - 32 Rui M, Duan YY, Zhang XH, Wang HL, Wang DP. Urinary trypsin inhibitor attenuates seawater-induced acute lung injury by influencing the activities of nuclear factor-kB and its related inflammatory mediators. *Respiration* 2012; 83: 335-343 [PMID: 22179035 DOI: 10.1159/000333378]
  - 33 Okuhama Y, Shiraishi M, Higa T, Tomori H, Taira K, Mamadi T, Muto Y. Protective effects of ulinastatin against ischemia-reperfusion injury. *J Surg Res* 1999; 82:

- 34-42 [PMID: 10068523 DOI: 10.1006/jsre.1998.5496]
- 34 徐伟松, 范辉, 刘玉峰, 王一平, 李振东. 血必净对急性胰腺炎大鼠血清中TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 和IL-6浓度的影响. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2777-2781
- 35 Qi F, Liang ZX, She DY, Yan GT, Chen LA. A clinical study on the effects and mechanism of xuebijing injection in severe pneumonia patients. *J Tradit Chin Med* 2011; 31: 46-49 [PMID: 21563507 DOI: 10.1016/S0254-6272(11)60011-3]
- 36 Wang YB, Wang Q, Yao YM, Sheng ZY, Liu YF. Effect of Xuebijing injection on systemic lupus erythematosus in mice. *Chin J Integr Med* 2013; 19: 675-682 [PMID: 23975132 DOI: 10.1007/s11655-013-1561-0]
- 37 Jiang M, Zhou M, Han Y, Xing L, Zhao H, Dong L, Bai G, Luo G. Identification of NF- $\kappa$ B Inhibitors in Xuebijing injection for sepsis treatment based on bioactivity-integrated UPLC-Q/TOF. *J Ethnopharmacol* 2013; 147: 426-433 [PMID: 23524166 DOI: 10.1016/j.jep.2013.03.032]
- 38 Sun J, Xue Q, Guo L, Cui L, Wang J. Xuebijing protects against lipopolysaccharide-induced lung injury in rabbits. *Exp Lung Res* 2010; 36: 211-218 [PMID: 20426529 DOI: 10.3109/01902140903312123]
- 39 He XD, Wang Y, Wu Q, Wang HX, Chen ZD, Zheng RS, Wang ZS, Wang JB, Yang Y. Xuebijing Protects Rats from Sepsis Challenged with *Acinetobacter baumannii* by Promoting Annexin A1 Expression and Inhibiting Proinflammatory Cytokines Secretion. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013; 2013: 804940 [PMID: 24369483 DOI: 10.1155/2013/804940]
- 40 蒋涛, 廖正步, 但炜, 孙晓川, 谢延凤, 王超, 周元国, 刘萍. 血必净对大鼠创伤性脑损伤保护作用的初步研究. 第三军医大学学报 2012; 34: 307-310
- 41 Lima PR, de Melo TS, Carvalho KM, de Oliveira ÍB, Arruda BR, de Castro Brito GA, Rao VS, Santos FA. 1,8-cineole (eucalyptol) ameliorates cerulein-induced acute pancreatitis via modulation of cytokines, oxidative stress and NF- $\kappa$ B activity in mice. *Life Sci* 2013; 92: 1195-1201 [PMID: 23702424 DOI: 10.1016/j.lfs.2013.05.009]
- 42 Song WB, Wang YY, Meng FS, Zhang QH, Zeng JY, Xiao LP, Yu XP, Peng DD, Su L, Xiao B, Zhang ZS. Curcumin protects intestinal mucosal barrier function of rat enteritis via activation of MKP-1 and attenuation of p38 and NF- $\kappa$ B activation. *PLoS One* 2010; 5: e12969 [PMID: 20885979 DOI: 10.1371/journal.pone.0012969]
- 43 韩志海, 虞积耀, 胡明, 王宇, 王大鹏, 姜涛. 实时荧光定量PCR分析海水浸泡伤大鼠小肠组织NF- $\kappa$ B及上游受体TLR4 mRNA的表达. 第二军医大报 2011; 32: 688-691
- 44 虞积耀, 韩志海, 王宇. 海水浸泡对大鼠小肠组织NF- $\kappa$ B, I $\kappa$ B $\alpha$ 表达的影响. 中华航海医学与高气压医学杂志 2009; 16: 79-81
- 45 Hoesel B, Schmid JA. The complexity of NF- $\kappa$ B signaling in inflammation and cancer. *Mol Cancer* 2013; 12: 86 [PMID: 23915189 DOI: 10.1186/1476-4598-12-86]
- 46 Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001; 107: 7-11 [PMID: 11134171 DOI: 10.1172/JCI11830]
- 47 Baldwin AS. The NF-kappa B and I kappa B proteins: new discoveries and insights. *Annu Rev Immunol* 1996; 14: 649-683 [PMID: 8717528 DOI: 10.1146/annurev.immunol.14.1.649]
- 48 Schottelius AJ, Baldwin AS. A role for transcription factor NF-kappa B in intestinal inflammation. *Int J Colorectal Dis* 1999; 14: 18-28 [PMID: 10207726 DOI: 10.1007/s003840050178]
- 49 Hayden MS, Ghosh S. Shared principles in NF-kappaB signaling. *Cell* 2008; 132: 344-362 [PMID: 18267068 DOI: 10.1016/j.cell.2008.01.020]
- 50 Pasparakis M, Luedde T, Schmidt-Supprian M. Dissection of the NF-kappaB signalling cascade in transgenic and knockout mice. *Cell Death Differ* 2006; 13: 861-872 [PMID: 16470223 DOI: 10.1038/sj.cdd.4401870]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 扩张术、扩张加注射术及支架扩张术治疗贲门失弛缓症的疗效对比

徐征艳, 石 硕, 何庆梅, 高妮娜

徐征艳, 石硕, 何庆梅, 高妮娜, 大庆龙南医院(齐齐哈尔医学院第五附属医院)消化内科 黑龙江省大庆市 163453  
徐征艳, 主治医师, 主要从事消化内科常见疾病的研究。  
作者贡献分布: 课题设计由徐征艳完成; 论文写作由徐征艳与石硕完成; 研究过程由何庆梅完成; 数据分析由高妮娜完成。  
通讯作者: 徐征艳, 主治医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 大庆龙南医院(齐齐哈尔医学院第五附属医院)消化内科。  
tuzhyan@163.com  
电话: 0459-5910206  
收稿日期: 2013-12-23 修回日期: 2014-01-14  
接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Comparative study of efficacy of dilatation, dilatation with botulinum toxin injection and stenting in treatment of achalasia

Zheng-Yan Tu, Shuo Shi, Qing-Mei He, Ni-Na Gao

Zheng-Yan Tu, Shuo Shi, Qing-Mei He, Ni-Na Gao, Department of Gastroenterology, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China  
Correspondence to: Zheng-Yan Tu, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, 35 Aiguo Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. tuzhyan@163.com  
Received: 2013-12-23 Revised: 2014-01-14  
Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To compare the improvement of esophageal dynamics in patients with achalasia after treatment by dilatation, dilatation with botulinum toxin injection and stenting.

**METHODS:** One hundred and thirty patients with achalasia were selected and divided into three groups: A ( $n = 30$ ), B ( $n = 38$ ) and C ( $n = 62$ ). Group A was treated by water balloon dilatation. Group B was treated by water balloon dilatation and botulinum toxin injection. Group C was treated by stenting. The resting pressure of the lower esophageal sphincter (LES), relaxation rate, the percentage of concordant and

discordant contraction of esophageal body and the contraction amplitude at 10 cm above the LES were tested and compared before and 1 wk, 6 mo and 12 mo after the treatment (or stent removal).

**RESULTS:** The differences in all parameters tested among the three groups were not statistically significant before the treatment and 1 wk after the treatment (or stent removal) ( $P > 0.05$  for all). Six months after the treatment (or stent removal), in the group B, the improvement of the resting pressure of the LES was  $-28.82 \text{ mmHg} \pm 9.18 \text{ mmHg}$ , the relaxing ratio was  $34.53\% \pm 10.17\%$ , and the contraction amplitude of esophageal body was  $-27.47 \text{ mmHg} \pm 8.04 \text{ mmHg}$ ; the corresponding values in group C were  $-31.11 \text{ mmHg} \pm 7.46 \text{ mmHg}$ ,  $36.12\% \pm 10.45\%$ , and  $-32.01 \text{ mmHg} \pm 9.58 \text{ mmHg}$ . The above parameters in groups B and C were significantly higher than those in group A ( $P < 0.05$  for all). Twelve months after the treatment (or stent removal), in group C, the improvement of the resting pressure of the LES ( $-18.71 \text{ mmHg} \pm 2.64 \text{ mmHg}$ ), relaxation rate ( $18.63\% \pm 7.84\%$ ) and the percentage of concordant and discordant contraction of esophageal body ( $20.54\% \pm 9.45\%$ ,  $-28.69 \text{ mmHg} \pm 7.56 \text{ mmHg}$ ) were significantly higher than those in groups A and B ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Water balloon dilation, dilation with botulinum toxin injection and stenting all can improve esophageal dynamics in a short term in patients with achalasia, with stenting having a better long-term effect.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Dilation; Botulinum toxin; Stenting; Achalasia

Tu ZY, Shi S, He QM, Gao NN. Comparative study of efficacy of dilatation, dilatation with botulinum toxin injection and stenting in treatment of achalasia. *Shijie Huaren*

## ■背景资料

贲门失弛缓症是常见的食管动力性疾病。本病的发病机制主要是由于食管贲门部的神经肌肉功能障碍, 导致食管下括约肌松弛不全, 进而引起患者出现吞咽困难、食物反流等临床症状。本病的治疗方法包括内科保守治疗、内镜治疗、手术治疗等, 而内镜治疗主要包括气囊扩张、肉毒杆菌注射及暂时性置入支架, 临床常根据患者的具体病情选择不同的疗法, 但对于3种内镜疗法具体临床疗效的比较, 临床较少去关注。

## ■同行评议者

程英升, 教授, 同济大学附属第十人民医院影像临床医学中心



## ■ 研发前沿

由于食管下括约肌弛缓障碍,食物滞留于食管中,出现食管扩张,引起患者吞咽困难、食物反流、胸痛等症状,对患者的生活和工作造成严重困扰。

Xiaohua Zazhi 2014; 22(8): 1121-1126 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1121>

## 摘要

**目的:** 对比扩张术、扩张加肉毒杆菌毒素注射以及支架扩张术治疗贲门失弛缓症后的食管动力学变化。

**方法:** 选取我院收治的贲门失弛缓症患者130例,根据治疗方法的不同,将其分为A组30例, B组38例以及C组62例。A组采用水囊扩张术治疗; B组采用水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射治疗; C组采用支架扩张术治疗。所有患者均在治疗前,治疗(支架取出)后1 wk、6和12 mo时检测食管下括约肌静息压、松弛率、食管体部顺行性收缩比例、非协调性收缩比例、食管下括约肌上10 cm收缩幅度并进行分析对比。

**结果:** 3组患者治疗前、治疗(支架取出)后1 wk的各项食管动力学指标的对比,差异没有统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗(支架取出)6 mo后, B组的食管下括约肌静息压为 $-28.82 \text{ mmHg} \pm 9.18 \text{ mmHg}$ , 松弛率为 $34.53\% \pm 10.17\%$ , 食管体部收缩幅度为 $-27.47 \text{ mmHg} \pm 8.04 \text{ mmHg}$ , C组的食管下括约肌静息压 $-31.11 \text{ mmHg} \pm 7.46 \text{ mmHg}$ , 松弛率为 $36.12\% \pm 10.45\%$ , 食管体部收缩幅度为 $-32.01 \text{ mmHg} \pm 9.58 \text{ mmHg}$ , 均显著高于A组( $P<0.05$ ); 治疗(支架取出)12 mo后, C组的食管下括约肌静息压为 $-18.71 \text{ mmHg} \pm 2.64 \text{ mmHg}$ , 松弛率为 $18.63\% \pm 7.84\%$ , 食管体部顺行性收缩比例为 $20.54\% \pm 9.45\%$ , 收缩幅度为 $-28.69 \text{ mmHg} \pm 7.56 \text{ mmHg}$ , 均显著高于A组和B组( $P<0.05$ )。

**结论:** 水囊扩张术、扩张加肉毒杆菌毒素注射术、支架扩张术均能够在短时间内改善贲门失弛缓症患者的食管动力学指标,而支架扩张术能够更为长久地维持食管动力学指标的改善,远期疗效更佳。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 扩张术; 肉毒杆菌毒素; 支架扩张术; 贲门失弛缓症

**核心提示:** 本研究通过检测扩张术、扩张加肉毒杆菌毒素注射术以及支架扩张术治疗贲门失弛缓症患者后的食管动力学变化以对比3种内镜疗法的临床疗效。水囊扩张术、扩张加肉毒杆菌毒

素注射术、支架扩张术均能够在短时间内改善贲门失弛缓症患者的食管动力学指标,而支架扩张术能够更为长久地维持食管动力学指标的改善,远期疗效更佳。

涂征艳, 石硕, 何庆梅, 高妮娜. 扩张术、扩张加注射术及支架扩张术治疗贲门失弛缓症的疗效对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1121-1126 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1121.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1121>

## 0 引言

贲门失弛缓症是常见的食管动力性疾病。本病的发病机制主要是由于食管贲门部的神经肌肉功能障碍,导致食管下括约肌松弛不全,进而引起患者出现吞咽困难、食物反流等临床症状<sup>[1]</sup>。本病的治疗方法包括内科保守治疗、内镜治疗、手术治疗等,而内镜治疗主要包括水囊扩张、肉毒杆菌注射及暂时性置入支架<sup>[2]</sup>,临床常根据患者的具体病情选择不一样的疗法,但对于3种内镜疗法具体临床疗效的比较,临床较少去关注。因此,本研究通过检测扩张术、扩张加肉毒杆菌毒素注射术以及支架扩张术治疗贲门失弛缓症患者后的食管动力学变化以对比3种内镜疗法的临床疗效,现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2010-04/2013-04我院收治的贲门失弛缓症患者130例,根据治疗方法的不同,将上述患者分为A组30例, B组38例以及C组62例。3组患者在年龄、性别、病程以及吞咽困难严重程度分级<sup>[3]</sup>(0级: 正常吞咽; 1级: 可吞咽大部分固体食物; 2级: 只能吞咽半固体食物; 3级: 只能吞咽液体食物; 4级不能吞咽液体食物)方面对比,差异没有统计学意义,3组患者具有可比性(表1)。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入标准:** 参照美国ACG发布的《贲门失弛缓症诊断和治疗指南》<sup>[4]</sup>中的相关标准进行诊断。同时排除合并有其他器质性食管、胃部疾病的患者。

**1.2.2 治疗方案:** A组采用内镜下单纯扩张术进行治疗。内镜采用奥林巴斯GIF-XQ260电子胃镜。在胃镜的直视下,观察贲门狭窄的情况。采用美国Boston Scientific公司的Rigiflex TTS扩张水囊,经电子胃镜,穿过狭窄部位。然后将造影剂注入水囊中,保持水囊的直径在2 cm左右。大约2 min

表 1 3组贲门失弛缓症患者基线比较 (*n*)

分组	<i>n</i>	性别		年龄(岁)	病程(年)	吞咽困难严重程度		
		男	女			2级	3级	4级
A组	30	17	13	37.84 ± 10.26	5.63 ± 2.81	5	23	2
B组	38	21	17	36.27 ± 10.33	5.48 ± 2.76	6	29	3
C组	62	35	27	37.61 ± 10.58	5.62 ± 2.18	10	48	4
<i>F</i> χ <sup>2</sup> 值		0.018		0.075	0.182		0.087	
<i>P</i> 值		0.999		0.991	0.837		0.391	

A组: 采用水囊扩张术治疗; B组: 采用水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射治疗; C组: 采用支架扩张术治疗。

表 2 3组贲门失弛缓症患者治疗前的食管压力测试结果 (mean ± SD)

分组	<i>n</i>	食管下括约肌		食管体部		
		静息压(mmHg)	松弛率(%)	顺行性收缩(%)	非协调性收缩(%)	收缩幅度(mmHg)
A组	30	49.08 ± 8.19	56.64 ± 10.83	36.17 ± 9.03	48.59 ± 18.73	97.14 ± 23.87
B组	38	52.36 ± 8.04	58.49 ± 12.83	38.24 ± 8.07	51.74 ± 18.03	97.94 ± 28.74
C组	62	51.37 ± 8.94	58.21 ± 16.92	37.38 ± 8.52	52.04 ± 21.63	99.57 ± 29.82
<i>F</i> 值		1.327	0.829	1.028	2.839	1.993
<i>P</i> 值		0.625	0.839	0.677	0.382	0.402

A组: 采用水囊扩张术治疗; B组: 采用水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射治疗; C组: 采用支架扩张术治疗。

后, 抽出造影剂并取出水囊。在电子胃镜的直视下, 再次确认狭窄情况。如发现狭窄处均按照上述方法扩张, 消除狭窄后, 治疗结束。B组在A组方案的基础上, 注射肉毒杆菌毒素进行治疗。在水囊扩张狭窄处后, 在胃镜的直视下注射肉毒杆菌毒素。注射点为食管壁齿状线下缘等间距的4个点。确认无发生出血、穿孔等后治疗结束。C组采用支架扩张术治疗, 通过电子胃镜了解狭窄情况, 并在X光的引导下注射造影剂于狭窄处上下2 cm处作为标记。留置导丝, 将其头端放置于胃窦部后退出胃镜。在导丝和X光的引导下, 将支架推送管送入狭窄处并逐步放置支架, 同时注意调整支架位置, 保持狭窄处的扩张状态。支架在术后1 mo取出。

1.2.3 观察指标: 3组患者在治疗前, 治疗后(支架取出后)1 wk、6、12 mo进行食管压力测试。对比3组患者的食管下括约肌静息压、松弛率, 食管体部顺行性收缩比例、非协调性收缩比例、食管下括约肌上10 cm收缩幅度。对比其治疗前后各项指标的差值(变化值)。

**统计学处理** 对所收集的资料采用统计学软件SPSS17.0进行分析, 计量资料采用mean ± SD

进行表示, 计量资料的对比采用*t*检验, 3组间比较采用方差分析, *P* < 0.05为差异具有统计学意义。

## 2 结果

所有患者均有不同程度的吞咽困难、食物反流等症状, 上述症状反复出现超过半年; 钡餐检查提示食管胃结合处狭窄, 呈“鸟嘴征”, 食管蠕动消失(图1); 内镜检查提示食管管腔扩大, 内有食物潴留, 贲门口狭窄, 内镜可在加压后通过贲门进入胃内; 食管测压提示食管下括约肌压力升高, 吞咽时松弛不全。

2.1 3组患者治疗前的食管压力测试 3组患者治疗前的食管下括约肌静息压、松弛率、食管体部顺行性收缩比例、非协调性收缩比例、收缩幅度的对比, 差异没有统计学意义(均*P* > 0.05)(表2)。

2.2 3组患者治疗1 wk后(支架取出1 wk后)食管压力测试结果的变化值 3组患者治疗1 wk后的食管下括约肌静息压、松弛率、食管体部顺行性收缩比例、非协调性收缩比例、收缩幅度变化值的对比, 差异没有统计学意义(均*P* > 0.05)(表3)。

## ■相关报道

薛成俊的研究报道也证实, 相对于单纯扩张术, 扩张术联合肉毒杆菌毒素注射具有更好的远期疗效。

## ■应用要点

单纯扩张术、扩张术加肉毒杆菌毒素注射均能够通过撕裂食管下括约肌而解除食道梗阻,具有良好的近期疗效,能够迅速改善患者的临床症状。

表 3 3组贲门失弛缓症患者治疗1 wk后(支架取出1 wk后)食管压力测试结果变化值 (mean ± SD)

分组	n	食管下括约肌		食管体部		
		静息压(mmHg)	松弛率(%)	顺行性收缩(%)	非协调性收缩(%)	收缩幅度(mmHg)
A组	30	-25.68 ± 8.31	29.46 ± 8.18	6.09 ± 1.73	-3.65 ± 0.57	-16.41 ± 7.78
B组	38	-29.26 ± 7.84	33.39 ± 10.78	2.82 ± 1.16	-3.87 ± 0.93	-15.79 ± 6.47
C组	62	-29.13 ± 6.69	31.02 ± 10.59	5.63 ± 1.27	-3.34 ± 0.86	-19.15 ± 6.58
F值		3.018	1.987	3.710	1.025	1.379
P值		0.192	0.400	0.083	0.676	0.618

A组: 采用水囊扩张术治疗; B组: 采用水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射治疗; C组: 采用支架扩张术治疗。

表 4 3组贲门失弛缓症患者治疗6 mo后(支架取出6 mo后)食管压力测试结果变化值 (mean ± SD)

分组	n	食管下括约肌		食管体部		
		静息压(mmHg)	松弛率(%)	顺行性收缩(%)	非协调性收缩(%)	收缩幅度(mmHg)
A组	30	-20.56 ± 8.39	18.24 ± 8.41	14.80 ± 6.17	-16.06 ± 5.65	-18.34 ± 8.47
B组	38	-28.82 ± 9.18 <sup>a</sup>	34.53 ± 10.17 <sup>a</sup>	15.58 ± 6.02	-15.28 ± 6.09	-27.47 ± 8.04 <sup>a</sup>
C组	62	-31.11 ± 7.46 <sup>a</sup>	36.12 ± 10.45 <sup>a</sup>	17.46 ± 4.52	-17.13 ± 4.78	-32.01 ± 9.58 <sup>a</sup>

A组: 采用水囊扩张术治疗; B组: 采用水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射治疗; C组: 采用支架扩张术治疗。 <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs A组, 其中B组: 静息压 $t = 4.928$ , 松弛率 $t = 8.027$ , 收缩幅度 $t = 5.293$ ; C组: 静息压 $t = 5.792$ , 松弛率 $t = 9.103$ , 收缩幅度 $t = 7.838$ 。

表 5 3组贲门失弛缓症患者治疗6 mo后(支架取出6 mo后)食管压力测试结果变化值 (mean ± SD)

分组	n	食管下括约肌		食管体部		
		静息压(mmHg)	松弛率(%)	顺行性收缩(%)	非协调性收缩(%)	收缩幅度(mmHg)
A组	30	-8.25 ± 2.73 <sup>a</sup>	8.43 ± 2.34 <sup>a</sup>	9.68 ± 2.21 <sup>a</sup>	-18.31 ± 6.46	-14.53 ± 7.35 <sup>a</sup>
B组	38	-11.18 ± 4.12 <sup>a</sup>	10.65 ± 3.72 <sup>a</sup>	12.35 ± 4.73 <sup>a</sup>	-21.23 ± 8.64	-16.84 ± 5.76 <sup>a</sup>
C组	62	-18.71 ± 2.64	18.63 ± 7.84	20.54 ± 9.45	-22.37 ± 9.17	-28.69 ± 7.56

A组: 采用水囊扩张术治疗; B组: 采用水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射治疗; C组: 采用支架扩张术治疗。 <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs C组, 其中A组: 静息压 $t = 5.792$ , 松弛率 $t = 5.381$ , 顺行性收缩比例 $t = 6.075$ , 收缩幅度 $t = 7.831$ ; B组: 静息压 $t = 4.052$ , 松弛率 $t = 4.231$ , 顺行性收缩比例 $t = 5.052$ , 收缩幅度 $t = 6.392$ 。



图 1 钡餐检查示食管下段扩张,食管胃结合处呈“鸟嘴征”。

2.3 3组患者治疗6 mo后(支架取出6 mo后)食管压力测试结果的变化值 治疗6 mo后(支架取出

6 mo后), B组的食管下括约肌静息压为-28.82 mmHg ± 9.18 mmHg, 松弛率为34.53% ± 10.17%, 食管体部收缩幅度为-27.47 mmHg ± 8.04 mmHg, C组的食管下括约肌静息压为-31.11 mmHg ± 7.46 mmHg, 松弛率为36.12% ± 10.45%, 食管体部收缩幅度为-32.01 mmHg ± 9.58 mmHg, 均显著高于A组(均 $P < 0.05$ ); B组和C组各项指标的对比, 差异没有统计学意义(均 $P > 0.05$ ) (表4)。

2.4 3组患者治疗12 mo后(支架取出12 mo后)食管压力测试结果的变化值 治疗12 mo后(支架取出12 mo后), C组的食管下括约肌静息压为-18.71 mmHg ± 2.64 mmHg, 松弛率为18.63% ± 7.84%, 食管体部顺行性收缩比例为20.54% ±



9.45%, 收缩幅度为 $-28.69 \text{ mmHg} \pm 7.56 \text{ mmHg}$ , 均显著高于A组和B组( $P < 0.05$ ); A组和B组各项指标的对比, 差异没有统计学意义(表5)。

### 3 讨论

贲门失弛缓症是常见的食管运动障碍性疾病, 其发病与食管神经肌肉功能障碍有关<sup>[5]</sup>。由于食管下括约肌弛缓障碍, 食物滞留于食管中, 出现食管扩张, 引起患者吞咽困难、食物反流、胸痛等症状, 对患者的生活和工作造成严重的困扰。临床治疗主要通过扩张食管狭窄处, 解除食道梗阻而缓解临床症状。目前的治疗措施主要有药物口服、内镜下扩张术、肉毒杆菌毒素注射以及手术等<sup>[6]</sup>。药物治疗仅适用于轻症患者。单纯扩张术、扩张术加肉毒杆菌毒素注射均能够通过撕裂食管下括约肌而解除食道梗阻, 具有良好的近期疗效, 能够迅速改善患者的临床症状<sup>[7]</sup>。但是由于扩张术的水囊将食道狭窄处撑开时间较短, 食管下括约肌撕裂不充分, 随着局部瘢痕组织的形成, 食道狭窄再次形成而引起病情的复发, 且存在引起食道穿孔的风险<sup>[8]</sup>。方文胜等<sup>[9]</sup>的研究结果也证实, 扩张术治疗后的贲门失弛缓症患者的复发率较高。本研究的结果也证实, 水囊扩张术治疗6 mo后的食管下括约肌静息压、松弛率和食管体部收缩幅度的变化值均显著低于水囊扩张加肉毒杆菌毒素注射术和支架扩张术。

肉毒杆菌毒素注射于食管下括约肌处, 毒素能和局部突触前膜的胆碱能神经结合, 减少乙酰胆碱的释放, 达到松弛食管下括约肌的作用<sup>[10]</sup>。薛成俊等<sup>[11]</sup>的研究报道也证实, 相对于单纯扩张术, 扩张术联合肉毒杆菌毒素注射具有更好的远期疗效。在本研究中, 治疗6 mo后, 采用扩张加肉毒杆菌毒素注射术患者的食管动力学指标优于水囊扩张术的患者。但是肉毒杆菌毒素的治疗效果一般维持6 mo左右<sup>[12]</sup>。随着肉毒杆菌毒素治疗作用的消除, 病情可出现复发, 张衍强等<sup>[13]</sup>的研究证实, 肉毒杆菌毒素注射治疗的远期复发率和单纯扩张术治疗相当。

支架扩张术是通过暂时性的支架置入, 将食管狭窄处撑开, 解除功能性梗阻, 缓解临床症状。支架置入时间较长, 能够较为充分和均匀地撕裂食管下括约肌, 减少由于扩张后瘢痕形成造成的食管下括约肌回缩, 有效降低本病的复发率<sup>[14]</sup>。在本研究中, 患者支架置入的时间为1 mo,

支架取出后1 wk的食管动力学指标和另外两组相当, 这说明支架扩张治疗的短期疗效和单纯扩张术、扩张加肉毒杆菌毒素注射相当。支架取出后12 mo, 支架扩张术患者在食管下括约肌静息压、松弛率、食管体部顺行性收缩比例、收缩幅度上均显著优于另外两组, 这说明支架扩张术的疗效更为持久。

总之, 水囊扩张术、扩张加肉毒杆菌毒素注射术、支架扩张术均能够在短时间内改善贲门失弛缓症患者的食管动力学指标, 而支架扩张术能够更为长久地维持食管动力学指标的改善, 远期疗效更佳。

### 4 参考文献

- Booy JD, Takata J, Tomlinson G, Urbach DR. The prevalence of autoimmune disease in patients with esophageal achalasia. *Dis Esophagus* 2012; 25: 209-213 [PMID: 21899655 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01249.x]
- 王云锋, 李兆申. 贲门失弛缓症内镜治疗临床研究进展. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 53-55
- 郑文棋, 林海凤, 杨长青, 龚锦容, 吴荔珊, 张美金, 翁丽贤. 被膜食管支架治疗食管贲门良性狭窄32例. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 830-833
- Zhu YQ, Cheng YS, Tang GY, Li MH, Zhao JG, Li F. Comparison of temporary stent insertion with pneumatic dilation of the same diameter in the treatment of achalasia patients: a retrospective study. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 499-505 [PMID: 20074159 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2009.06107.x]
- Chuah SK, Hsu PI, Wu KL, Wu DC, Tai WC, Changchien CS. 2011 update on esophageal achalasia. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1573-1578 [PMID: 22529685 DOI: 10.3748/wjg.v18.i14.1573]
- 赵作成. 贲门失弛缓症治疗进展. *医学综述* 2013; 19: 2403-2405
- Vanuytsel T, Lerut T, Coosemans W, Vanbeeckvoort D, Blondeau K, Boeckxstaens G, Tack J. Conservative management of esophageal perforations during pneumatic dilation for idiopathic esophageal achalasia. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2012; 10: 142-149 [PMID: 22064041 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.10.032]
- Coda S, Antonellis F, Tsagkaropoulos S, Francioni F, Trentino P. Complete endoscopic closure (clipping) of a large esophageal perforation after pneumatic dilation in a patient with achalasia. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A* 2012; 22: 815-818 [PMID: 22973857 DOI: 10.1089/lap.2012.0198]
- 方文胜, 王邦茂, 刘文天, 吕宗舜, 梁丽, 杨玉龙. 内镜下气囊扩张术治疗贲门失弛缓症随访观察. *天津医科大学学报* 2011; 17: 392-394, 397
- 游辉, 全巧云, 李中艳, 袁晋华, 杨院平, 郑东萍, 龚勇. 经超声内镜引导注射A型肉毒杆菌毒素治疗贲门失弛缓症的疗效观察. *中国全科医学* 2010; 13: 4145-4147
- 薛成俊, 钟文贵. 肉毒毒素联合小直径气囊扩张治疗贲门失弛缓症. *实用临床医药杂志* 2010; 14: 106-107, 112
- 康雪兰, 张学彦. 贲门失弛缓症的内镜下治疗进展. *胃肠病学和肝病学杂志* 2013; 22: 475-477

### 同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 治疗方法实用, 具有一定参考价值。

- 13 张衍强, 刘鸿彬, 吴中, 宋誉民, 阮六平. 内镜下注射肉毒杆菌毒素A治疗贲门失弛缓症的临床观察. 内蒙古中医药 2011; 31: 82
- 14 宛新建, 李兆申, 陆伦根, 邹多武. 内镜下三种方法治疗贲门失弛缓症后下食管括约肌及体部动力学比较. 中华消化杂志 2010; 30: 890-893

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价, 计算出各刊的最终得分, 并将期刊最终得分按照从高到低依次排列, 按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围. 其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%.

# 胃底腺息肉患者的临床特征及其与幽门螺旋杆菌感染的相关性

张茹, 徐正磊, 张定国, 李银鹏, 黄庆娟, 王立生

张茹, 徐正磊, 张定国, 李银鹏, 黄庆娟, 王立生, 暨南大学第二附属医院 深圳市人民医院消化内科 广东省深圳市 518000

张茹, 主治医师, 主要从事消化系统疾病与消化内镜技术的研究。作者贡献分布: 此研究由张茹与王立生设计; 研究过程由徐正磊、张定国、李银鹏、黄庆娟、张茹及王立生操作完成; 数据分析由张定国完成; 本论文写作由张茹完成。

通讯作者: 王立生, 教授, 主任医师, 博士生导师, 518000, 深圳市罗湖区东门北路1017号大院, 深圳市人民医院消化内科。

wangsl168@163.com

电话: 0755-25533018

收稿日期: 2013-12-11 修回日期: 2014-01-07

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Clinical features of fundic gland polyps and relationship between fundic gland polyps and *Helicobacter pylori* infection

Ru Zhang, Zheng-Lei Xu, Ding-Guo Zhang, Yin-Peng Li, Qing-Juan Huang, Li-Sheng Wang

Ru Zhang, Zheng-Lei Xu, Ding-Guo Zhang, Yin-Peng Li, Qing-Juan Huang, Li-Sheng Wang, Department of Gastroenterology, Shenzhen People's Hospital, the Second Affiliated Hospital of Ji'nan University, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China

Correspondence to: Li-Sheng Wang, Professor, Department of Gastroenterology, Shenzhen People's Hospital, the Second Affiliated Hospital of Ji'nan University, 1017 Dongmen North Road, Luohu Region, Shenzhen 518000, Guangdong Province, China. wangsl168@163.com

Received: 2013-12-11 Revised: 2014-01-07

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical features of fundic gland polyps and the relationship between fundic gland polyps (FGPs) and *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

**METHODS:** Clinical data for patients with FGPs diagnosed from October 2011 to October 2013 were collected and retrospectively analyzed. The same number of patients who had normal gastric mucosa and matched gender and age were chosen as controls.

**RESULTS:** A total of 276 patients were found to have FGPs by endoscopy, accounting for 0.87% of all cases who underwent endoscopic examination in the same time period. FGPs were frequently seen in females. Clinical symptoms included functional dyspepsia and gastroesophageal reflux symptoms. The majority of cases were found in routine endoscopic examinations. Of all polyps, 136 (49.3%) were located in the corpus and 108 (39.1%) in the fundus. Most of FGPs (71.4%) were single polyps, and 28.6% were multiple. Typical pathologic finding was cystic lesions in the fundic glands, without dysplasia or intestinal metaplasia. The number of patients with *H. pylori* infection in FGP patients was significantly lower than that in controls (OR = 0.135, 95%CI: 0.073-0.250).

**CONCLUSION:** Our study suggests the benign nature of FGPs and the relationship between FGPs and *H. pylori* infection. *H. pylori* infection may be a protective factor for FGPs.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Fundic gland polyps; *Helicobacter pylori*; Endoscopy

Zhang R, Xu ZL, Zhang DG, Li YP, Huang QJ, Wang LS. Clinical features of fundic gland polyps and relationship between fundic gland polyps and *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1127-1130 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1127.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1127>

## 摘要

**目的:** 探讨胃底腺息肉(fundic gland polyps, FGPs)的临床特征, 及其与幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的关系。

**方法:** 收集深圳市人民医院消化内科2011-10/2013-10 276例FGPs患者的临床资料进行汇总分析, 并按照FGPs患者的年龄、性别比例选取胃镜检查正常的患者276例为对照组, 分析FGPs与*H. pylori*感染的关系。

## ■背景资料

胃底腺息肉(fundic gland polyps, FGPs)既往曾被认为是西方人常见的息肉, 他是家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)在胃的组织病理标记, 近年来发现无FAP的患者也可发生FGPs, 而且其逐渐增高的发病率引起我们的重视。国外报道FGPs在行胃镜检查病例中的检出率为0.8%-1.9%。

## ■同行评议者

李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科; 沈薇, 教授, 重庆医科大学附属第二医院消化内科



■研究前沿  
胃底腺息肉与幽门螺旋菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染的关系需要进一步更大样本量、多中心研究的探索。

结果: 在行胃镜检查31680例患者中, 检出276例胃底腺息肉, 检出率为0.87%, 以女性多见。临床上多为常规体检发现, 部分表现为功能性消化不良和胃食管反流病。胃镜下多表现为胃体136例(49.3%), 其次为胃底息肉108例(39.1%), 单发197例(71.4%)或多发79例(28.6%)。病理表现为息肉内有被覆胃底腺的上皮的囊肿, 均无异形增生或肠上皮化生。FGPs病例组与对照组相比, 病例组中*H. pylori*的感染率明显减低( $OR = 0.135$ , 95%CI: 0.073-0.250)。

结论: 胃底腺息肉是一种具有良性倾向的息肉, 其与*H. pylori*感染呈负相关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 胃底腺息肉; 幽门螺旋杆菌; 内镜

**核心提示:** 胃镜下胃底腺息肉多表现为单发, 位置多位于胃体, 其次为胃底, 还有部分在胃窦、贲门、胃角。本组研究病理学上未发现胃底腺息肉(fundic gland polyps, FGPs)伴异型增生或肠上皮化生, 虽然曾有研究发生极少部分FGPs伴有肠上皮化生, 提示FGPs发生癌变风险低, 这与增生性息肉不同, 有研究表明增生性息肉的癌变率为1%-5%。

张茹, 徐正磊, 张定国, 李银鹏, 黄庆娟, 王立生. 胃底腺息肉患者的临床特征及其与幽门螺旋杆菌感染的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1127-1130 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1127.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1127>

## 0 引言

胃底腺息肉(fundic gland polyps, FGPs)是一种胃内腺灶性息肉样增生伴不同程度胃小凹和腺体的囊性扩张和胃小凹变性, 是胃息肉的常见类型。幽门螺旋菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)是定植于人体胃部的革兰氏阴性杆菌, *H. pylori*感染与胃多种类型息肉密切相关。本研究通过总结我科近2年的276例胃底腺息肉患者的临床特点及*H. pylori*感染情况, 探讨FGPs与*H. pylori*的关系, 从而使临床医师进一步认识此病。

## 1 材料和方法

1.1 材料 2011-10/2013-10在我院消化内科行胃镜检查31680例患者中, 检出276例胃底腺息肉(检出率0.87%, 276/31680), 入选为病例组。在病例组FGPs患者中男性76例, 占27.5%(76/276), 女性200

例, 占72.4%(200/276)。年龄介于18-83岁, 平均年龄54.6岁±15.2岁。按照病例组的性别、年龄比例, 选取胃镜检查正常的患者276例入选为对照组。本研究通过深圳市人民医院伦理委员会批准, 胃镜检查前患者均签署知情同意书。

1.2 方法 使用Olympus GIF-XQ 240电子胃镜。病例组及对照组的患者均在胃窦幽门周围5 cm处采用一次性活检钳取新鲜胃黏膜1块, 行快速尿素酶检测取材, 若为阳性, 考虑为*H. pylori*感染。将摘除后息肉行病理检查, 组织固定于10%甲醛溶液, 常规石蜡包埋, 3 μm切片, 按常规进行组织学评价。

统计学处理 采用SPSS17.0统计软件包进行统计分析, 用Logistic回归分析,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 临床症状 FGPs病例组中临床症状包括上腹痛(21例, 7.6%, 21/276)、上腹部不适(26例, 9.4%, 26/276)、反酸烧心(32例, 11.6%, 32/276), 部分患者无明显临床症状, 仅常规胃镜检查发现(197例, 71.3%, 197/276)。

2.2 胃镜表现 FGPs病例组中在胃镜下多表现为广基息肉样隆起, 呈淡粉红色。在本组276例FGPs病例中, 位于胃体136例(49.3%), 胃底108例(39.1%), 胃窦16例(5.8%), 胃角12例(4.3%), 贲门4例(1.4%)(表1)。其中单发197例(71.4%, 197/276), 多发79例(28.6%, 79/276)。

2.3 病理学检查 所有发现的FGPs均以活检钳钳除送检。病理表现为息肉内有被覆胃底腺的上皮的囊肿, 表面腺窝短或缺如, 伴不同程度胃小凹和腺体的囊性扩张。所有病例均无异形增生或肠上皮化生。

2.4 *H. pylori*检出率 本病例组中患者*H. pylori*阳性的13例, 检出率为4.7%。对照组患者中*H. pylori*阳性的72例, 检出率为26.2%(表2)。与对照组相比, 病例组中*H. pylori*感染率明显降低( $OR = 0.135$ , 95%CI: 0.073-0.250)。

## 3 讨论

胃底腺息肉既往曾被认为是西方人常见的息肉, 他是家族性腺瘤性息肉病(familial adenomatous polyposis, FAP)在胃的组织病理标记, 近年来发现无FAP的患者也可发生FGPs, 而且其逐渐增高的发病率引起我们的重视。国外报道FGPs在行胃镜检查病例中的检出率为0.8%-1.9%<sup>[1]</sup>。本组

表 1 胃底腺息肉组中息肉位置的分布

位置	n	比例(%)
胃体	136	49.3
胃底	108	39.1
胃窦	16	5.8
胃角	12	4.3
贲门	4	1.4

研究中FGPs的检出率为0.87%, 与国外FGPs的检出率相仿。

本组研究中FGPs多见于女性(72.4%)。FGPs多为常规体检中发现, 部分患者表现为功能性消化不良和胃食管反流病的临床症状, 包括上腹痛或上腹不适、反酸、烧心、嗝气等。因本组研究是回顾性研究, 未能追问FGPs患者服用质子泵抑制剂的情况, 故未能对FGPs与PPI关系进行详细描述。国外文献显示, 胃底腺息肉的发生与长期使用质子泵抑制药具有正相关<sup>[2,3]</sup>。

胃镜下胃底腺息肉多表现为单发(71.4%)。位置多位于胃体(49.3%), 其次为胃底(39.1%), 还有部分在胃窦、贲门、胃角。本组研究病理学上未发现FGPs伴异型增生或肠上皮化生, 虽然曾有研究发生极少部分FGPs伴有肠上皮化生<sup>[4,5]</sup>, 提示FGPs发生癌变风险低, 这与增生性息肉不同, 有研究表明增生性息肉的癌变率为1%-5%<sup>[6,7]</sup>。

*H. pylori*是国际公认的 I 类致癌因子, 有研究表明*H. pylori*感染与胃炎性息肉、增生性息肉相关<sup>[8,9]</sup>。国内外曾有报道FGPs患者*H. pylori*感染率低<sup>[10-12]</sup>。本组研究中, FGPs患者的*H. pylori*感染率仅为4.7%, 明显低于对照组患者的*H. pylori*感染率(26.2%)。

尽管国内亦有报道胃底腺息肉与*H. pylori*感染无明显关系<sup>[13,14]</sup>, 本次研究显示胃底腺息肉与*H. pylori*感染呈负相关, *H. pylori*感染相对于胃底腺息肉的发生是一个保护性因子。FGPs实质上是胃底腺的扩张以及表面腺窝缩短或缺如, 他通常由正常胃底腺黏膜发展来<sup>[12]</sup>。相反, *H. pylori*感染可引起胃底腺萎缩<sup>[15,16]</sup>, 并且*H. pylori*感染可引起腺窝增生, 甚至出现淋巴细胞性胃炎中的胃巨大皱襞<sup>[17]</sup>。从而可以解释胃底腺息肉与*H. pylori*感染可能存在的负相关。另外, Watanabe等<sup>[18]</sup>报道2例开始无*H. pylori*感染的多发胃底腺息肉患者在感染*H. pylori*后息肉几乎全部消退, 接着在根除*H. pylori*后息肉再次增大。

表 2 FGPs组与对照组*H. pylori*感染的关系 (n = 276)

分组	<i>H. pylori</i> 阳性	<i>H. pylori</i> 阴性	<i>H. pylori</i> 阳性率(%)
病例组	13	263	4.7
对照组	72	204	26.2

FGPs: 胃底腺息肉; *H. pylori*: 幽门螺杆菌。

总之, 胃底腺息肉是我国国人胃息肉常见的类型, 其罕见异形增生, 具有良性倾向。FGPs与*H. pylori*感染可能呈负相关。然而, 本研究也有一定的不足之处, 本研究为单中心的研究, 此外FGPs组及对照组FGPs的*H. pylori*检出率均较低, 这考虑与使用胃窦组织活检行*H. pylori*快速尿素酶实验有关, 因为这种检测法易因活检位置的差异易出现假阴性。因此, 胃底腺息肉与*H. pylori*感染的关系需要进一步更大样本量、多中心研究的探索。

#### 4 参考文献

- Goddard AF, Badreldin R, Pritchard DM, Walker MM, Warren B. The management of gastric polyps. *Gut* 2010; 59: 1270-1276 [PMID: 20675692 DOI: 10.1136/gut.2009]
- Thomson AB, Sauve MD, Kassam N, Kamitakahara H. Safety of the long-term use of proton pump inhibitors. *World J Gastroenterol* 2010; 16: 2323-2330 [PMID: 20480516 DOI: 10.3748/wjg.v16.i19.2323]
- Zelter A, Fernández JL, Bilder C, Rodríguez P, Wonaga A, Dorado F, Galich M, Viola LA. Fundic gland polyps and association with proton pump inhibitor intake: a prospective study in 1,780 endoscopies. *Dig Dis Sci* 2011; 56: 1743-1748 [PMID: 21127978 DOI: 10.1007/s10620-010-1493-x]
- 曹海龙, 王邦茂, 姜葵, 刘文天. 胃底腺息肉的临床特征分析. *中华消化内镜杂志* 2011; 28: 569-570
- Cao HL, Song SL, Yang BL, Zhang ZH, Zhang H, Qu R, Wang BM. Typical endoscopic appearance accurately predicts sporadic fundic gland polyps: a retrospective study of 47 771 endoscopies. *Chin Med J (Engl)* 2013; 126: 2984-2986 [PMID: 23924479]
- Chai NL, Zhang WC, Wang YM, Zhou ZT, Zhang YE, Liu HY, Wan J, Qin JH, Wang SY, Wang YF, Pei XT, Wu BY. [Expression of Foxa2 and its early alarm value of cancerous in gastric polyps]. *Zhonghua Yixue Zazhi* 2013; 93: 2020-2024 [PMID: 24169277]
- Han AR, Sung CO, Kim KM, Park CK, Min BH, Lee JH, Kim JY, Chang DK, Kim YH, Rhee PL, Rhee JC, Kim JJ. The clinicopathological features of gastric hyperplastic polyps with neoplastic transformations: a suggestion of indication for endoscopic polypectomy. *Gut Liver* 2009; 3: 271-275 [PMID: 20431760 DOI: 10.5009/gnl.2009.3.4.271]
- Tokunaga K, Tanaka A, Takahashi S. [Gastric hyperplastic polyps and *H. pylori* infection, their relationship and effects of eradication therapy]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 1449-1452 [PMID: 23967678]

#### ■相关报道

国外文献显示, FGPs的发生与长期使用质子泵抑制药具有正相关。

## ■同行评价

本文研究内容比较实用, 结果可靠, 有一定的参考价值。

- 9 苏艳, 黄晓东. 胃息肉的类型与幽门螺杆菌感染相关性研究. 临床消化病杂志 2006; 18: 301-302
- 10 Tazaki S, Nozu F, Yosikawa N, Imawari M, Suzuki N, Tominaga K, Hoshino M, Suzuki S, Hayashi K. Sporadic fundic gland polyp-related adenomas occurred in non-atrophic gastric mucosa without helicobacter pylori infection. *Dig Endosc* 2011; 23: 182-186 [PMID: 21429026 DOI: 10.1111/j.1443-1661.2010.01082.x]
- 11 朱鸣, 唐杰, 杨春敏, 曹传平. 老年常见胃息肉病理分析、内镜观察及治疗. 世界华人消化杂志 2010; 18: 179-183
- 12 Fixa B, Vanásek T, Volfová M, Nozicka J, Nozicka Z. [Cystic polyposis of the stomach (fundic gland polyps)--relationship to the absence of Helicobacter pylori infection and a therapy with drugs suppressing gastric acidity]. *Cas Lek Cesk* 2012; 151: 196-200 [PMID: 22679686]
- 13 刘朋, 周力, 陈晓琴. 胃息肉与幽门螺旋杆菌感染关系分析. 贵阳医学院学报 2012; 37: 194-195
- 14 李仲启, 傅汉中, 马正尧. 42例胃底腺息肉临床、内镜及病理分析. 临床消化病杂志 2012; 24: 354-355
- 15 Kikuchi S. [Epidemiology of H. pylori infection and gastric mucosal atrophy]. *Nihon Rinsho* 2013; 71: 1331-1336 [PMID: 23967661]
- 16 Zhang Y, Weck MN, Schöttker B, Rothenbacher D, Brenner H. Gastric parietal cell antibodies, Helicobacter pylori infection, and chronic atrophic gastritis: evidence from a large population-based study in Germany. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2013; 22: 821-826 [PMID: 23456556 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-12-1343]
- 17 Yasunaga Y, Shinomura Y, Kanayama S, Higashimoto Y, Yabu M, Miyazaki Y, Kondo S, Murayama Y, Nishibayashi H, Kitamura S, Matsuzawa Y. Increased production of interleukin 1 beta and hepatocyte growth factor may contribute to foveolar hyperplasia in enlarged fold gastritis. *Gut* 1996; 39: 787-794 [PMID: 9038658 DOI: 10.1136/gut.39.6.787]
- 18 Watanabe N, Seno H, Nakajima T, Yazumi S, Miyamoto S, Matsumoto S, Itoh T, Kawanami C, Okazaki K, Chiba T. Regression of fundic gland polyps following acquisition of Helicobacter pylori. *Gut* 2002; 51: 742-745 [PMID: 12377817 DOI: 10.1136/gut.51.5.742]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 经内镜或手术病理证实原发性胃肠道淋巴瘤患者的临床特点

刘振华, 雷宏伟, 宋伟庆

刘振华, 大连医科大学附属第二医院普外二科 辽宁省大连市 116000

雷宏伟, 大连医科大学附属第二医院肿瘤放疗科 辽宁省大连市 116000

宋伟庆, 河北医科大学附属第二医院胃肠外科 河北省石家庄市 050000

刘振华, 主治医师, 主要从事胃肠道肿瘤的研究。

作者贡献分布: 此课题由刘振华设计; 研究过程由刘振华、雷宏伟及宋伟庆实施完成; 本论文撰写由刘振华完成。

通讯作者: 刘振华, 主治医师, 116000, 辽宁省大连市沙河口区中山东路467号, 大连医科大学附属第二医院普外二科。

liuzhenhua1205@aliyun.com

收稿日期: 2014-01-10 修回日期: 2014-02-10

接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-03-18

## Clinical features of primary gastrointestinal lymphoma: Analysis of 28 cases

Zhen-Hua Liu, Hong-Wei Lei, Wei-Qing Song

Zhen-Hua Liu, Department of General Surgery, the 2<sup>nd</sup> Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Hong-Wei Lei, Department of Oncological Radiotherapy, the 2<sup>nd</sup> Affiliated Hospital of Dalian Medical University, Dalian 116000, Liaoning Province, China

Wei-Qing Song, Department of GI Surgery, the 2<sup>nd</sup> Affiliated Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Zhen-Hua Liu, Attending Physician, Department of General Surgery, the 2<sup>nd</sup> Affiliated Hospital of Dalian Medical University, 467 Zhongshandong Road, Dalian 116000, Liaoning Province, China. liuzhenhua1205@aliyun.com

Received: 2014-01-10 Revised: 2014-02-10

Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To explore the clinical features of primary gastrointestinal lymphoma (PGIL) to improve the diagnosis and treatment of this disease.

**METHODS:** Clinical data for 28 patients with endoscopically or pathologically PGIL treated at our hospital from June 1996 to November 2012 were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** Of the 28 cases included, 26 were non-Hodgkin's lymphoma, 2 were Hodgkin's lympho-

ma; 26 were B-cell lymphoma, 2 were T-cell lymphoma, 13 were primary gastric lymphoma, and 15 were primary intestinal lymphoma (including 13 cases of primary colon lymphoma and 2 cases of primary small intestinal lymphoma). The ratio of males to females was 1.8:1. Main manifestation was abdominal pain (78.6%), and main accompanied symptoms were weight loss (50%) and anemia (39.2%). Primary gastric lymphoma manifested mainly as an ulcerative mass, colon lymphoma mainly as a solid mass, and small intestinal lymphoma mainly as a mixed solid mass.

**CONCLUSION:** PGIL has no specific clinical manifestations and has low morbidity, for which PGIL can be easily misdiagnosed. Multidisciplinary collaboration is needed to achieve a more accurate diagnosis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Primary gastrointestinal lymphoma; Endoscopic diagnosis; Operation; Chemotherapy

Liu ZH, Lei HW, Song WQ. Clinical features of primary gastrointestinal lymphoma: Analysis of 28 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1131-1134 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1131.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1131>

## 摘要

**目的:** 探讨经内镜或手术病理证实的原发性胃肠道淋巴瘤(primary gastrointestinal lymphoma, PGIL)患者的临床特点, 加深对本病的认识以提高诊疗水平。

**方法:** 回顾性分析1999-06/2012-11于我院经内镜或手术病理证实的原发性胃肠道淋巴瘤共28例。

**结果:** 28例病例中, 非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)26例, 霍奇金淋巴瘤(Hodgkin's lymphoma, HL)2例。B细胞性淋巴瘤(B cell lymphoma, BCL)26例, T细胞淋

## ■背景资料

原发性胃肠道淋巴瘤(primary gastrointestinal lymphoma, PGIL)是结外恶性淋巴瘤的最常见类型, 占所有结外淋巴瘤的30%-45%。占所有非何杰金淋巴瘤的4%-20%。可累及胃肠道的任何部位, PGIL临床少见, 该病发病隐匿且临床表现多样而无特异性, 早期诊断比较困难, 极易漏诊。

## ■同行评议者

王振宇, 教授, 中国医科大学附属第一医院肿瘤外科

## ■研究前沿

胃肠道受累部位与地域有关, 西方国家最常被累及的器官是胃, 其次为小肠, 在中东、非洲、南太平洋地区的患者中, 小肠淋巴瘤最多见, 其次为胃, 再次为结肠和其他器官, 食管和直肠淋巴瘤少见。

瘤(T cell lymphoma, TCL)2例。原发性胃淋巴瘤(primary gastric lymphoma, PGL)13例, 原发性肠道淋巴瘤(primary intestinal lymphoma, PIL)15例, 其中结肠13例, 小肠2例。男:女=1.8:1。以腹痛(78.6%)为主要表现, 体质量下降(50%)及贫血(39.2%)为主要伴随症状。胃淋巴瘤主要表现为溃疡型肿块, 结肠淋巴瘤主要表现为实性肿瘤, 小肠淋巴瘤主要表现为混合实性肿块。

**结论:** PGIL临床表现无特异性, 发病率低, 容易误诊, 提高诊断准确率需临床、内镜、病理多科协作, 目前主张以化疗为主的个体化综合治疗。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 原发性胃肠道淋巴瘤; 内镜诊断; 手术治疗; 化疗

**核心提示:** 原发性胃肠道淋巴瘤(primary gastrointestinal lymphoma, PGIL)临床表现无特异性, 以胃肠道症状为主, 本组PGIL最常见的临床表现是腹痛(78.6%)、体质量下降(50%)及贫血(39.2%)为常见伴随症状。另外值得注意本组并发症(梗阻、套叠、穿孔、出血)发生率达35.7%, 结肠尤其是回盲部淋巴瘤易并发肠套叠; 2例小肠淋巴瘤中, 1例并发肠瘘, 1例并发穿孔, 且该穿孔病例之前有慢性梗阻表现, 与文献报道30%-50%的小肠淋巴瘤以急腹症为首发表现一致。

刘振华, 雷宏伟, 宋伟庆. 经内镜或手术病理证实原发性胃肠道淋巴瘤患者的临床特点. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1131-1134 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1131.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1131>

## 0 引言

原发性胃肠道淋巴瘤(primary gastrointestinal lymphoma, PGIL)是结外恶性淋巴瘤的最常见类型, 占有结外淋巴瘤的30%-45%, 占有非何杰金淋巴瘤的4%-20%<sup>[1]</sup>。可累及胃肠道的任何部位, PGIL临床少见, 该病发病隐匿且临床表现多样而无特异性, 早期诊断比较困难, 极易漏诊, 现将我院1999-06/2012-11收治的28例PGIL患者进行回顾分析, 籍以总结其临床特点, 提高对本病的认识。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性分析1999-06/2012-11于大连医科大学附属第二医院经内镜或手术病理证实的

原发性胃肠道淋巴瘤28例; 年龄36-74岁; 平均58.1岁; 胃淋巴瘤13例, 女性5例, 男性8例; 结肠淋巴瘤13例, 其中女性5例, 男性8例; 小肠淋巴瘤2例, 均为男性。

**1.2 方法** 全部病例均符合Dawsonz标准: (1)全身无浅表性淋巴结肿大; (2)外周血白细胞总数及分类正常; (3)胸片未见纵膈淋巴结肿大; (4)术中除胃肠道受累部位及区域淋巴结外, 无其他肉眼所见侵犯; (5)肝及脾正常。

## 2 结果

**2.1 临床表现** 13例胃淋巴瘤中, 以上腹痛为主要表现者11例(84.6%), 上腹包块1例(7.7%), 腹痛伴包块1例(7.7%), 伴体质量下降者8例(61.5%), 伴贫血者5例(38.5%), 其他伴随症状有恶心、呕吐、腹胀、黑便、乏力等; 病程1 mo-3年。

13例结肠淋巴瘤中, 均为右半结肠及回盲部病变; 以腹痛为主要表现者9例(69.2%), 腹部包块1例(7.7%), 腹痛伴包块者1例(7.7%), 便血、发热者1例(7.7%), 血便伴腹部包块者1例(7.7%); 并发肠套叠者5例(38.5%), 其中3例为术中发现, 2例为术前诊断, 1例术前导致梗阻; 并发梗阻者3例(23.1%); 伴体质量下降者5例(38.5%), 伴贫血者4例(30.8%), 其他伴随症状有: 腹泻、大便性状改变、黏液血便等; 病程3 d-1年。

2例小肠淋巴瘤, 均表现为腹痛, 1例并发肠瘘, 1例并发穿孔; 均伴有贫血, 1例体质量下降; 病程2-7 mo。

**2.2 内镜检查** 13例胃淋巴瘤, 术前均行胃镜检查并取病理, 术前确诊者8例(61.5%), 术前可疑者3例, 术前误诊者2例(15.4%)。

13例结肠淋巴瘤, 术前肠镜检查11例, 术前确诊者6例(46.2%), 术前可疑者2例, 术前误诊者5例(38.5%)。

2例小肠淋巴瘤, 术前均行肠镜检查, 1例术前确诊。

**2.3 肿瘤大体形态** 13例胃淋巴瘤, 11例表现为溃疡型肿块, 其中2例为多发病灶, 1例弥漫浸润型, 1例为浅表多发溃疡; 溃疡灶直径最小1 cm, 最大12 cm, 平均7 cm。

13例结肠淋巴瘤, 均表现为球型或菜花样或息肉样实性肿物, 最大径最小3 cm, 最大15 cm。

2例小肠淋巴瘤, 肿物为混合实性包块, 大者直径15 cm, 小者直径10 cm。

**2.4 手术方式** 13例胃淋巴瘤均行手术治疗, 12例行根治术(包括根治性全胃切除、胃部分切除及

联合横结肠或脾切除术), 1例行姑息手术(胃空肠吻合术)。

13例结肠淋巴瘤均行根治术, 其中12例右半结肠切除术, 1例右半结肠切除联合小肠部分切除及胃部分切除术。

2例小肠淋巴瘤, 1例行右半结肠及小肠部分切除、膀胱部分切除术, 1例行小肠部分切除术。

2.5 化疗 术前化疗1例; 术后化疗: 13例胃淋巴瘤中, 术后2例化疗; 其中1例接受抗幽门螺杆菌治疗; 13例结肠淋巴瘤中, 术后化疗3例; 均达到部分缓解。

2.6 术后病理 13例胃淋巴瘤中, MALT 3例, DLBCL 2例, TCL 1例, BCL(小细胞性)1例, BCL(中心细胞型)1例, BCL(弥漫性和/或滤泡性)5例; 伴淋巴结转移者5例。

13例结肠淋巴瘤中, DLBCL 6例, TCL 1例, BCL(小细胞性)1例, BCL(中心母细胞性)2例, BCL(滤泡性、弥漫性)2例, BCL(无裂细胞性)1例; 伴淋巴结转移者9例。

2例小肠淋巴瘤, 均为DLBCL, 伴淋巴结转移者1例。

2.7 随访 28例患者中, 2005年之前的11例患者失访, 2006年之后的17例(60.7%)患者中, 1例胃淋巴瘤姑息胃空肠吻合术后2 mo死于消化系出血所致失血性休克, 1例胃淋巴瘤根治切除术后7 mo, 于化疗期间死于肺部感染, 其余患者至今存活。

### 3 讨论

PGIL是最常见的来源于结外淋巴组织的非霍奇金淋巴瘤, 约占结外淋巴瘤的30%, 占有所有非霍奇金淋巴瘤的4%-20%<sup>[2]</sup>, 绝大多数为B细胞性NHL, 多见于成年人, 男性略多于女性, 平均年龄50岁左右, 40-70岁为发病高峰。本组中, NHL 26例, HD淋巴瘤2例, B细胞性NHL 26例, T细胞淋巴瘤2例, 男性18例, 女性10例, 平均年龄58.1岁, 与文献报道一致<sup>[3,4]</sup>。

胃肠道受累部位与地域有关, 西方国家最常被累及的器官是胃, 其次为小肠, 在中东、非洲、南太平洋地区的患者中, 小肠淋巴瘤最常见, 其次为胃, 再次为结肠和其他器官, 食管和直肠淋巴瘤少见<sup>[5,6]</sup>。本组患者中, 胃和结肠最多(分别46.4%), 小肠最少(7.1%), 与文献报道<sup>[7]</sup>之小肠多见不同。

PGIL临床表现无特异性, 以胃肠道症状为主, 本组PGIL最常见的临床表现是腹痛(78.6%), 体质量下降(50%)及贫血(39.2%)为常见伴随症

状。另外值得注意本组并发症(梗阻、套叠、穿孔、出血)发生率35.7%, 结肠尤其是回盲部淋巴瘤易并发肠套叠; 2例小肠淋巴瘤中, 1例并发肠痿, 1例并发穿孔, 且该穿孔病例之前有慢性梗阻表现, 与文献报道30%-50%的小肠淋巴瘤以急腹症为首发表现一致<sup>[6]</sup>。

淋巴瘤的大体形态可分为弥漫浸润型、结节型、溃疡型<sup>[8]</sup>。本组患者胃淋巴瘤多表现为溃疡型肿块, 且肿块较大, 最大径达12 cm; 结肠淋巴瘤多表现为实性肿块, 最大径达15 cm; 小肠淋巴瘤多表现为混合实性包块, 最大径达15 cm。

本组资料病理类型在胃淋巴瘤中以弥漫性或滤泡性BCL最多见(38.5%), DLBCL仅2例(15.4%); 结肠淋巴瘤中以DLBCL最多见(46.2%); 小肠淋巴瘤均为DLBCL(100%)。本组患者术前均行内镜检查, 影像学检查对于定性诊断并无多大价值, 但对于术前病灶局部评估有重要意义。因此, 内镜下病理活检仍是确诊本病的主要依据。本组患者术前确诊15例(53.5%), 术前可疑诊断5例(17.9%), 术前误诊8例(28.6%), 术前确诊率低, 误诊率较高, 考虑与以下因素有关: (1)病灶源于黏膜下层淋巴组织, 位置深, 有时黏膜水肿、肥厚, 活检时不易取到病变组织; (2)内镜医师对本病缺乏认识, 取材过浅; (3)病理医师对本病认识不足, 本组患者有2例术前外院胃镜病理诊断为胃癌, 我院病理会诊诊断为淋巴瘤; (4)本病发病率低, 临床医生对本病认识不足。因此, 对于临床表现不典型的胃肠道肿瘤要考虑到淋巴瘤的可能, 对于可疑病例行内镜下取材时要注意多部位、深挖取材, 达到黏膜下层, 必要时行黏膜下切除送病检并常规行免疫组织化学检查, 应用超声胃镜或超声胃镜引导下细针穿刺活检以增加诊断的阳性率、准确率<sup>[9,10]</sup>。本组1例小肠淋巴瘤病例术前曾先后被诊断为阑尾周围脓肿及克隆病并肠痿, 术后病理确诊为淋巴瘤, 说明该病发病率低, 临床易忽视, 且小肠病变因解剖位置原因, 内镜诊断较困难, 难以取得术前病理。

有研究认为PGIL预后与是否手术切除肿瘤无关, 手术只可以明确肿瘤累及范围以及病理分类, 有助于选择治疗方案, 预后只与临床分期有关<sup>[11]</sup>。目前对PGIL的治疗已从手术切除向病灶野局部放疗或化疗转换, 手术用于并发症或局部病灶长期存在患者<sup>[12]</sup>。对于肠道淋巴瘤, 常因存在疼痛、梗阻、出血而需手术切除<sup>[13]</sup>, 本组病例全部接受手术治疗, 术后仅5例患者接受化

### ■ 相关报道

有研究认为PGIL预后与是否手术切除肿瘤无关, 手术只可以明确肿瘤累及范围以及病理分类, 有助于选择治疗方案, 预后只与临床分期有关。



## ■同行评价

本研究设计合理, 讨论恰当, 对临床医师有一定的参考价值。

疗, 化疗方案为CHOP或COP, 无接受放疗病例。本组病例无1例外接受手术, 即使患者术前病理已经提示淋巴瘤可能, 但因该病发生率低, 且不能完全排除胃癌可能, 最终接受手术, 这与我们对本病认识不足有关。并不是所有患者都对化疗敏感, 值得注意的是本组1例小肠淋巴瘤患者, 术前肠镜确诊并于外院接受化疗及生物靶向治疗(美罗华), 5 mo内, 肿瘤由4 cm迅速增大至15 cm, 且出现肠梗阻, 体质量下降10 kg, 最终因肿瘤破裂而急诊行肿瘤切除及小肠部分切除术。不但手术难度加大, 根治性降低, 术后恢复时间长, 其治疗效果较发现之初手术明显下降。因此, 对于化疗不敏感或者出现梗阻等并发症的患者, 还是应及时手术治疗。在化疗期间应密切监测肿瘤变化, 如瘤体无缩小或继续生长, 应果断及早手术, 以免错过手术时机。手术可以显著减少肿瘤负荷, 提高化疗效果。本组接受随访的患者中, 接受化疗的患者均达到部分缓解, 存活时间最长的已达5年, 说明部分PGIL患者可以长期带瘤生存。抗幽门螺杆菌治疗适用于早期胃MALT淋巴瘤, 治疗后需内镜随诊, 对晚期患者疗效较差, 本组只有1例患者术后接受化疗同时抗幽门螺杆菌治疗, 效果良好。另外, 针对B细胞表面特异性抗原CD20的mAb为细胞溶解性抗体, 作为有道缓解治疗可明显提高B细胞淋巴瘤的疗效, 作为补救治疗也是有效的<sup>[14,15]</sup>, 在放疗对于淋巴瘤的治疗效果方面我们缺乏经验, 有待以后更多资料的积累。

总之, PGIL临床发病率低, 临床表现无特异性, 不易确诊, 内镜是首选检查。提高对本病的认识, 临床、内镜、病理多学科协作是提高诊断准确率的关键。治疗方案应个体化, 化疗或者手术联合化疗是目前常用方案, 根据患者实际情况选择最佳方案, 对于化疗不敏感或者出现梗阻、出血、穿孔等并发症以及临床可疑而又无法取得病理的患者应考虑手术治疗。

## 4 参考文献

- 1 Otter R, Bieger R, Kluin PM, Hermans J, Willemze R. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma in a population-based registry. *Br J Cancer* 1989; 60: 745-750 [PMID: 2803951 DOI: 10.1038/bjc.1989.351]
- 2 Koch P, del Valle F, Berdel WE, Willich NA, Reers

- B, Hiddemann W, Grothaus-Pinke B, Reinartz G, Brockmann J, Temmesfeld A, Schmitz R, Rube C, Probst A, Jaenke G, Bodenstern H, Junker A, Pott C, Schultze J, Heinecke A, Parwaresch R, Tiemann M. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: I. Anatomic and histologic distribution, clinical features, and survival data of 371 patients registered in the German Multicenter Study GIT NHL 01/92. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3861-3873 [PMID: 11559724]
- 3 卢晓云, 李运红, 刘明东, 张建武, 吕瑛, 陈隆典, 徐肇敏, 邹晓平. 原发性胃肠道恶性淋巴瘤33例临床分析. *中华消化内镜杂志* 2006; 23: 433-435
- 4 梁志海, 王珺平, 唐国都. 原发性胃肠道淋巴瘤36例临床病理分析. *临床荟萃* 2008; 23: 1258-1259
- 5 Koniaris LG, Drugas G, Katzman PJ, Salloum R. Management of gastrointestinal lymphoma. *J Am Coll Surg* 2003; 197: 127-141 [PMID: 12831934]
- 6 Fleming ID, Turk PS, Murphy SB, Crist WM, Santana VM, Rao BN. Surgical implications of primary gastrointestinal lymphoma of childhood. *Arch Surg* 1990; 125: 252-256 [PMID: 2302065]
- 7 Nakamura S, Matsumoto T, Iida M, Yao T, Tsuneyoshi M. Primary gastrointestinal lymphoma in Japan: a clinicopathologic analysis of 455 patients with special reference to its time trends. *Cancer* 2003; 97: 2462-2473 [PMID: 12733145]
- 8 杨建锋, 张筱凤, 张琳. 原发性胃肠道淋巴瘤诊治. *医学研究杂志* 2006; 35: 42-44
- 9 Fischbach W. Gastrointestinal lymphomas: the Würzburg study experience. *Recent Results Cancer Res* 2000; 156: 134-140 [PMID: 10802873]
- 10 Kolve ME, Fischbach W, Wilhelm M. Primary gastric non-Hodgkin's lymphoma: requirements for diagnosis and staging. *Recent Results Cancer Res* 2000; 156: 63-68 [PMID: 10802864]
- 11 Papaxoinis G, Papageorgiou S, Rontogianni D, Kaloutsis V, Fountzilas G, Pavlidis N, Dimopoulos M, Tsatalas C, Xiros N, Economopoulos T. Primary gastrointestinal non-Hodgkin's lymphoma: a clinicopathologic study of 128 cases in Greece. A Hellenic Cooperative Oncology Group study (HeCOG). *Leuk Lymphoma* 2006; 47: 2140-2146 [PMID: 17071488]
- 12 Yoon SS, Coit DG, Portlock CS, Karpeh MS. The diminishing role of surgery in the treatment of gastric lymphoma. *Ann Surg* 2004; 240: 28-37 [PMID: 15213615 DOI: 10.1097/01.sla.0000129356.81281.0c]
- 13 Cai S, Cannizzo F, Bullard Dunn KM, Gibbs JF, Czuczman M, Rajput A. The role of surgical intervention in non-Hodgkin's lymphoma of the colon and rectum. *Am J Surg* 2007; 193: 409-412; discussion 412 [PMID: 17320545]
- 14 Nagai H, Yano T, Watanabe T, Uike N, Okamura S, Hanada S, Kawano F, Sunami K, Inoue N, Sawamura M, Nishiura T, Hotta T, Horibe K. Remission induction therapy containing rituximab markedly improved the outcome of untreated mature B cell lymphoma. *Br J Haematol* 2008; 143: 672-680 [PMID: 18950459 DOI: 10.1111/j.1365-2141.2008.07390.x]
- 15 Gisselbrecht C. Use of rituximab in diffuse large B-cell lymphoma in the salvage setting. *Br J Haematol* 2008; 143: 607-621 [PMID: 18950460]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 新疆地区隐源性肝硬化的临床特征及可能病因

布鲁汗·哈兰, 冯娟, 范晓棠, 希尔娜依·阿不都黑力力, 石绣江, 陈兰, 阿丽亚·热哈提, 何方平

布鲁汗·哈兰, 冯娟, 范晓棠, 希尔娜依·阿不都黑力力, 石绣江, 陈兰, 阿丽亚·热哈提, 何方平, 新疆医科大学第一附属医院肝病科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830054

布鲁汗·哈兰, 硕士, 主要从事各种肝病的基础与临床研究.

新疆维吾尔自治区科技支撑基金资助项目, No. 201141137

国家自然科学基金资助项目, No. 81360138

作者贡献分布: 此课题由何方平设计; 研究过程由何方平、布鲁汗·哈兰、冯娟操作完成; 数据分析由布鲁汗·哈兰、冯娟、范晓棠、希尔娜依·阿不都黑力力、石绣江、陈兰及阿丽亚·热哈提完成; 论文写作、修改由布鲁汗·哈兰、冯娟及何方平完成.

通讯作者: 何方平, 教授, 830054, 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市鲤鱼山路137号, 新疆医科大学第一附属医院肝病科.

Hefp@sina.com

电话: 0991-4311273

收稿日期: 2014-01-10 修回日期: 2014-01-22

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-18

### Clinical features and possible etiology of cryptogenic cirrhosis in Xinjiang

Buluhan·Halan, Juan Feng, Xiao-Tang Fan, Xiernayi·Abuduheilili, Xiu-Jiang Shi, Lan Chen, Aliya·Rehati, Fang-Ping He

Buluhan·Halan, Juan Feng, Xiao-Tang Fan, Xiernayi·Abuduheilili, Xiu-Jiang Shi, Lan Chen, Aliya·Rehati, Fang-Ping He, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Fang-Ping He, Associate Professor, Department of Hepatology, the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University, 137 Liyushan South Road, Urumqi 830054, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. Hefp@sina.com

Received: 2014-01-10 Revised: 2014-01-22

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-18

### Abstract

**AIM:** To analyze the clinical features of cryptogenic cirrhosis in Xinjiang and to explore the possible etiology of cryptogenic cirrhosis in the high HBV prevalence area.

**METHODS:** A retrospective analysis was performed of 241 patients with cryptogenic cirrhosis treated at the First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University from January 2001 to January 2009, including 222 patients with cryptogenic cirrhosis and 19 patients with cryptogenic cirrhosis and hepatocellular carcinoma.

Related information such as gender, age, ethnicity, hypertension, diabetes and other conditions associated with metabolic syndrome was analyzed.

**RESULTS:** Of 4023 cases of liver cirrhosis, 241 (5.99%) were cryptogenic cirrhosis. Of the 241 cases, 98 (40.66%) had diabetes mellitus, 55 (22.82%) had hypertension, 222 had pure cryptogenic cirrhosis (median age, 54.86 years  $\pm$  16.09 years; male, 44%), and 19 (7.88%) had cryptogenic cirrhosis with hepatocellular carcinoma (median age, 67.42 years  $\pm$  7.03 years; male, 47%). The incidence of diabetes in the pure cryptogenic cirrhosis group and cryptogenic cirrhosis with hepatocellular carcinoma group was 40% and 57%, respectively; the incidence of hypertension in the two groups was 20% and 58%. Univariate analysis showed that age ( $t = -6.47$ ,  $P < 0.001$ ), hypertension ( $t = 13.8$ ,  $P < 0.001$ ) and systolic ( $t = -3.63$ ,  $P < 0.001$ ) and diastolic blood pressure ( $t = 13.8$ ,  $P < 0.001$ ) differed significantly between the cryptogenic cirrhosis group and cryptogenic cirrhosis with hepatocellular carcinoma group. Multivariate Logistic analysis showed that age and hypertension were independent risk factors for the development of hepatocellular carcinoma from cryptogenic cirrhosis (OR = 1.086, 95% CI: 1.03-1.14,  $P < 0.001$ ; OR = 5.4, 95% CI: 2.05-14.23,  $P < 0.001$ ).

**CONCLUSION:** Our study shows that cryptogenic cirrhosis is associated with higher incidence of type 2 diabetes and high blood pressure metabolic syndrome, suggesting that cryptogenic cirrhosis is in line with the clinical features of non-alcoholic fatty liver disease and that non-alcoholic fatty liver disease may play an important role in the development of cryptogenic cirrhosis in high HBV prevalence areas like Xinjiang.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Cryptogenic cirrhosis; Etiology; Hepatocellular carcinoma; Hypertension; Diabetes mellitus

### ■背景资料

非酒精性脂肪性肝病与西方、日本等国家隐源性肝硬化密切相关, 但缺乏乙型肝炎高流行地区对隐源性肝硬化病因的探讨研究.

### ■同行评议者

姚登福, 教授, 南通大学附属医院

## ■ 研发前沿

本文分析乙型肝炎病毒高流行地区隐源性肝硬化可能病因与非酒精性脂肪肝是否存在相关性。

Buluhan•Halan, Feng J, Fan XT, Xiernayi•Abuduheilili, Shi XJ, Chen L, Aliya•Rehati, He FP. Clinical features and possible etiology of cryptogenic cirrhosis in Xinjiang. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(8): 1135-1140 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1135.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1135>

## 摘要

**目的:** 通过分析新疆地区隐源性肝硬化患者的临床特征, 探讨在乙型肝炎病毒(hepatitis B virus)高流行区域隐源性肝硬化的可能病因。

**方法:** 回顾性分析2001-01/2009-01新疆医科大学第一附属医院241例符合隐源性肝硬化诊断标准的住院肝硬化病例资料, 其中包括隐源性肝硬化患者222例, 隐源性肝硬化伴原发性肝癌患者19例, 对其性别、年龄、民族、合并高血压、糖尿病等代谢伴发情况进行研究分析。

**结果:** 4023例肝硬化患者中有241例符合隐源性肝硬化的诊断标准, 占据总体肝硬化患者的5.99%, 在241例患者中有98例(40.66%)合并糖尿病, 55例合并高血压(22.82%), 其中222例为单纯隐源性肝硬化(平均年龄54.86岁 $\pm$ 16.09岁, 44%为男性), 隐源性肝硬化合并肝癌的患者共19例, 肝癌的发生率为7.88%(平均年龄67.42岁 $\pm$ 7.03岁, 47%为男性), 其中隐源性肝硬化组和隐源性肝硬化合并肝癌组的糖尿病发病率分别为40%和57%, 高血压发病率分别为20%和58%。单因素分析结果显示, 单纯隐源性肝硬化和隐源性肝硬化合并肝癌患者在年龄和高血压方面有显著性差异( $t = -6.47, P < 0.001$ )和( $t = 13.8, P < 0.001$ ), 收缩压和舒张压在两组中也有显著性差异( $t = -3.63, P < 0.001$ )和( $t = -3.42, P < 0.001$ ), 多因素回归分析显示年龄、高血压是隐源性肝硬化发展为肝癌的独立危险因素(OR = 1.086, 95%CI: 1.03-1.14,  $P < 0.001$ ; OR = 5.4, 95%CI: 2.05-14.23,  $P < 0.001$ )。

**结论:** 我们的研究显示, 本组隐源性肝硬化合并较高的2型糖尿病和高血压代谢综合征特征, 符合非酒精性脂肪性肝病的临床特征, 提示作为HBV较高流行的新疆地区隐源性肝硬化与非酒精性脂肪性肝病具有相关的可能性大。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 隐源性肝硬化; 病因; 原发性肝癌; 高血压; 糖尿病

**核心提示:** 本次研究结果显示隐源性肝硬化合并

较高的代谢综合征组份, 提示乙型肝炎高流行区域的隐源性肝硬化病因与非酒精性脂肪性肝病相关, 而非隐匿型乙型肝炎病毒感染, 可为临床上隐源性肝硬化的诊断及治疗提供了新思路。

布鲁汗•哈兰, 冯娟, 范晓棠, 希尔娜依•阿不都黑力力, 石绣江, 陈兰, 阿丽亚•热哈提, 何方平. 新疆地区隐源性肝硬化的临床特征及可能病因. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1135-1140 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1135.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1135>

## 0 引言

隐源性肝硬化为一组临床病因不明的肝硬化患者, 诊断一般依据排除法, 即通过临床资料、免疫学指标和病理学检测, 排除病毒感染、酒精性肝病、自身免疫性肝病、淤血性肝病、遗传性肝病之后, 依然无法明确病因的肝硬化患者, 称为隐源性肝硬化。

近年来, 西方世界和日本对于隐源性肝硬化与非酒精性脂肪性肝病的相关性进行了较为系统的研究, 在这些乙型肝炎低流行地区, 隐源性肝硬化患者约52%合并2型糖尿病, 揭示西方世界和日本等地区, 非酒精性脂肪肝是隐源性肝硬化的主要原因<sup>[1,2]</sup>。

国内对隐源性肝硬化的病因极少探讨, 有观点认为隐性的慢性乙型肝炎病毒感染或者是患者隐瞒饮酒状况是我国隐源性肝硬化的主要病因, 但是, 目前为止, 鲜见有基于我国临床病例的隐源性肝硬化病因分析的相关报道。

隐匿型乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染, 定义为HBsAg阴性患者, 在血液或肝组织中存在HBV DNA<sup>[3]</sup>。据报道, 在隐源性肝炎患者中, 大多数患者具有阳性血清antiHBc和/或antiHBs<sup>[4]</sup>。隐匿型HBV感染患者是筛选献血者的重要项目, 而对于隐匿型HBV感染是否与肝硬化或肝癌发生相关还是旁观者, 目前并无一致结论, 也有学者认为, 隐匿型HBV感染是隐源性肝硬化甚至病毒检测阴性的肝细胞肝癌的重要原因<sup>[5]</sup>, 因此, 探讨乙型肝炎相对高流行地区隐源性肝硬化患者临床特征, 具有明确的临床指导意义。本研究从新疆医科大学第一附属医院9年来收治的4023例肝硬化患者中, 按照隐源性肝病诊断标准, 筛选出符合诊断的241例患者, 对其临床特征分析结果如下。

## 1 材料和方法

1.1 材料 收集了新疆医科大学第一附属医院



2001-01/2009-01肝硬化患者4023例,按照方法中的诊断标准,总共选出241例患者符合隐匿性肝硬化的诊断标准,其中单纯隐匿性肝硬化的患者222例,女性125例,男性97例,平均年龄为54.86岁 $\pm$ 16.09岁,隐匿性肝硬化合并肝癌的患者19例,女性10例,男性9例,平均年龄为67.42岁 $\pm$ 7.03岁。

## 1.2 方法

### 1.2.1 临床隐匿性肝硬化和肝细胞肝癌的诊断标准:

隐匿性肝硬化的诊断依据: (1)影像学和临床表现符合肝硬化的特征; (2)所有病例资料均为从不饮酒的患者; (3)排除任何其他病因(慢性乙型肝炎感染、慢性丙型肝炎感染、酒精性肝病、血管性肝病、自身免疫性肝炎,肝豆状核变性等先天性遗传性肝病); (4)实验室数据,包括超声诊断肝癌和/或肝脏计算机断层扫描(computed tomography, CT)和 $\alpha$ -甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)检测。肝癌的诊断是基于由动态CT或磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)所评估的肝癌的典型特征。

### 1.2.2 2型糖尿病、原发性高血压诊断标准:

糖尿病:符合1999年世界卫生组织的诊断标准<sup>[6]</sup>:糖尿病症状加任意时间血浆葡萄糖 $\geq 11.1$  mmol/L,或空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)水平 $\geq 7.0$  mmol/L,或空腹葡萄糖耐量(oral glucose tolerance test, OGTT)(0 min)餐后2 h血糖水平 $\geq 11.1$  mmol/L。高血压:以《中国高血压防治指南》(2005年修订版)为诊断标准<sup>[7]</sup>:即收缩压 $\geq 140$  mmHg(1 mmHg = 0.133 kPa),和/或舒张压 $\geq 90$  mmHg,排除由肾脏等其他基础疾病引起的继发性高血压。

### 1.2.3 病毒感染检测和隐匿型病毒性肝炎诊断标准(剔除标准):

采用酶联免疫法检测血清乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒免疫学指标,包括HBsAg、抗-HBs、HBeAg、抗HBe、抗HBe、抗-HCV,采用实时荧光定量PCR检测血清乙型肝炎HBV DNA和丙型肝炎病毒HCV RNA,上述检测任何一项阳性即剔除,所有测试均在医院进行血清学标准检测。

### 1.2.4 一般资料及实验室检查:

记录患者年龄、民族、性别、家族肿瘤史,高血压病史和糖尿病史,测量受试者身高、体质量和血压,计算体质量指数(body mass index, BMI) = 体质量(kg)/身高(m<sup>2</sup>)。禁食1夜(12 h)后,早晨抽取空腹静脉血,实验室评估包括肝特异性指标,例如谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)、碱性磷酸

酶(alkaline phosphatase, ALP)、 $\gamma$ -谷氨酰转肽酶(gamma glutamyl transpeptidase, GGT)和胆红素。对红细胞计数、白细胞计数、血小板、红细胞沉降率、蛋白电泳(包括 $\gamma$ -球蛋白、IgG、IgM、IgA的免疫球蛋白水平)、 $\alpha$ -甲胎蛋白、胆固醇、甘油三酯、肌酐进行了评价。

### 统计学处理

计量资料用mean $\pm$ SD表示,正态分布每两组间均数差异的比较采用 $t$ 检验,非正态分布资料两组间均数差异的比较采用对数转换,率及构成比的比较采用 $\chi^2$ 检验,多因素分析采用有序Logistic回归分析,采用SPSS17.0软件进行统计, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

241例患者符合隐匿性肝硬化诊断标准,平均年龄55.92岁 $\pm$ 15.92岁,男性占44%;其中222例是单纯隐匿性肝硬化的患者,19例为隐匿性肝硬化合并肝癌的患者;按照隐匿性肝硬化有无合并肝癌,将数据分层(表1)。隐匿性肝硬化合并肝癌组的年龄中位数在为67.42岁 $\pm$ 7.03岁,显著高于单纯隐匿性肝硬化组:54.86岁 $\pm$ 16.09岁( $t = -6.48$ ,  $P < 0.001$ )。在单纯隐匿性肝硬化组,有44%的男性和56%的女性;在隐匿性肝硬化合并肝癌组,有47.37%的男性和52.63%的女性;单纯隐匿性肝硬化组和隐匿性肝硬化合并肝癌组之间在性别和民族分布上没有显著性差异。与“经典肝癌”相比较则具体有差异性;按照肝硬化的严重程度,分级为Child-Pugh A/B/C,在单纯隐匿性肝硬化组,Child-Pugh A: 13.51%(30/222), B: 62.16%(138/222), C: 24.32%(54/222);在隐匿性肝硬化合并肝癌组:Child-Pugh A: 10%; B: 53%; C: 37%。肝癌肿瘤的直接中位数为5.9 cm。19例患者中,有7例(37%)存在单个肝癌病变。

### 2.2 合并2型糖尿病和原发性高血压情况

所有241例隐匿性肝硬化患者中,98例(40.66%)合并糖尿病,55例合并高血压(22.82%),单纯隐匿性肝硬化组分别存在88例(40%)糖尿病和45例(20%)高血压。但在隐匿性肝硬化合并肝癌组,分别存在10例(53%)糖尿病和11例(58%)高血压。隐匿性肝硬化合并肝癌组中高血压的发病率显著高于单纯隐匿性肝硬化组( $t = -6.467$ ,  $P < 0.001$ )。多因素回归分析证实,高血压(OR = 5.4, 95%CI: 2.055-14.234,  $P < 0.001$ )和年龄(OR = 1.086, 95%CI: 1.033-1.142,  $P < 0.001$ )均为隐匿性肝硬化患者发展为肝癌的危险因素。进一步

## ■ 相关报道

通过对既往诊断为隐匿性肝硬化的病例分析,西方首次发现隐匿性肝硬化患者约40%-52%合并2型糖尿病,这一发现丰富了非酒精性脂肪肝病作为非良性疾病的观点。

## ■创新盘点

我国对隐源性肝硬化的临床病例分析较少,而作为乙型肝炎病毒高流行地区,我国对隐源性肝硬化病因,学术观点的主流,依然认为是由隐匿型乙型肝炎病毒感染所致,本文创新点在于:集约九年的区域性大样本病例,按照严格规范的病例筛选标准,对乙型肝炎高流行地区的隐源性肝硬化合并代谢因素进行了规范的统计学分析,基于病例特征分析提示,乙型肝炎高流行区域的隐源性肝硬化病因,证据倾向于非酒精性脂肪性肝病相关,而非隐匿性乙型肝炎病毒感染。

表 1 隐源性肝硬化并发肝癌危险因素的单因素分析结果

因素	隐源性肝硬化合并肝癌	隐源性肝硬化	OR	P值
<i>n</i>	19	222		
年龄(岁)	67.42 ± 7.03	54.86 ± 16.09	-6.467	0.001
中国 <i>n</i> (%)	10	78	1.13	0.29
当地少数民族 <i>n</i> (%)	9(47)	144(64)	1.14	0.32
性别: 男, <i>n</i> (%)	9/10	97/125	0.96	0.76
Child-Pugh分类 <i>n</i> (%)				
A级	2(11)	30(14)		
B级	10(53)	138(62)	1.35	0.51
C级	7(37)	54(24)	1.12	0.43
家族肿瘤史 <i>n</i> (%)	0(0)	16(7)	1.02	0.999
体质量指数(kg/m <sup>2</sup> )	25.9 ± 3.1	25.1 ± 2.3	-1.182	0.239
2型糖尿病 <i>n</i> (%)	10(53)	88(40)	1.22	0.273
高血压 <i>n</i> (%)	11(58)	45(20)	13.8	0.001
收缩压(mmHg)	142 ± 18	123 ± 23	-3.627	0.001
舒张压(mmHg)	84 ± 15	74 ± 13	-3.421	0.001
甘油三酯(mg/dL)	1.54 ± 1.55	1.16 ± 0.68	-1.016	0.323
胆固醇(mg/dL)	3.56 ± 1.04	3.21 ± 1.18	1.12	0.227
血肌酐(μmol/L)	124.46 ± 218.55	73.99 ± 35.92	-1.16	0.101
血小板(10 <sup>9</sup> /L)	104 ± 21	111 ± 48	-1.01	0.126
谷草转氨酶(IU/L)	47 ± 248	45 ± 23	1.03	0.106
谷丙转氨酶(IU/L)	53 ± 127	49 ± 98	1.06	0.23
谷氨酰转氨酶(IU/L)	75 ± 627	12 ± 47	1.17	0.32
平均红细胞容积(fl)	95.35 ± 8.07	94.46 ± 11.29	1.43	0.061
药物过敏史 <i>n</i> (%)	7(37)	49(22)	1.04	0.150
红细胞沉降率(mm/h)	4.6 ± 8.2	5.3 ± 7.2	1.02	0.339
肿瘤大小[ <i>n</i> (%), cm]	5.9 ± 6.1			
<3.0	0			
3.1-5.0	9(47)			
>5.0	10(53)			
结节数目[ <i>n</i> (%), 个]				
1	5(26)			
2-3	7(37)			
>3	7(37)			
肿瘤血管浸润 <i>n</i> (%)	14(74)			
甲胎蛋白>400 ng/mL <i>n</i> (%)	4(21)			

分析显示, 高血压、收缩压(OR = 1.031, 95%CI: 1.012-1.050,  $P < 0.001$ )和舒张压(OR = 1.055, 95%CI: 1.021-1.091,  $P < 0.001$ )都是隐源性肝硬化患者发展为肝癌的危险因素。多因素回归分析的危险因素结果列于表2中。

## 3 讨论

在西方世界和日本地区, 肝硬化的主要危险因素是丙型肝炎病毒感染、酗酒和非酒精性脂肪肝, 非酒精性脂肪肝相关肝硬化, 合并2型糖尿病是其主要特点之一<sup>[8]</sup>, 当非酒精性脂肪性肝炎出现肝纤维化趋势时, 肝细胞沉积的脂滴消

失, 因此, 当非酒精性脂肪性肝炎进展到肝硬化阶段时, 肝脏脂肪含量反而大量减少, 而被归类为隐源性肝硬化<sup>[9]</sup>, 目前, 在乙型肝炎病毒低流行区, 隐源性肝硬化与非酒精性脂肪性肝病相关已经获得比较一致的结论<sup>[10]</sup>。近年来, 乙型肝炎流行病学特征发生了明显改变, 乙型肝炎e抗原、s抗原阴性的感染人数增多<sup>[11]</sup>, 究其原因就有病毒基因的变异, 造成血清标志物阴性的HBV感染即隐匿型感染或低水平的HBV感染, 这种变异体或突变体在HBV持续感染相关和原因不明的肝病发病机制中起很重要的作用<sup>[12]</sup>, 这就使得传统的单纯以HBV血清标志物的检验

表 2 隐源性肝硬化并发肝癌危险因素的多因素回归分析

因素	P值	OR	95%CI	
年龄	0.001	1.086	1.033	1.142
高血压	0.001	5.408	2.055	14.234
收缩压	0.001	1.050	1.031	1.012
舒张压	0.001	1.091	1.055	1.021

OR: 比值比; 95%CI: 95%置信区间。

结果判断乙型肝炎病毒的感染、复制及传染性强、弱等有其局限性, 所以传统的血清免疫检测方法有可能不完全正确的反映患者的病毒存在状态<sup>[13]</sup>, 考虑隐源性肝硬化可能与隐匿型乙型肝炎病毒感染相关, 在我国, 乙型肝炎表面抗原阴性, 乙型肝炎表面抗体、e抗体、核心抗体阳性者, 均归到乙型肝炎病毒感染的行列。

本组隐源性肝硬化患者, 在方法学设计中, 已经剔除了任何乙型肝炎病毒感染或者既往感染的证据, 同时剔除了丙型肝炎病毒感染, 这其中包括符合隐匿型慢性乙型肝炎肝炎, 因此, 这组患者属于病毒指标全部阴性的患者。从病历资料分析, 该组患者无饮酒史, 从患者人口学特征角度, 该组病例女性占据56%, 并不符合我国酒精性肝硬化95%为男性的人口学特征<sup>[11]</sup>, 患者年龄均数55.92岁, 总体发生癌变率占据7.88%, 而自身免疫性肝病患者发生肝细胞肝癌者少见。所有241例隐源性肝硬化患者中, 40.66%的患者存在糖尿病, 22.82%存在高血压, 隐源性肝硬化患者合并2型糖尿病, 与国外报道的非酒精性脂肪性肝病相关隐源性肝硬化临床特征类似<sup>[14,15]</sup>。

同时, 20%隐源性肝硬化患者合并原发性高血压, 是本组肝硬化患者的鲜明特征。2型糖尿病和原发性高血压都是代谢综合症的重要组份, 非酒精性脂肪性肝病与2型糖尿病伴发在临床普遍, 约40%-80% 2型糖尿病患者合并非酒精性脂肪性肝病, 本组隐源性肝硬化合并较高的代谢综合症组份, 提示该组隐源性肝硬化与非酒精性脂肪性肝病存在一定的关联, 也提示我国临床医师应重视非酒精性脂肪性肝病的肝纤维化风险的评估。

非酒精性脂肪性肝病在非酒精性脂肪性肝炎和肝硬化阶段, 均可发生肝细胞肝癌<sup>[16]</sup>, 本组19例患者在肝硬化基础上发生肝细胞性肝癌, 在本组病例中, 发生肝细胞肝癌的隐源性肝硬化合并更高的原发性高血压发生率, 提示原发

性高血压是隐源性肝硬化患者发生肝癌的危险因素, 这是首次基于病例分析发现高血压与隐源性肝硬化发生肝癌的报道, 确切结论有待进一步研究证实。

糖尿病不是隐源性肝硬化患者发展为肝癌的危险因素。虽然在隐源性肝硬化伴发和不伴发肝癌患者中, 糖尿病的患病率分别是53%和40%, 但是这一趋势无统计学意义, 而高血压发生率在隐源性肝硬化组和隐源性肝硬化合并肝细胞性肝癌组之间具有显著性差异, 隐源性肝硬化组仅20%合并原发性高血压, 而发生肝细胞肝癌组52%合并原发性高血压。

总之, 基于单中心9年的肝硬化病例回顾性分析, 中国新疆地区, 作为慢性乙型肝炎中等度流行地区, 临床实际诊断的隐源性肝硬化患者, 占据总体肝硬化患者的5.99%, 女性比例高于男性, 该组患者伴随较高的2型糖尿病和原发性高血压, 提示该地区隐源性肝硬化与非酒精性脂肪肝病存在一定的相关性。

#### 4 参考文献

- Lall CG, Aisen AM, Bansal N, Sandrasegaran K. Nonalcoholic fatty liver disease. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190: 993-1002 [PMID: 18356447 DOI: 10.2214/AJR.07.2052]
- Bugianesi E, Leone N, Vanni E, Marchesini G, Brunello F, Carucci P, Musso A, De Paolis P, Capussotti L, Salizzoni M, Rizzetto M. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2002; 123: 134-140 [PMID: 12105842 DOI: 10.1053/gast.2002.34168]
- Raimondo G, Pollicino T, Cacciola I, Squadrito G. Occult hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2007; 46: 160-170 [PMID: 17112622 DOI: 10.1016/j.jhep.2006.10.007]
- Mulrooney-Cousins PM, Michalak TI. Persistent occult hepatitis B virus infection: experimental findings and clinical implications. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5682-5686 [PMID: 17963292]
- 马宁强, 冯英明, 张伟, 朱少君, 张贺龙, 姬统理, 闵捷, 宋杨. 隐匿性乙型肝炎在隐源性肝病中的感染率研究. *现代肿瘤医学* 2006; 14: 425-428
- 张连凤, 王金良. 糖尿病试验诊断和分类的新标准. *临床检验信息* 1999; 6: 3
- 中国高血压防治指南修订委员会. 中国高血压防治指南(2005年修订版). *高血压杂志* 2005; 134: 2-41
- Caldwell SH, Crespo DM. The spectrum expanded: cryptogenic cirrhosis and the natural history of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2004; 40: 578-584 [PMID: 15030972]
- Salomao M, Yu WM, Brown RS, Emond JC, Lefkowitz JH. Steatohepatitic hepatocellular carcinoma (SH-HCC): a distinctive histological variant of HCC in hepatitis C virus-related cirrhosis with associated NAFLD/NASH. *Am J Surg Pathol* 2010; 34: 1630-1636 [PMID: 20975341 DOI: 10.1097/PAS.0b013e3181f31caa]

#### ■应用要点

该文献为首次在乙型肝炎高流行区探讨隐源性肝硬化与非酒精性脂肪性肝病存在密切关联, 这将为今后我国诊断非酒精性脂肪性肝病的肝硬化阶段病例提供有益的模式。



## ■同行评价

本研究设计合理, 分析方法得当, 病例较多, 结论有一定临床意义。

- 10 Yasui K, Hashimoto E, Komorizono Y, Koike K, Arii S, Imai Y, Shima T, Kanbara Y, Saibara T, Mori T, Kawata S, Uto H, Takami S, Sumida Y, Takamura T, Kawanaka M, Okanoue T. Characteristics of patients with nonalcoholic steatohepatitis who develop hepatocellular carcinoma. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2011; 9: 428-433; quiz e50 [PMID: 21320639 DOI: 10.1016/j.cgh.2011.01.023]
- 11 陈新. 中华医学会第12次全国病毒性肝炎与肝病学术会议. 北京大学学报(医学版) 2005; 37: 264
- 12 苏勤. 乙型肝炎病毒隐匿型感染. 肝脏 2002; 7: 197-198
- 13 高玉金, 刘成永, 孙庆. 定量检测乙型肝炎病毒标志物与HBV DNA定量问的关系及临床意义. 淮海医药 2005; 23: 189-191
- 14 Rodríguez-Hernández H, Gonzalez JL, Márquez-Ramírez MD, Flores-Hernández M, Rodríguez-Morán M, Guerrero-Romero F. Risk factors associated with nonalcoholic fatty liver disease and its relationship with the hepatic histological changes. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2008; 20: 399-403 [PMID: 18403941 DOI: 10.1097/MEG.0b013e3282f448af]
- 15 Ertle J, Dechêne A, Sowa JP, Penndorf V, Herzer K, Kaiser G, Schlaak JF, Gerken G, Syn WK, Canbay A. Non-alcoholic fatty liver disease progresses to hepatocellular carcinoma in the absence of apparent cirrhosis. *Int J Cancer* 2011; 128: 2436-2443 [PMID: 21128245 DOI: 10.1002/ijc.25797]
- 16 El-Serag HB. Epidemiology of hepatocellular carcinoma in USA. *Hepatol Res* 2007; 37 Suppl 2: S88-S94 [PMID: 17877502 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00168.x]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 三叶因子3在肝细胞癌组织中的表达及临床意义

尚允利, 钱叶本

尚允利, 钱叶本, 安徽医科大学第一附属医院普外科 安徽省合肥市 230032

尚允利, 枞阳县人民医院普外科 安徽省安庆市 246702

尚允利, 主治医师, 主要从事肝癌分子生物学的研究。

作者贡献分布: 此课题由尚允利与钱叶本设计; 研究过程由尚允利操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由尚允利提供; 数据分析由尚允利完成; 本论文写作由尚允利与钱叶本完成。

通讯作者: 钱叶本, 教授, 博士, 230032, 安徽省合肥市绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院普外科。

qianyeben@hotmail.com

电话: 0551-62922114

收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-01-13

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Clinical significance of expression of trefoil factor 3 in hepatocellular carcinoma

Yun-Li Shang, Ye-Ben Qian

Yun-Li Shang, Ye-Ben Qian, Department of Surgery, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230032, Anhui Province, China

Yun-Li Shang, Department of Surgery, the People's Hospital of Zongyang, Anqing 246702, Anhui Province, China

Correspondence to: Ye-Ben Qian, Professor, Doctor, Department of Surgery, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Hefei 230032, Anhui Province, China. qianyeben@hotmail.com

Received: 2013-12-26 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate clinical significance of expression of trefoil factor 3 (TFF3) in hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** The expression of TFF3 was examined by immunohistochemical method on tissue chips containing 90 cases of HCC and 90 cases of non-tumor hepatic tissues.

**RESULTS:** The positive rate of TFF3 expression in HCC was significantly higher than that in non-tumor hepatic tissues (62.1% vs 33.8%,  $P < 0.01$ ). TFF3 expression was significantly correlated with tumor size, TNM stage ( $P = 0.026$  and  $0.015$ ) and relapse-free survival ( $P = 0.043$ ).

**CONCLUSION:** TFF3 may play an important

role in the development and progression of HCC, and the expression of TFF3 might be a potential marker for evaluating the prognosis of HCC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Trefoil factor 3; Immunohistochemistry

Shang YL, Qian YB. Clinical significance of expression of trefoil factor 3 in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1141-1145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1141.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1141>

## 摘要

**目的:** 探讨三叶因子3(trefoil factor 3, TFF3)在人肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达及其与患者临床病理特征和预后的关系。

**方法:** 建立组织微阵列平台, 应用免疫组织化学两步法检测90例HCC肿瘤组织和90例癌旁非肿瘤组织中TFF3的表达情况。

**结果:** HCC肿瘤组织中TFF3阳性表达率为62.1%, 癌旁非肿瘤组织中TFF3阳性表达率为33.8%, 两者之间差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ); HCC肿瘤组织中TFF3蛋白的表达与肿瘤的大小以及肿瘤TNM分期分别呈显著正相关( $P = 0.026$ 和 $0.015$ ), 与患者的无复发生存期呈负相关( $P = 0.043$ )。

**结论:** TFF3可能参与HCC的发生和进展, 可以作为判定HCC预后的一种潜在标志物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝脏肿瘤; 三叶因子3; 免疫组织化学

**核心提示:** 本文使用组织微阵列平台, 应用免疫组织化学两步法检测肝细胞癌三叶因子3(trefoil factor 3, TFF3)的表达状况, 结果显示TFF3在肝细胞癌中过表达, 并且与病程进展和患者预后生存期相关, 提示TFF3可能参与肝细胞癌的发生和

## ■背景资料

研究肝细胞癌发生发展的分子机制, 确定有效的生物学标志物和治疗靶点, 对提高患者的治疗效果和生存质量有着重要意义。

## ■同行评议者

孙星, 副教授, 副主任医师, 上海交通大学附属第一人民医院普外科

## ■ 研究前沿

近年研究发现三叶因子3(trefoil factor 3)表达在多种恶性肿瘤的发生发展过程中发挥了重要作用,但在肝细胞癌中的研究鲜有报道。

进展,可以作为判定肝细胞癌预后的一种潜在标志物。

尚允利, 钱叶本. 三叶因子3在肝细胞癌组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1141-1145 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1141.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1141>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)一种常见的恶性肿瘤,其发病率和死亡率在全球范围内有逐年增高趋势<sup>[1]</sup>.由于HCC临床早期症状不明显,难以做到早期发现早期治疗,因此很多患者术后肿瘤常见复发转移,导致远期生存率不佳<sup>[2]</sup>.因此,研究HCC发生发展的分子机制,发掘其中重要的调控分子,确定有效的生物学标志物和治疗靶点,对提高HCC患者的治疗效果和生存质量有着重要意义<sup>[3]</sup>.三叶因子3(trefoil factor 3, TFF3)是在1991年由Suemori<sup>[4]</sup>从大鼠空肠中发现的,分子仅由59个氨基酸组成,含有1个P结构域,存在单聚体和二聚体两种形式,主要分布于肠黏膜.近年来,TFF3在肿瘤中的作用日益受到重视.目前TFF3在肝细胞癌中的研究鲜有报道,本研究采用免疫组织化学技术检测HCC肿瘤组织及癌旁非肿瘤组织TFF3的表达,分析其与HCC临床病理特征关系,探讨其在HCC发病过程中的生物学意义。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2004-01/2007-08安徽医科大学第一附属医院普外科HCC病例90例,患者平均年龄51.5岁±11.6岁.按第6版国际抗癌协会TNM分期标准进行临床分期,Edmondson分级标准进行组织学分级.所有HCC患者均有详细生存资料,包括术后总生存期和术后无复发生存期,并且术前均未做化疗、免疫或放射治疗.另收集每例病例手术标本中距离肿瘤组织边缘2 cm以外的非肿瘤性肝组织.所有组织均以40 g/L中性甲醛固定过夜,石蜡包埋,常规行苏木精-伊红(HE)染色,经组织病理诊断证实.浓缩型鼠抗人TFF3单克隆抗体购于美国Abcam公司,工作浓度1:100.通用型EnVision两步法免疫组织化学试剂盒及DAB显色剂均购自北京中杉金桥公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 组织微阵列制备:**首先,复查每例标本HE染色切片,选取代表性组织位点,然后使用显微镜定位器进行定位.每例病例选取4枚组织(癌组

表 1 TFF3在肝细胞癌和癌旁非肿瘤组织中表达 [n = 90, n(%)]

分组	TFF3	
	阴性	阳性
肝细胞癌	39(37.9)	64(62.1) <sup>b</sup>
非肿瘤组织	51(66.2)	26(33.8)

<sup>b</sup>P<0.01 vs 非肿瘤组织组. TFF3: 三叶因子3.

组织和癌旁非肿瘤组织各2枚);使用组织微阵列制备仪制作7×8点阵的空白蜡块;选取内径为1.5 mm的取样针,在相应组织蜡块上找到取样位置,通过取样、点样,经过二次包埋后制成的组织微阵列蜡块.每枚蜡块为56个组织点阵,即包含56枚组织点;以4 μm厚度连续切片,敷贴于10%多聚赖氨酸预先处理的载玻片上。

**1.2.2 免疫组织化学检测TFF3的表达及结果判定:**具体免疫组织化学操作按说明书染色步骤进行.以PBS缓冲液代替一抗作为阴性对照,余步骤相同.采用双盲法,由两位病理医师独立观察.TFF3以细胞胞质内出现淡黄色至棕黄色颗粒为阳性细胞.TFF3阳性细胞计数:每个样本随机计数5个高倍视野(400倍)的阳性细胞数,计算每个视野的阳性率,得出平均数,按下列方法进行评分:阳性细胞<33%为1分,33%-67%为2分,>67%为3分;阳性细胞着色深度:无着色或弱表达为1分,棕黄色为2分,棕褐色为3分.将两项积分相乘:≥4分被认为是阳性,反之为阴性<sup>[5]</sup>.

**统计学处理** 采用SPSS10.0软件进行统计分析.其中样本阳性率之间比较采用 $\chi^2$ 检验,阳性率与患者临床病理特征之间关系采用非参数Spearman等级相关检验,患者生存率的组间比较采用Kaplan-Meier生存曲线法及Log-rank检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 TFF3蛋白的表达及分布** TFF3阳性染色主要定位于细胞胞质(图1).HCC肿瘤组织和癌旁非肿瘤组织中均有不同程度的TFF3阳性表达.90例HCC肿瘤组织中TFF3阳性表达率为62.1%,90例癌旁非肿瘤组织中TFF3阳性表达率为33.8%,两者之间差异具有统计学意义( $P<0.01$ )(表1)。

**2.2 TFF3蛋白表达与HCC临床病理特征的关系** HCC肿瘤组织中TFF3蛋白的表达与肿瘤大小及临床TNM分期均呈显著正相关( $P = 0.026$ 和 $P = 0.015$ ),而与患者年龄、性别、组织学分



表 2 肝细胞癌组织中TFF3蛋白表达与患者临床病理特征的关系  $n(\%)$ 

临床病理特征	<i>n</i>	TFF3	<i>P</i> 值
年龄(岁)			0.543
≤55	54	32(59.3)	
>55	36	19(52.8)	
性别			0.458
男	73	40(54.8)	
女	17	11(64.7)	
肝硬化			0.435
有	81	47(58.0)	
无	9	4(44.4)	
HBsAg			0.458
阳性	73	40(54.8)	
阴性	17	11(64.7)	
肿瘤大小(cm)			0.026
<5	26	10(38.5)	
≥5	64	41(64.1)	
组织学分级			0.150
I	11	9(81.8)	
II	68	35(51.5)	
III	11	7(63.6)	
临床分期			0.015
I – II	67	33(49.3)	
III – IV	23	19(78.3)	

TFF3: 三叶因子3.

级、HBsAg感染和肝硬化状况均无显著相关性 ( $P>0.05$ )(表2).

2.3 TFF3蛋白表达与肝细胞癌患者预后的关系  
采用Kaplan-Meier曲线法和Log-rank检验对肿瘤细胞TFF3表达与HCC患者总生存率和无复发生存率关系进行单因素生存分析: TFF3阳性表达患者无复发生存率显著低于阴性表达患者 ( $P = 0.043$ ). TFF3阳性表达患者总生存率低于阴性表达患者, 但未达到统计学意义 ( $P = 0.062$ )(图2).

### 3 讨论

近年来, TFF3是研究较多的小分子多肽三叶因子家族成员之一, 研究发现其过度表达是多种恶性肿瘤预后不良的表现之一, 可能在促进肿瘤演进方面发挥了重要作用. Yamachika<sup>[6]</sup>研究发现TFF3具有抑制胃癌细胞黏附、促进细胞侵袭和阻断细胞凋亡的作用. Taupin等<sup>[7]</sup>通过制造大鼠胃黏膜病变模型, 发现在从胃黏膜化生到不典型增生再到胃癌这一过程中, TFF3的表达逐步增高, 提示TFF3可能参与了胃黏膜恶性转化的过程, 其表达的改变可能是胃黏膜癌变的

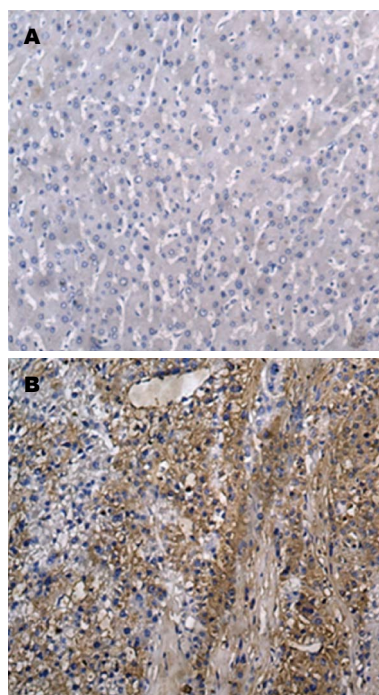


图 1 肝细胞癌和癌旁非肿瘤组织中TFF3的表达( $\times 200$ ). A: 肝细胞癌; B: 癌旁非肿瘤组织. TFF3: 三叶因子3.

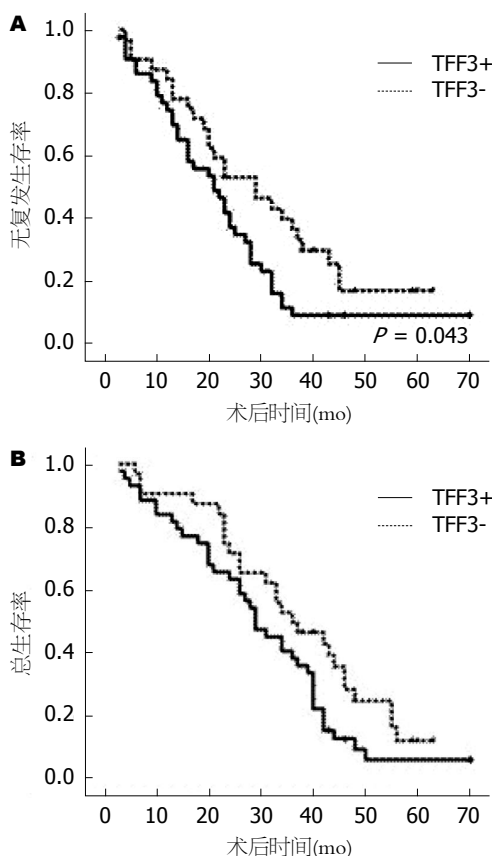


图 2 TFF3表达与肝细胞癌患者预后的关系. A: 无复发生存率; B: 总生存率. TFF3: 三叶因子3.

早期分子事件. Chan等<sup>[8]</sup>也发现在胃癌组织中TFF3存在异常表达, 并能够上调Rat-2细胞中侵

### ■ 相关报道

Yamachika应用免疫组织化学方法检测了胃腺癌TFF3表达, 发现TFF3表达与肿瘤进展状况、浸润性生长以及肿瘤淋巴结转移有关. Dharet发现TFF3可作为胃癌患者的无复发生存率的独立评价预后指标.

## ■创新盘点

本文在国内首次大样本检测了肝细胞癌和癌旁非肿瘤组织TFF3表达,并分析其与患者临床病理特征和预后的关系。

袭相关基因的表达。体内外研究显示:TFF3可以促进鸡胚绒毛尿囊膜的血管生成,从而诱导人脐静脉内皮细胞形成类微血管结构,提示其可能参与了血管生成<sup>[9]</sup>。Dhar等<sup>[5]</sup>研究显示TFF3能够促进胃癌的转移和复发,其机制可能是TFF3在肿瘤微血管生成方面扮演重要角色。细胞周期、DNA修复、血管生成和凋亡等都涉及到相关基因的CpG岛甲基化,CpG岛甲基化在肿瘤发生、发展过程中可能发挥着关键作用<sup>[10]</sup>。Okada等<sup>[11]</sup>发现TFF3的过表达参与了肝脏肿瘤的发生,异常的启动区CpG岛甲基化可能对TFF3表达发挥重要的调控作用,由此推测肝癌组织可能通过启动区CpG岛甲基化促进TFF3的表达,进而影响血管生成,促进肿瘤的侵袭、转移,其具体机制还有待进一步证实。

目前国内关于TFF3在HCC中的表达及其与预后相关性的研究尚未见报道。本研究采用免疫组织化学方法检测肝脏肿瘤中TFF3蛋白表达情况,结果显示,HCC肿瘤组织TFF3表达显著高于癌旁非肿瘤组织,结果与皮肤黏液癌、乳腺癌、胃癌、结肠癌、前列腺癌等多种恶性肿瘤报道一致<sup>[5,12-15]</sup>,提示其可能参与了HCC的发生过程。Yamachika等<sup>[6]</sup>应用免疫组织化学方法检测209例原发性胃腺癌病理组织标本,结果显示TFF3在胃癌患者中表达率女性明显高于男性,并且在男性胃癌患者中TFF3表达与进展状况、浸润性生长以及肿瘤淋巴结转移有关,提示TFF3高表达可能是胃癌患者预后不良的标志。本研究结果显示,肝细胞癌肿瘤组织中TFF3表达与年龄、性别、分化程度以及淋巴结转移无关,但与肿瘤的大小以及临床TNM分期呈显著正相关,提示TFF3参与HCC的发生、发展过程,可能是一种HCC预后不良的标志物。Dhar等<sup>[5]</sup>发现TFF3可作为胃癌患者的无复发生存率的独立评价预后指标,提示TFF3高表达的胃癌患者具有较高的复发风险。本研究进一步显示TFF3表达与HCC患者的无复发生存率呈显著负相关,结合文献报道,提示TFF3可能作为HCC预后不良的一种标志物。

总之,TFF3作为HCC发生过程中的重要因子,可能参与了HCC恶性转化和进展的过程,是患者预后不良的一个潜在标志物。TFF3基因可能成为HCC新的分子标志物,对HCC的早期诊断、评估预后及治疗模式的选择有着重要的临床参考价值。

## 参考文献

- 1 El-Serag HB, Rudolph KL. Hepatocellular carcinoma: epidemiology and molecular carcinogenesis. *Gastroenterology* 2007; 132: 2557-2576 [PMID: 17570226 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.04.061]
- 2 Tang ZY, Ye SL, Liu YK, Qin LX, Sun HC, Ye QH, Wang L, Zhou J, Qiu SJ, Li Y, Ji XN, Liu H, Xia JL, Wu ZQ, Fan J, Ma ZC, Zhou XD, Lin ZY, Liu KD. A decade's studies on metastasis of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 187-196 [PMID: 14685850 DOI: 10.1007/s00432-003-0511-1]
- 3 Du Y, Cao GW. Challenges of incorporating gene expression data to predict HCC prognosis in the age of systems biology. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3941-3944 [PMID: 22912544 DOI: 10.3748/wjg.v18.i30.3941]
- 4 Suemori S, Lynch-Devaney K, Podolsky DK. Identification and characterization of rat intestinal trefoil factor: tissue- and cell-specific member of the trefoil protein family. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1991; 88: 11017-11021 [PMID: 1763017 DOI: 10.1073/pnas.88.24.11017]
- 5 Dhar DK, Wang TC, Tabara H, Tonomoto Y, Maruyama R, Tachibana M, Kubota H, Nagasue N. Expression of trefoil factor family members correlates with patient prognosis and neoangiogenesis. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6472-6478 [PMID: 16166422 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-05-0671]
- 6 Yamachika T, Werther JL, Bodian C, Babyatsky M, Tatematsu M, Yamamura Y, Chen A, Itzkowitz S. Intestinal trefoil factor: a marker of poor prognosis in gastric carcinoma. *Clin Cancer Res* 2002; 8: 1092-1099 [PMID: 12006524]
- 7 Taupin D, Pedersen J, Familiari M, Cook G, Yeomans N, Giraud AS. Augmented intestinal trefoil factor (TFF3) and loss of pS2 (TFF1) expression precedes metaplastic differentiation of gastric epithelium. *Lab Invest* 2001; 81: 397-408 [PMID: 11310832 DOI: 10.1038/labinvest.3780247]
- 8 Chan VY, Chan MW, Leung WK, Leung PS, Sung JJ, Chan FK. Intestinal trefoil factor promotes invasion in non-tumorigenic Rat-2 fibroblast cell. *Regul Pept* 2005; 127: 87-94 [PMID: 15680474]
- 9 Semenza GL. Regulation of mammalian O<sub>2</sub> homeostasis by hypoxia-inducible factor 1. *Annu Rev Cell Dev Biol* 1999; 15: 551-578 [PMID: 10611972 DOI: 10.1146/annurev.cellbio.15.1.551]
- 10 周永宁, 徐采朴, 房殿春. CpG岛甲基化与胃肠道肿瘤. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 65-71
- 11 Okada H, Kimura MT, Tan D, Fujiwara K, Igarashi J, Makuuchi M, Hui AM, Tsurumaru M, Nagase H. Frequent trefoil factor 3 (TFF3) overexpression and promoter hypomethylation in mouse and human hepatocellular carcinomas. *Int J Oncol* 2005; 26: 369-377 [PMID: 15645121]
- 12 Leung WK, Yu J, Chan FK, To KF, Chan MW, Ebert MP, Ng EK, Chung SC, Malfertheiner P, Sung JJ. Expression of trefoil peptides (TFF1, TFF2, and TFF3) in gastric carcinomas, intestinal metaplasia, and non-neoplastic gastric tissues. *J Pathol* 2002; 197: 582-588 [PMID: 12210076 DOI: 10.1002/path.1147]
- 13 Vestergaard EM, Borre M, Poulsen SS, Nexø E, Tørring N. Plasma levels of trefoil factors are increased in patients with advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 807-812 [PMID: 16467092]
- 14 May FE, Westley BR. Expression of human in-

testinal trefoil factor in malignant cells and its regulation by oestrogen in breast cancer cells. *J Pathol* 1997; 182: 404-413 [PMID: 9306961 DOI: 10.1002/(SICI)1096-9896(199708)182:4<404::AID-PATH875>3.0.CO; 2-0]

15 Balcer-Kubiczek EK, Harrison GH, Xu JF, Gutierrez PL. Coordinate late expression of trefoil peptide genes (pS2/TFF1 and ITF/TFF3) in human breast, colon, and gastric tumor cells exposed to X-rays. *Mol Cancer Ther* 2002; 1: 405-415 [PMID: 12477053]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



#### ■同行评价

肝细胞癌是一种常见的、预后差的恶性肿瘤, 治疗效果一直不佳. 该研究结果提示 TFF3 可能参与了肝细胞癌发生发展进展, 提示 TFF3 可能用于肝细胞癌治疗和预后判定的一个潜在靶点.

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

#### • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)



# Ki-67和p130在肝细胞癌穿刺组织中的表达对TACE治疗的临床意义

苏 赓, 马亦龙, 欧盛秋, 赵 昌, 宋庆峰

## ■背景资料

肝细胞癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 在癌症相关死亡原因中排名第3位, 肝癌患者的存活率低, 肝穿活检是确诊肝癌的重要手段。对于不能手术切除的HCC患者, 近年来研究了大量的非手术治疗方法, 其中经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已成为除外科手术外HCC患者最有效的治疗手段之一。本文通过检测肝细胞癌穿刺组织中的细胞增殖因子Ki-67和抑癌基因p130表达情况推测经TACE治疗HCC患者预后情况。

苏赓, 广西壮族自治区民族医院病理科 广西壮族自治区南宁市 530001

马亦龙, 欧盛秋, 赵昌, 宋庆峰, 广西医科大学附属肿瘤医院介入科 广西壮族自治区南宁市 530021

苏赓, 主治医师, 在读硕士, 主要从事肿瘤病理和肿瘤介入治疗的研究。

广西壮族自治区卫生厅科研计划基金资助项目, No.

z.2013282

作者贡献分布: 此课题设计、数据分析及论文写作均由苏赓与马亦龙完成; 研究资金与课题指导由马亦龙协助; 研究所用试剂与病理图片由苏赓提供; 研究过程由苏赓、马亦龙、欧盛秋、赵昌及宋庆峰共同参与完成。

通讯作者: 马亦龙, 教授, 硕士生导师, 530021, 广西壮族自治区南宁市河堤路71号, 广西医科大学附属肿瘤医院介入科。

jierumayilong@163.com

收稿日期: 2014-01-08 修回日期: 2014-01-26

接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-03-18

## Clinical significance of Ki-67 and p130 expression in liver needle biopsy from patients with hepatocellular carcinoma treated by transcatheter arterial chemoembolization

Geng Su, Yi-Long Ma, Sheng-Qiu Ou, Chang Zhao, Qing-Feng Song

Geng Su, Department of Pathology, Minzu Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530001, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Yi-Long Ma, Sheng-Qiu Ou, Chang Zhao, Qing-Feng Song, Department of Interventional Radiology, Affiliated Tumor Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Supported by: the Scientific Research Project of Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region, No. z.2013282

Correspondence to: Yi-Long Ma, Professor, Department of Interventional Radiology, Affiliated Tumor Hospital Of Guangxi Medical University, 71 Hedi Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. jierumayilong @163.com

Received: 2014-01-08 Revised: 2014-01-26

Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of Ki-67 and p130 expression in liver needle biopsy from patients with hepatocellular carcinoma (HCC) treated by transcatheter arterial chemoembolization (TACE).

**METHODS:** Medical records for 41 HCC patients treated by TACE between January 2005 and August 2010 were reviewed and the major clinical features, treatment modalities and outcomes were analyzed. The protein expression of Ki-67 and p130 was detected by S-P immunohistochemical method in 41 liver needle biopsies from patients with HCC.

**RESULTS:** The total positive rates of Ki-67 and p130 expression in HCC were 63.41% (26/41) and 51.52% (21/41), respectively. The expression of Ki-67 and p130 proteins was related to histological grade and prognosis ( $P < 0.05$  for both), but not to sex, age, tumor size, TNM stage or serum level of AFP ( $P > 0.05$  for all). There was a significant negative correlation between Ki-67 and p130 protein expression ( $r = -0.371$ ,  $P < 0.05$ ). The prognosis of the 41 patients with HCC treated by TACE was related to TNM stage and expression of Ki-67 and p130 ( $P < 0.05$  for all), but not to sex, age, tumor size, histological grade or serum level of AFP ( $P > 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Ki-67 and p130 play important roles in occurrence and development of HCC. Ki-67 and p130 can be used as predictive markers for HCC patients treated with TACE.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Biopsy; Chemoembolization; Ki-67; P130; Immunohistochemical

Su G, Ma YL, Ou SQ, Zhao C, Song QF. Clinical significance of Ki-67 and p130 expression in liver needle biopsy from patients with hepatocellular carcinoma treated by transcatheter arterial chemoembolization. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1146-1152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1146>

## 摘要

**目的:** 检测Ki-67和p130在肝细胞癌(hepatocel-

## ■同行评议者

虞必光, 教授, 遵义医学院附属医院消化科

lular carcinoma, HCC)穿刺组织中的表达对经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗的肝细胞患者的临床意义。

**方法:** 对我院2005-01/2010-08行介入治疗的41例肝细胞癌患者临床资料、诊疗方法及结果进行回顾性分析, 用免疫组织化学SP法检测肝细胞癌穿刺组织中Ki-67和p130表达情况。

**结果:** Ki-67和p130在肝细胞癌穿刺组织中的表达率分别为63.41%(26/41)和51.52%(21/41); Ki-67和p130的表达与病理分期和肿瘤预后相关( $P<0.05$ ), 与患者性别、年龄、肿瘤大小、TNM分期和血清AFP值不相关( $P>0.05$ ); Ki-67和p130在肝细胞癌中的表达呈负相关( $r=-0.371$ ,  $P<0.05$ ); 经TACE治疗的肝细胞癌患者预后与Ki-67和p130的表达及TNM分期相关( $P<0.05$ ), 而与患者性别、年龄、肿瘤大小、病理分期和血清AFP值均不相关( $P>0.05$ )。

**结论:** Ki-67和p130的表达在肝细胞癌的发生发展中起着重要作用, Ki-67和p130的表达可作为TACE治疗的肝细胞癌患者预后的重要分子标志物。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝细胞癌; 活检; 化疗栓塞; Ki-67; p130; 免疫组织化学

**核心提示:** 国内外对经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)治疗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)患者预后的研究手段多集中在临床资料, 影像学和血清学方面, 而通过组织学的方式推测预后报道较少, 在HCC穿刺组织中联合检测细胞增殖因子Ki-67和抑癌基因p130表达情况推测TACE治疗患者的预后情况, 是一种简易且经济的新途径。

苏赓, 马亦龙, 欧盛秋, 赵昌, 宋庆峰. Ki-67和p130在肝细胞癌穿刺组织中的表达对TACE治疗的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1146-1152 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1146.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1146>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是世界上第5大常见肿瘤, 在癌症相关死亡原因中排名第3位, 每年有超过60万例死于HCC<sup>[1]</sup>。肝癌患者的存活率低。肝穿活检是确诊肝癌的重要手

段, 然而由于肝癌发病较为隐匿, 就诊时多为中晚期, 已失去了有效的治疗机会<sup>[2]</sup>。对于不能手术切除的HCC患者, 近年来研究了大量的非手术治疗方法, 其中经导管肝动脉化疗栓塞(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)已成为原发性肝癌除外科手术外最有效的治疗手段之一<sup>[3]</sup>。然而不同的肝细胞癌患者经TACE治疗后的预后差异较大, 本文通过检测肝细胞癌穿刺组织中的细胞增殖因子Ki-67和抑癌基因p130的表达情况与临床生物学行为及经TACE治疗肝细胞癌患者预后的关系, 为临床判断肝细胞癌恶性程度、选择TACE治疗措施及评价预后提供依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集我广西壮族自治区民族医院病理科2005-01/2010-08收治的行TACE治疗的肝细胞癌患者41例, 所有病例术前均行肝细胞穿刺活检。其中男性25例, 女性16例; 年龄38-65岁(中位年龄49岁); 肿瘤直径2-11 cm(中位直径约为6 cm, 其中肿瘤直径>6 cm 22例, <6 cm 19例); TNM分期<sup>[4]</sup> I - II期的患者24例, III-IV期患者17例; 血清AFP值>400 μg/L的26例, 血清AFP值<400 μg/L的15例; 病理分期高分化的病例12例, 中-高分化的病例29例。

### 1.2 方法

**1.2.1 肝穿活检及免疫组织化学:** 在B超引导下经皮肝脏穿刺, 穿刺部位一般在腋前线第8-9肋间或腋中线第9-10肋间, 采用击发式弹簧组织活检针, 取肝组织2条, 长1.5 cm, 放入40 g/L中性甲醛固定液中, 石蜡包埋, 组织2-3 μm厚连续切片6张, 要求观察到至少6个汇管区。切片染色: (1)常规染色: 苏木素-伊红(HE)染色; (2)免疫组织化学染色: Ki-67和p130单克隆即用型抗体均购自福州迈新生物技术公司产品。按SP法操作, DAB显色。以已知Ki-67和p130阳性组织切片作为阳性对照, 以PBS液代替一抗作为阴性对照; (3)结果判断: Ki-67和p130结果判定: Ki-67阳性细胞表现为细胞核内出现棕黄色颗粒, p130阳性细胞表现为细胞核或细胞质内出现棕黄色颗粒。据Beasley免疫染色评分方法, 按阳性细胞所占百分比并参考着色强度判断分级: 无明显着色阳性细胞为(-), 阳性细胞数<25%为(+), 25%-50%为(++), >50%为(+++)。

**1.2.2 TACE治疗:** 全部病例行TACE治疗, 常规

## ■ 研究前沿

肝癌恶性程度极高, 晚期肝癌患者生存期短, 治疗方法有限, 且预后特异性评价指标缺乏。在肝细胞癌穿刺组织中联合检测细胞增殖因子Ki-67和抑癌基因p130表达情况结合经TACE治疗患者的预后情况, 提出评价肝癌预后的新途径, 是一种简易且经济的方式。



## ■相关报道

国内外对TACE治疗的HCC患者预后的研究手段多集中在临床资料、影像学和血清学方面,而通过组织学的方式推测预后报道较少,通过免疫组织化学检测细胞增殖因子Ki-67和抑癌基因p130表达情况推测TACE治疗患者预后未见相关报道。

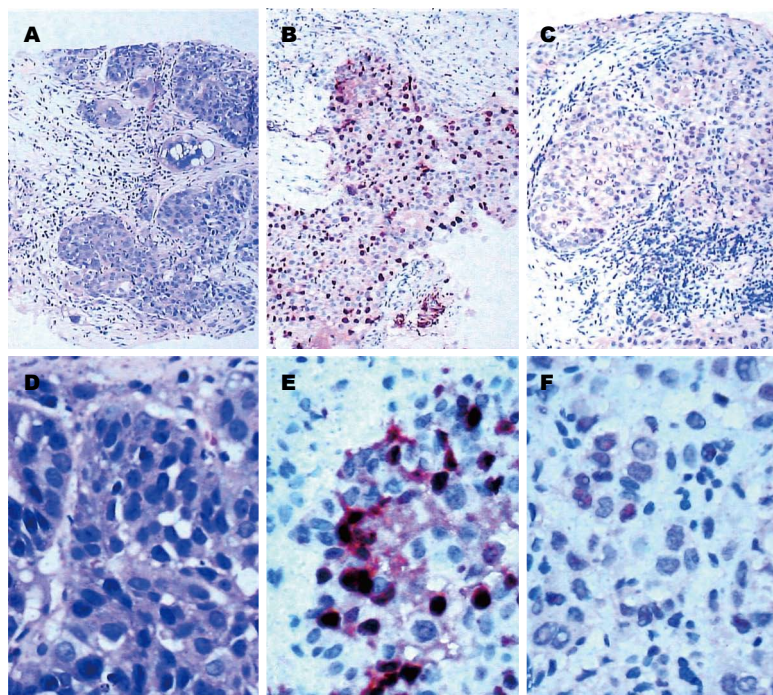


图1 肝细胞癌穿刺组织中Ki-67及p130的表达。A: 肝细胞癌穿刺组织HE染色( $\times 100$ ); B: Ki-67免疫组织化学( $\times 100$ ); C: p130免疫组织化学( $\times 100$ ); D: 肝细胞癌穿刺组织HE染色( $\times 400$ ); E: Ki-67免疫组织化学( $\times 400$ ); F: p130免疫组织化学( $\times 400$ )。

消毒后采用Seldinger方法,经动脉穿刺插管,导管置于腹腔干或肝总动脉造影。造影图像采集应包括动脉期、实质期及静脉期,超选择插管至肿瘤供血动脉内给予灌注化疗。用超液化碘油与化疗药物充分混合成乳剂超选择栓塞肿瘤组织。严格行介入术前准备及术后处理,治疗后3-4 wk复查各项肿瘤标志物及生化指标。

1.2.3 随访: 全部病例出院后跟踪随访,患者每隔3-4 wk复查CT或MRI,根据临床情况及影像学评估肝癌是否有活动性改变,并以首次复发的时间作为预后指标。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件对所得数据进行统计学分析,组间数据用 $\chi^2$ 检验或确切概率法,相关分析用Spearman等级相关分析,检验水准 $\alpha = 0.05$ 。

## 2 结果

2.1 肝细胞癌患者临床病理特征与Ki-67和p130表达的关系 41例肝细胞癌中Ki-67阳性表达者26例(阳性率63.41%), p130阳性表达者21例(51.52%)(图1); 41例肝细胞癌中Ki-67和p130蛋白表达率均与肝细胞癌的病理分化程度相关, Ki-67蛋白的表达率中-低分化组明显高于高分化组,两者差别均有显著性差异( $P < 0.05$ ); p130蛋白中-低分化组表达率明显低于高分化组,两者差别均有显著性差异( $P < 0.05$ ); p130和Ki-67蛋白表达均与患者性别、年龄、肿瘤大小、TNM分期和血清AFP值不相关( $P > 0.05$ )(表1)。

2.2 肝细胞癌中Ki-67和p130蛋白表达的相关性应用Spearman等级相关分析分析Ki-67和p130蛋白表达的相关性,结果显示相关系数 $r = -0.371$ ,  $P = 0.017$ ,提示Ki-67和p130蛋白在肝细胞中的表达呈负相关( $P < 0.05$ )(表2)。

2.3 经TACE治疗肝细胞癌患者临床病理因素与预后的关系 所有肿瘤经TACE治疗后获得随访,以首次复发时间作为预后指标,其中20例患者在3 mo内复发,15例患者3-6 mo复发,6例患者超过6 mo复发。患者的复发时间与患者性别、年龄、肿瘤大小、血清AFP值和病理分级不相关( $P > 0.05$ ),而与TNM分期, Ki-67和p130的表达相关( $P < 0.05$ ), TNM分期 I - II 期的患者生存率明显高于III-IV期患者, Ki-67<sup>+</sup>/p130<sup>-</sup>患者生存率明显低于Ki-67<sup>+</sup>/p130<sup>+</sup>,差别均具有显著性( $P < 0.05$ )(表3)。

## 3 讨论

因为肝癌恶性程度极高,晚期肝癌患者生存期短,治疗方法有限,且预后特异性评价指标缺乏,因此我们试图通过多指标变化联合检测,从而找到评价肝癌预后简单宜行的方法。本文通过在肝细胞癌穿刺组织中联合检测Ki-67和p130的表达结合经TACE治疗患者的预后情况,提出评价肝癌预后的新途径,这是一种简易且经济的方式。

增殖是细胞的重要生物学行为之一,细胞周期失控和异常增殖将导致肿瘤发生。Ki-67存



表 1 肝细胞癌患者临床病理特征与Ki-67和p130蛋白表达的关系

临床病理特征	n	Ki-67的表达		P值	p130的表达		P值
		+	-		+	-	
性别				0.923			0.248
男	25	16	9		11	14	
女	16	10	6		10	6	
年龄(岁)				0.658			0.879
≥49	21	14	7		11	10	
<49	20	12	8		10	10	
肿瘤大小(cm)				0.183			0.155
≥6	22	16	6		9	13	
<6	19	10	9		12	7	
TNM分期				0.241			0.146
I-II期	24	17	7		10	14	
III-IV期	17	9	8		11	6	
AFP(μg/L)				0.309			0.133
≥400	26	18	8		11	15	
<400	15	8	7		10	5	
病理分级				0.027			0.021
高分化	12	4	8		10	2	
中-低分化	29	22	7		11	18	

■创新盘点  
经TACE治疗肝细胞癌患者推测预后通过组织学手段方式少见, 通过免疫组织化学联合检测细胞增殖因子Ki-67和抑癌基因p130表达情况推测TACE治疗患者疗效为国内外创新。

表 2 肝细胞癌中Ki-67和p130蛋白表达的相关性

Ki-67蛋白的表达情况	p130蛋白的表达情况				
	-	+	++	+++	合计
-	4	3	6	2	15
+	3	1	2	0	6
++	8	2	1	1	12
+++	5	2	1	0	8
合计	20	8	10	3	41

在于增殖细胞中, 出现在除G<sub>0</sub>期以外的G<sub>1</sub>、S、G<sub>2</sub>和M期的细胞周期中, 参与驱动细胞周期的调控网络, 可以用来识别生长中的正常细胞和肿瘤细胞, 评估细胞的增生程度. Ki-67是一个较理想的反映肿瘤细胞增殖活性的标志物, 也是目前应用最广泛的细胞增殖标志物, 其蛋白结构独特, 对蛋白酶高度敏感, 与细胞周期密切相连, 在有丝分裂中起着维持DNA有规则结构的重要作用<sup>[5-7]</sup>. 研究表明, 他与很多恶性肿瘤如乳腺癌, 口腔鳞状细胞癌等的发展、转移和预后具有相关性<sup>[8,9]</sup>. 部分学者认为Ki-67与组织学分级、临床分期、生存期长短及肿瘤复发有关, 可作为肝细胞癌晚期分期及评价预后的有效指标<sup>[10,11]</sup>. 本研究提示肝细胞癌中Ki-67的表达与肿瘤的病理分期和生存率相关( $P<0.05$ ), 提示Ki-67的过度表达与肿瘤的发生发展及预后密切相关, Ki-67

阳性表达率越高, 提示肿瘤的恶性程度越高, 这与国内外学者研究结果类似<sup>[7-11]</sup>, 本文研究提示Ki-67可以成为介入治疗前筛选高危患者并可以作为经TACE治疗后肝细胞癌患者推测预后的重要指标.

p130是视网膜母细胞瘤基因家族成员之一, 是抑癌基因Rb的一种蛋白表达产物, 其与pRb、p107三者共同组成了视网膜母细胞瘤家族(Rb家族)蛋白. 该蛋白家族也被称为“口袋蛋白”家族, 这些蛋白的特征在于具有保守的“口袋区域”, 他们在细胞增殖中发挥重要作用, 在细胞周期中通过对E2F因子家族转录调控, 尤其是在G<sub>1</sub>-S期转变过程发挥负调控功能, 将正在分裂的细胞阻滞于G<sub>1</sub>期. 在G<sub>0</sub>期, p130是Rb蛋白家族成员中发挥效能最大的. 他在G<sub>0</sub>维持细胞的静止或分化, 控制细胞从G<sub>1</sub>到S期的过渡, RBL2基因编码p130蛋白, 包含22个外显子, 其对应人染色体编码16q12.2<sup>[12-14]</sup>. p130通常与转录因子E2F家族成员结合, 阻止后者的转录活性. p130功能的丧失使E2F的转录活性失控, 为正常细胞的癌变及肿瘤细胞的失控增殖创造了条件. 研究表明, 作为一个典型的抑癌基因, p130与多种恶性肿瘤的发生发展密切相关, 如食管癌<sup>[15]</sup>、卵巢癌<sup>[16]</sup>、前列腺癌<sup>[17]</sup>, 而在肝细胞中的研究较少见. 本研究结果显示, 肝细胞癌中, p130蛋白中-低分化组

## ■应用要点

Ki-67和p130的表达在肝细胞癌的发生发展中起着重要作用,并可作为经TACE治疗的肝细胞癌患者预后的重要分子标志物, Ki-67高表达和/或p130低表达的肝细胞癌患者预后差. 介入治疗前联合检测肝细胞癌穿刺组织中Ki-67和p130的表达情况,有助于筛选高危患者,对肝癌规范化、个体化综合治疗有指导意义.

表 3 经TACE治疗肝细胞癌患者临床病理因素与预后的关系 (*n*)

项目	<i>n</i>	3 mo内复发	3-6 mo复发	超过6 mo复发	<i>P</i> 值
性别					0.773
男	25	12	10	3	
女	16	8	5	3	
年龄(岁)					0.635
≥49	21	11	8	2	
<49	20	9	7	4	
肿瘤大小(cm)					0.313
≥6	22	13	7	2	
<6	19	7	8	4	
TNM分期					0.011
I-II	24	7	12	5	
III-IV	17	13	3	1	
AFP(μg/L)值					0.168
≥400	26	15	9	2	
<400	15	5	6	4	
病理分期					0.132
高分化	12	3	6	3	
中-分化	29	17	9	3	
Ki-67 <sup>+</sup>	26	15	10	1	0.032
Ki-67 <sup>-</sup>	15	5	5	5	
p130 <sup>+</sup>	21	6	10	5	0.023
p130 <sup>-</sup>	20	14	5	1	
Ki-67 <sup>+</sup> /p130 <sup>-</sup>	16	11	4	1	0.005
Ki-67 <sup>-</sup> /p130 <sup>+</sup>	11	1	5	5	

表达率明显低于高分化组, p130阳性表达的患者预后明显差于p130阴性表达者, 经统计学检验, 均具有显著性差异( $P<0.05$ ). 这些结果均提示, p130的失活促进了肝细胞癌的恶性增殖及转移, p130阴性表达的肝细胞癌患者预后差, 这与Viatour等<sup>[17]</sup>研究其他肿瘤的效果类似, 因此认为p130的缺失可作为早期肿瘤发生的预兆, 对进行TACE治疗的HCC患者可作为一个重要的评价指标.

肿瘤的发生、发展就细胞本身而言是由于原癌基因的激活, 抑癌基因的失活及细胞周期因子功能上调而造成. 本研究发现在肝细胞癌中Ki-67与p130在肝细胞癌中的表达呈负相关系( $r = -0.371$ ,  $P<0.05$ ). 有研究表明<sup>[7,18]</sup>, Ki-67可以参与调控某些细胞周期蛋白来调节细胞增殖和凋亡, 从而促进肿瘤形成, 而与细胞周期蛋白密切相关的p130蛋白能够调节E2F转录调节因子家族的活性, 而E2F是许多与G<sub>1</sub>/S期过渡有关的基因表达所需要的, 这些基因之中就可能包括Ki-67的作用, 本文的研究结果表明在HCC发生阶段即存在p130表达的缺失, 也存在Ki-67蛋白

的异常高表达.

对于失去手术机会的肝癌患者, TACE已被用来作为姑息性治疗的主要手段. 栓塞的抗癌效果是基于终端动脉阻断及使肿瘤局部缺血坏死. TACE使化疗药物在肿瘤的局部达到很高的浓度. 栓塞剂阻塞动脉血流的同时也阻止了化疗药物从肿瘤组织中流出, 从而相对延长化疗药物的作用时间, 同时也能降低化疗药物在全身的浓度, 进而减少不良反应<sup>[19]</sup>. 然而, 经历了首次TACE治疗的肝细胞癌患者预后不一致. 在这项研究中, TNM分期 I - II 期的患者生存率明显高于III-IV期患者, Ki-67<sup>+</sup>/p130<sup>-</sup>患者生存率明显低于Ki-67<sup>-</sup>/p130<sup>+</sup>, 差别均具有显著性( $P<0.05$ ), 与患者性别、年龄、肿瘤大小、血清AFP值和病理分级不相关( $P>0.05$ ). Ki-67和p130的表达与TACE治疗的HCC患者预后关系的分子机制如何? 研究提示可能是同化疗药物耐受有关. 有学者对急性淋巴细胞白血病患者化疗研究发现, 在开始治疗前或化疗期间, Ki-67高表达的患者对细胞毒类等作用于DNA周期化疗药物容易形成耐受, 他可能对Ki-67阳性细胞患者化疗不敏

感<sup>[20]</sup>. 我们推测, 其在肝癌中的机制与造血系统疾病类似. 视网膜母细胞瘤蛋白家族以Rb2/p130为代表的“口袋蛋白”家族在细胞周期中对E2F发挥依赖性调节<sup>[21]</sup>. 相关研究表明RB蛋白的缺失, 对靶基因的调控及对铂类化疗药物产生深远的影响<sup>[22]</sup>. 这过程中, RB蛋白的缺失打乱了细胞有丝分裂信号的传递, 并且打乱铂类化疗药物作用周期, 从而降低了化疗类药物的疗效<sup>[23,24]</sup>. 本研究提示, Ki-67阳性表达和p130阴性表达的肝细胞患者对相关化疗药物容易形成耐受及化疗抵抗. 然而, 由于本文病例数较少, 且多是回顾性分析, Ki-67和p130的表达与TACE治疗疗效评价的分子机制需要更大量的临床病例及更多的检测手段来证实.

总之, Ki-67和p130的表达在肝细胞癌的发生发展中起着重要作用, 并可作为经TACE治疗的肝细胞癌患者预后的重要分子标志物, Ki-67高表达和/或p130低表达的肝细胞癌患者预后差. 介入治疗前联合检测肝细胞癌穿刺穿组织中Ki-67和p130的表达情况, 有助于筛选高危患者, 对肝癌规范化、个体化综合治疗有指导意义.

#### 4 参考文献

- Song P, Tang W, Tamura S, Hasegawa K, Sugawara Y, Dong J, Kokudo N. The management of hepatocellular carcinoma in Asia: a guideline combining quantitative and qualitative evaluation. *Biosci Trends* 2010; 4: 283-287 [PMID: 21248425]
- Lee TK, Castilho A, Ma S, Ng IO. Liver cancer stem cells: implications for a new therapeutic target. *Liver Int* 2009; 29: 955-965 [PMID: 19490415 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2009.02040.x]
- Brown DB, Geschwind JF, Soulen MC, Millward SF, Sacks D. Society of Interventional Radiology position statement on chemoembolization of hepatic malignancies. *J Vasc Interv Radiol* 2009; 20: S317-S323 [PMID: 19560017 DOI: 10.1016/j.jvir.2009.04.015]
- Sobin LH, Compton CC. TNM seventh edition: what's new, what's changed: communication from the International Union Against Cancer and the American Joint Committee on Cancer. *Cancer* 2010; 116: 5336-5339 [PMID: 20665503]
- Leuvenink EM, Brennan BA, Crook ML, Doherty DA, Hammond IG, Ruba S, Stewart CJ. Prognostic value of mitotic counts and Ki-67 immunoreactivity in adult-type granulosa cell tumour of the ovary. *J Clin Pathol* 2008; 61: 914-919 [PMID: 18430757 DOI: 10.1136/jcp.2008.056093]
- Vernillo R, Lorenzi B, Banducci T, Minacci C, Vindigni C, Lucenti Fei A, Lorenzi M. Immunohistochemical expression of p53 and Ki67 in colorectal adenomas and prediction of malignancy and development of new polyps. *Int J Biol Markers* 2008; 23: 89-95 [PMID: 18629781]
- Koo TR, Eom KY, Kang EY, Kim YJ, Kim SW, Kim JH, Kim JS, Kim IA. Prognostic value of the nodal ratio and ki-67 expression in breast cancer patients treated with postmastectomy radiotherapy. *J Breast Cancer* 2013; 16: 274-284 [PMID: 24155756 DOI: 10.4048/jbc.2013.16.3.274]
- Dwivedi N, Chandra S, Kashyap B, Raj V, Agarwal A. Suprabasal expression of Ki-67 as a marker for the severity of oral epithelial dysplasia and oral squamous cell carcinoma. *Contemp Clin Dent* 2013; 4: 7-12 [PMID: 23853445 DOI: 10.4103/0976-237X.111586]
- Hentic O, Couvelard A, Rebours V, Zappa M, Dokmak S, Hammel P, O'Toole D, Lévy P, Sauvanet A, Ruszniewski P. Ki-67 index, tumor differentiation, and extent of liver involvement are independent prognostic factors in patients with liver metastases of digestive endocrine carcinomas. *Endocr Relat Cancer* 2011; 18: 51-59 [PMID: 20959440 DOI: 10.1677/ERC-09-0319]
- Sofocleous CT, Garg S, Petrovic LM, Gonen M, Petre EN, Klimstra DS, Solomon SB, Brown KT, Brody LA, Covey AM, Dematteo RP, Schwartz L, Kemeny NE. Ki-67 is a prognostic biomarker of survival after radiofrequency ablation of liver malignancies. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 4262-4269 [PMID: 22752375 DOI: 10.1245/s10434-012-2461-9]
- Schwarze F, Meraner J, Lechner M, Loidl A, Stasyk T, Laich A, Loidl P. Cell cycle-dependent acetylation of Rb2/p130 in NIH3T3 cells. *Oncogene* 2010; 29: 5755-5760 [PMID: 20676144 DOI: 10.1038/onc.2010.311]
- Park DS, Tompkins RO, Liu F, Zhang J, Phoon CK, Zavadil J, Fishman GI. Pocket proteins critically regulate cell cycle exit of the trabecular myocardium and the ventricular conduction system. *Biol Open* 2013; 2: 968-978 [PMID: 24143284 DOI: 10.1242/bio.20135785]
- Paquin MC, Leblanc C, Lemieux E, Bian B, Rivard N. Functional impact of colorectal cancer-associated mutations in the transcription factor E2F4. *Int J Oncol* 2013; 43: 2015-2022 [PMID: 24100580]
- Nozoe T, Korenaga D, Itoh S, Futatsugi M, Maehara Y. Clinicopathological significance of pRb2/p130 expression in squamous cell carcinoma of the esophagus. *J Cancer Res Clin Oncol* 2002; 128: 691-696 [PMID: 12474056 DOI: 10.1007/s00432-002-0395-5]
- Liu Z, Gersbach E, Zhang X, Xu X, Dong R, Lee P, Liu J, Kong B, Shao C, Wei JJ. miR-106a represses the Rb tumor suppressor p130 to regulate cellular proliferation and differentiation in high-grade serous ovarian carcinoma. *Mol Cancer Res* 2013; 11: 1314-1325 [PMID: 24045973 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-13-0131]
- Bohrer LR, Chen S, Hallstrom TC, Huang H. Androgens suppress EZH2 expression via retinoblastoma (RB) and p130-dependent pathways: a potential mechanism of androgen-refractory progression of prostate cancer. *Endocrinology* 2010; 151: 5136-5145 [PMID: 20881251 DOI: 10.1210/en.2010-0436]
- Viatour P, Ehmer U, Saddic LA, Dorrell C, Andersen JB, Lin C, Zmoos AF, Mazur PK, Schaffer BE, Ostermeier A, Vogel H, Sylvester KG, Thorgeirsson SS, Grompe M, Sage J. Notch signaling inhibits hepatocellular carcinoma following inactivation of the RB pathway. *J Exp Med* 2011; 208: 1963-1976 [PMID: 21875955 DOI: 10.1084/jem.20110198]
- Marelli L, Stigliano R, Triantos C, Senzolo M, Cholongitas E, Davies N, Tibballs J, Meyer T, Patch

#### ■同行评价

本文有重要的临床价值, 对患者预后的判断有指导意义.



- DW, Burroughs AK. Transarterial therapy for hepatocellular carcinoma: which technique is more effective? A systematic review of cohort and randomized studies. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2007; 30: 6-25 [PMID: 17103105 DOI: 10.1007/s00270-006-0062-3]
- 19 Elsayed GM, Ismail MM, Moneer MM. Expression of P-glycoprotein, Cyclin D1 and Ki-67 in Acute Lymphoblastic Leukemia: Relation with Induction Chemotherapy and Overall Survival. *Indian J Hematol Blood Transfus* 2011; 27: 157-163 [PMID: 22942566 DOI: 10.1007/s12288-011-0086-y]
- 20 Saeed M, Schwarze F, Loidl A, Meraner J, Lechner M, Loidl P. In vitro phosphorylation and acetylation of the murine pocket protein Rb2/p130. *PLoS One* 2012; 7: e46174 [PMID: 23029429 DOI: 10.1371/journal.pone.0046174]
- 21 Filipits M, Pirker R, Dunant A, Lantuejoul S, Schmid K, Huynh A, Haddad V, André F, Stahel R, Pignon JP, Soria JC, Popper HH, Le Chevalier T, Brambilla E. Cell cycle regulators and outcome of adjuvant cisplatin-based chemotherapy in completely resected non-small-cell lung cancer: the International Adjuvant Lung Cancer Trial Biologic Program. *J Clin Oncol* 2007; 25: 2735-2740 [PMID: 17602078 DOI: 10.1200/JCO.2006.08.2867]
- 22 Perez RP, Lewis LD, Beelen AP, Olszanski AJ, Johnston N, Rhodes CH, Beaulieu B, Ernstoff MS, Eastman A. Modulation of cell cycle progression in human tumors: a pharmacokinetic and tumor molecular pharmacodynamic study of cisplatin plus the Chk1 inhibitor UCN-01 (NSC 638850). *Clin Cancer Res* 2006; 12: 7079-7085 [PMID: 17145831 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-06-0197]
- 23 Seeley SL, Bosco EE, Kramer E, Parysek LM, Knudsen ES. Distinct roles for RB loss on cell cycle control, cisplatin response, and immortalization in Schwann cells. *Cancer Lett* 2007; 245: 205-217 [PMID: 16574317 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.01.028]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 针状刀预切开治疗胆管插管困难疾病52例

梁运啸, 梁列新, 农兵, 王彩英, 潘咏, 骆丹华

梁运啸, 梁列新, 农兵, 王彩英, 潘咏, 骆丹华, 广西壮族自治区人民医院消化内科 广西壮族自治区南宁市 530021

梁运啸, 硕士, 主要从事胆胰疾病与小肠疾病的研究。

作者贡献分布: 梁运啸与农兵对此文所做贡献均等; 操作由梁运啸与农兵完成, 王彩英、潘咏及骆丹华配合; 本论文写作由梁运啸完成; 梁列新指导与审阅。

通讯作者: 梁列新, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市桃源路6号, 广西壮族自治区人民医院消化内科。

mdlianglx@126.com

电话: 0771-2186184

收稿日期: 2013-12-23 修回日期: 2014-01-15

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Needle-knife precut papillotomy for difficult biliary cannulation

Yun-Xiao Liang, Lie-Xin Liang, Bing Nong, Cai-Ying Wang, Yong Pan, Dan-Hua Luo

Yun-Xiao Liang, Lie-Xin Liang, Bing Nong, Cai-Ying Wang, Yong Pan, Dan-Hua Luo, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Correspondence to: Lie-Xin Liang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, 6 Taoyuan Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. mdlianglx@126.com

Received: 2013-12-23 Revised: 2014-01-15

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To evaluate the therapeutic value of needle-knife precut papillotomy in the management of difficult biliary cannulation.

**METHODS:** The clinical data for 52 patients with difficult biliary cannulation who underwent needle-knife precut papillotomy at People's Hospital of Guangxi were retrospectively analyzed.

**RESULTS:** Needle-knife precut papillotomy was successful in 41 patients, with a success rate of 78.85%. Among those patients, 12 had duodenal papillary stone incarceration (success rate, 100%), 4 had too low duodenal opening (success rate, 80%), 4 had duodenal opening deviation (success rate, 66.67%), 1 had too small duodenal

opening (success rate, 50%), 15 had narrow common bile duct opening (success rate, 71.43%), and 5 had ampullary tumors (success rate, 83.33%).

**CONCLUSION:** Needle-knife precut papillotomy is effective in managing difficult biliary cannulation.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Difficult biliary cannulation; Needle-knife precut papillotomy; Success rate

Liang YX, Liang LX, Nong B, Wang CY, Pan Y, Luo DH. Needle-knife precut papillotomy for difficult biliary cannulation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1153-1156 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1153>

## 摘要

**目的:** 探讨针状刀预切内在镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)胆总管插管困难中的应用价值。

**方法:** 连续收集52例胆总管插管困难胆总管疾病患者, 分析在应用针状刀操作中的难点及操作技巧。

**结果:** 52例应用针状刀预切开患者中, 插管成功41例, 插管成功率为78.85%。其中乳头开口结石嵌顿预切开成功率100%、乳头开口下垂预切开成功率80%、乳头偏向预切开成功率66.67%、乳头过小预切开成功率50%、胆总管下段炎性狭窄预切开成功率71.43%、壶腹部肿瘤预切开成功率83.33%。

**结论:** 针状刀预切内在ERCP插管困难时可以起到有效地补救作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 选择性胆管插管困难; 针状刀预切开; 成功率

## ■背景资料

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)目前已成为治疗胆胰疾病的主要方法。但在ERCP治疗胆总管疾病过程中发现: 选择性胆管插管困难常使切开刀超选插入胆管失败, 失去内镜治疗胆总管疾病的机会。本文对选择性胆管插管困难的胆管疾病的针状刀预切开方法进行研究, 探讨困难插管胆总管疾病使用针状刀预切提高选择性插管成功率的可能性。

## ■同行评议者

姚鹏, 副教授, 北京军区总医院全军肝病中心

## ■ 研发前沿

在内镜治疗中, 选择性胆管插管困难并不少见, 其内镜治疗难度大, 目前有关针状刀预切开治疗选择性胆管插管困难的有效性及安全性仍不清楚。

**核心提示:** 本文回顾性分析广西壮族自治区人民医院2005-03/2013-06内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography)治疗胆总管疾病的临床资料, 探讨困难插管胆总管疾病使用针状刀治疗的可行性。应用针状刀预切开患者中, 插管成功41例, 插管成功率为78.85%。其中乳头开口结石嵌顿预切开成功率100%、乳头开口下垂预切开成功率80%、乳头偏向预切开成功率66.67%、乳头过小预切开成功率50%、胆总管下段炎性狭窄预切开成功率71.43%、壶腹部肿瘤预切开成功率83.33%。针状刀总体成功率为78.85%, 与国外学者报道的成功率77%-91%, 基本相符。

梁运啸, 梁列新, 农兵, 王彩英, 潘咏, 骆丹华. 针状刀预切开治疗胆管插管困难疾病52例. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1153-1156 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1153.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1153>

## 0 引言

内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已成为治疗胆胰疾病的主要方法, 具有治疗效果良好、创伤小、恢复快、住院时间短、费用低等优势, 但在ERCP治疗胆总管疾病过程中发现: 乳头开口结石嵌顿、乳头开口下垂、偏向、乳头过小、胆总管下段炎性狭窄、壶腹部肿瘤, 都可使胆总管插管难度增大, 常使切开刀超选插入胆管失败, 失去内镜治疗胆总管疾病的机会。据统计, 有5%-10%的病例导丝、导管或切开刀无法进入胆管, 这种情况被称为选择性胆管插管困难(difficult selective biliary cannulation, DSBC)<sup>[1]</sup>。目前, 针对以上DSBC的处理方式已经有部分报道, 但是缺乏全面系统及细致的操作方法的描述。本文回顾性分析我院2005-03/2013-06 ERCP治疗胆总管疾病的临床资料, 探讨困难插管胆总管疾病使用针状刀治疗的可行性。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 连续收集2005-03/2013-06我院行ERCP治疗的胆总管疾病病例, 所有病例术前均经腹部B超、CT和/或磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)或内镜超声检查(endoscopic ultrasonography, EUS)检查, 具有ERCP的适应证、无ERCP的禁忌证, 均征得患者和/或家属的书面知情同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 手术操作:** 术前给予口服去泡剂, 予阿托

品0.5 mg皮下注射, 安定5-10 mg及哌替啶30-50 mg静脉注射, 全程心电监护, 实时监测生命体征及血氧饱和度。患者取俯卧位或左侧卧位, 插入十二指肠镜至十二指肠降部, 或拉直镜身, 找到十二指肠主乳头, 以三腔聪明刀或针状刀行选择性插管, 插管成功后造影。根据造影情况决定内镜下治疗的方式。

**1.2.2 针状刀预切开:** (1)乳头黏膜下行分层剖开: 调整乳头于内镜视野中央的理想位置, 用针状切开刀从乳头隆起最高处自11点钟位向乳头开口处方向逐层切开; (2)乳头黏膜上行分层剖开: 自乳头开口处向左上方向预切; (3)垂直切开: 针状刀于乳头中上1/3或乳头隆起最高处垂直刺入。

**1.2.3 术后处理:** 术后常规予以抑酸和静脉用生长抑素或生长抑素类似物、必要时抗感染1-3 d; 术后2、24 h查血尿淀粉酶; 根据患者腹痛及淀粉酶情况决定是否进食。

**1.2.4 判断标准:** (1)插管困难的判断标准: 目前, 国内外文献将10-30 min传统插管失败或导丝进入胰管3次以上定义为插管困难<sup>[2-7]</sup>; (2)针状刀插管成功标准: 使用针状刀预切开乳头, 可见胆汁流出, 或换乳头切开刀可以超选插入胆总管表示插管成功。

## 2 结果

**2.1 一般情况** 共收集到胆总管疾病病例701例行ERCP, 排除因解剖因素、患者无法耐受等十二指肠镜进镜失败11例, 共有690例患者行胆总管超选插管。胆总管插管困难病例54例, 需要针状刀预切开52例, 其中发现: 乳头开口结石嵌顿12例(占23.08%)、乳头开口下垂5例(占9.62%)、乳头开口偏向6例(占11.54%)、乳头过小2例(占3.85%)、胆总管下段炎性狭窄21例(占40.38%)、壶腹部肿瘤6例(占11.54%)。插管困难患者年龄46-81岁, 平均年龄67岁, 男性32例, 女性20例。

**2.2 插管成功率** 在52例困难插管患者中, 经针状刀预切开插管成功41例, 插管成功率为78.85%。其中使用针状刀预切开插管乳头开口结石嵌顿成功率100%(12/12)、使用针状刀预切开插管乳头开口下垂成功率80%(4/5)、使用针状刀预切开插管乳头偏向成功率66.67%(4/6)、使用针状刀预切开插管乳头过小成功率50%(1/2)、使用针状刀预切开插管胆总管下段炎性狭窄成功率71.43%(15/21)、使用针状刀预切开插管壶腹部肿瘤成功率83.33%(5/6)。

**2.3 并发症** 针状刀行预切开52例患者, 出现轻



型胰腺炎2例, 发生率3.85%, 无重症胰腺炎发生; 高淀粉酶血症2例, 发生率3.85%; 胆管炎1例, 发生率1.92%; 十二指肠乳头穿孔1例, 发生率1.92%, 以上并发症经保守治疗痊愈, 无乳头切开出血的发生。

### 3 讨论

ERCP已经成为治疗胆胰疾病的主要方式, 而选择性插管成功是治疗胆胰疾病的关键。选择性插管困难的原因除了器械和术者的原因外, 乳头开口结石嵌顿、乳头开口下垂、偏向, 乳头过小, 胆总管下段狭窄、壶腹部肿瘤都是导致插管困难的客观原因。普通插管失败则可以选择针状刀预切开或择期再行ERCP诊疗, 但是针状刀预切开仅限于有经验的内镜医师<sup>[8,9]</sup>。

针状刀预切开在插管困难时可以起到有效的补救作用, 本组使41例患者免去了外科手术治疗, 具有重要的临床意义。经统计发现, 常见使用针状刀的原因是胆总管下段炎性狭窄, 考虑与患者胆总管下段反复发生炎症, 胆总管管壁增厚或瘢痕狭窄有关。本组使用针状刀总体成功率为78.85%, 与国外学者报道的成功率77%-91%<sup>[10,11]</sup>, 基本相符, 但属于偏低水平, 估计与我们使用针状刀的机会较少, 经验不足有关。对于结石嵌顿, 使用针状刀的成功率为100%。结石嵌顿可见两种情况, 一种是乳头开口可见结石, 此时应用乳头黏膜上行分层剖开法, 结石即可顺利掏出; 二是结石嵌顿于胆总管壁内段, 镜下可见乳头或乳头上隆起突出于肠腔, 隆起处触之质地较硬, 此时可在乳头隆起最高处应用乳头黏膜下行分层剖开法即可顺利掏出结石, 本方法关键是明确结石嵌顿于胆总管壁内段。乳头开口下垂常见于乳头较为长、肥大或乳头位于十二指肠较远端, 本组成功率80%, 3例患者乳头较为肥大者, 以针状刀在乳头中上1/3或乳头隆起最高处垂直刺入, 见黄褐色胆汁流出, 换乳头切开刀插管可以顺利插入胆总管; 另外2例患者是乳头位于十二指肠较远端, 其中1例行针状刀预切开后, 由于角度问题未能插入胆总管, 患者转外科行手术治疗。本方法的关键是针状刀刺入的部位及深度, 因为患者乳头较为肥大, 故刺入深度偏深, 如刺入后未见胆汁流出, 可以以针状刀向乳头开口处划开, 常可见针状刀预切开成功。乳头开口偏向常见于解剖结构异常, 本组病例有4例患者乳头周边存在憩室, 属于憩室旁乳头, 与憩室牵拉有关。常用的方法也是以

针状刀在乳头中上1/3或乳头隆起最高处垂直刺入, 常见穿刺部位除了以上特点外, 以乳头中间偏11点钟方向穿刺进入为主。此种情况的关键是穿刺部位的选择, 穿刺部位选择不当可导致肠穿孔或烧灼胰管开口致急性胰腺炎的发生。乳头开口过小, 导致乳头切开刀无法直接插入乳头开口, 行针状刀预切开也是使用针状刀的适应症之一, 此时以上行分层剖开法为主, 扩大乳头开口后再换切开刀插入, 关键点是预切开不能太大, 否则可使乳头周边穿孔几率明显增高; 胆总管下段狭窄使用针状刀是最常见的原因, 此时经乳头造影常见胆总管下段呈线状狭窄, 导丝无法直接插入, 经上行分层剖开后, 沿切开的上部导丝较易超选插入胆总管; 壶腹部肿瘤常使乳头开口过度偏向下方或胆总管壁内段隆起, 乳头开口分辨不清, 应用针状刀先行预切成功率高。

本组患者并发症发生率为11.54%(6/52), 与我科近年来ERCP并发症发生率14.88%<sup>[12]</sup>有所下降, 比国外报道的针状刀使用并发症发生率12%-29%<sup>[13,14]</sup>为低, 与针状刀使用已经较为成熟, 我科已经吸收较多经验有关。比较严重的并发症为乳头穿孔, 此患者乳头较小, ERCP取石结束后出现右下腹脓肿形成, 经内科保守治疗痊愈出院。

总之, 胆总管疾病困难插管患者使用针状刀预切开成功率高, 有文献报道<sup>[15]</sup>使用针状刀后ERCP操作成功率增高有统计学意义, 而且并发症发生率低, 证明针状刀使用的安全性。本组小乳头患者出现50%并发症发生率, 考虑与样本量太少或缺乏经验有关。如果如果操作者使用针状刀经验丰富, 并发症的发生率并不一定增加<sup>[16]</sup>, 故针状刀的使用值得临床推广。

### 4 参考文献

- 1 Deng DH, Zuo HM, Wang JF, Gu ZE, Chen H, Luo Y, Chen M, Huang WN, Wang L, Lu W. New precut sphincterotomy for endoscopic retrograde cholangiopancreatography in difficult biliary duct cannulation. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 4385-4390 [PMID: 17708616]
- 2 Tang SJ, Haber GB, Kortan P, Zanati S, Cirocco M, Ennis M, Elfant A, Scheider D, Ter H, Dorais J. Precut papillotomy versus persistence in difficult biliary cannulation: a prospective randomized trial. *Endoscopy* 2005; 37: 58-65 [PMID: 15657860 DOI: 10.1055/s-2004-826077]
- 3 Zhou PH, Yao LQ, Xu MD, Zhong YS, Gao WD, He GJ, Zhang YQ, Chen WF, Qin XY. Application of needle-knife in difficult biliary cannulation for endoscop-

### ■相关报道

鲁临等曾对针状刀的预切开做过报道, 但对各种选择性胆管插管困难的原因未系统总结以及无系统操作方法的介绍。

## ■同行评论

本文条理清晰, 分析得当, 研究有一定意义, 科学性 & 可读性较强.

- 4 Maeda S, Hayashi H, Hosokawa O, Dohden K, Hattori M, Morita M, Kidani E, Ibe N, Tatsumi S. Prospective randomized pilot trial of selective biliary cannulation using pancreatic guide-wire placement. *Endoscopy* 2003; 35: 721-724 [PMID: 12929017 DOI: 10.1055/s-2003-41576]
- 5 鲁临, 曾宪忠, 陈健, 赵清喜, 丰义宽, 姜开通, 吉布席, 黄传兰, 孔庆印, 鲁华荣. 两种技术在ERCP选择性胆管插管困难时的对照研究. *中华消化内镜杂志* 2008; 25: 73-76
- 6 Catalano MF, Linder JD, Geenen JE. Endoscopic transpancreatic papillary septotomy for inaccessible obstructed bile ducts: Comparison with standard pre-cut papillotomy. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 557-561 [PMID: 15472678 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)01877-2]
- 7 Kaffes AJ, Sriram PV, Rao GV, Santosh D, Reddy DN. Early institution of pre-cutting for difficult biliary cannulation: a prospective study comparing conventional vs. a modified technique. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 669-674 [PMID: 16246677 DOI: 10.1016/j.gie.2005.05.022]
- 8 陈友平, 何正在, 郭良忠, 江应平. 针形切开刀及乳头开窗术治疗胆管疾病28例. *中国内镜杂志* 2004; 10: 107-108
- 9 李小平, 王金波, 孙柯科. ERCP针状刀使用相关并发症的预防和处理. *中华消化内镜杂志* 2007; 24: 140-141
- 10 Uchida N, Tsutsui K, Kamada H, Ogawa M, Fukuma H, Ezaki T, Aritomo Y, Kobara H, Ono M, Morishita A, Masaki T, Watanabe S, Nakatsu T, Kuriyama S. Pre-cutting using a noseless papillotome with independent lumens for contrast material and guidewire. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 947-950 [PMID: 15946146 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.03904.x]
- 11 Schwacha H, Allgaier HP, Deibert P, Olschewski M, Allgaier U, Blum HE. A sphincterotome-based technique for selective transpapillary common bile duct cannulation. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 387-391 [PMID: 10968855 DOI: 10.1067/mge.2000.107909]
- 12 梁运啸, 农兵, 梁列新, 覃江. 老年病人行经十二指肠镜逆行胰胆管造影的临床应用价值. *微创医学* 2009; 4: 619-621
- 13 Baillie J. Needle-knife papillotomy revisited. *Gastrointest Endosc* 1997; 46: 282-284 [PMID: 9378222]
- 14 Hashiba K, D'Assunção MA, Armellini S, Hassegawa RT, Cappellanes CA, Moribe D. Endoscopic suprapapillary blunt dissection of the distal common bile duct in cases of difficult cannulation: a pilot series. *Endoscopy* 2004; 36: 317-321 [PMID: 15057681 DOI: 10.1055/s-2004-814410]
- 15 邓登豪, 左红梅, 陈娣, 鲁邦巧, 陆玲波, 刘军, 黄文诺. 针状切开刀在治疗ERCP插管困难病例中的应用. *中国临床实用医学* 2009; 3: 29-31
- 16 Folch-Puy E, Granell S, Iovanna JL, Barthet M, Closa D. Peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonist reduces the severity of post-ERCP pancreatitis in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 6458-6463 [PMID: 17072978]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 内镜治疗胆总管结石复发的危险因素分析及对策

常志恒, 党彤, 孟宪梅, 潘小平, 胡淑清, 田继刚

常志恒, 党彤, 孟宪梅, 潘小平, 胡淑清, 田继刚, 包头医学院第二附属医院消化病研究所 内蒙古自治区包头市 014010

常志恒, 住院医师, 主要从事胆胰疾病的微创治疗。

**作者贡献分布:** 此课题由党彤主持; 常志恒、孟宪梅及潘小平共同设计; 研究过程由党彤、常志恒、孟宪梅、潘小平、胡淑清及田继刚共同完成; 内镜下胆总管结石治疗由党彤、孟宪梅及常志恒完成; 病例收集、随访、相关因素统计由常志恒、胡淑清及田继刚完成; 数据分析由常志恒与潘小平完成; 本论文写作由常志恒、潘小平及党彤完成。

**通讯作者:** 党彤, 主任医师, 014010, 内蒙古自治区包头市青山区呼得木林大街30号, 包头医学院第二附属医院消化病研究所。changzhiheng5210@sina.com

收稿日期: 2014-01-01 修回日期: 2014-01-15

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Risk factors and countermeasures for recurrence of common bile duct stones after endoscopic treatment

Zhi-Heng Chang, Tong Dang, Xian-Mei Meng, Xiao-Ping Pan, Shu-Qing Hu, Ji-Gang Tian

Zhi-Heng Chang, Tong Dang, Xian-Mei Meng, Xiao-Ping Pan, Shu-Qing Hu, Ji-Gang Tian, Institute of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China

**Correspondence to:** Tong Dang, Chief Physician, Institute of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Baotou Medical College, 30 Hude Mulin Street, Qingshan District, Baotou 014010, Inner Mongolia Autonomous Region, China. changzhiheng5210@sina.com

Received: 2014-01-01 Revised: 2014-01-15

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the risk factors and preventive measures for recurrence of common bile duct stones after endoscopic treatment.

**METHODS:** Patients who underwent endoscopic treatment for common bile duct stones between January 2008 and May 2012 at our hospital were screened, and 745 patients with complete follow-up data were identified, of whom 64 (8.59%) had recurrent choledocholithiasis. Univariate and multivariate Logistic regression analyses were used to analyze the risk factors for recurrence of common bile duct stones, and preventive mea-

asures based on these risk factors were explored.

**RESULTS:** Periampullary diverticulum ( $B = 0.582$ ,  $OR = 1.790$ ), pre-cholecystectomy ( $B = 1.012$ ,  $OR = 2.751$ ), gallstones untreated ( $B = 0.744$ ,  $OR = 2.103$ ), common bile duct diameter ( $B = 1.062$ ,  $OR = 2.892$ ), diameter of common bile duct stones ( $B = 0.536$ ,  $OR = 1.708$ ), biliary gas retention ( $B = 1.034$ ,  $OR = 2.812$ ), and mechanical lithotripsy ( $B = 0.828$ ,  $OR = 2.289$ ) were risk factors for common bile duct stone recurrence after endoscopic treatment ( $B > 0$ ,  $OR > 1$ ); normal gallbladder ( $B = -0.889$ ,  $P = 0.410$ ) was a protective factor ( $B < 0$ ,  $OR < 1$ ).

**CONCLUSION:** Recurrence of common bile duct stones after endoscopic treatment is associated with the patient's own factors and endoscopic manipulations. The relapse of common bile duct stones can be effectively reduced and/or prevented by improving endoscopic manipulations.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Common bile duct stones; Endoscopic treatment; Recurrence; Risk factors; Prevention

Chang ZH, Dang T, Meng XM, Pan XP, Hu SQ, Tian JG. Risk factors and countermeasures for recurrence of common bile duct stones after endoscopic treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1157-1161 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1157.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1157>

## 摘要

**目的:** 探讨胆总管结石经内镜治疗后复发的危险因素及预防措施。

**方法:** 选取2008-01/2012-05于我院行内镜下治疗胆总管结石的患者进行随访和调研, 745例患者获得完整随访资料, 其中有64例(8.59%)患者复发胆总管结石, 采用单因素及多因素非条件Logistic回归分析方法进行危险因素的研究, 并根据发病因素探讨预防措施。

**结果:** 统计学结果显示壶腹周围憩室( $B =$

## ■背景资料

随着内镜逆行胰胆管造影、内镜十二指肠乳头括约肌切开术等技术的不断发展, 经内镜胆总管取石术以其操作简单、安全、有效、创伤小和恢复快等优点, 成为胆总管结石的主要治疗手段在国内广泛普及。内镜胆总管结石治疗后结石复发作为一种常见的远期并发症逐渐引起人们的重视, 对胆总管结石内镜治疗后结石复发相关危险因素及有效预防措施的研究也越来越受到人们的关注。

## ■同行评议者

陈海龙, 教授, 大连医科大学附属第一医院院办



## ■ 研究前沿

内镜下胆总管取石术的远期并发症中以胆总管结石复发最为多见。而且其已成为胆道疾病再手术的重要原因之一,给患者在经济上及身体上带来双重伤害。目前,对于胆总管结石治疗后复发的相关危险因素分析尚无统一意见,甚至有矛盾之处,所以胆总管结石内镜下治疗后复发因素仍然有待进一步研究证实。

0.582, OR = 1.790)、前期胆囊切除( $B = 1.012$ , OR = 2.751)、胆囊结石未治疗( $B = 0.744$ , OR = 2.103)、胆总管直径( $B = 1.062$ , OR = 2.892)、胆总管结石直径( $B = 0.536$ , OR = 1.708)、胆道积气( $B = 1.034$ , OR = 2.812)、机械碎石( $B = 0.828$ , OR = 2.289)是胆总管结石内镜治疗后复发的危险因素( $B > 0$ , OR  $> 1$ );正常胆囊( $B = -0.889$ ,  $P = 0.410$ )是结石复发的保护因素( $B < 0$ , OR  $< 1$ )。

**结论:** 内镜治疗胆总管结石后复发与患者自身因素及内镜医师的操作相关,可以通过细化操作步骤等措施有效减少和/或预防胆总管结石的复发。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胆总管结石; 内镜治疗; 复发; 危险因素; 预防

**核心提示:** 本文对内镜治疗后胆管结石复发的多个相关因素进行分析,明确了引起胆总管结石复发的危险因素与患者自身因素及内镜医师的操作相关,可以通过细化操作步骤、针对相关危险因素采取相应措施等方法有效减少和/或预防胆总管结石的复发。

常志恒, 党彤, 孟宪梅, 潘小平, 胡淑清, 田继刚. 内镜治疗胆总管结石复发的危险因素分析及对策. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1157-1161 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1157.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1157>

## 0 引言

胆总管结石复发是内镜下胆总管结石取石术后最常见的并发症。由于其容易反复发作,给患者精神及经济上都造成了巨大负担。本文对内镜治疗后胆管结石复发的多个相关因素进行分析,明确了引起胆总管结石复发的危险因素,从而指导临床进行有针对性的预防,达到降低复发率的目的。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2008-01/2012-05在我院消化病研究所行内镜下胆总管结石取石治疗患者的病例资料共974例,通过电话、复诊等方式随访,获得745例患者完整及确切的随访资料(76.5%)。根据病历资料和随访资料确定本研究的入选病例。入选标准: 患者均在治疗前被确诊为胆总管结石,包含合并有胆囊结石或胆管炎的患者;排除标准: 胆总管结石合并肝内胆管结

石、胆道恶性肿瘤或胆道良性狭窄的病例;复发标准: 胆总管结石经内镜取石成功, 6 mo后经B超、CT、磁共振胰胆管造影(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)或经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)等检查提示复发胆总管结石患者。

**1.2 方法** (1)内镜治疗前: 收集患者性别、年龄、体质量指数、血清胆固醇含量、胆囊状态、胆总管直径、胆总管结石直径(参考B超、CT或MRCP)等7个相关因素; (2)内镜治疗时: 行常规ERCP操作, 收集以下6个相关因素: 十二指肠乳头情况、有无壶腹周围憩室、憩室与十二指肠乳头的关系、胆总管直径、胆总管结石数量、是否用碎石网篮或碎石器械机械碎石; (3)内镜治疗后: 鼻胆管造影是否有胆道积气、是否有结石残留。复发后入院仍如同首次入院一样登记相关内容,并通过立位腹平片、B超、CT、MRCP等检查结果了解胆总管直径、结石大小及是否胆道积气等; (4)随访资料收集包括: 是否治疗胆囊结石, 复发胆总管结石的时间、次数及复发结石的治疗情况。

**统计学处理** 采用SPSS13.0软件进行统计学处理,计数资料采用 $\chi^2$ 检验。将与内镜治疗后胆总管结石复发的有关危险因素先进行单因素分析,对 $P < 0.05$ 的指标再引入非条件Logistic回归模型进行多因素分析,并计算回归系数( $B$ )、相对危险度(odds ratio, OR)和95%可信区间(95% confidence interval, 95%CI)。

## 2 结果

**2.1 内镜治疗后胆管结石复发情况** 745例患者中有64例(8.59%)复发胆管结石。其中男性24例(37.5%),女性40例(62.5%)。年龄33-91岁,平均年龄60.2岁。12例有2次及以上复发,其中4例多次复发。复发时间间隔0.6-4.5年,平均复发时间1.31年。

**2.2 相关因素分析** 应用统计学软件进行单因素分析,年龄、性别、体质量指数、血清胆固醇、胆总管结石数量与胆总管结石内镜治疗后复发无统计学意义。胆总管结石内镜治疗后行胆囊切除术组与正常胆囊组相比结石复发率无显著差别( $P > 0.05$ ),与前期胆囊切除组和合并胆囊结石未治疗组有统计学意义( $P < 0.05$ )。壶腹周围憩室、胆总管直径、初发胆总管结石直径、胆道积气、机械碎石与胆总管结石内镜治疗后复发有关

表 1 胆总管结石治疗后复发的单因素分析

相关因素	n	复发数	$\chi^2$ 值	P值
年龄(岁)				
≥65	451	34	0.170	0.680
<65	294	30		
性别				
男	341	24	0.878	0.349
女	404	40		
体质量指数(kg/m <sup>2</sup> )				
≥25	298	22	0.881	0.348
<25	447	42		
血清胆固醇含量				
血清胆固醇升高组	221	12	3.568	0.059
血清胆固醇正常组	524	52		
胆囊情况				
前期胆囊切除组	253	29	15.618	0.000
胆囊结石未治疗组	89	14	5.442	0.020
治疗后胆囊切除组	249	15	3.790	0.520
正常胆囊组	154	6	4.449	0.035
壶腹周围憩室				
有	198	34	5.025	0.025
无	547	30		
胆总管直径(mm)				
≥15	141	24	15.742	0.000
<15	604	40		
胆总管结石直径(mm)				
≥12	201	24	3.933	0.047
<12	544	40		
胆总管结石数量				
单发	438	15	0.928	0.335
多发	307	47		
胆道积气				
有	177	28	16.332	0.000
无	618	36		
机械碎石				
是	227	29	10.144	0.001
否	518	35		

( $P<0.05$ )(表1). 对胆总管结石复发单因素分析有统计学意义的因素进行Logistic回归分析(表2).

### 3 讨论

ERCP是胆胰疾病诊断的一种重要手段. 几十年来, 随着经内镜十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST), 经内镜乳头括约肌气囊扩张术(endoscopic papillary balloon dilatation, EPBD)、经内镜鼻胆管引流术(endoscopic papillary balloon dilatation, ENBD)、经内镜胆管引流术(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)、胆管内超声(intraductal ultrasonogra-

phy, IDUS)及子母镜等技术的成熟与运用, 目前以ERCP为基础, 结合多项内镜技术形成的治疗性 ERCP在胆胰疾病微创治疗中占有越来越重要的地位, 尤其是在胆总管结石治疗方面, 其创伤小、恢复快等优点得到内外科医生的一致认可. 结石复发是胆总管结石内镜治疗后最常见的并发症, 虽然国内外研究结果表明胆总管结石治疗后复发率不尽相同, 但总体发生率为4%-24%<sup>[1-3]</sup>. 复发性胆总管结石的患者往往需要再次内镜取石治疗, 频繁复发胆总管结石的患者甚至需要行外科手术手术治疗. 如何减少和预防结石复发, 成为了内、外科医生治疗胆总管结石的重点和难点.

内镜治疗后胆总管结石复发的机制尚不十分清楚, 目前普遍认为与多种因素有关. 结合国内外的研究情况, 以及我院消化病研究所多年开展ERCP治疗胆总管结石的经验, 我们设计了此项研究课题. 对11个相关因素采用单因素及多因素的统计学方法进行分析, 结果显示: 壶腹周围憩室、合并胆囊结石未治疗、胆总管直径≥15 mm, 初发胆总管结石直径≥12 mm、胆道积气、机械碎石等6个因素与胆总管结石内镜治疗后复发密切相关. 本研究结果与国内外相关研究结果基本一致<sup>[2,4-7]</sup>.

内镜治疗后胆总管结石复发的相关因素可分为两个方面: 患者自身因素和术者操作因素. 患者自身因素有: 壶腹周围憩室、合并有胆囊结石且未行胆囊切除、胆总管直径、初发胆总管结石直径等. 术者操作因素有: 行乳头切开后胆道积气、机械碎石. 结合我们十几年开展胆总管结石内镜治疗的经验, 针对患者自身因素和术者操作因素, 笔者认为采取以下措施可以减少和/或预防胆总管结石的复发: (1)壶腹周围憩室且十二指肠乳头位于憩室内和憩室边缘的患者, 胆总管结石内镜治疗容易复发<sup>[8,9]</sup>, 促进胆汁排泄、减少逆流及逆行感染会减少结石复发; (2)胆总管结石合并胆囊结石的患者, 在胆总管结石内镜治疗后应早期行胆囊切除术<sup>[10]</sup>, 防止胆囊结石滑入胆总管, 也降低因胆囊功能减退引起胆总管结石复发的风险, 从而预防胆总管结石复发; (3)胆总管扩张与胆总管结石内镜治疗后结石复发密切相关<sup>[2,10,11]</sup>, 因此, 存在胆总管扩张的患者, 胆总管结石内镜治疗后应采取必要的引流, 可有效减少胆汁引流不畅引起的胆汁淤积、胆道感染等, 从而减少结石复发<sup>[12,13]</sup>; (4)胆总管巨大结石(直径>20 mm)的患者, 可先

### ■应用要点

本研究分析引起胆总管结石内镜下治疗后复发可能的风险因素, 找出导致胆总管结石复发的高危因素, 探讨高危因素与胆总管结石复发之间的关系, 从而指导临床采取有效措施降低胆总管结石复发率, 完善预防措施, 减轻患者的负担.

## ■同行评价

本文分析比较透彻, 得出结论比较可靠, 具有一定的科学价值和临床指导意义。

表 2 胆总管结石治疗后复发的多因素Logistic回归分析

胆囊情况	变量					
	回归系数(B)	标准误(Sb)	Wald $\chi^2$ 值	P值	OR值	95%CI
前期胆囊切除组	1.012	0.264	14.658	0.000	2.751	1.639-4.618
胆囊结石未治疗组	0.744	0.325	5.237	0.022	2.103	1.113-3.977
正常胆囊组	-0.889	0.439	4.186	0.410	0.407	0.172-0.963
壶腹周围憩室	0.582	0.263	4.491	0.027	1.790	1.070-2.995
胆总管直径	1.062	0.277	14.651	0.000	2.892	1.679-4.982
胆总管结石直径	0.536	0.273	3.861	0.049	1.708	1.001-2.915
胆道积气	1.034	0.264	15.287	0.000	2.812	1.675-4.722
机械碎石	0.828	0.266	9.715	0.002	2.289	1.360-3.853

B>0, OR>1为独立危险因素; B<0, OR<1保护性因素。

置入塑料胆道支架, 进行3-6 mo的溶石治疗, 再行ERCP治疗<sup>[14]</sup>。一方面可减少术中出血、穿孔等发生率, 另一方面可减少对胆总管内皮的损伤, 减轻术后炎症反应, 降低结石复发风险; (5)胆总管内较大结石ERCP治疗过程中需机械碎石时, 在大块结石取出后容易残留胆泥及微小结石<sup>[15,16]</sup>, 应反复清理胆道, 并充分清洗, 避免胆泥样结石和微小结石的残留; (6)对于胆道明显扩张、胆总管多发结石及行机械碎石治疗的患者, ERCP治疗后应服用促进胆汁排泄药物6 mo以上, 增加胆道冲刷作用, 减少逆流、感染及结石形成; (7)对于存在相关危险因素的患者, 胆总管结石内镜治疗后应密切随访, 复发结石的患者应及早治疗, 以降低手术难度, 减少操作因素引起的结石复发。

总之, 经内镜胆总管取石术是一种安全、有效的治疗胆总管结石的微创治疗方法, 正确认识引起胆总管结石内镜治疗后复发的相关危险因素, 并采取相应措施进行有效的预防, 可以达到减少结石复发的目的。只有注重远期疗效、尽可能减少患者痛苦, 才是内镜治疗胆总管结石的意义所在。

## 4 参考文献

- Prat F, Malak NA, Pelletier G, Buffet C, Fritsch J, Choury AD, Altman C, Liguory C, Etienne JP. Biliary symptoms and complications more than 8 years after endoscopic sphincterotomy for choledocholithiasis. *Gastroenterology* 1996; 110: 894-899 [PMID: 8608900 DOI: 10.1053/gast.1996.v110.pm8608900]
- Pereira-Lima JC, Jakobs R, Winter UH, Benz C, Martin WR, Adamek HE, Riemann JF. Long-term results (7 to 10 years) of endoscopic papillotomy for choledocholithiasis. Multivariate analysis of prognostic factors for the recurrence of biliary symptoms. *Gastrointest Endosc* 1998; 48: 457-464 [PMID: 9831832 DOI: 10.1016/S0016-5107(98)70085-9]
- Kim DI, Kim MH, Lee SK, Seo DW, Choi WB, Lee SS, Park HJ, Joo YH, Yoo KS, Kim HJ, Min YI. Risk factors for recurrence of primary bile duct stones after endoscopic biliary sphincterotomy. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 42-48 [PMID: 11427840 DOI: 10.1067/mge.2001.115335]
- Baek YH, Kim HJ, Park JH, Park DI, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. [Risk factors for recurrent bile duct stones after endoscopic clearance of common bile duct stones]. *Korean J Gastroenterol* 2009; 54: 36-41 [PMID: 19696548 DOI: 10.4166/kjg.2009.54.1.36]
- Cheon YK, Lehman GA. Identification of risk factors for stone recurrence after endoscopic treatment of bile duct stones. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2006; 18: 461-464 [PMID: 16607138 DOI: 10.1097/00042737-200605000-00001]
- 钱东, 秦鸣放. 胆总管复发结石的病因研究进展. *中国中西医结合外科杂志* 2005; 11: 170-171
- 王钊, 王雪磊, 储建, 卞建民. 胆管结石复发相关因素分析. *医学综述* 2012; 18: 1692-1694
- Oak JH, Paik CN, Chung WC, Lee KM, Yang JM. Risk factors for recurrence of symptomatic common bile duct stones after cholecystectomy. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 417821 [PMID: 22991508]
- Lai KH, Peng NJ, Lo GH, Cheng JS, Huang RL, Lin CK, Huang JS, Chiang HT, Ger LP. Prediction of recurrent choledocholithiasis by quantitative cholecintigraphy in patients after endoscopic sphincterotomy. *Gut* 1997; 41: 399-403 [PMID: 9378399 DOI: 10.1136/gut.41.3.399]
- Ando T, Tsuyuguchi T, Okugawa T, Saito M, Ishihara T, Yamaguchi T, Saisho H. Risk factors for recurrent bile duct stones after endoscopic papillotomy. *Gut* 2003; 52: 116-121 [PMID: 12477771 DOI: 10.1136/gut.52.1.116]
- Costamagna G, Tringali A, Shah SK, Mutignani M, Zuccala G, Perri V. Long-term follow-up of patients after endoscopic sphincterotomy for choledocholithiasis, and risk factors for recurrence. *Endoscopy* 2002; 34: 273-279 [PMID: 11932781 DOI: 10.1055/s-2002-23632]
- 王子健. 预防胆道结石复发降低胆道再手术率. *中国实用外科杂志* 1997; 24: 64
- Schoenemann J, Zeidler J. [Sequelae of cholecys-



- tectomy]. *Z Gastroenterol* 1997; 35: 139-145 [PMID: 9163227]
- 14 Jain SK, Stein R, Bhuva M, Goldberg MJ. Pigtail stents: an alternative in the treatment of difficult bile duct stones. *Gastrointest Endosc* 2000; 52: 490-493 [PMID: 11023565 DOI: 10.1067/mge.2000.108409]
- 15 Tsuchiya S, Tsuyuguchi T, Sakai Y, Sugiyama H, Miyagawa K, Fukuda Y, Ando T, Saisho H, Yokosuka O. Clinical utility of intraductal US to decrease early recurrence rate of common bile duct stones after endoscopic papillotomy. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1590-1595 [PMID: 18554235 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05458.x]
- 16 文卫, 王敏, 范志宁, 蒋国斌, 吴萍. ERCP中十二指肠镜下胆管腔内超声胆管取石的应用价值. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 787-791

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

## 胆管恶性梗阻经内镜支架置入术后胆管炎的危险因素

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓

### ■背景资料

经内镜支架置入术成为胆管恶性梗阻引流的常用治疗手段, 胆管炎是术后一种常见并发症, 虽然发生率不高, 但致死率较高, 近年来得到广泛关注。

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓, 南京医科大学附属苏州医院 苏州市立医院东区消化内科 江苏省苏州市 215001

闵寒, 硕士, 主治医师, 主要从事消化系统肿瘤靶向治疗的研究。

苏州市科教兴卫基金资助项目, No. SWKQ1026

作者贡献分布: 主要数据分析与文章起草由闵寒完成; 病例选择与操作由闵寒、陈志荣、龚菲及王皓完成; 课题设计、文章修改及审阅由闵寒与陈志荣完成。

通讯作者: 陈志荣, 主任医师, 硕士生导师, 215001, 江苏省苏州市白塔西路16号, 南京医科大学附属苏州医院, 苏州市立医院东区消化内科。czt88188@163.com

电话: 0512-62364012

收稿日期: 2013-12-23 修回日期: 2014-01-16

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

### Risk factors for cholangitis after endoscopic stent placement for malignant biliary obstruction

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang

Han Min, Zhi-Rong Chen, Fei Gong, Hao Wang, Department of Gastroenterology, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), Suzhou 215001, Jiangsu Province, China

Supported by: Suzhou Science and Education Youth Health Foundation, No. SWKQ1026

Correspondence to: Zhi-Rong Chen, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital, Suzhou Municipal Hospital (East Branch), 16 Baita Road, Suzhou 215001, Jiangsu Province, China. czt88188@163.com

Received: 2013-12-23 Revised: 2014-01-16

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

### Abstract

**AIM:** To explore the risk factors for cholangitis after endoscopic stent placement for malignant biliary obstruction.

**METHODS:** Eighty malignant biliary obstructive patients who underwent endoscopic stent placement at Nanjing Medical University Affiliated Suzhou Hospital between January 2008 and December 2013 were divided into two groups: a cholangitis group ( $n = 40$ , with post-endoscopic stent placement cholangitis) and a non-cholangitis group ( $n = 40$ , without post-endoscopic stent placement cholangitis). The two groups were matched for age and gender. The relationship between post-endoscopic stent

placement cholangitis and various factors was investigated by univariate and multivariate analyses.

**RESULTS:** Univariate analysis showed that the location of obstruction, stent type and history of diabetes were significantly different between the two groups. Multivariate analysis demonstrated that the location of obstruction was significantly related to post-endoscopic stent placement cholangitis (OR = 8.815, 95%CI: 1.575-50.009).

**CONCLUSION:** Upper biliary obstruction might be an independent risk factor for post-endoscopic stent placement cholangitis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Malignant biliary obstruction; Endoscopic stent placement; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Cholangitis

Min H, Chen ZR, Gong F, Wang H. Risk factors for cholangitis after endoscopic stent placement for malignant biliary obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1162-1165 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1162.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1162>

### 摘要

**目的:** 探讨胆管恶性梗阻患者经内镜支架置入术后发生胆管炎的危险因素。

**方法:** 以年龄和性别为匹配条件, 对2008-01/2013-12南京医科大学附属苏州医院成功行内镜支架置入术的胆管恶性梗阻患者术后发生胆管炎的40例(C组)及未发生胆管炎的40例(NC组)进行1:1配对病例对照研究。采用单因素和多因素分析探讨术后胆管炎的可能危险因素。

**结果:** 单因素分析结果显示, 梗阻部位、支架类型及糖尿病病史在两组间差异有统计学意义; 多因素分析结果显示, 梗阻部位与术后胆管炎发生显著相关, OR值为8.815, 95%CI: 1.575-50.009。

### ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院

**结论:** 高位梗阻是经内镜支架置入术后胆管炎的独立危险因素, 值得进一步研究.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胆管恶性梗阻; 经内镜支架置入术; 内镜逆行胰胆管造影; 胆管炎

**核心提示:** 胆管恶性梗阻是一种处理复杂的疾病, 内镜支架置入术是目前应用较广的治疗手段, 但术后胆管炎的发生值得重视. 高位梗阻可能是内镜胆管内引流术后胆管炎发生的独立危险因素.

闵寒, 陈志荣, 龚菲, 王皓. 胆管恶性梗阻经内镜支架置入术后胆管炎的危险因素. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1162-1165  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1162.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1162>

## 0 引言

胆管梗阻是许多恶性肿瘤的常见并发症, 多见于胆管癌、胰腺癌、肝癌及其他转移性肿瘤, 其所引发的病理损伤加速了肿瘤患者的死亡<sup>[1]</sup>. 随着内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)技术的发展和成熟, 包含塑料胆管内支架引流(endoscopic retrograde biliary drainage, ERBD)和金属胆道内支架引流(endoscopic metal biliary endoprosthesis, EMBE)的经内镜支架置入术成为胆管恶性梗阻引流的常用治疗手段<sup>[2-5]</sup>. 胆管炎是ERCP术后一种常见并发症, 虽然发生率不高, 但致死率较高, 近年来得到广泛关注<sup>[6-9]</sup>. 国内外学者通过不同方法来降术后低胆管炎的发生, 并研究可能存在的危险因素, 但这些研究客观性不足, 混杂因素较多, 缺乏临床指导意义<sup>[6,10-13]</sup>. 本文旨在通过病例对照研究, 分析胆管恶性梗阻经内镜支架置入术后胆管炎的可能危险因素, 为临床提供指导.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2008-01/2013-12南京医科大学附属苏州医院成功行ERBD和EMBE治疗的胆管恶性梗阻患者. 病例采集人员为消化内科经过培训的医生. 其中胆管炎组(C组)40例, 未发生胆管炎组(NC组)40例. 经内镜支架置入术后胆管炎的诊断标准: 排除术后急性胰腺炎、呼吸道感染、穿孔后腹腔感染等其他原因导致的腹痛、发热后需同时满足以下3条: (1)术后体温 $\geq 38^{\circ}\text{C}$ ; (2)白细胞计数 $\geq 10.0 \times 10^9/\text{L}$ ; (3)有腹痛、

恶心呕吐症状.

**1.2 方法** 采用配对比较的病例对照研究, 组间匹配条件为: 年龄( $\pm 3$ 岁)和性别. 病例采集人员进行数据收集和情况调查, 列入的研究因素包括: 梗阻部位、肝转移、支架类型、术前总胆红素指标、十二指肠乳头切开、糖尿病病史. 其中梗阻部位分类: 低位梗阻(胆总管及壶腹周围); 高位梗阻(肝管及以上). 主要研究因素及赋值方法如表1.

**统计学处理** 采用SPSS16.0统计软件进行分析, 单因素分析采用 $t$ 检验、 $\chi^2$ 检验; 多因素分析采用条件Logistic回归分析.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 一般资料** 两组男女性别比为22/18; C组年龄 $72.2 \pm 12.3$ 岁, NC组为 $72.2 \pm 12.2$ 岁, 两组差异无统计学意义.

**2.2 单因素分析** 两组间梗阻部位、支架类型及糖尿病病史差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 其他研究因素差异无统计学意义(表2).

**2.3 多因素分析** 把梗阻部位、支架类型及糖尿病病史3个研究因素纳入条件Logistic回归分析中发现, 梗阻部位与经内镜支架置入术后胆管炎显著相关( $P < 0.05$ )(表3).

## 3 讨论

胆管恶性梗阻是指因恶性肿瘤压迫或侵犯胆总管、肝总管及左右肝管导致的胆管狭窄. 这类疾病常引起肝肾功能损害、免疫功能障碍、继发感染甚至多器官功能损伤, 加速了病情发展. 因其梗阻原因难以根本解除且患者一般情况较差, 所以治疗难度大. 现有对于胆管恶性梗阻的治疗手段包括经内镜支架置入术、经皮肝胆管引流及外科手术. 经内镜支架置入术因其创伤小和治疗手段多等优点在临床上得到广泛应用. 胆管炎是术后一种常见并发症, 国内外报道发生率为: 0.5%-55.8%<sup>[6,10,13,14]</sup>, 如不及时处理死亡率较高<sup>[14-16]</sup>, 近年来引起国内外学者的广泛关注.

内镜支架置入术后胆管炎, 发生机制与手术破坏了胆管系统的物理防御体系有关, 但具体原因复杂. 目前客观性研究不多, 缺乏有效的预测模型. 有文献分析发现肝门部胆管癌、高位梗阻、操作时间长的恶性胆管梗阻患者可能更容易发生术后胆管炎<sup>[10,13,17]</sup>, 但这些研究混杂因素较多. 本文通过病例对照研究, 控制了重要的

## ■ 研究前沿

国内外学者通过不同方法来降术后低胆管炎的发生, 并研究可能存在的危险因素, 但这些研究客观性不足, 混杂因素较多, 缺乏临床指导意义.



## ■相关报道

Bai等通过荟萃分析得出术前预防性使用抗生素并不能降低术后胆管炎发生的结论,但随后有前瞻及回顾性研究发现针对不同的亚组或选择不同的抗生素使用方法可以降低术后胆管炎发生。

表 1 主要研究因素赋值方法

研究因素	赋值
梗阻部位	0 = 低位, 1 = 高位
肝转移	0 = 否, 1 = 是
十二指肠乳头切开	0 = 否, 1 = 是
支架类型	0 = 塑料支架, 1 = 金属支架
糖尿病	0 = 否, 1 = 是

表 2 C组与NC组间研究因素单因素分析

研究因素	C组	NC组	$\chi^2$ 值	P值
梗阻部位				
低位	16	32	13.333	0.000
高位	24	8		
肝转移				
否	20	27	2.527	0.112
是	20	13		
十二指肠乳头切开(n)				
否	15	22	2.464	0.116
是	25	18		
支架类型(n)				
塑料	16	7	4.943	0.026
金属	24	33		
糖尿病(n)				
否	24	34	6.270	0.012
是	16	6		
总胆红素( $\mu\text{mol/L}$ )	166.3 $\pm$ 125.8	166.4 $\pm$ 125.4	0.005	0.996

因素,尽可能减少偏倚,并把与感染发生有关的糖尿病病史纳入了研究因素。通过单因素分析发现梗阻部位、支架类型及糖尿病病史在两组间差异有统计学意义,提示高位梗阻、塑料支架、糖尿病病史可能是术后发生胆管炎的高危因素。但单因素分析不能排除因素间的交互作用,为了排除混杂因素,我们进行了多因素分析,结果发现梗阻部位是术后胆管炎的独立危险因素,高位梗阻患者术后发生胆管炎的可能性是低位梗阻患者的8.8倍。而高位梗阻的病因中主要为肝门部胆管癌,这与一些研究结果是一致的<sup>[6,13]</sup>。原因可能是肝部门及以上梗阻常伴随多支肝内胆管梗阻,一方面无法彻底引流出术中使用的造影剂,另一方面即使手术成功也难以实现胆汁充分引流。针对这一部位的特殊性,新的支架放置方式在临床进行应用研究,其有效性还有待进一步观察总结<sup>[18,19]</sup>。

为了有效地预防术后胆管炎的发生,国内外

表 3 内镜支架置入术后胆管炎的条件Logistic回归分析

研究因素	B值	Wald值	P值	OR值(95%CI)
梗阻部位	2.183	6.125	0.013	8.815(1.575-50.009)
支架类型	-0.719	1.054	0.305	0.487(0.124-1.922)
糖尿病	1.358	3.091	0.079	3.889(0.856-17.673)

学者对一些新的方法和手段进行了研究,但仍存在争议。(1)对于术前预防性使用抗生素是否能降低术后胆管炎发生目前争议较大。Bai等<sup>[20]</sup>通过荟萃分析得出术前预防性使用抗生素并不能降低术后胆管炎发生的结论。但随后Kager等<sup>[21]</sup>通过回顾性研究发现对于高危患者术前预防性使用抗生素能降低术后胆管炎的发生,王书智等<sup>[8]</sup>通过前瞻性对照研究发现术前对消化系进行局部抗生素清洁能降低术后胆管炎的发生。这些结果的差异可能与入组患者的不同和具体抗生素使用方法不同有关,需要更多的多中心随机对照研究;(2)减少造影剂的使用能降低术后胆管炎的发生。Pisello等<sup>[11]</sup>研究发现空气对比造影较传统方法能降低术后胆管炎的发生,Adler等<sup>[12]</sup>研究发现不造影也可以降低术后胆管炎的发生。但这些研究还较少,缺乏临床推广意义。此外,还有一些关于预防和降低术后胆管炎的研究,如新型支架是否能降低术后胆管炎发生还有待研究<sup>[22,23]</sup>,一篇荟萃分析发现预切开并不能降低术后胆管炎的发生<sup>[24]</sup>,Jeurnink等<sup>[25]</sup>报道了一种ERCP术后并发症的预测模型,有助于预后的判断,但是否能应用于术后胆管炎的预测需要进一步临床研究。

胆管恶性梗阻是一种处理复杂的疾病,内镜支架置入术是目前应用较广的治疗手段,但术后胆管炎的发生值得重视。高位梗阻可能是术后胆管炎发生的独立危险因素。本研究结果为患者的选择、新技术的研发及预测模型的建立提供了依据。

## 4 参考文献

- 徐刚. 恶性梗阻性黄疸研究现状及进展. 中国医药科学 2012; 2: 29-30, 33
- Bakhru M, Ho HC, Gohil V, Wang AY, Ellen K, Sauer BG, Shami VM, Kahaleh M. Fully-covered, self-expandable metal stents (CSEMS) in malignant distal biliary strictures: mid-term evaluation. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1022-1027 [PMID: 21299614 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06682.x]
- 邹晓平, 湛先保, 李兆申, 金震东, 宛新建, 王娜, 许国铭. 胆管内外引流治疗内镜难治性恶性胆道梗阻的对比研究. 中华内科杂志 2004; 43: 109-111

- 4 黄晓东, 范彦, 张姮, 刘文敏, 刘小明. 内镜下胆道支架置入术治疗恶性胆道梗阻122例. 世界华人消化杂志 2008; 16: 3234-3237
- 5 刁同进, 高百春, 蔡宏剑, 官林, 矫学黎, 于茜茜. 恶性阻塞性黄疸临床分析153例. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1575-1581
- 6 张汝玲, 宛新建. 内镜下逆行胰胆管造影术后胆道感染的危险因素分析及防治. 中华消化杂志 2011; 31: 430-432
- 7 官德卿, 陈山, 杨刚三. 胆道不同梗阻部位ERCP术后感染率对比分析. 中国医学创新 2012; 10: 126-127
- 8 王书智, 高道键, 时之梅, 陆蕊, 王淑萍, 黄慧, 周吉, 胡冰. 消化道清洁对于预防内镜逆行胰胆管术后胆道感染的前瞻性随机对照研究. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 555-558
- 9 Salehmarzizharani B, Dadvar Z, Mousavi M, Mirsattari D, Zali MR, Mohammad Alizadeh AH. Risk factors for post-ERCP cholangitis in patients with pancreatic cancer from a single referral center in Iran. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 1539-1541 [PMID: 22799362 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.4.1539]
- 10 牛应林, 张澍田, 于中麟, 陈曦, 孟凡冬. 诊断和治疗性胰胆管造影并发胆道感染的危险因素和防治. 临床内科杂志 2006; 23: 455-457
- 11 Pisello F, Geraci G, Modica G, Sciumè C. Cholangitis prevention in endoscopic Klatskin tumor palliation: air cholangiography technique. *Langenbecks Arch Surg* 2009; 394: 1109-1114 [PMID: 19707784 DOI: 10.1007/s00423-009-0548-y]
- 12 Adler DG, Verma D, Hilden K, Chadha R, Thomas K. Dye-free wire-guided cannulation of the biliary tree during ERCP is associated with high success and low complication rates: outcomes in a single operator experience of 822 cases. *J Clin Gastroenterol* 2010; 44: e57-e62 [PMID: 19636260 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181aaccbd1]
- 13 刘军, 邓登豪, 朱海杭, 王璐. 恶性胆道梗阻ERCP引流术后并发胆管炎原因分析. 实用临床医药杂志 2011; 15: 40-42, 58
- 14 Christensen M, Matzen P, Schulze S, Rosenberg J. Complications of ERCP: a prospective study. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 721-731 [PMID: 15557948 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)02169-8]
- 15 Bilbao MK, Dotter CT, Lee TG, Katon RM. Complications of endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP). A study of 10,000 cases. *Gastroenterology* 1976; 70: 314-320 [PMID: 1248697]
- 16 Masci E, Toti G, Mariani A, Curioni S, Lomazzi A, Dinelli M, Minoli G, Crosta C, Comin U, Ferritta A, Prada A, Passoni GR, Testoni PA. Complications of diagnostic and therapeutic ERCP: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 417-423 [PMID: 11232684 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2001.03594.x]
- 17 Ertugrul I, Yüksel I, Parlak E, Çiçek B, Ataseven H, Başar O, Ibiş M, Saşmaz N, Sahin B. Risk factors for endoscopic retrograde cholangiopancreatography-related cholangitis: a prospective study. *Turk J Gastroenterol* 2009; 20: 116-121 [PMID: 19530044]
- 18 王成, 黄强, 邵峰, 胡元国, 邱陆军, 林先盛. 内镜下平行法双金属支架引流治疗晚期肝门部胆管恶性梗阻价值探讨. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 332-335
- 19 程思乐, 张筱凤, 杨建锋, 王霞. 胆道单双支架引流治疗不同分型肝门部恶性梗阻的比较. 中华消化内镜杂志 2013; 30: 461-463
- 20 Bai Y, Gao F, Gao J, Zou DW, Li ZS. Prophylactic antibiotics cannot prevent endoscopic retrograde cholangiopancreatography-induced cholangitis: a meta-analysis. *Pancreas* 2009; 38: 126-130 [PMID: 19238021 DOI: 10.1097/MPA.0b013e318189f6d]
- 21 Kager LM, Sjouke B, van den Brand M, Naber TH, Ponsioen CY. The role of antibiotic prophylaxis in endoscopic retrograde cholangiopancreatography; a retrospective single-center evaluation. *Scand J Gastroenterol* 2012; 47: 245-250 [PMID: 22242617 DOI: 10.3109/00365521.2011.643482]
- 22 王田田, 胡冰, 潘亚敏, 时之梅, 王书智, 陆蕊, 黄慧, 王淑萍. 抗反流金属支架用于胆道恶性梗阻的可行性研究. 中华消化内镜杂志 2010; 27: 632-635
- 23 冀明, 王拥军, 李鹏, 吕富靖, 李巍, 张澍田. 全覆膜与非覆膜金属支架治疗胆道恶性梗阻随机对照研究. 中华消化内镜杂志 2012; 29: 673-675
- 24 Cennamo V, Fuccio L, Zagari RM, Eusebi LH, Ceroni L, Laterza L, Fabbri C, Bazzoli F. Can early pre-cut implementation reduce endoscopic retrograde cholangiopancreatography-related complication risk? Meta-analysis of randomized controlled trials. *Endoscopy* 2010; 42: 381-388 [PMID: 20306386 DOI: 10.1055/s-0029-1243992]
- 25 Jeurnink SM, Siersema PD, Steyerberg EW, Dees J, Poley JW, Haringsma J, Kuipers EJ. Predictors of complications after endoscopic retrograde cholangiopancreatography: a prognostic model for early discharge. *Surg Endosc* 2011; 25: 2892-2900 [PMID: 21455806 DOI: 10.1007/s00464-011-1638-9]

# 同行评价

本文学术价值较好, 对临床具有一定指导意义.

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 内镜下逆行胰胆管造影术尽早经胰管括约肌预切开的安全性

葛祥丽, 毛涛, 孙学国, 鞠辉, 江月萍, 赵清喜, 田字彬

## ■背景资料

治疗性内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已广泛应用于胆道疾病的微创处理,并取得了良好的临床效果。其技术基础是选择性胆管插管成功,采用经胰管括约肌预切开技术进行困难胆管插管的新的预切开技术尝试,取得了初步成功。

葛祥丽, 毛涛, 孙学国, 鞠辉, 江月萍, 赵清喜, 田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003

葛祥丽, 在读硕士, 主要从事胆胰疾病的研究。

作者贡献分布: 葛祥丽与赵清喜对此文所作贡献均等; 此课题由葛祥丽与赵清喜设计; 研究过程由葛祥丽、毛涛、孙学国及鞠辉操作完成; 研究所用工具由赵清喜与田字彬提供; 数据分析由葛祥丽与江月萍操作完成; 论文写作由葛祥丽与赵清喜完成。

通讯作者: 赵清喜, 教授, 主任医师, 266003, 山东省青岛市市南区江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科。

qxzhao007@163.com

电话: 0532-82911304

收稿日期: 2013-12-30 修回日期: 2014-01-15

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Safety of early transpancreatic duct precut during endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Xiang-Li Ge, Tao Mao, Xue-Guo Sun, Hui Ju, Yue-Ping Jiang, Qing-Xi Zhao, Zi-Bin Tian

Xiang-Li Ge, Tao Mao, Xue-Guo Sun, Hui Ju, Yue-Ping Jiang, Qing-Xi Zhao, Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Correspondence to: Qing-Xi Zhao, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University Medical College, 16 Jiangsu Road, Shinan District, Qingdao 266003, Shandong Province, China. qxzhao007@163.com

Received: 2013-12-30 Revised: 2014-01-15

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To explore the effectiveness and safety of early transpancreatic duct precut in achieving cannulation of the common bile duct.

**METHODS:** One hundred and twelve patients who underwent endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) from October 2011 to August 2013 were randomly assigned into two groups (at a 1:3 ratio). Group A underwent precut immediately after first cannulation with guide-wire sliding into the pancreatic duct, and group B underwent standard cannulation attempts for a total of 15 min. If successful cannulation of the

common bile duct was achieved within this time and with the pancreatic duct inserted less than 5 times, patients were included in the subgroup B1; otherwise, a precut procedure was carried out, and the patients were included in the subgroup B2. The success rate of biliary cannulation, mean cannulation time, mean x-ray exposure time, procedure-related complication rate and risk factors for post-ERCP pancreatitis were compared among the groups.

**RESULTS:** The mean cannulation time and mean X-ray exposure time in group A were significantly lower than those in group B2 (7.9 min vs 16.9, 5.8 min vs 10.4 min,  $P < 0.05$  for both). There were no significant differences between the two groups in the cannulation rates, but the post-ERCP pancreatitis rate was higher in group B2 than in group A (26.9% vs 3.4%,  $P = 0.02$ ). Multivariate analysis indicated that risk factors for post-ERCP pancreatitis were more than 10 minutes of biliary cannulation attempts and more than 2 times of cannulation of the pancreatic duct.

**CONCLUSION:** Early transpancreatic duct precut is safe and effective during ERCP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Transpancreatic duct; Precut

Ge XL, Mao T, Sun XG, Ju H, Jiang YP, Zhang QX, Tian ZB. Safety of early transpancreatic duct precut during endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1166-1170 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1166.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1166>

## 摘要

**目的:** 探讨内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)时尽早经胰管括约肌预切开后胆管插

## ■同行评议者

王刚, 副研究员, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科(普外二科)



管的安全性.

**方法:** 前瞻性观察2011-10/2013-08在我院行ERCP治疗的患者, 将112例符合入选标准的患者纳入研究. 按1:3的比例随机分为两组: A组导丝首次进入胰管即行经胰管括约肌预切开; B组继续尝试常规胆管插管15 min, 15 min内胆管插管成功者为B1组, 15 min胆管插管仍失败或导丝反复进入胰管5次时再行经胰管括约肌预切开者为B2组. 统计各组胆管插管成功率、胆管插管时间、X线照射时间、并发症的发生率和术后急性胰腺炎相关的危险因素.

**结果:** A组所用胆管插管时间、X线照射时间均比B2组短, 差异有统计学意义(7.9 vs 16.9 min, 5.8 vs 10.4 min,  $P < 0.05$ ). A组与B2组的胆管插管成功率, 无统计学差异, 但B2组胰腺炎发生率明显高于A组(26.9% vs 3.4%,  $P = 0.02$ ). 多变量分析提示: 插管时间 $>10$  min、导丝进入胰管 $>2$ 次是术后急性胰腺炎的危险因素.

**结论:** 对ERCP首次插管导丝进入胰管的患者尽早行经胰管括约肌预切开是安全的, 有利于减少急性胰腺炎的发生率.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 内镜逆行胰胆管造影术; 经胰管; 预切开

**核心提示:** 经胰管预切开本身并不增加ERCP术后胰腺炎的发生率, 在胆管插管导丝进入胰管的情况下, 尽早行经胰管括约肌预切开是安全和有效的, 值得临床推广应用.

葛祥丽, 毛涛, 孙学国, 鞠辉, 江月萍, 赵清喜, 田宇彬. 内镜下逆行胰胆管造影术尽早经胰管括约肌预切开的安全性. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1166-1170 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1166.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1166>

## 0 引言

内镜下逆行胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)已广泛应用于胆道疾病的微创治疗, 其成功的关键是选择性胆管插管成功. 目前即使在大的内镜中心由经验丰富的内镜医师操作, 仍有5%-15%的患者选择性胆管插管失败<sup>[1-3]</sup>. 经胰管括约肌预切开技术是在选择性胆管插管困难时为达到胆管深插管的目的而采用的预切开技术<sup>[4]</sup>. 经胰管括约肌预切开是否会增加ERCP术后胰腺炎的发生率目前尚无定论. 有研究提示经胰管预切开术可

能会增加ERCP术后胰腺炎的发生率<sup>[5-7]</sup>, 限制了该技术的广泛应用; 也有研究报道预切开本身并不增加术后胰腺炎的风险, 长时间的胆管插管困难、导丝反复进入胰管、反复胰管注射造影剂增加了术后胰腺炎的风险<sup>[8]</sup>. 与胆管插管困难时再行经胰管括约肌预切开相比, 尽早经胰管行括约肌预切开的安全性及其是否会提高胆管插管的成功率目前未见报道. 本研究的目的是探讨首次插管导丝进入胰管患者尽早行经胰管括约肌预切开的安全性及其胆管插管时间、X线照射时间、插管成功率和并发症发生情况. 此外, 我们还分析了与胰腺炎相关的危险因素.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 连续观察2011-10/2013-08在我院住院接受ERCP治疗的胆道疾病患者, 将常规首次插管导丝即进入胰管的患者纳入研究. 排除标准: 既往行ERCP、十二指肠乳头括约肌切开术(endoscopic sphincterotomy, EST)者; 曾行胃大部切除等重大手术导致壶腹部解剖结构改变者; Oddi括约肌功能障碍(sphincter of oddi dysfunction, SOD)者; 有心肺功能不全、凝血功能障碍等ERCP禁忌症者; 年龄 $<18$ 岁者.

将乳头切开刀尖端从十二指肠镜伸出到达乳头壶腹部开始到胆管插管成功所用的时间记为胆管插管时间. 将导丝反复误入胰管5次<sup>[9]</sup>或插管时间超过15 min<sup>[10]</sup>视为困难插管. 为了提供足够数量困难插管的患者, 结合以往常规胆管插管成功率, 我们将纳入研究的112例患者按1:3的比例随机分为尽早预切开组(A组)29例和长时间尝试胆管插管组(B组)83例. A组患者在接受随机分组后立即进行预切开; B组继续尝试常规胆管插管15 min并将B组分为插管成功组(B1组)57例和迟后预切开组(B2组)26例. 导丝进入胰管 $<5$ 次且在15 min内插管成功的患者为B1组; 插管失败达到困难插管时才行预切开的患者为B2组. 使用日本Olympus JF240或TJF240型十二指肠镜, 高频电装置, Boston 0.035黄斑马导丝, 三腔括约肌切开刀, 胆管支架, 取石网篮, 鼻胆引流管等.

## 1.2 方法

**1.2.1 随机分组:** 请一位不参与该实验的专家在随机数字表里任意确定一个起点和走向, 选择随机数字, 并把每一个数字单独密封到信封里. 实验规定: 随机数字末位数为4、8者分至A组; 末位数为1、2、3、5、6、7者分至B组; 0、9弃去.

## ■ 研究前沿

在常规胆管插管困难时, 国内外ERCP专家们不断尝试使用各种预切开技术, 以期能找到插管成功率高、并发症发生率低的方法. 然而预切开的最佳时间尚未明确; 经胰管括约肌预切开技术是否会增加ERCP术后胰腺炎的风险也尚无定论.

## ■相关报道

相关研究结果显示在选择性胆管插管困难时,采用经胰管括约肌预切技术,提高了ERCP的成功率,并发症和标准切开法比较也没有显著差异,具有安全有效的特点,值得临床推广应用。

表 1 3组病例临床资料比较情况

分组	n	男/女	年龄(岁)	胆总管结石	胆总管恶性狭窄	胆总管良性狭窄	胆管扩张
A	29	18/11	59.0±13.2	17	9	2	1
B1	57	32/25	61.8±14.1	28	20	6	3
B2	26	14/12	55.6±14.0	12	10	2	2

表 2 3组患者术中操作及术后急性胰腺炎发生情况

分组	n	胆管插管时间(min)	X线照射时间(min)	急性胰腺炎发生率n(%)
A	29	7.9±3.3 <sup>c</sup>	5.8±1.9 <sup>ac</sup>	1(3.4) <sup>c</sup>
B1	57	7.1±2.4 <sup>e</sup>	7.2±1.7 <sup>e</sup>	5(8.8) <sup>e</sup>
B2	26	16.9±4.5	10.4±2.4	7(26.9)
P值		0.000	0.000	0.016

<sup>a</sup>P<0.05 vs B1组; <sup>c</sup>P<0.05 vs A组; <sup>e</sup>P<0.05 vs B2组。

表 3 ERCP术后胰腺炎危险因素的单变量分析 (n)

危险因素	总例数 (n = 112)	急性胰腺 炎(n = 13)	P值
女性	48	8	0.15
年龄≤60岁	60	6	0.57
插管时间>10 min	40	9	0.01
导丝进入胰管>2次	55	10	0.03
经胰管预切开术	55	8	0.34

符合入选标准的患者进入实验后即开启一个信封,来决定是否尽早行经胰管括约肌预切开。

1.2.2 操作: 采用导丝-导管技术先行常规胆道选择性插管,将导丝进入胰管者按随机分组要求采用经胰管预切开术,即将三腔切开刀前端与导丝插入胰管中,然后向11点方向(胆管方向)以混合电流进行切开,切开胰管和胆管括约肌之间的间隔,以暴露胆管开口,拔出导丝和切开刀,在导丝辅助下进行选择性胆管深插管,胆管插管成功后,继续完成胆管括约肌切开及相应的治疗。

1.2.3 并发症判定标准: 监测患者主要并发症(胰腺炎、出血和穿孔)发生情况,根据标准共识<sup>[11]</sup>进行评估。(1)急性胰腺炎: ERCP术后24 h,出现血清淀粉酶超过正常值上限的3倍或3倍以上,同时伴有持续的腹痛;(2)出血: 术后出现呕血或黑便并伴有血红蛋白下降超过2 g/dL,或需要再次内镜止血治疗;(3)穿孔: X线检查发现腹膜后腔积气或膈下出现游离气体即可诊断。

**统计学处理** 应用SPSS19.0统计软件进行分析,计量资料以单因素方差分析进行分析,以

mean±SD表示。计数资料采用 $\chi^2$ 检验或Fisher确切概率法进行单变量分析;采用Logistic回归进行多变量分析。所有假设检验均为双侧检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 入选病例情况 本研究共纳入112例患者,其中男64例(57.1%),女48例(42.9%),年龄19-86岁,平均59.6岁。行ERCP的主要病因为胆总管结石及各种良恶性胆道狭窄。经检验各组患者临床资料具有较好的可比性,差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1)。

## 2.2 术中操作及术后并发症情况

2.2.1 胆管插管成功率: A组成功插管28例,成功率为96.6%(28/29); B1组成功插管57例,成功率为100%(57/57); B2组成功插管23例,成功率为88.5%(23/26)。各组间插管成功率比较差异无统计学意义。

首次胆管插管失败的4例患者均在术后48 h内行第二次选择性胆管插管,所有患者均插管成功,总成功率达到100%。其中A组中有1例、B2组中有2例首次ERCP插管失败的患者,以常规胆管插管成功; B2组失败的3例患者中有1例选择针状刀开窗术后获得胆管插管成功。

2.2.2 胆管插管时间及术中X线照射时间: A组平均胆管插管时间为7.9 min±3.3 min,平均X线照射时间为5.8 min±1.9 min; B1组平均胆管插管时间为7.1 min±2.4 min,平均X线照射时间为7.2 min±1.7 min; B2组平均胆管插管时间为16.9 min±4.5 min,平均X线照射时间为10.4 min±2.4

表 4 多因素Logistic回归分析结果

危险因素	B	S.E	Wald	df	sig	Ex(B)	Exp(B)95%CI
插管时间>10 min	1.655	0.655	6.378	1	0.012	5.231	1.448-18.891
导丝进入胰管>2次	1.455	0.709	4.210	1	0.040	4.286	1.067-17.214

min. 各组间比较情况(表2).

2.2.3 并发症发生: A组29例, 术后发生急性胰腺炎1例, 发生率为3.4%; B1组发生急性胰腺炎5例, 发生率为8.8%; B2组发生急性胰腺炎7例, 发生率为26.9%. A组和B1组比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); A组与B2组比较差异有统计学意义( $P=0.02$ ); B1组与B2组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ )(表2). 所有并发症患者均为轻型胰腺炎, 给予禁饮食、生长抑素、抗炎等治疗后症状消失, 无出血、穿孔和操作相关的死亡发生.

2.3 危险因素分析 纳入ERCP术后急性胰腺炎分析的可能危险因素共有5个(女性、年龄 $\leq 60$ 岁、插管时间 $>10$  min、导丝进入胰管 $>2$ 次、经胰管预切开术). 单变量分析的结果提示有统计学意义的因素为2个: 即插管时间 $>10$  min( $P=0.01$ )和导丝进入胰管 $>2$ 次( $P=0.03$ )(表3). 多变量Logistic回归分析结果提示ERCP术后急性胰腺炎的独立危险因素与单变量分析的结果一致: 即插管时间 $>10$  min(OR = 5.231, 95%CI: 1.448-18.891)和导丝进入胰管 $>2$ 次(OR = 4.286, 95%CI: 1.067-17.214)(表4).

### 3 讨论

经胰管预切开术是1995年Goff<sup>[4]</sup>首先报道使用的, 其理论基础是胰管开口一般低于胆管开口, 在实际操作中导管或导丝易误入胰管; 此外, 胆胰管之间有隔膜, 胆管插管误入胰管后该隔膜可将胆管开口遮蔽, 影响胆管插管. 经胰管预切开后, 可以部分改变胆管开口方向, 切开胆胰管间的隔膜, 便于胆管开口显露, 从而方便胆管插管. 该方法具有不用更换切开刀, 切开长度易控制等优点.

预切开的最佳时间尚未明确; 经胰管预切开是否会增加ERCP术后胰腺炎的风险也尚无定论. 为此, 我们比较了尽早预切开组(A组)和长时间尝试常规胆管插管达到困难插管时行预切开组(B2组)患者的胆管插管成功率和并发症发生率等指标, 以评估早期经胰管预切开后在胆管插管中的疗效和安全性.

本研究中A组初次行ERCP胆管插管成功率

为96.6%; B1组插管成功率为100%; B2组插管成功率为88.5%. 各组间比较胆管插管成功率无统计学差异. 我们的成功率与Weber等<sup>[12]</sup>的结果(95.4%)相似. 对于初次ERCP胆管插管失败的4例患者, 我们均在术后48 h内行第2次ERCP, 所有患者均插管成功, 总成功率达到100%. 因此, 对于初次胆管插管失败的患者行第2次ERCP有助于提高胆管插管的成功率. 这可能与第2次ERCP时乳头炎症水肿消退, 胆管开口容易辨认有关. 此外, 本资料中有1例经胰管预切开插管失败后选择针状刀开窗术后获得成功, 提示在前者失败时后者可作为补充方式.

由于设计方案的不同、操作者经验的差异、预切开时间的不同、治疗性ERCP的适应症等不同因素使ERCP术后并发症的发生率也不同. 国外报道经胰管预切开后并发症发生率大多数都 $>10\%$ <sup>[6]</sup>, 经胰管预切开后胰腺炎的发生率为7.0%-29.8%<sup>[6,13]</sup>. 本研究中高淀粉酶血症及其他轻微并发症未计入本次并发症统计数据中, 我们只研究了影响患者预后的严重并发症(急性胰腺炎、出血、穿孔). 所有并发症患者均为轻型胰腺炎, 无重症胰腺炎的发生, 无出血、穿孔和操作相关的死亡发生, 总并发症发生率为11.6%.

急性胰腺炎是经胰管预切开后最常见的并发症, 一些学者认为在预切开之前长时间的胆管插管、导丝反复进入胰管损伤了乳头和胰管括约肌增加了胰腺炎的发生率, 预切开本身不是其危险因素<sup>[8,14]</sup>. 本研究发现迟后预切开组(B2组)胰腺炎发生率明显高于尽早预切开组(A组)(26.9% vs 3.4%,  $P=0.02$ ). 经多变量分析插管时间 $>10$  min、导丝进入胰管 $>2$ 次是经胰管预切开后急性胰腺炎的独立危险因素, 其相对危险度分别是5.231和4.286. 这一发现进一步证实长时间的胆管插管、导丝反复进入胰管增加了术后胰腺炎的发生率而预切开本身并不增加术后胰腺炎的发生率. 此外, Oddi括约肌功能障碍(SOD)是较明确的ERCP术后胰腺炎的独立危险因素<sup>[15,16]</sup>. 我们未将疑似SOD的患者纳入研究. 因此, 我们的分析结果不能延伸到胰腺炎发生

### ■创新盘点

本研究是一项前瞻性随机研究, 探讨了ERCP时尽早经胰管括约肌预切开后胆管插管的安全性和有效性; 评估了ERCP术后胰腺炎患者和操作相关的危险因素, 以指导临床上更加安全、合理地应用该技术.



### ■同行评价

本文为前瞻性、随机对照研究,探讨了ERCP过程中早期实施胰管括约肌切开的安全性,实验结果真实、可靠,具有一定说服力,为临床操作提供了一定的依据。

率较高的患有SOD等的高危人群。

此外,本研究还发现A组所用胆管插管时间、X线照射时间均比B2组短,差异有统计学意义。提示尽早经胰管预切开缩短了选择性胆管插管的时间,避免了因长时间的胆管插管造成的乳头水肿和损伤,减少了患者接受X线照射的时间,对患者的健康更有利。

本研究是一项前瞻性随机研究,所有操作过程均由1名具有丰富经验的内镜医师和2名具有内镜基础的助手完成,限制了由于操作医师经验不同而导致的混杂因素的影响。但不足是样本量比较小,仍需大样本多中心随机前瞻性研究进一步证实。

在实际操作中我们发现,如果常规首次插管导丝进入胰管,再次插管时往往还是容易进入胰管。因此,在首次插管导丝即进入胰管的情况下应该结合患者基础疾病和解剖结构尽早对插管难易程度做出判断,尽早行经胰管括约肌预切术,可能减少术后胰腺炎的发生。

总之,经胰管预切开本身并不增加ERCP术后胰腺炎的发生率,早期行经胰管括约肌预切术是一项安全和有效的技术。

### 4 参考文献

- Qayed E, Reid AL, Willingham FF, Keilin S, Cai Q. Advances in endoscopic retrograde cholangiopancreatography cannulation. *World J Gastrointest Endosc* 2010; 2: 130-137 [PMID: 21160728 DOI: 10.4253/wjge.v2.i4.130]
- Enochsson L, Swahn F, Arnelo U, Nilsson M, Löhr M, Persson G. Nationwide, population-based data from 11,074 ERCP procedures from the Swedish Registry for Gallstone Surgery and ERCP. *Gastrointest Endosc* 2010; 72: 1175-1184, 1175-1184 [PMID: 20970787 DOI: 10.1016/j.gie.2010.07.047]
- Cortas GA, Mehta SN, Abraham NS, Barkun AN. Selective cannulation of the common bile duct: a prospective randomized trial comparing standard catheters with sphincterotomes. *Gastrointest Endosc* 1999; 50: 775-779 [PMID: 10570335 DOI: 10.1016/S0016-5107(99)70157-4]
- Goff JS. Common bile duct pre-cut sphincterotomy: transpancreatic sphincter approach. *Gastrointest Endosc* 1995; 41: 502-505 [PMID: 7615231 DOI: 10.1016/S0016-5107(05)80011-2]
- Elton E, Howell DA, Parsons WG, Qaseem T, Hanson BL. Endoscopic pancreatic sphincterotomy: indications, outcome, and a safe stentless technique. *Gastrointest Endosc* 1998; 47: 240-249 [PMID: 9540876 DOI: 10.1016/S0016-5107(98)70320-7]
- Hookey LC, RioTinto R, Delhaye M, Baize M, Le Moine O, Devière J. Risk factors for pancreatitis after pancreatic sphincterotomy: a review of 572 cases. *Endoscopy* 2006; 38: 670-676 [PMID: 16810591 DOI: 10.1055/s-2006-925447]
- Freeman ML, DiSario JA, Nelson DB, Fennerty MB, Lee JG, Bjorkman DJ, Overby CS, Aas J, Ryan ME, Bochna GS, Shaw MJ, Snady HW, Erickson RV, Moore JP, Roel JP. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective, multicenter study. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 425-434 [PMID: 11577302 DOI: 10.1067/mge.2001.117550]
- Vandervoort J, Soetikno RM, Tham TC, Wong RC, Ferrari AP, Montes H, Roston AD, Slivka A, Lichtenstein DR, Ruymann FW, Van Dam J, Hughes M, Carr-Locke DL. Risk factors for complications after performance of ERCP. *Gastrointest Endosc* 2002; 56: 652-656 [PMID: 12397271 DOI: 10.1016/S0016-5107(02)70112-0]
- Kaffes AJ, Sriram PV, Rao GV, Santosh D, Reddy DN. Early institution of pre-cutting for difficult biliary cannulation: a prospective study comparing conventional vs. a modified technique. *Gastrointest Endosc* 2005; 62: 669-674 [PMID: 16246677]
- 王书智, 于凤海, 陆蕊, 时之海, 王淑萍, 黄慧, 胡冰. 十二指肠乳头插管困难时的操作策略. *中华消化内镜杂志* 2010; 27: 16-19
- Cotton PB, Lehman G, Vennes J, Geenen JE, Russell RC, Meyers WC, Liguory C, Nickl N. Endoscopic sphincterotomy complications and their management: an attempt at consensus. *Gastrointest Endosc* 1991; 37: 383-393 [PMID: 2070995]
- Weber A, Roesch T, Pointner S, Born P, Neu B, Meining A, Schmid RM, Prinz C. Transpancreatic precut sphincterotomy for cannulation of inaccessible common bile duct: a safe and successful technique. *Pancreas* 2008; 36: 187-191 [PMID: 18376311 DOI: 10.1097/MPA.0b013e31815ac54c]
- Cheng CL, Sherman S, Watkins JL, Barnett J, Freeman M, Geenen J, Ryan M, Parker H, Frakes JT, Fogel EL, Silverman WB, Dua KS, Aliperti G, Yaksh P, Uzer M, Jones W, Goff J, Lazzell-Pannell L, Rashdan A, Temkit M, Lehman GA. Risk factors for post-ERCP pancreatitis: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 139-147 [PMID: 16405547 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2006.00380.x]
- Freeman ML, Guda NM. Prevention of post-ERCP pancreatitis: a comprehensive review. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 845-864 [PMID: 15173799 DOI: 10.1016/S0016-5107(04)00353-0]
- Wang P, Li ZS, Liu F, Ren X, Lu NH, Fan ZN, Huang Q, Zhang X, He LP, Sun WS, Zhao Q, Shi RH, Tian ZB, Li YQ, Li W, Zhi FC. Risk factors for ERCP-related complications: a prospective multicenter study. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 31-40 [PMID: 19098846 DOI: 10.1038/ajg.2008.5]
- Fogel EL, Eversman D, Jamidar P, Sherman S, Lehman GA. Sphincter of Oddi dysfunction: pancreaticobiliary sphincterotomy with pancreatic stent placement has a lower rate of pancreatitis than biliary sphincterotomy alone. *Endoscopy* 2002; 34: 280-285 [PMID: 11932782 DOI: 10.1055/s-2002-23629]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 血清脂肪酶和淀粉酶在早期急性胰腺炎中诊断价值的Meta分析

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院肝胆胰外科 肝胆胰安徽省重点实验室 安徽省合肥市 230001

杨骥, 在读硕士, 主要从事胆胰外科的研究。

作者贡献分布: 杨骥与林先盛负责文献检索、文献质量评价、提取资料及论文撰写; 刘臣海、谢放及李瑞阳负责论文的数据分析与文献审核; 黄强负责论文的审阅与修改。

通讯作者: 黄强, 教授, 230001, 安徽省合肥市庐江路17号, 安徽省立医院普外科, 安徽医科大学附属医院安徽省立医院肝胆胰外科, 肝胆胰安徽省重点实验室. hq-sohu@sohu.com

收稿日期: 2013-12-16 修回日期: 2014-1-14

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Value of serum amylase and lipase in early diagnosis of acute pancreatitis: A Meta-analysis

Ji Yang, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Rui-Yang Li

Ji Yang, Qiang Huang, Xian-Sheng Lin, Chen-Hai Liu, Fang Xie, Rui-Yang Li, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hepato-biliary and Pancreatic Laboratory of Anhui Province, Hefei 230001, Anhui Province, China

Correspondence to: Qiang Huang, Professor, Department of General Surgery, Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hepatobiliary and Pancreatic Laboratory of Anhui Province, 17 Lujiang Road, Hefei 230001, Anhui Province, China. hq-sohu@sohu.com

Received: 2013-12-16 Revised: 2014-1-14

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To systematically assess the value of serum amylase and lipase in the early diagnosis of acute pancreatitis (AP) to provide the best evidence for clinical decision-making.

**METHODS:** Medline, EMBASE, Science Direct, Springer link, CBM, Cnki, Wan fang and VIP database were electronically searched between January 2004 and November 2013 to collect the articles assessing serum amylase and lipase in early diagnosis of AP. Quality assessment was made using the QUADAS scale. The Meta-Disc1.4 software was used to assess the heterogeneity of included articles, plot the SROC

curve, and calculate the summary sensitivity and specificity.

**RESULTS:** A total of 22 articles were included, including 16 Chinese studies, and 6 English articles. The summary sensitivity, summary specificity and the area under the SROC curve of serum amylase in diagnosing AP were 73% (95%CI: 71%-75%), 87% (95%CI: 85%-88%) and 0.8758, respectively. The corresponding values for serum lipase were 89% (95%CI: 87%-90%), 88% (95%CI: 86%-89%) and 0.9430.

**CONCLUSION:** Serum lipase has higher diagnostic value in early diagnosis of AP than serum amylase. Serum lipase can be used as an early diagnostic marker for AP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Acute pancreatitis; Serum Amylase; Serum Lipase; Diagnostic value; Meta-analysis

Yang J, Huang Q, Lin XS, Liu CH, Xie F, Li RY. Value of serum amylase and lipase in early diagnosis of acute pancreatitis: A Meta-analysis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(8): 1171-1178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1171>

## 摘要

**目的:** 采用询证医学的方法评估血清脂肪酶 (serum lipase) 和淀粉酶 (serum amylase) 在早期诊断急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 诊断价值和诊断效能, 为临床早期识别胰腺炎提供询证依据。

**方法:** 计算机检索最近10年(2004-01/2013-11)在Medline、EMBASE、Science Direct、Springer link、CBM、中国知网、万方以及维普数据库公开发表的文献, 并手工检索国内相关医学杂志。按照已定的纳入排除标准结果收集脂肪酶和淀粉酶诊断AP的研究文献, 采用QUADAS量表进行严格的文献质量评价, 利

## ■背景资料

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP) 是常见的临床急腹症, 目前血清淀粉酶是临床应用最广的AP酶学诊断指标之一, 而脂肪酶作为一种重要的消化酶, 其诊断AP有重要临床意义。

## ■同行评议者

陈光, 教授, 吉林大学第一医院消化器官外科

## ■研究前沿

由于目前尚无文献系统性地探讨淀粉酶和脂肪酶在AP诊断中的诊断价值,本文即以系统评价的方法系统性的评价脂肪酶在AP的诊断价值和效用。

用Meta-Disc 1.4统计软件进行异质性分析和定量合成,并绘制SROC曲线,计算相应验后合并灵敏度和特异度。

**结果:**共纳入研究22篇,中文文献16篇,英文文献6篇,meta-disc软件分析纳入研究存在中等程度的异质性,血清淀粉酶诊断AP的合并灵敏度为73%(95%CI: 71%-75%)、特异度为87%(95%CI: 85%-88%)、SROC曲线下面积为0.8758,血清脂肪酶诊断急性胰腺炎合并的灵敏度为89%(95%CI: 87%-90%)、特异度为88%(95%CI: 86%-89%)、SROC曲线下面积为0.9430。

**结论:**血清脂肪酶在诊断急性胰腺炎诊断效能较血清淀粉酶高,漏诊率和误诊率较低,可以作为筛选和诊断胰腺炎的实验室指标,值得临床推广。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**急性胰腺炎; 血清淀粉酶; 血清脂肪酶; 诊断价值; Meta分析

**核心提示:**本文的研究表明在诊断急性胰腺炎的过程中,与血清淀粉酶相比,血清脂肪酶的诊断效能高,漏诊率和误诊率较低。因此可以通过检查血清脂肪酶来筛选因急腹症到急诊门诊就诊的疑似急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)患者。脂肪酶作为筛选AP的酶学指标可以在临床上进一步推广,从而减少误诊率和漏诊率。

杨骥, 黄强, 林先盛, 刘臣海, 谢放, 李瑞阳. 血清脂肪酶和淀粉酶在早期急性胰腺炎中诊断价值的Meta分析. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1171-1178 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1171.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1171>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是多种病因引起的以急腹症为重要特征为重要特征性疾病,以病程凶险、死亡率高为特点,其发病机制是由于各种原因所致的在胰腺腺泡内激活后引起胰腺组织自身消化的急性化学炎症,但具体的发病机制尚不完全清楚,大部分呈自限性病程,其中大约20%的患者可转为重症坏死型,容易导致多脏器功能衰竭,总体病死率约5%-10%<sup>[1-4]</sup>。急性胰腺炎的早期诊断对患者的治疗和预后可以产生决定性影响,目前血清淀粉酶(serum amylase)是临床应用最广的AP酶学诊断指标之

一<sup>[1]</sup>,相关研究表明脂肪酶(serum lipase)作为胰腺组织分泌的消化酶,在胰腺疾病的特异性较淀粉酶高,持续时间较其他血清酶学长<sup>[5,6]</sup>,可作为胰腺疾病的主要辅助诊断指标<sup>[1,2,7]</sup>,目前尚无文献系统性地探讨淀粉酶和脂肪酶在急性胰腺炎诊断中的诊断价值,为进步明确血清脂肪酶在急性胰腺炎的诊断价值和效用,本研究拟采用循证医学方法对两者合并的诊断效能进行系统评估。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 计算机检索最近10年(2004-01/2013-11)在Medline、EMBASE、ScienceDirect、Springerlink、CBM、中国知网、万方以及维普数据库公开发表的文献,并手工检索国内相关医学杂志。

### 1.2 方法

**1.2.1 检索策略:**对以上数据库,严格按照Cochrane协作网手工手册要求制定检索策略,中文检索词“急性胰腺炎”、“血清脂肪酶”、“血清淀粉酶”、“诊断价值”以及英文检索词“AP or acute pancreatitis or pancreatitis”、“Serum Lipase”、“Serum Amylase”,并对以上检索词采用不同策略检索,并追查已经纳入文献或者综述文献的参考文献以尽可能全面收集资料。

**1.2.2 纳入标准:**(1)资料是公开发表的中文或英文文献;文献设计需要是回顾性,或前瞻性病例对照研究的诊断性试验,纳入文献需交代脂肪酶和淀粉酶检测方法。(2)纳入研究对象: AP患者具有腹部症状的疑似AP患者,诊断标准采用中华医学会外科学会胰腺学组1996年第2次方案制定的《急性胰腺炎的临床诊断及分级标准》<sup>[8]</sup>或Atlanta 1992标准或者中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组,中国急性胰腺炎诊治指南<sup>[1,2]</sup>所给出的诊断标准;(3)文献中应给出或可计算出四格表相关数据的值(真阳性值TP,假阳性值FP,假阴性值FN,真阴性值TN)。

**1.2.3 排除标准:**(1)文献的摘要为英文,但是全文非英文的研究;(2)方法学交代不健全的研究,资料不全的研究,重复发表或重复利用数据的研究取其中之一,其他的不予纳入;(3)无法从文献中获得灵敏度及特异度的研究;(4)重复发表的文献不予以纳入。

**1.2.4 文献筛选以及资料提取:**由两位研究者独立阅读文献进行筛选,整个筛选过程采用盲法。



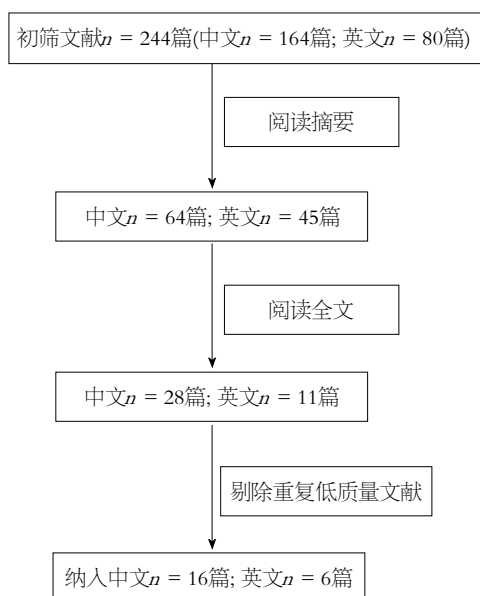


图1 文献筛选过程。

先独立阅读所获文献的题目及摘要, 剔除明显不符合纳入标准的文献, 再对可能符合纳入标准的文献阅读全文, 以确定该文献是否真正符合纳入标准。对筛选过程中有分歧而难以确定是否纳入的文献通过讨论或由第3个研究者决定其是否纳入。两位研究人员独立地对符合纳入标准的试验进行资料提取, 填写资料提取表格, 并交叉核对提取的资料, 缺乏的资料通过于临床试验人的通讯作者联系予以补充。

**1.2.5 文献质量评估:** 根据根据Whiting等<sup>[9]</sup>制订的QUADAS质量标准由2名评价者独立对纳入文献进行质最评价, 对每条标准划分“是”、“否”、“不明确”3个层次, 以评估试验结果存在偏倚的可能性和大小。评价标准: (1)是否设立“金标准”或参考标准; (2)是否与“金标准”或参考标准进行了独立的对比; (3)该资料的对比分析是否采用盲法; (4)是否包括了轻、中、重度病例; (5)是否包括了容易混淆的病例; (6)是否用正确的方法; (7)是否提供可供计算敏感度、特异度、似然比的数据; (8)对研究地点、环境、人群等是否作出充分的描述; (9)是否对研究对象的病情、病程及用药情况进行描述。用简单评估法对纳入文献进行质量分级评价。A级: 符合以上所有质量标准, 其实施、测量或选择性偏倚可能最低; B级: 以上质量评价标准(1)-(4)中任1条或多条不清楚者, 存在中等度偏倚的可能性; C级: 以上质量评价标准(1)-(4)中任1条或多条错误或未实施者, 存在高度偏倚的可能性。

## 统计学处理 提取各纳入研究的发表信息,

采用Meta-Disc 1.4 for Windows (XI Cochrane Colloquium, Barcelona, Spain)软件的 $\chi^2$ 检验分析诊断比值比(diagnostic odds ratio, DOR)的异质性, 显著性水平设定为 $P = 0.05$ , 用 $I^2$ 评估异质性大小,  $I^2 < 25\%$ 提示有轻度异质性,  $I^2$ 在25%和75%之间提示中度异质性,  $I^2 > 75\%$ 以上则提示明显异质性, 若存在异质性则进行亚组分析或者敏感性分析。首先对全部纳入的研究的血清脂肪酶和淀粉酶对急性胰腺炎的严重程度的预测进行分析, 计算合并的敏感性(pooled sensitivity, Sen)和合并灵敏度(pooled specificity, Spe), 阳性似然比(+LR), 阴性似然比(-LR)和SROC曲线下面积(area under curve, AUC), 所有的结果均用95%CI可信区间表示, 若有显著异质性的相关研究, 则去除这些研究时再次与原研究进行比较。

## 2 结果

**2.1 文献筛选及纳入文献特点** 由1位研究者检索文献和提取资料, 2位研究者独立进行文献筛选和质量评价, 以不同检索策略在数据库检索, 共检索相关文献244篇, 其中中文文献164篇, 英文文献80篇, 经阅读摘要和全文后, 剩余中文64篇, 英文45篇。最后严格按照纳入与排除标准, 纳入文献22篇<sup>[10-31]</sup>, 中文文献16篇, 英文文献6篇。具体的文献筛选过程如图1, 纳入文献基本情况如表1。

**纳入研究设计:** 所有纳入的文献研究均为血清脂肪酶和淀粉酶诊断急性胰腺炎的诊断试验, 观察对象: 共有3770例研究对象被纳入本文, 其中经过金标准确认AP的共有1762例, 非AP急腹症的2008例, 部分文献另外均设置正常健康人或者非急腹症患者作为对照。其中非急腹症包括: 胆石症、尿路感染、尿路结石、急性胃肠炎、肠梗阻、腹部恶性肿瘤、胃溃疡或十二指肠溃疡、急性阑尾炎、腹膜炎、慢性胰腺、胃肠功能紊乱等。

**诊断试验方法:** 纳入研究中的血清淀粉酶和脂肪酶的检测方法如表1。其中Abraham<sup>[30]</sup>中未交待明确的检测方法。

**2.2 纳入文献质量评价** 我们对初步检索出的文献, 在严格按照纳入和排除标准进行筛选后, 对纳入的31篇研究文献的质量严格逐条按QUADAS量表用简单评估法对其质量进行分级评价, 其中A级9篇, B级7篇, C级5篇。

**2.3 血清脂肪酶和淀粉酶诊断急性胰腺炎的诊**

## ■ 相关报道

以往认为, 强调血清淀粉酶可以诊断AP的首要诊断指标, 但近年来血清脂肪酶的测定在AP的诊断和早期识别越来越受重视, 2013年中华医学会制定的中国急性胰腺炎诊治指南就将血清脂肪酶作为诊断急性胰腺炎的血清酶学指标。

## ■创新盘点

在AP中,血清脂肪酶活性测定具有重要临床意义,尤其当血清淀粉酶活性已经下降至正常,或其他原因引起血清淀粉酶活性增高时,血清脂肪酶活性测定有互补作用,可以作为AP诊断的辅助酶学指标。

表 1 纳入文献基本情况

研究	检测方法仪器	n		血清淀粉酶(SAmyl)		血清脂肪酶(SLps)	
		AP数	非AP数	Sen(%)	Spe(%)	Sen(%)	Spe(%)
梁子骥 <sup>[10]</sup> , 2004	自动生化仪	60	50	78.3	76.0	80.0	78.0
张士荣等 <sup>[11]</sup> , 2005	贝克曼全自动生化分析仪	61	64	80.3	82.8	88.5	87.5
庄豪等 <sup>[12]</sup> , 2006	Hitachi自动生化仪	30	35	83.33	71.43	91.33	66.66
周洪 <sup>[13]</sup> , 2007	Hitachi自动生化仪	102	45	77.6	77.1	91.0	81.2
孙建民 <sup>[14]</sup> , 2008	Hitachi自动生化仪	85	30	82.3	76.7	84.7	83.3
许顺姬等 <sup>[15]</sup> , 2008	Hitachi自动生化仪	126	105	73.1	70.5	92.3	82.9
鲁炳怀等 <sup>[16]</sup> , 2008	Olympus自动生化仪	57	117	92.1	87.2	90.6	85.3
张文斌 <sup>[17]</sup> , 2010	自动生化仪	120	128	81.5	83.9	89.4	89.6
廖予婕 <sup>[18]</sup> , 2011	Beckman全自动生化分析仪	50	50	57.3	63.5	81.0	88.5
梁静等 <sup>[19]</sup> , 2011	Olympus自动生化仪	45	113	80.0	79.64	88.89	73.45
李锡敬等 <sup>[20]</sup> , 2011	Dimension自动生化仪	56	30	85.71	76.67	96.42	90.00
卓奕春 <sup>[21]</sup> , 2012	速率法Olympus自动生化仪	92	105	85.5	84.3	90.2	89.3
冯红梅等 <sup>[22]</sup> , 2012	干化学分析仪	96	42	76.0	88.1	90.6	92.9
杭永伦 <sup>[23]</sup> , 2012	Dimension自动生化仪	192	406	62.5	95.3	87.5	89.4
沙涛等 <sup>[24]</sup> , 2013	日立全自动生化分析仪	68	58	81.1	93.3	94.8	75.0
李武等 <sup>[25]</sup> , 2011	速率法日立全自动生化分析仪	116	149	87.6	85.2	92.1	91.6
Pezzilli等 <sup>[26]</sup> , 2004	Hitachi automatic analyzer	34	12	94.1	100	97.1	100
Sáez等 <sup>[27]</sup> , 2005	enzymatic assay, colorimetric enzymatic	50	22	74	86.4	84	85.7
Chen等 <sup>[28]</sup> , 2004	enzymatic color test; clinical chemistry slide	67	98	79.1	94.9	94.0	92.9
Wilson等 <sup>[29]</sup> , 2005	enzyme-linked immunosorbent assay	30	38	63	99	100	99
Abraham <sup>[30]</sup> , 2011	未记录	69	55	75.4	87.8	64.0	90.2
Mayumi等 <sup>[31]</sup> , 2012	immunoenzymometric assay	156	256	69.9	96.4	84.0	96.8
合计		1762	2008				

断价值

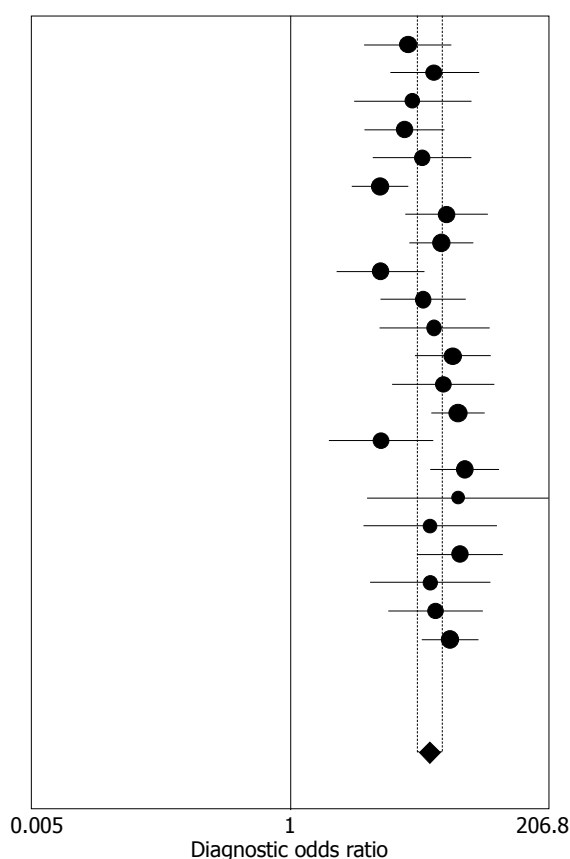
2.3.1 血清脂肪酶和淀粉酶诊断AP的异质性分析: 采用Meta-Disc 1.4软件分别提取22篇纳入同时研究血清脂肪酶和淀粉酶诊断AP的四格表数据进行meta分析, 血清脂肪酶和淀粉酶诊断AP的异质性分析分别如图2, 3。异质性分析表明: 血清脂肪酶的合并的DOR为18.07(95%CI: 14.2-23.3), 各项纳入研究之间存在中等程度的异质性( $P = 0.0088$ ,  $I^2 = 46.7\%$ ), 血清淀粉酶诊断AP的合并DOR为54.19(95%CI: 40.16-73.13), 各项纳入研究之间存在中等程度的异质性( $P = 0.0195$ ,  $I^2 = 42.4\%$ )。

2.3.2 血清脂肪酶和淀粉酶诊断胰腺炎的性能及诊断价值: Meta-disc软件合并分析血清脂肪酶和淀粉酶诊断胰腺炎的性能如表2, 其合并的SROC曲线以及曲线下面积AUC分别如图4, 5。由表2及图4, 图5得知: meta-disc软件分析血清脂肪酶诊断AP时合并的灵敏度为73%(95%CI: 71%-75%)、特异度为87%(95%CI: 85%-88%)、+LR为5.07(95%CI: 3.83-6.71)、-LR为0.27(95%CI: 0.21-0.36)、SROC曲线下面积为

0.8758; 血清淀粉酶诊断AP时合并的灵敏度为89%(95%CI: 87%-90%)、特异度为88%(95%CI: 86%-89%)、+LR为6.60(95%CI: 5.13-8.49)、-LR为0.14(95%CI: 0.11-0.17)、SROC曲线下面积为0.9430。

### 3 结论

3.1 血清脂肪酶和淀粉酶诊断AP的价值 血清脂肪酶又称甘油三酯酰基水解酶, 是由420个或449个氨基酸残基组成的单链糖蛋白, 血清脂肪酶的分子量为32-39 kDa。而胰脂肪酶的分子量为46-56 kDa, 其主要是由胰腺和脂肪组织分泌的消化酶, 参与酯类的消化<sup>[7,32,33]</sup>, 血清脂肪酶的来源主要是胰腺组织, 胰腺中的脂肪酶浓度是血清脂肪酶浓度的近20000倍<sup>[32]</sup>, 当发生胰腺炎时, 胰腺腺泡组织损伤导致脂肪酶分泌增加, 胰腺管道梗阻等原因导致高浓度的脂肪酶释放进入血液中, 从而血清脂肪酶浓度升高, 相关研究表明<sup>[32]</sup>胰腺炎时脂肪酶活性升高多与淀粉酶并行, 但不同的是, 由于脂肪酶的半衰期较淀粉酶长, 从而导致脂肪酶的升高持续时间更长, 升高



梁子骥<sup>[10]</sup>, 2004  
 张士荣等<sup>[11]</sup>, 2005  
 庄豪等<sup>[12]</sup>, 2006  
 周洪<sup>[13]</sup>, 2007  
 孙建民<sup>[14]</sup>, 2008  
 许顺姬等<sup>[15]</sup>, 2008  
 鲁炳怀等<sup>[16]</sup>, 2008  
 张文斌<sup>[17]</sup>, 2010  
 廖予婕<sup>[18]</sup>, 2011  
 梁静等<sup>[19]</sup>, 2011  
 李锡敬等<sup>[20]</sup>, 2011  
 卓奕春<sup>[21]</sup>, 2012  
 冯红梅等<sup>[22]</sup>, 2012  
 杭永伦<sup>[23]</sup>, 2012  
 沙涛等<sup>[24]</sup>, 2013  
 李武等<sup>[25]</sup>, 2011  
 Pezzilli等<sup>[26]</sup>, 2004  
 S á ez等<sup>[27]</sup>, 2005  
 Chen等<sup>[28]</sup>, 2004  
 Wilson等<sup>[29]</sup>, 2005  
 Abraham<sup>[30]</sup>, 2011  
 Mayumi等<sup>[31]</sup>, 2012

Diagnostic OR (95%CI)  
 11.45 (4.68-27.98)  
 19.67 (7.95-48.67)  
 12.50 (3.73-41.84)  
 10.62 (4.66-24.19)  
 15.33 (5.57-42.24)  
 6.46 (3.63-11.48)  
 25.50 (11.05-58.84)  
 22.70 (11.76-43.82)  
 6.53 (2.66-16.02)  
 15.65 (6.61-37.07)  
 19.71 (6.37-61.00)  
 28.84 (13.35-62.30)  
 23.49 (8.26-66.77)  
 32.17 (18.82-54.98)  
 6.57 (2.26-19.07)  
 36.89 (18.30-74.37)  
 32.00 (4.95-206.76)  
 18.03 (4.57-71.07)  
 33.31 (13.82-80.33)  
 18.15 (5.25-62.77)  
 20.17 (7.68-52.95)  
 27.37 (15.47-48.41)

Random effects model

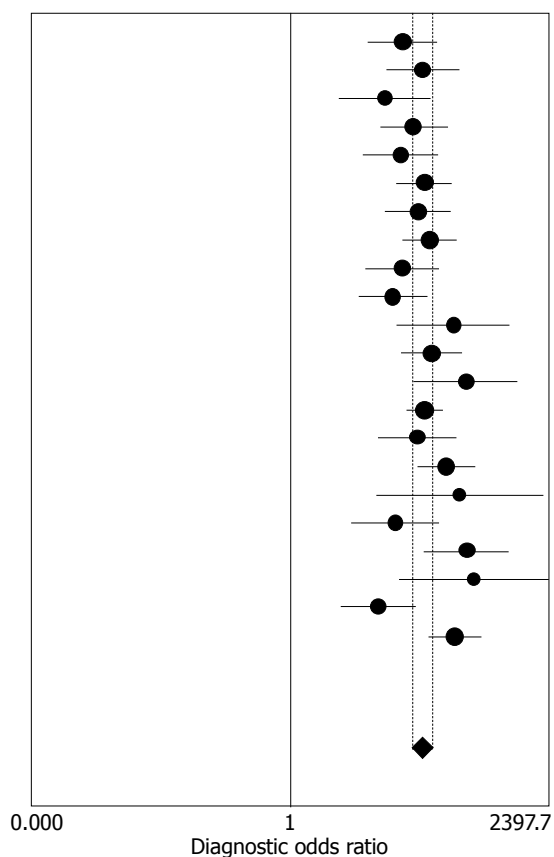
Pooled diagnostic odds ratio = 18.07(14.02-23.3)

Cochran-Q = 39.39; df = 21 ( $P = 0.0088$ )

Inconsistency (I-square) = 46.7%

Tau-square = 0.1611

图 2 S-Amylase诊断AP的异质性分析.



梁子骥<sup>[10]</sup>, 2004  
 张士荣等<sup>[11]</sup>, 2005  
 庄豪等<sup>[12]</sup>, 2006  
 周洪<sup>[13]</sup>, 2007  
 孙建民<sup>[14]</sup>, 2008  
 许顺姬等<sup>[15]</sup>, 2008  
 鲁炳怀等<sup>[16]</sup>, 2008  
 张文斌<sup>[17]</sup>, 2010  
 廖予婕<sup>[18]</sup>, 2011  
 梁静等<sup>[19]</sup>, 2011  
 李锡敬等<sup>[20]</sup>, 2011  
 卓奕春<sup>[21]</sup>, 2012  
 冯红梅等<sup>[22]</sup>, 2012  
 杭永伦<sup>[23]</sup>, 2012  
 沙涛等<sup>[24]</sup>, 2013  
 李武等<sup>[25]</sup>, 2011  
 Pezzilli等<sup>[26]</sup>, 2004  
 S á ez等<sup>[27]</sup>, 2005  
 Chen等<sup>[28]</sup>, 2004  
 Wilson等<sup>[29]</sup>, 2005  
 Abraham<sup>[30]</sup>, 2011  
 Mayumi等<sup>[31]</sup>, 2012

Diagnostic OR (95%CI)  
 29.61 (10.50-83.49)  
 54.00 (18.32-159.18)  
 17.25 (4.33-68.70)  
 41.33 (15.19-112.45)  
 27.69 (8.97-85.49)  
 56.07 (24.66-127.49)  
 46.75 (17.48-125.03)  
 67.02 (30.12-149.11)  
 29.33 (9.77-88.03)  
 22.13 (7.99-61.33)  
 135.00 (24.49-744.17)  
 71.47 (28.67-178.19)  
 193.33 (39.93-936.06)  
 57.59 (33.90-97.84)  
 45.87 (14.25-147.59)  
 110.89 (46.80-262.75)  
 165.00 (13.51-2015.25)  
 23.63 (6.30-88.54)  
 204.75 (57.51-728.92)  
 253.75 (26.85-2397.67)  
 14.11 (4.57-43.54)  
 143.81 (65.21-317.12)

Random effects model

Pooled diagnostic odds ratio = 54.19 (40.16-73.13)

Cochran-Q = 36.44; df = 21 ( $P = 0.0195$ )

Inconsistency (I-square) = 42.4%

Tau-square = 0.2008

图 3 SLps诊断AP的异质性分析.

#### 应用要点

本研究提示, 今后开展的实验室检测方法应充分考虑到现有研究的局限性, 改进研究的方法学缺陷, 尽量减少偏倚, 必要时结合经济学评价, 为临床提供更好的服务.



### ■ 同行评价

本文系统的评价了血清脂肪酶和淀粉酶诊断AP的诊断价值, 条理分明, 具有系统的理论分析和有价值的科学结论, 具有一定的临床价值。

表 2 淀粉酶和脂肪酶诊断AP的效能

项目	Pooled Sen	Pooled Spe	+LR	-LR
SAmy	73% (95%CI: 71%–75%)	87% (95%CI: 85%–88%)	5.07 (95%CI: 3.83–6.71)	0.27 (95%CI: 0.21–0.36)
SLps	89% (95%CI: 87%–90%)	88% (95%CI: 86%–89%)	6.60 (95%CI: 5.13–8.49)	0.14 (95%CI: 0.11–0.17)

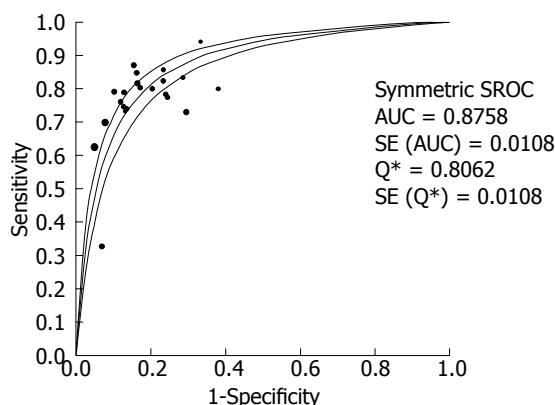


图 4 SAmY诊断AP的SROC曲线。

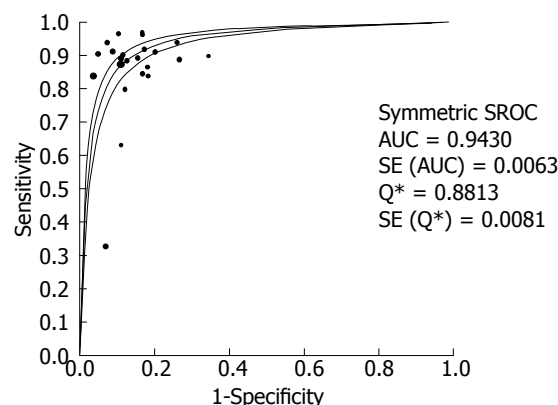


图 5 SLps诊断AP的SROC曲线。

的程度更大。脂肪酶和淀粉酶作为诊断急性胰腺炎重要的实验室指标, 研究表明<sup>[34-38]</sup>脂肪酶对诊断AP的敏感度可达达到85%-100%。而且脂肪酶的特异性超过淀粉酶。因此自2003年国内的急性胰腺炎诊疗指南至最近的胰腺炎诊疗指南<sup>[1,2,4]</sup>都指出血清脂肪酶活性测定对诊断急性胰腺炎有重要意义, 尤其当血清淀粉酶活性已经下降至正常, 或其他原因引起血清淀粉酶活性增高的时候, 血清脂肪酶活性测定具有互补的作用<sup>[2,4]</sup>。但对血清脂肪酶在预测急性胰腺炎诊断价值的敏感度和特异度方面, 各项不同研究有差异, 且血清淀粉酶作为一种传统的AP诊断酶, 由于其测定方法和不同和试验条件的不同, 血清脂肪酶和淀粉酶对于AP的诊断表现不一。本文即对近年来相关同时研究血清淀粉酶和淀粉酶在诊断AP进行循证医学方法评价, 从而试图进一步说明血清脂肪酶和血清淀粉酶在AP的诊断价值。

本研究采用循证医学方法对相关纳入文献进行评价, 并用专用Meta分析软件对各已发表的实验结果进行定量合成, 通过增大统计量方法加大统计学效能, 研究结果显示: 血清淀粉酶的合并的灵敏度为73%, 特异度为87%, SROC曲线下面积为0.8758, 血清淀粉酶诊断的合并89%、特异度为88%, SROC曲线下面积为0.9430。以上数据表明: 与血清淀粉酶相比, 血清脂肪酶的诊断效能高, 漏诊率和误诊率较低。因

此可以通过检查血清脂肪酶来筛选因急腹症到急诊门诊就诊的疑似AP患者。根据2013年胰腺炎诊治指南<sup>[2]</sup>, 脂肪酶可以作为一种辅助的诊断酶诊断胰腺炎, 与本研究结论相同, 但脂肪酶的活性与急性胰腺炎严重程度不呈正相关<sup>[2]</sup>, 因此脂肪酶作为筛选AP的酶学指标可以在临床上进一步推广, 从而减少误诊率和漏诊率。

**3.2 Meta分析的局限性和本研究的不足** 本文研究是基于近十年来国内外所发表的相关研究文献, 其中国内文献所占权重较大, 这可能会对系统评价带来一定的发表偏倚, 另外文献的质量也是影响评估结果可靠性的重要因素, 以上因素导致纳入文献存在中等程度的异质性, 异质性主要体现在以下几个方面: (1)纳入外文文献主要采用前瞻性队列研究设计, 而国内研究多采用回顾性病例对照设计, 并且在对照组的匹配和选择存在不足; (2)国内文献因为是回顾性, 研究对象的选择多未采用严格的纳入排除标准, 存在选择偏倚(selection bias); (3)由于各研究的纳入的对象地理区域的不同, 胰腺炎的发病率和诊断参考标准有所不同, 这也可能导致异质性的产生; (4)文献中对样本采集时间距离腹痛的时间未指出, 根据脂肪酶的血流动力学特性, 最佳的采集时间在腹痛后24 h内<sup>[34]</sup>, 由于各文献的时间不同以及实施诊断试验和参考标准的时间如果过长可能会对本文研究结果产生偏倚; (5)相关的偏倚有仅进行了中英文检索, 可能

存在语种的偏倚, 纳入文献仅包含中文和英文的文献, 不包含除中英文之外的外文文献, 这可能影响异质性和试验结果; (6)各研究未详细描述诊断试验的实施细节和检测方法的精确性等(包括cut off值的选择), 这可能导致测定结果出现检测偏倚, 影响系统评价结果。

本文采用系统评价的方法对血清脂肪酶和血清淀粉酶对AP诊断价值分析, 我们的结论是: 血清淀粉酶相比, 血清脂肪酶在诊断急性胰腺炎诊断效能高, 漏诊率和误诊率较低, 可以作为筛选和诊断胰腺炎的实验室指标, 值得临床推广。同时本文结果源自于纳入研究, 系统评价局限于当前检测技术水平, 且未对检测方法进行评价, 今后仍需大样本、前瞻性并且研究对象用严格的纳入排除方法的高质量研究来进一步验证血清脂肪酶在急性胰腺炎的诊断价值。

#### 4 参考文献

- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 中华内科杂志 2004; 43: 236-238
- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(2013, 上海). 中华胰腺病杂志 2013; 13: 73-78
- Bank S, Singh P, Pooran N, Stark B. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 50-60 [PMID: 12080227 DOI: 10.1097/00004836-200207000-00012]
- Banks PA, Bollen TL, Dervenis C, Gooszen HG, Johnson CD, Sarr MG, Tsotos GG, Vege SS. Classification of acute pancreatitis--2012: revision of the Atlanta classification and definitions by international consensus. *Gut* 2013; 62: 102-111 [PMID: 23100216 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302779]
- Ventrucci M, Pezzilli R, Gullo L, Platé L, Sprovieri G, Barbara L. Role of serum pancreatic enzyme assays in diagnosis of pancreatic disease. *Dig Dis Sci* 1989; 34: 39-45 [PMID: 2463138 DOI: 10.1007/BF01536152]
- Kolars JC, Ellis CJ, Levitt MD. Comparison of serum amylase pancreatic isoamylase and lipase in patients with hyperamylasemia. *Dig Dis Sci* 1984; 29: 289-293 [PMID: 6200276 DOI: 10.1007/BF01318510]
- 曹秀华, 崔秀明, 程战庆, 刘克莉, 马洪星, 赵士平. 急性胰腺炎的实验室诊断. 中国误诊学杂志 2003; 3: 206-208
- 中华医学会外科学会胰腺学组. 急性胰腺炎的临床诊断及分级标准(1996年第二次方案). 中华外科杂志 1997; 35: 773-775
- Whiting P, Rutjes AW, Reitsma JB, Bossuyt PM, Kleijnen J. The development of QUADAS: a tool for the quality assessment of studies of diagnostic accuracy included in systematic reviews. *BMC Med Res Methodol* 2003; 3: 25 [PMID: 14606960 DOI: 10.1186/1471-2288-3-25]
- 梁子骥. 尿胰蛋白酶原-2、脂肪酶、淀粉酶联合检测在早期诊断急性胰腺炎中的应用. 国际医药卫生导报 2004; 10: 32-34
- 张士荣, 康淑霞. 血清脂肪酶测定在急性胰腺炎诊断中的价值. 实用全科医学 2005; 3: 555-556
- 庄豪, 何今贤, 王惠英. 尿胰蛋白酶原-2诊断急性胰腺炎的评价. 实用医技杂志 2006; 13: 4301-4302
- 周洪. 急性胰腺炎的实验室诊断指标. 检验医学与临床 2007; 4: 1094-1095
- 孙建民, 杜菊兰, 楼永刚, 万汝根. 胰蛋白酶原-2在诊断急性胰腺炎中的临床应用价值. 实验与检验医学 2008; 26: 326-327
- 许顺姬, 韩学吉. 胰型淀粉酶、脂肪酶在急性胰腺炎中的临床应用. 国际检验医学杂志 2008; 29: 980-982
- 鲁炳怀, 朱凤霞, 吕红, 杨静, 姚建民, 贺亚杰. 急性胰腺炎诊断酶学指标临床应用评价. 中国实验诊断学 2008; 12: 780-782
- 张文斌. 血清脂肪酶检测在临床诊断急性胰腺炎中的价值. 临床合理用药 2010; 3: 53-54
- 廖予婕. 4种血清标志物联合检测对急性胰腺炎的诊断和预后判断的价值. 检验医学与临床 2010; 8: 1433-1436
- 梁静, 刘仲秋. 尿胰蛋白酶原-2、血清脂肪酶及Uamy/Ucr比值对急性胰腺炎的诊断价值. 中国美容医学 2011; 20: 572
- 李锡敬, 陈艳芝, 许柳芹. 血清淀粉酶和脂肪酶联合检测在急性胰腺炎诊断中的应用. 国际检验医学杂志 2011; 32: 2503-2504
- 卓奕春, 翁建盛, 李绍太. 实验室指标在急性胰腺炎诊断中的临床意义. 中国医学创新 2012; 9: 71-72
- 冯红梅, 黄玉娟, 杨小蓉, 吴妹娟. 4项实验指标联合检测对急性胰腺炎的诊断价值. 检验医学与临床 2012; 9: 2973-2975
- 杭永伦, 黄远帅. 血清脂肪酶测定对急性胰腺炎的诊断价值. 检验医学 2012; 27: 491-494
- 沙涛, 易金宏. C-反应蛋白对急性胰腺炎的诊断价值. 检验医学与临床 2013; 10: 962-964
- 李武, 谢小兵, 屈飞. 生化检测指标在急性胰腺炎诊断中的临床意义. 检验医学 2011; 26: 527-530
- Pezzilli R, Venturi M, Morselli-Labate AM, Ceciliato R, Lamparelli MG, Rossi A, Moneta D, Piscitelli L, Corinaldesi R. Serum trypsinogen activation peptide in the assessment of the diagnosis and severity of acute pancreatic damage: a pilot study using a new determination technique. *Pancreas* 2004; 29: 298-305 [PMID: 15502646 DOI: 10.1097/00006676-200411000-00009]
- Sáez J, Martínez J, Trigo C, Sánchez-Payá J, Compañy L, Laveda R, Griño P, García C, Pérez-Mateo M. Clinical value of rapid urine trypsinogen-2 test strip, urinary trypsinogen activation peptide, and serum and urinary activation peptide of carboxypeptidase B in acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 7261-7265 [PMID: 16437625]
- Chen YT, Chen CC, Wang SS, Chang FY, Lee SD. Rapid urinary trypsinogen-2 test strip in the diagnosis of acute pancreatitis. *Pancreas* 2005; 30: 243-247 [PMID: 15782102 DOI: 10.1097/01.mpa.0000153618.48137.ef]
- Wilson RB, Warusavitarne J, Cramer DM, Alvaro F, Davies DJ, Merrett N. Serum elastase in the diagnosis of acute pancreatitis: a prospective study. *ANZ J Surg* 2005; 75: 152-156 [PMID: 15777396 DOI: 10.1111/j.1445-2197.2005.02579.x]
- Abraham P. Point-of-care urine trypsinogen-2 test for diagnosis of acute pancreatitis. *J Assoc Physicians India* 2011; 59: 231-232 [PMID: 21755760]
- Mayumi T, Inui K, Maetani I, Yokoe M, Sakamoto T, Yoshida M, Ko S, Hirata K, Takada T. Validity of the urinary trypsinogen-2 test in the diagnosis of acute pancreatitis. *Pancreas* 2012; 41: 869-875 [PMID: 22481290 DOI: 10.1097/MPA.0b013e3182480ab7]

- 32 Tietz NW, Shuey DF. Lipase in serum--the elusive enzyme: an overview. *Clin Chem* 1993; 39: 746-756 [PMID: 8485865]
- 33 陈思文, 徐世平, 吴本俨. 高脂肪酶血症的临床研究进展. *中华保健医学杂志* 2010; 12: 227-229
- 34 Yadav D, Agarwal N, Pitchumoni CS. A critical evaluation of laboratory tests in acute pancreatitis. *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1309-1318 [PMID: 12094843 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2002.05766.x]
- 35 Treacy J, Williams A, Bais R, Willson K, Worthley C, Reece J, Bessell J, Thomas D. Evaluation of amylase and lipase in the diagnosis of acute pancreatitis. *ANZ J Surg* 2001; 71: 577-582 [PMID: 11552931 DOI: 10.1046/j.1445-2197.2001.02220.x]
- 36 Ellis C, Koehler DF, Eckfeldt JH, Levitt MD. Evaluation of an inhibitor assay to determine serum isoamylase distribution. *Dig Dis Sci* 1982; 27: 897-901 [PMID: 6180877 DOI: 10.1007/BF01316573]
- 37 Steinberg WM, Goldstein SS, Davis ND, Shamma'a J, Anderson K. Diagnostic assays in acute pancreatitis. A study of sensitivity and specificity. *Ann Intern Med* 1985; 102: 576-580 [PMID: 2580467 DOI: 10.7326/0003-4819-102-5-576]
- 38 Panteghini M, Pagani F. Diagnostic value of measuring pancreatic lipase and the P3 isoform of the pancreatic amylase isoenzyme in serum of hospitalized hyperamylasemic patients. *Clin Chem* 1989; 35: 417-421 [PMID: 2465844]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 奥美拉唑联合生长抑素治疗SAP的临床疗效和安全性

夏永欣, 刘晓政, 张向东, 尚品杰, 郭洁

夏永欣, 刘晓政, 张向东, 尚品杰, 郭洁, 南阳市中心医院消化科 河南省南阳市 473009

夏永欣, 主治医师, 主要从事胃肠病、肝胆胰相关疾病的临床诊断与治疗。

作者贡献分布: 夏永欣负责本研究的设计、实施、资料收集及论文撰写等方面的工作; 刘晓政、张向东、尚品杰及郭洁参与研究完成。

通讯作者: 夏永欣, 主治医师, 473009, 河南省南阳市宛城区312号, 南阳市中心医院消化科, yongxinxia@hotmail.com

收稿日期: 2013-12-17 修回日期: 2014-01-14

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Efficacy and safety of omeprazole combined with somatostatin in treatment of severe acute pancreatitis

Yong-Xin Xia, Xiao-Zheng Liu, Xiang-Dong Zhang, Pin-Jie Shang, Jie Guo

Yong-Xin Xia, Xiao-Zheng Liu, Xiang-Dong Zhang, Pin-Jie Shang, Jie Guo, Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, Nanyang 473009, Henan Province, China

Correspondence to: Yong-Xin Xia, Attending Physician, Department of Gastroenterology, Nanyang Central Hospital, 312 Wancheng District, Nanyang 473009, Henan Province, China. yongxinxia@hotmail.com

Received: 2013-12-17 Revised: 2014-01-14

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To investigate the efficacy and safety of omeprazole combined with somatostatin in the treatment of severe acute pancreatitis (SAP).

**METHODS:** One hundred and forty patients with SAP treated at our hospital from March 2008 to June 2013 were randomly divided into either a study group or a control group. The control group received conventional treatment, and the study group was treated with omeprazole and somatostatin on the basis of conventional therapy. The efficacy and the incidence of complications were compared between the two groups.

**RESULTS:** The response rate was significantly higher in the study group than in the control group (94.29% vs 77.14%,  $P < 0.05$ ). Compared

with the control group, the time to gastrointestinal function recovery ( $18.4 \text{ d} \pm 1.3 \text{ d}$  vs  $25.3 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$ ) and the hospitalization time ( $2.1 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$  vs  $3.6 \text{ d} \pm 1.5 \text{ d}$ ) were significantly shorter in the study group ( $P < 0.05$  for both). The overall incidence of complications (7.14% vs 25.71%), mortality (2.86% vs 11.43%) and the incidence of organ failure also differed significantly between the two groups ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Omeprazole combined with somatostatin could accelerate recovery and reduce the incidence of complications in SAP patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Acute pancreatitis; Somatostatin; Omeprazole; Severe acute pancreatitis

Xia YX, Liu XZ, Zhang XD, Shang PJ, Guo J. Efficacy and safety of omeprazole combined with somatostatin in treatment of severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1179-1183 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1179>

## 摘要

**目的:** 考察奥美拉唑联合生长抑素治疗重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的临床疗效和安全性, 为该类游戏的治疗提供临床参考。

**方法:** 以我院2008-03/2013-06收治的140例SAP患者为研究对象, 随机平均分为研究组和对照组。对照组给予常规治疗, 研究组在常规治疗的基础上加用奥美拉唑和生长抑素。考察两组的有效率、并发症发生率等, 并进行对比分析。

**结果:** 研究组和对照组的有效率分别为94.29%和77.14%, 组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。研究组和对照组的住院时间( $18.4 \text{ d} \pm 1.3 \text{ d}$  vs  $25.3 \text{ d} \pm 1.7 \text{ d}$ )和胃肠道功能恢复时间( $2.1 \text{ d} \pm 1.2 \text{ d}$  vs  $3.6 \text{ d} \pm 1.5 \text{ d}$ )等相比, 差异具有统计意义( $P < 0.05$ ), 以研究组更为理想。

## ■背景资料

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)一直是消化科临床较为常见的疾病, 具有发病迅猛、病情恶化迅速的特点, 临床死亡率较高。重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)作为急性胰腺炎的重度症状, 由于发病机制复杂且病情恶化较快, 临床一直缺乏较为可靠的有效治疗方案。近些年来, 随着对胰腺炎发病机制研究的不断深入, 生长抑素和质子泵拮抗剂在SAP的治疗方面应用颇广。

## ■同行评议者

谭晓冬, 教授, 中国医科大学附属盛京医院

## ■研究前沿

本研究通过评价奥美拉唑和生长抑素对SAP的临床治疗效果,能够为SAP的临床治疗提供方案参考。在降低SAP的死亡率和合并症发生率等方面均具有重要的临床意义。

研究组和对照组的并发症总发生率(7.14% vs 25.71%)、死亡率(2.86 vs 11.43%)以及器官功能衰竭的发生率相比,组间差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

**结论:** 奥美拉唑联合生长抑素能够加速SAP患者的康复进程,且可降低SAP患者并发症的发生率和死亡率,临床安全性良好。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 急性胰腺炎; 生长抑素; 奥美拉唑; 重症急性胰腺炎

**核心提示:** 生长抑素联合奥美拉唑能够有效降低重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)患者的死亡率、合并症发生率以及器官衰竭的发生率,且能够有效加速SAP患者的康复进程。

夏永欣, 刘晓政, 张向东, 尚品杰, 郭洁. 奥美拉唑联合生长抑素治疗SAP的临床疗效和安全性. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1179-1183 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1179.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1179>

## 0 引言

急性胰腺炎作为常见的消化科疾病,发病机制迄今不明,临床多认为与过度饮酒、胆道梗阻等因素有关<sup>[1]</sup>。病理研究证实<sup>[2]</sup>,胰腺炎的发病是由多种致病因素所致的胰腺内胰酶异常激活后,胰腺内组织出现自身消化、出现及细胞坏死等症状,发病迅速且死亡率较高。重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)作为胰腺炎的典型重症代表,以胰腺组织坏死、出血以及组织脓肿等为主要临床症状,约占胰腺炎总患者数的10%-15%左右<sup>[3]</sup>。为降低SAP所致的死亡率,早期、安全、高效的治疗方法是临床所追求和提倡的重要临床治疗途径,以有效抑制病情的恶化。我院2008-03/2013-06尝试使用奥美拉唑联合生长抑素对70例SAP患者进行了临床治疗,与同时期的接受常规治疗的患者相比,临床效果较为理想,现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 我院2008-03/2013-06收治的140例重症胰腺炎患者,随机平均分为研究组和对照组,每组70例。对照组,男48例,女22例;年龄26-71岁,平均年龄43.85岁±19.71岁;入院时间为发病后3-8 h,平均时间4.11 h±3.64 h,APACH评分

13.06±2.63。对照组,男44例,女26例;年龄23-76岁,平均年龄41.67岁±22.53岁;入院时间为发病后3-9 h,平均时间4.36 h±3.81 h,APACH评分13.32±2.56。对两组患者的基线资料进行对比分析,组间差异无统计学意义( $P>0.05$ ),表明两组间研究结果具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 纳入与排除标准:** 纳入标准: (1)重症胰腺炎的临床诊断和确诊,符合《中国急性胰腺炎诊治指南》中规定的相关标准<sup>[4]</sup>; (2)除胰腺炎以外,不伴有严重肝脏疾病、化学性或外伤性胰腺损伤、胰腺癌以及重度胆道疾病等; (3)既往无奥美拉唑和生长抑素过敏史或禁忌症,入院治疗前未服用可影响本次研究结果的相关药物; (4)所有患者均签署入组知情同意书,且本次研究获我院医学伦理委员会批准实施。排除标准: 凡不符合上述纳入标准任何一条者,予以剔除,不纳入研究范围。

**1.2.2 治疗:** 患者入院后,立即给予胃肠减压、补充体液和电解质、抗感染、纠正电解质紊乱及体内酸碱平衡调节等常规治疗。对于腹部超声显示有腹腔积液的患者,则行腹部穿刺引流处理,研究组和对照组中分别有4例和5例子行腹部穿刺引流。研究组在上述常规治疗的基础上,加用生长抑素和奥美拉唑进行治疗。用法与剂量: 奥美拉唑40 mg, 生长抑素3 mg, 混溶于0.9%(w/w)氯化钠溶液500 mL,持续静脉滴注12 h,预设疗程为7 d。

**1.2.3 临床疗效评价:** (1)治疗1 wk后,研究组和对照组的临床有效率。显效: 腹部超声及放射影像学检查结果正常,各项胰腺功能相关的生化指标恢复正常, SAP相关的临床症状消失。有效: 胰腺功能相关的生化指标及SAP相关的临床症状较治疗前有明显改善,腹部影像学检查结果有明显改善; (2)SAP临床症状和相关生化指标均无改善,较治疗前病情无改变甚至出现恶化的现象; (3)治疗期间两组患者的胃肠道功能恢复时间、平均住院时间、血淀粉酶和尿淀粉酶恢复时间等; (4)截止到治疗结束,研究组和对照组患者的并发症发生率和死亡率。

**统计学处理** 数据采集后,采用分析软件SPSS16.0进行统计学分析。计量资料以mean±SD表示,且组间对比采用t检验,计数资料进行 $\chi^2$ 检验。检验水平 $\alpha=0.05$ ,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

表 1 研究组和对照组的临床疗效对比 [n/70(%)]

分组	无效	有效	显效	总有效率
研究组	4/70(5.71)	19/70(27.14)	47/70(67.14)	66/70(94.29)
对照组	16/70(22.86)	31/70(44.29)	23/70(32.86)	54/70(77.14)
$\chi^2$ 值	9.116	—	7.261	8.473
P值	0.013	—	0.036	0.021

表 2 研究组和对照组患者的住院时间和各临床指标的恢复时间 (n = 70, d)

分组	住院时间	肠道恢复	腹痛腹胀缓解	血淀粉酶	尿淀粉酶
研究组	18.4 ± 1.3	2.1 ± 1.2	1.9 ± 0.8	4.3 ± 1.2	6.4 ± 1.6
对照组	25.3 ± 1.7	3.6 ± 1.5	3.4 ± 0.7	6.9 ± 1.6	9.8 ± 1.8
t值	9.036	7.614	9.537	6.419	7.863
P值	0.028	0.031	0.024	0.035	0.019

表 3 研究组和对照组的死亡率对比[n/70(%)]

分组	并发症			并发症总发生率	死亡率
	肺部感染	胰腺假性囊肿	腹腔囊肿		
研究组	2/70(2.86)	1/70(1.43)	1/70(1.43)	5/70(7.14)	2/70(2.86)
对照组	7/70(10.0)	6/70(8.57)	5/70(7.14)	18/70(25.71)	8/70(11.43)
$\chi^2$ 值	8.916	10.683	9.256	10.419	8.794
P值	0.024	0.013	0.042	0.038	0.037

## 2 结果

2.1 临床疗效对比结果 如表1所示, 研究组的无效率明显低于对照组, 且组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 在显效率和总有效率方面, 研究组均明显高于对照组, 且组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 该结果表明, 生长抑素联合奥美拉唑较常规治疗方法, 对SAP具有更高的临床有效率和显效率.

2.2 研究组和对照组的治疗情况对比 对照组和研究组的治疗情况对比结果如表2所示. 结果显示, 研究组患者的住院时间、肠道功能恢复时间以及淀粉酶复常时间等均短于对照组, 且组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 即表明, 在常规治疗方案的基础上, 增加生长抑素和奥美拉唑能够有效缩短SAP患者的康复进程.

2.3 两组患者的合并症和死亡率对比 由表3可知, 研究组和对照组患者的并发症均以肺部感染、胰腺假性囊肿和腹腔囊肿为主, 但研究组的发生率则低于对照组, 且组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ). 在死亡率方面, 研究组和对照组分别为2.86%和11.43%, 组间差异具有统计学

意义( $P < 0.05$ ). 表明奥美拉唑联合生长抑素, 除能加速SAP患者的康复进程以外, 在降低SAP患者的并发症发生率和死亡率方面, 也具有积极的临床意义.

2.4 呼吸障碍及器官功能衰竭发生率的对比 如表4所示, 研究组中发生急性呼吸窘迫症5例(7.14%)、休克4例(5.71%)及肾功能衰竭3例(4.29%). 对照组中发生急性呼吸窘迫症13例(18.57%)、休克12例(17.14%)及肾功能衰竭8例(11.43%). 两组相比, 各症状的发生率间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ).

2.5 不良反应 在不良反应方面, 仅少数患者出现轻微的眩晕和胃肠不适, 可耐受且无需特殊治疗, 未出现与治疗药物相关的严重不良反应. 不良反应监测结果表明, 奥美拉唑和生长抑素在治疗SAP方面具有较好的临床安全性.

## 3 讨论

重症急性胰腺炎的病理特征以胰腺内弥漫性出血和胰腺组织坏死为典型代表, 发病迅速且较易出现病情恶化. 约20%的急性胰腺炎患者可发

### ■ 相关报道

近些年, 基于对胰腺炎发病机制的研究成果, 抑制胰腺分泌和降低胰腺内部和患者全身的炎性反应程度是治疗胰腺炎的主要临床途径. 奥美拉唑和生长抑素治疗急性胰腺炎的临床疗效已获国内外的广泛验证, 在SAP治疗方面的临床报道也在日渐增多.



## ■创新盘点

使用生长抑素和奥美拉唑对SAP患者进行了治疗,并从临床有效率、患者的死亡率、合并症的发生率以及胰腺功能相关的生化指标的复常时间等方面进行了多角度的考察,全面地评价了生长抑素联合奥美拉唑治疗SAP临床疗效。

表 4 两组患者的呼吸障碍和器官功能衰竭的发生率 [n/70(%)]

分组	急性呼吸窘迫症	休克	肾功能衰竭
研究组	5/70(7.14)	4/70(5.71)	3/70(4.29)
对照组	13/70(18.57)	12/70(17.14)	8/70(11.43)
$\chi^2$ 值	7.113	8.471	7.809
P值	0.026	0.031	0.028

展为SAP,若缺乏及时有效的临床治疗,患者可因多器官功能衰竭、呼吸窘迫等合并症而死亡,临床死亡率较高<sup>[5]</sup>。正常情况下,机体正常的免疫和防御机制可有效保障胰腺功能的正常运行,一旦患者暴饮暴食、过度酗酒或胆道阻塞等因素导致胰腺正常防御功能受损,胰腺可代偿性地分泌大量的胰腺液以抵御外来侵袭<sup>[6]</sup>。由于胰腺液无选择性,且胰腺功能受损时可出现免疫功能失衡,则可导致胰腺组织出现自身消化、出血等现象,加速病情的恶化。SAP作为急性胰腺炎的重度症状,除可导致胰腺相关的症状以外,其发病所致的继发性全身感染、应激所致的免疫力下降等因素同样会增加患者的心脏、呼吸系统、肾脏等的运作负担和受损风险<sup>[7]</sup>。SAP后期,肺部感染、肾衰竭、呼吸窘迫综合征以及休克等是较为高发的合并症,也是导致SAP患者死亡的重要原因<sup>[8]</sup>。因此,在SAP发病初期,及时采取抑制胰腺分泌和延缓胰腺组织损伤的治疗措施,对于降低SAP患者的死亡率和提高预后治疗效果将具有极为重要的临床意义。

基于SAP的临床治疗需求,近些年来生长抑素和质子泵拮抗剂在SAP临床治疗中的应用逐渐广泛。内源性生长抑素主要分泌于人体丘脑、胃肠道等器官,具有抑制胰腺分泌胰酶、胰液以及调节免疫功能的作用,可与生长抑素受体特异性结合<sup>[9]</sup>。病理研究证实,SAP发病时,胰腺细胞表面的生长抑素受体的表达量呈大幅增加,为生长抑素提供了较为理想的作用靶点<sup>[10]</sup>。外源性地给与生长抑素,可迅速与胰腺细胞表面的相应受体结合,以有效发挥抑制胰腺的分泌功能。生长抑素还具有降低血流量和抑制迷走神经兴奋的作用,从而减少胰酶和胰液的分泌,延缓炎症进程。周文等<sup>[11]</sup>对生长抑素治疗SAP的临床疗效进行的系统性评价结果显示,生长抑素能够有效缩短SAP患者的住院时间、胃肠功能康复时间、降低其死亡率和并发症发生率,临床效果较为理想。奥美拉唑作为质子泵拮抗剂的典型

代表,可特异性与胃黏膜壁细胞中的 $H^+-K^+-ATP$ 酶结合而降低其活性,进而有效抑制胃酸的分泌和胰液的代偿性分泌。Hackert等<sup>[12]</sup>以质子泵拮抗剂为模型药物,对SAP大鼠模型进行的临床治疗结果显示,质子泵拮抗剂可有效抑制胰腺组织的坏死和体内炎性细胞的渗出,其作用机制主要与抑制胰腺和胃腺的分泌功能有关。唐尚伟等<sup>[13]</sup>使用大剂量奥美拉唑对SAP患者进行治疗的效果显示,奥美拉唑可减轻患者胰腺内的炎症反应、加速SAP患者的康复以及降低并发症和死亡率的发生率。

在本次研究中使用奥美拉唑联合生长抑素对70例SAP患者进行了治疗。临床效果显示,使用生长抑素和奥美拉唑治疗的研究组的临床治疗有效率、住院时间、胃肠道功能恢复时间以及胰酶复常时间等均优于对照组,且组间差异具有统计学差异( $P<0.05$ )。此外,在并发症和严重合并症的发生率方面,研究组的也明显低于对照组,且组间差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。研究结果表明,联合应用奥美拉唑和生长抑素不仅能够降低SAP患者的合并症发生率和死亡率,而且能够有效加快SAP的临床康复进程,临床结果与既往文献报道基本一致。因此,在SAP的临床治疗方面,生长抑素联合质子泵拮抗剂的临床疗效是值得肯定得,具有较好的临床推广价值。

但需要指出的是,质子泵拮抗剂和生长抑素作为化学药物,近些年来虽在治疗SAP方面显示出了较好的临床疗效,但用药期间不良反应相关的报道也随之增多<sup>[14]</sup>。基于优化SAP临床治疗效果的目的及中西医结合治疗观念的不断深入,SAP的临床治疗已逐渐从单纯的西药治疗转变为中西结合。苗彬等<sup>[15]</sup>以中西结合治疗方法对SAP患者进行治疗的临床效果显示,中西医结合对SAP的临床治疗效果更为理想。相对于既往的西药西药治疗而言,中西医结合疗法在提高了SAP临床治疗效果的同时,不良反应的发生率也有所降低。林子琦等<sup>[16]</sup>对大量中西结合治疗SAP进行的临床研究进行的Meta分析结果显示,将生长抑素、质子泵拮抗剂联合中药制剂能够有效降低SAP患者的病死率和严重不良反应的发生率,且与单独使用生长抑素、质子泵拮抗剂相比,临床效果存在着统计学差异( $P<0.05$ )。因此,随着中医理论对SAP发病机制研究的不断深入和中西结合的优化,在SAP的临床治疗方面,中

中西医结合途径或许更为可取。

#### 4 参考文献

- 1 林旭红, 李永渝. 急性胰腺炎发病机制及相关治疗的研究进展. 中国病理生理杂志 2010; 26: 1029-1032
- 2 徐志洁, 丁士刚, 田春艳, 周丽雅, 林三仁. 急性胰腺炎102例诊治分析. 中国全科医学 2010; 13: 441-443
- 3 李维勤, 童智慧, 全竹富. 1033例重症急性胰腺炎治疗经验总结. 中华外科杂志 2009; 47: 611-612
- 4 王雨田, 陈岳祥. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). 中国实用内科杂志 2009; 29: 317-319
- 5 孙备, 周昊昕, 李军, 王刚. 重症急性胰腺炎外科综合治疗的经验总结. 中华外科杂志 2010; 48: 591-592
- 6 黄志强, 宋青. 微创外科给重症急性胰腺炎治疗带来观念上的转变. 中国微创外科杂志 2010; 10: 3-5
- 7 李小彦, 王小波, 刘秀峰. 重症急性胰腺炎患者器官功能衰竭的患病率及其危险因素分析. 中华急诊医学杂志 2011; 20: 713-715
- 8 李维勤, 李宁, 黎介寿. 重症急性胰腺炎坏死感染的诊断与治疗实践. 中国实用外科杂志 2009; 24: 813-815
- 9 陈婧华, 陈垦, 王晖. 急性胰腺炎发病机制研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2481-2482
- 10 徐毅晖, 陈垦, 崔淑兰, 王晖. 促炎和抗炎因子在急性胰腺炎发病机制中的研究进展. 世界华人消化杂志 2010; 18: 1912-1918
- 11 周文, 郝玉霞, 郝瑞军, 白晓鸣, 杨更朴, 李健. 应用生长抑素对重症急性胰腺炎病情控制的系统评价. 实用医技杂志 2011; 18: 1127-1130
- 12 Hackert T, Tudor S, Felix K, Dovshanskiy D, Hartwig W, Simon WA, Werner J. Effects of pantoprazole in experimental acute pancreatitis. *Life Sci* 2010; 87: 551-557 [PMID: 20851132]
- 13 唐尚伟, 唐国传, 谢昆华, 颜钟生. 大剂量奥美拉唑治疗重症胰腺炎的临床观察. 内科 2012; 7: 129-130
- 14 吴觅, 王颖, 赵迎峰, 倪江洪. 255例重症急性胰腺炎药物治疗合理性分析. 药学与临床研究 2012; 13: 313-315
- 15 苗彬, 崔乃强, 李忠廉, 马涛, 赵光, 王心. 早期通里攻下法对重症急性胰腺炎结局影响的系统评价. 世界华人消化杂志 2009; 17: 1042-1047
- 16 林子琦, 郭佳, 何馥倩, 黄宗文, 马悦, 程征宇. 生长抑素联合中药在治疗重症急性胰腺炎中的系统评价. 华西医学 2011; 26: 75-77

#### ■同行评价

生长抑素和奥美拉唑在治疗SAP方面的疗效已获临床的肯定, 本次研究的结果与既往报道基本一致. 但文中未提及较新的观点和结论, 建议在以后的临床工作中继续进行补充。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 内镜下局部切除联合化疗药物注射治疗十二指肠乳头癌

陈莉丽, 卜平, 朱海杭, 邓登豪, 陈娟, 陈超伍, 刘军

## ■背景资料

十二指肠乳头癌临床较为少见, 近年来随着内镜技术的普及, 发现率也逐步增多。

陈莉丽, 卜平, 朱海杭, 邓登豪, 陈娟, 陈超伍, 刘军, 扬州大学临床医学院附属医院 苏北人民医院消化内科 江苏省扬州市 225001

陈莉丽, 主要从事胃肠病学和肝胆胰疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由邓登豪、朱海杭及卜平设计; 数据分析由陈莉丽完成, 陈娟与陈超伍协助, 刘军修改; 论文写作由陈莉丽完成; 刘军审核。

通讯作者: 刘军, 副主任医师, 225001, 江苏省扬州市南通西路98号, 扬州大学临床医学院附属医院, 苏北人民医院消化内科。sbyy\_liujun@163.com

收稿日期: 2013-12-20 修回日期: 2014-01-14

接受日期: 2014-01-18 在线出版日期: 2014-03-18

## Endoscopic local resection combined with chemotherapy drug injection for duodenal papillary carcinoma

Li-Li Chen, Ping Bu, Hai-Hang Zhu, Deng-Hao Deng, Juan Chen, Chao-Wu Chen, Jun Liu

Li-Li Chen, Ping Bu, Hai-Hang Zhu, Deng-Hao Deng, Juan Chen, Chao-Wu Chen, Jun Liu, Department of Gastrointestinal Medicine, the First Affiliated Hospital of Yangzhou University, Yangzhou 225001, China

Correspondence to: Jun Liu, Associate Chief Physician, Department of Gastrointestinal Medicine, the First Affiliated Hospital of Yangzhou University, 98 Nantong West Road, Yangzhou 225001, Jiangsu Province, China. sbyy\_liujun@163.com

Received: 2013-12-20 Revised: 2014-01-14

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To observe the therapeutic value of endoscopic local resection combined with chemotherapy drug injection in duodenal papillary carcinoma.

**METHODS:** Eight duodenal papillary carcinoma patients who underwent endoscopic local resection combined with chemotherapy drug injection were analyzed for endoscopic ultrasound manifestations and therapeutic effect.

**RESULTS:** The 8 patients were followed for 2 years. After treatment, the lesions invading the submucosal layer in two cases disappeared, the lesions were reduced by 50% in 3 cases, and one case invaded the pancreatic and bile duct. Two patients developed liver metastasis, of whom

one survived and the other died. No intestinal obstruction occurred.

**CONCLUSION:** Endoscopic local resection combined with local injection of chemical drugs can effectively slow tumor growth and reduce duodenal obstruction in patients with duodenal papillary carcinoma.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Duodenal papillary carcinoma; Endoscopy; Chemotherapy; ERCP; Prognosis

Chen LL, Bu P, Zhu HH, Deng DH, Chen J, Chen CW, Liu J. Endoscopic local resection combined with chemotherapy drug injection for duodenal papillary carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(8): 1184-1187 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1184.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1184>

## 摘要

**目的:** 观察内镜下局部切除联合化疗药物注射在十二指肠乳头癌中的治疗价值。

**方法:** 对8例十二指肠乳头癌患者进行内镜下局部切除联合化疗药物注射治疗, 并就超声内镜表现、内镜下治疗效果进行分析。

**结果:** 8例患者, 侵犯黏膜下层的2例患者病灶消失, 侵犯固有肌层的4例患者3例缩小50%以上, 1例肿瘤外侵生长, 胰头及胆管下段侵犯, 2例有肝转移的患者1例死亡, 1例存活, 无发生十二指肠肠腔梗阻患者。

**结论:** 十二指肠乳头癌内镜下治疗不仅对早癌有效, 内镜下局部切除病灶, 结合局部化疗药物注射, 能够有效的延缓肿瘤生长、减缓十二指肠肠腔梗阻, 对于进展期十二指肠乳头癌同样能够带来一定的益处。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 十二指肠乳头癌; 内镜; 化疗; ERCP; 预后

**核心提示:** 十二指肠乳头癌内镜下治疗不仅对早

## ■同行评议者

袁建业, 副研究员, 上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所



癌有效, 内镜下局部切除病灶, 结合局部化疗药物注射, 能够有效的延缓肿瘤生长、减缓十二指肠肠腔梗阻, 对于进展期十二指肠乳头癌同样能够带来一定的益处。

陈莉丽, 卜平, 朱海杭, 邓登豪, 陈娟, 陈超伍, 刘军. 内镜下局部切除联合化疗药物注射治疗十二指肠乳头癌. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1184-1187 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1184.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i8.1184>

## 0 引言

十二指肠乳头癌临床较为少见, 近年来随着内镜技术的普及, 发现率有逐步增多的趋势, 临床十二指肠乳头癌的治疗主要采取胰十二指肠切除术, 也有相关报道, 对于早期局限在黏膜下层的乳头癌可行内镜下切除<sup>[1]</sup>, 但由于早期不易发现, 发现时多并发转移, 已丧失手术机会, 同时因术后并发症发生率高, 部分患者不愿接受手术、或患者系高龄、基础病重等难以耐受较大手术, 我们给予此部分患者行内镜下瘤体圈套切除+局灶化疗药物注射, 取得了良好疗效. 现报道如下。

## 1 材料和方法

1.1 材料 选取2008-03/2010-12行十二指肠镜下瘤体圈套整片或者分片切除的患者8例、局部APC烧灼+局灶化疗药物注射治疗, 其中男性3例, 女性5例, 年龄56-76岁, 平均年龄67.4岁, 患者均因黄疸就诊, B超均提示: 胆总管扩张, 其中6例患者磁共振胰胆管成像(magnetic resonance cholangiopancreatography, MRCP)显示: 胆总管扩张明显, 壶腹病变可能, 7例患者上腹部CT提示十二指肠乳头占位可能, 2例合并肝转移, 8例均经十二指肠镜病理证实为十二指肠乳头癌, 与家属沟通, 无转移的患者首先建议行手术治疗, 其中2例因有肝转移丧失手术机会, 4例患者因高龄, 基础状态欠佳, 难以耐受手术; 2例患者及家属放弃手术患者, 坚决不同意手术. 经患者和家属的同意, 建议患者行内镜下治疗。

### 1.2 方法

1.2.1 术前十二指肠镜诊断: 8例患者均先行十二指肠镜, 临床诊断十二指肠乳头占位, 其中肿块型6例, 未露型2例, 然后行病理活检以了解病变的性质, 待活检病理结果作进一步处理. 明确诊断后, 无远处转移的患者给予超声内镜检查, 明

确十二指肠乳头癌侵犯层次。

1.2.2 手术: 采用Olympus TJF240十二指肠镜, 行内镜下十二指肠乳头切除术. 根据乳头形态, 如为未露型则行黏膜下注射, 用圈套器距肿瘤边缘圈套切除乳头处外露肿瘤(瘤体<2 cm, 给予直接圈套; >2 cm采取分片圈套), 裸露创面给予APC烧灼至焦痂; 如果瘤体大, 肿瘤破坏明显, 直接给予APC烧灼. 然后给予配置5-FU 500 mg及艾恒100 mg药物后, 局部注射4-5点, 同时选择性给予胆胰管圣诞树支架置入(cook公司). 患者回病房后给予禁食12 h, 术后监测血淀粉酶及白细胞水平, 同时给予预防性抗生素、制酸剂(奥美拉唑或泮托拉唑)、生长抑素及止吐剂(托烷司琼)应用. 术后3 mo、半年、1及2年进行十二指肠镜复查, 并在残蒂四周取4块病理活检, 根据内镜下瘤体情况及病理报告对局部进行再次内镜下治疗及支架取出或者置换。

1.2.3 随访: 术后随访两年, 观察: (1)术后并发症, 近期: 包括出血、胰腺炎、胆管炎及化疗不良反应等, 远期: 十二指肠梗阻、胆管支架长时间置入相关的脱落、胆管炎、胆管结石等; (2)瘤体增长、复发情况: 按照WHO关于实体瘤的疗效标准. 分为完全缓解(complete remission, CR): 肿瘤消失; 部分缓解(partial response, PR): 肿瘤缩小50%以上; 稳定(no change, NC): 瘤体缩小不到50%或增大未超过25%; 进展(progressive disease, PD): 瘤体增大25%以上. 以CR+PR为有效, NC+PD为无效。

## 2 结果

2.1 超声内镜 本组8例患者, 有2例有远处转移, 2例侵犯黏膜下层, 4例侵犯至固有肌层以上。

2.2 内镜下治疗 8例均顺利进行内镜下治疗, 所有病例内镜治疗至少2次以上. 其中3例内镜下治疗4次, 2例治疗3次, 3例治疗2次。

2.3 并发症 经内镜逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP), 术后并发出血1例, 经内科保守治疗好转, 无胰腺炎、穿孔等并发症, 无化疗药物相关不良反应出现. ERCP术后远期(均支架置入后1年以上), 胆管内合并结石2例, 出现胆管炎1例, 无1例出现十二指肠肠腔梗阻。

2.4 随访 随访2年, 1例合并肝转移患者, 肿瘤进展伴脏器多发转移于病程19 mo死亡. 其他7例存活, 其中2例病灶CR, 外观未见明显瘤体, 活检

## ■ 研究前沿

临床十二指肠乳头癌的治疗主要采取胰十二指肠切除术, 近年来对于早期十二指肠乳头癌也进行内镜下切除。

## ■相关报道

也有相关报道,对于早期局限在黏膜下层的乳头癌可行内镜下切除。

未见肿瘤细胞;其余5例目前病情尚稳定,内镜下复查3例局部肿瘤缩小超过50%(NC),1例局部肿瘤无增长,但肝脏多发转移(PD),1例CT提示肿瘤外侵生长,胰头及胆管下段侵犯(PD)。

## 3 讨论

十二指肠乳头癌临床较少见,十二指肠乳头癌发生于乳头开口附近,容易发生胆管梗阻出现黄疸而引起临床重视,约占胃肠道肿瘤的5%<sup>[2]</sup>,十二指肠镜活检即可做出确诊。十二指肠乳头癌好发年龄多为40-60岁<sup>[3]</sup>,以往十二指肠乳头癌的治疗主要为胰十二指肠切除术,患者5年生存率约45%-65%,但术后并发症却高达30%-50%,手术死亡率为2%-5%<sup>[4-8]</sup>。近年来国内外也都有局部手术切除十二指肠乳头癌取得较好效果的报道<sup>[9,10]</sup>,内镜局部切除法则有创伤小、并发症少等特点,特别适合于不愿接受手术、或患者系高龄、基础病重等难以耐受较大手术患者<sup>[11-13]</sup>。但所选的病例皆是针对局限在黏膜层或者黏膜下层的乳头早期病变,而对于有远处转移的、侵犯固有肌层的眼镜下治疗未有相关报道。

十二指肠乳头癌多为向肠腔内生长,我们首先置入胆管支架(均使用圣诞树塑料支架),所以在乳头癌切除时用普通圈套器首先套住支架,然后以支架为中心圈套住瘤体,对不能一次圈套住的,可以分次分块圈套,由于支架置入不会造成胆管开口闭塞,同时根据支架所在位置,可以确定电切深度,避免穿孔。电切后创面裸露及由于肿瘤的基部不规则切缘,给予局部APC电凝烧灼,使创面形成焦痂,从而减少出血。然后给予局部注射化疗药物,大量高浓度的抗肿瘤药物直接注射在癌组织及临近淋巴结中,对癌组织破坏效力更高,同时能通过淋巴引流对区域淋巴结转移起到治疗作用,疗效显著且化疗不良反应轻微。由于肿瘤组织脆,电切后创面及注射针眼等因素可能造成出血,本组1例在切除过程中出血,给予内镜下喷洒去甲肾上腺素,患者出血控制,术后均未表现有出血征象,无穿孔病例,同时术后未出现明显化疗反应,无恶心呕吐等消化系反应及骨髓抑制病例。本组切除肿瘤组织后,根据胆汁及胰液流出情况,酌情放置胆胰管内支架。主要为防止术后局部水肿、瘢痕狭窄而发生引流不畅,诱发胆管炎、胰腺炎发生,本组仅两例放置胰管支架,但术后有3例淀粉酶3倍以上增高,1例有轻度腹痛现象,经保守

治疗,症状很快缓解,可能由于ERCP术前肿瘤本身已经造成胰管一定程度上的阻塞,即使术中对于胰管开口有一定的损伤,并不会明显诱发胰腺炎发生。

本组8例患者,2例侵犯黏膜下层,4例侵犯至固有肌层以上,有2例有远处转移,治疗后随访2年,其中侵犯黏膜下层的2例患者病灶消失,侵犯固有肌层的4例患者3例瘤体缩小50%以上,1例肿瘤外侵生长,胰头及胆管下段侵犯,2例有肝转移的患者1例死亡,1例存活,无发生十二指肠肠腔梗阻患者,2年生存率87.5%,和相关报道外科手术相似<sup>[14,15]</sup>。我们认为对于侵犯黏膜层及黏膜下层的十二指肠乳头癌患者,应首选内镜下局部切除,且局部化疗药物注射能够进一步弥补局部切除的切缘不足或者深度不够的缺点,而对于侵犯固有肌层但不能耐受或拒绝外科手术的患者,行局部切除并行局部化疗药物注射也能够明显控制病变局部的发展,减少十二指肠梗阻的发生,改善患者的预后,而对于合并远处转移的患者,能够改善十二指肠梗阻的情况,但可能无法改善患者的预后,对于侵犯固有肌层以上的及远处转移的患者还需要结合全身静脉化疗,以改善患者的预后。

总之,十二指肠乳头癌内镜下治疗不仅对早癌有效,内镜下局部切除病灶,同时结合局部化疗药物注射,能够有效的延缓肿瘤生长、减少十二指肠肠腔梗阻率,对于有转移或者来源于固有肌层的病变同样能够带来一定的益处。

## 4 参考文献

- 1 张筱凤, 张啸, 李平, 吕文, 黄海涛. 内镜治疗十二指肠乳头癌六例. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 396-397
- 2 DeOliveira ML, Triviño T, de Jesus Lopes Filho G. Carcinoma of the papilla of Vater: are endoscopic appearance and endoscopic biopsy discordant? *J Gastrointest Surg* 2006; 10: 1140-1143 [PMID: 16966033]
- 3 Gassler N, Knüchel R. [Tumors of Vater's ampulla]. *Pathologie* 2012; 33: 17-23 [PMID: 22293786 DOI: 10.1007/s00292-011-1546-8]
- 4 Shinkawa H, Takemura S, Kiyota S, Uenishi T, Kaneda K, Sakae M, Urata Y, Ohata K, Nozawa A, Kubo S. Long-term outcome of surgical treatment for ampullary carcinoma. *Hepatogastroenterology* 2012; 59: 1010-1012 [PMID: 22580650 DOI: 10.5754/hge10788]
- 5 Hartel M, Wente MN, Sido B, Friess H, Büchler MW. Carcinoid of the ampulla of Vater. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 676-681 [PMID: 15853978]
- 6 Duffy JP, Hines OJ, Liu JH, Ko CY, Cortina G, Isacoff WH, Nguyen H, Leonardi M, Tompkins RK, Reber HA. Improved survival for adenocarcinoma of the ampulla of Vater: fifty-five consecutive resections. *Arch Surg* 2003; 138: 941-948; discussion

- 941-948 [PMID: 12963649]
- 7 Feng J, Zhou X, Mao W. Prognostic analysis of carcinoma of the ampulla of Vater: pancreaticoduodenectomy versus local resection. *Hippokratia* 2012; 16: 23-28 [PMID: 23930053]
  - 8 Beger HG, Thorab FC, Liu Z, Harada N, Rau BM. Pathogenesis and treatment of neoplastic diseases of the papilla of Vater: Kausch-Whipple procedure with lymph node dissection in cancer of the papilla of Vater. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2004; 11: 232-238 [PMID: 15368106]
  - 9 Zhong J, Palta M, Willett CG, McCall SJ, Bulusu A, Tyler DS, White RR, Uronis HE, Pappas TN, Czito BG. The role of local excision in invasive adenocarcinoma of the ampulla of Vater. *J Gastrointest Oncol* 2013; 4: 8-13 [PMID: 23450004 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2012.055]
  - 10 Platz T, Bain A, Kuvshinov B. The role of local excision in invasive adenocarcinoma of the ampulla of Vater. *J Gastrointest Oncol* 2013; 4: 1-2 [PMID: 23451327 DOI: 10.3978/j.issn.2078-6891.2013.004]
  - 11 Liu N, Liang H, Li Q, Wang DC, Zhang RP, Wang JC, Hao XS. [Determinants of long-term survival in 38 patients with carcinoma of ampulla of Vater treated by local resection]. *Zhonghua Zhongliu Zazhi* 2005; 27: 629-631 [PMID: 16438877]
  - 12 Demetriades H, Zacharakis E, Kirou I, Pramateftakis MG, Sapidis N, Kanellos I, Betsis D. Local excision as a treatment for tumors of ampulla of Vater. *World J Surg Oncol* 2006; 4: 14 [PMID: 16524478]
  - 13 Bulat C, Bişca L, Stoian M. [Tumors of the ampulla of Vater--local or radical resection?]. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 2006; 110: 609-612 [PMID: 17571553]
  - 14 顾宗廷, 俞文隆, 魏永鹏, 李兴, 张文杰. 十二指肠乳头癌淋巴结转移特点与手术预后的关系. *中华肝胆外科杂志* 2013; 19: 177-182
  - 15 潘金铎, 候元凯, 张东, 吴辉, 刘兴国, 刘江伟, 郑文建, 李廷军, 高伟. 十二指肠乳头癌行胰十二指肠切除术疗效及预后因素分析. *肝胆胰外科杂志* 2012; 24: 362-366

#### ■同行评价

内镜下局部切除病灶, 结合局部化疗药物注射, 对于晚期十二指肠乳头癌患者多提供一种选择, 有一定的研究价值。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍的临床疗效

张丹丹, 房辉, 张雅中, 田金莉

## ■背景资料

糖尿病胃轻瘫主要是由于糖尿病患者血糖异常升高导致胃排空障碍并出现上消化道症状以及胃肠激素分泌紊乱。患者临床主要表现为恶心、呕吐、饭后饱胀、食欲不振、嗝气以及营养不良等,属于中医“痞满证”范畴。糖尿病胃轻瘫的临床治疗主要以控制血糖、应用胃动力药物等。传统中医学采取针刺治疗能够有效改善患者胃肠功能,消除病理症候。

张丹丹, 房辉, 张雅中, 田金莉, 唐山市工人医院内分泌二科  
河北省唐山市 063000

张丹丹, 主治医师, 硕士, 主要从事内分泌专业疾病的研究。

作者贡献分布: 课题的设计由张丹丹与房辉完成; 研究过程由张丹丹完成; 试剂由张雅中与田金莉提供; 数据分析由房辉与张丹丹完成; 论文写作由张丹丹完成。

通讯作者: 张丹丹, 主治医师, 063000, 河北省唐山市路北区文化路27号, 唐山市工人医院内分泌二科。

azhangdandan@163.com

电话: 0315-3287800

收稿日期: 2013-12-17 修回日期: 2014-01-07

接受日期: 2014-01-16 在线出版日期: 2014-03-18

## Electroacupuncture combined with omeprazole for treatment of gastric dysmotility in patients with diabetic gastroparesis

Dan-Dan Zhang, Hui Fang, Ya-Zhong Zhang, Jin-Li Tian

Dan-Dan Zhang, Hui Fang, Ya-Zhong Zhang, Jin-Li Tian, Department of Endocrinology, Tangshan Gongren Hospital, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Dan-Dan Zhang, Attending Physician, Department of Endocrinology, Tangshan Gongren Hospital, 27 Wenhua Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. azhangdandan@163.com

Received: 2013-12-17 Revised: 2014-01-07

Accepted: 2014-01-16 Published online: 2014-03-18

## Abstract

**AIM:** To explore the efficacy of electroacupuncture combined with omeprazole in the treatment of gastric dysmotility in patients with diabetic gastroparesis (DGP).

**METHODS:** Eighty DGP patients with gastric dysmotility were randomly divided into two groups: a control group and a treatment group. On the basis of conventional treatment, the control group was treated with omeprazole, and the treatment group was treated by electroacupuncture combined with omeprazole. The fullness syndrome, the symptom score before and after treatment, and laboratory indexes were compared between the two groups.

**RESULTS:** The cure rate (32.50% vs 17.50%) and total response rate (87.50% vs 67.50%) were significantly better in the treatment group than in the control group ( $P < 0.05$  for both). In both the study group and control group, the grade of fullness ( $0.67 \pm 0.56$  vs  $1.72 \pm 0.63$ ,  $0.95 \pm 0.58$  vs  $1.75 \pm 0.57$ ), pressure pain score ( $0.71 \pm 0.53$  vs  $1.83 \pm 0.62$ ,  $1.00 \pm 0.55$  vs  $1.86 \pm 0.64$ ), belching score ( $0.81 \pm 0.48$  vs  $1.71 \pm 0.59$ ,  $1.13 \pm 0.56$  vs  $1.73 \pm 0.62$ ), eat score ( $0.74 \pm 0.53$  vs  $1.39 \pm 0.56$ ,  $1.03 \pm 0.48$  vs  $1.41 \pm 0.62$ ) and stool score ( $0.55 \pm 0.47$  vs  $1.52 \pm 0.56$ ,  $0.97 \pm 0.50$  vs  $1.50 \pm 0.56$ ) were significantly lower after treatment than before treatment ( $P < 0.05$  for all). After treatment, these parameters were significantly lower in the treatment group than in the control group ( $P < 0.05$  for all). In both the study group and control group, the quantity of residual barium ( $3.43 \pm 1.33$  vs  $13.03 \pm 2.77$ ;  $3.51 \pm 1.36$  vs  $13.32 \pm 2.46$ ), motilin (MLT) level ( $331.36$  ng/L  $\pm 14.82$  ng/L vs  $408.61$  ng/L  $\pm 28.57$  ng/L,  $336.75$  ng/L  $\pm 15.83$  ng/L vs  $410.56$  ng/L  $\pm 33.55$  ng/L), gastrin (GAS) level ( $86.67$  ng/L  $\pm 10.30$  ng/L vs  $114.89$  ng/L  $\pm 17.91$  ng/L,  $93.85$  ng/L  $\pm 10.78$  ng/L vs  $117.02$  ng/L  $\pm 19.41$  ng/L) and fasting blood glucose level ( $6.04$  mmol/L  $\pm 1.01$  mmol/L vs  $9.53$  mmol/L  $\pm 3.51$  mmol/L,  $6.45$  mmol/L  $\pm 0.90$  mmol/L vs  $9.58$  mmol/L  $\pm 2.64$  mmol/L) were significantly lower after treatment than before treatment ( $P < 0.05$  for all). After treatment, these parameters were significantly lower in the treatment group than in the control group ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Electroacupuncture combined with omeprazole can improve fullness syndrome and gastric dysmotility, promote gastric emptying and lower FPG in patients with DGP.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Electroacupuncture; Omeprazole; Gastric dysmotility; Diabetic gastroparesis; Clinical efficacy

Zhang DD, Fang H, Zhang YZ, Tian JL. Electroacupuncture combined with omeprazole for treatment of gastric

## ■同行评议者

洪天配, 教授, 北京大学第三医院内分泌科

dysmotility in patients with diabetic gastroparesis. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(8): 1188-1192 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1188.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1188>

## 摘要

**目的:** 探讨电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍的临床疗效。

**方法:** 按照数字随机分组法将我院收治的80例糖尿病胃轻瘫胃动力障碍患者均分为实验组和对照组, 两组患者均给予糖尿病常规治疗, 对照组患者在此基础上给予奥美拉唑治疗, 实验组患者在此基础上给予电针联合奥美拉唑治疗, 比较两组患者治疗后痞满证疗效、治疗前、后各临床症状评分以及实验室指标和辅助检查结果变化情况。

**结果:** 实验组患者治愈率和总有效率均明显高于对照组(32.50% vs 17.50%, 87.50% vs 67.50%), 差异具有显著性( $P<0.05$ ); 两组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、噯气评分、食量评分及大便评分均明显降低, 与治疗前比较[(0.67±0.56 vs 1.72±0.63; 0.95±0.58 vs 1.75±0.57)、(0.71±0.53 vs 1.83±0.62; 1.00±0.55 vs 1.86±0.64)、(0.81±0.48 vs 1.71±0.59; 1.13±0.56 vs 1.73±0.62)、(0.74±0.53 vs 1.39±0.56; 1.03±0.48 vs 1.41±0.62)、(0.55±0.47 vs 1.52±0.56; 0.97±0.50 vs 1.50±0.56)], 差异均具有显著性( $P<0.05$ ); 实验组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、噯气评分、食量评分及大便评分均明显低于对照组[(0.67±0.56 vs 0.95±0.58)、(0.71±0.53 vs 1.00±0.55)、(0.81±0.48 vs 1.13±0.56)、(0.74±0.53 vs 1.03±0.48)、(0.55±0.47 vs 0.97±0.50)], 差异均具有显著性( $P<0.05$ ); 两组患者治疗后胃内残留小钶条数、胃动素(motilin, MTL)水平、胃泌素(gastrin, GAS)水平及空腹血糖水平均明显降低, 与治疗前比较[(3.43条±1.33条 vs 13.03条±2.77条; 3.51条±1.36条 vs 13.32条±2.46条)、(331.36 ng/L±14.82 ng/L vs 408.61 ng/L±28.57 ng/L; 336.75 ng/L±15.83 ng/L vs 410.56 ng/L±33.55 ng/L)、(86.67 ng/L±10.30 ng/L vs 114.89 ng/L±17.91 ng/L; 93.85 ng/L±10.78 ng/L vs 117.02 ng/L±19.41 ng/L)、(6.04 mmol/L±1.01 mmol/L vs 9.53 mmol/L±3.51 mmol/L; 6.45 mmol/L±0.90 mmol/L vs 9.58 mmol/L±2.64 mmol/L)], 差异均具有显著性( $P<0.05$ ); 实验组患者胃内残留小钶条数、MTL水平、GAS水平及空腹血糖水平均明显低于对照组(3.43条±1.33条 vs 3.51条±1.36

条、331.36 ng/L±14.82 ng/L vs 336.75 ng/L±15.83 ng/L、86.67 ng/L±10.30 ng/L vs 93.85 ng/L±10.78 ng/L、6.04 mmol/L±1.01 mmol/L vs 6.45 mmol/L±0.90 mmol/L), 差异均具有显著性( $P<0.05$ )。

**结论:** 电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍能够显著改善患者痞满证和胃动力障碍, 促进胃排空, 降低空腹血糖, 临床疗效显著。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 电针; 奥美拉唑; 糖尿病胃轻瘫胃动力障碍; 疗效

**核心提示:** 本研究结果显示, 实验组患者治愈率和总有效率均明显高于对照组, 实验组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、噯气评分、食量评分及大便评分均明显低于对照组, 差异具有显著性( $P<0.05$ ), 实验组患者胃内残留小钶条数、胃动素(motilin)水平、胃泌素(gastrin)水平及空腹血糖水平均明显低于对照组。表明在药物治疗基础上实施电针治疗疗效显著, 能够有效改善患者胃动力状态。

张丹丹, 房辉, 张雅中, 田金莉. 电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍的临床疗效. 世界华人消化杂志 2014; 22(8): 1188-1192 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1188.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i8.1188>

## 0 引言

糖尿病胃轻瘫是糖尿病患者临床常见并发症之一, 目前对其发病机制尚无明确研究结果, 但多数学者认为高血糖、胃肠激素以及自主神经病变均与糖尿病胃轻瘫的发病有紧密联系<sup>[1]</sup>。糖尿病胃轻瘫的临床治疗主要以控制血糖、应用胃动力药物等。传统中医学认为胃轻瘫属于“痞满”证, 采取针刺治疗能够有效改善患者胃肠功能, 消除病理症候<sup>[2]</sup>。我院采取电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍取得了较为满意的临床效果, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-09/2013-09我院收治的80例糖尿病胃轻瘫胃动力障碍患者作为研究对象。按照数字随机分组法将80例患者均分为实验组和对照组, 两组患者在性别、年龄、病程、糖尿病分型以及合并症等上差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表1), 具有可比性。本研究经我院伦理

## ■ 相关报道

多数学者认为高血糖、胃肠激素以及自主神经病变均与糖尿病胃轻瘫的发病有紧密联系。

## ■应用要点

电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍能够显著改善患者痞满证和胃动力障碍,促进胃排空,降低空腹血糖,临床疗效显著,可作为临床治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍的经验方法。

表 1 两组患者临床资料比较 ( $n = 40$ )

分组	性别		平均年龄(岁)	平均病程(年)	糖尿病		合并症					
	男	女			1型	2型	心脏病	肾病	糖尿病足	糖尿病眼病	糖尿病周围神经病变	糖尿病皮肤病变
实验组	21	19	59.82 ± 8.13	8.95 ± 4.56	2	38	5	6	5	7	8	1
对照组	23	17	58.57 ± 8.76	9.06 ± 4.33	1	39	5	5	7	9	7	1

表 2 两组患者痞满证疗效比较 ( $n = 40, n(\%)$ )

分组	治愈	有效	无效	总有效
实验组	13(32.50) <sup>a</sup>	22(55.00)	5(12.50) <sup>a</sup>	35(87.50) <sup>a</sup>
对照组	7(17.50)	20(50.00)	13(32.50)	27(67.50)

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

委员会审核通过,所有患者均签署知情同意书。

## 1.2 方法

1.2.1 纳入标准:所有患者均符合糖尿病胃轻瘫西医相关诊断标准和中医痞满证相关诊断标准。糖尿病胃轻瘫西医相关诊断标准<sup>[3]</sup>: (1)有3年以上糖尿病史; (2)胃肠动力紊乱持续4 wk以上; (3)胃镜检查未发现胃黏膜损伤或幽门梗阻; (4)X线检查显示餐后4 h胃内仍留有不透X线标志物。中医痞满证相关诊断标准: +: 进食过饱偶尔出现胃部饱胀不适感且持续时间<30 min, 胃部无压痛感, 食量正常, 暖气<3次/d; ++: 进食后常出现胃部饱胀不适且持续时间在0.5-1 h, 胃部无压痛感, 食量正常但吃饭不香, 暖气4-6次/d, 大便稍硬或稍烂, 但次数无变化; +++: 进食后常出现胃部胀满不适, 持续时间在1-3 h, 按压胃部有轻微疼痛, 食量>1/3, 暖气7-9次/d, 大便次数增多1-2次或2-3 d排便1次; ++++: 无论是否进食均感觉胃部胀满或胀痛, 按压胃部有明显疼痛, 食量减少>1/2, 暖气>10次/d, 大便>3次/d或3 d以上大便1次。

1.2.2 排除标准: (1)入选前1 wk内服用胆碱能拮抗剂、钙离子拮抗剂、止吐剂、抑酸剂以及其他促动力药物治疗者; (2)合并严重心脑血管疾病以及其他原因引发的胃肠道反应者。

1.2.3 治疗: 两组患者均给予糖尿病常规治疗, 包括口服降糖药、西沙必利以及对症治疗。对照组患者在此基础上给予奥美拉唑治疗, 20 mg/次, 1次/d, 14 d为1疗程, 连服2疗程; 实验组患者在此基础上给予电针联合奥美拉唑治疗。电针治疗取中脘、天枢(双)、足三里(双)、梁门(双)和上巨虚(双), 使用30号40 mm无菌针灸针(苏

州天一牌)以单手快速进针法进针, 刺入表皮后深入1-1.3寸, 连接电针治疗仪, 使用直流电, 视患者耐受程度调节频率为2-100 Hz, 连续通电20 min后出针<sup>[4]</sup>。1次/d, 5次为1疗程, 2个疗程之间间隔2 d, 连续治疗2疗程。奥美拉唑用药方法和剂量与对照组相同。

电针治疗期间密切观察患者是否出现局部皮下血肿、弯针、气脚甚至急性心脑血管意外等, 及时停止针刺并采取有效对症处理措施。两组患者治疗期间饮食均由我院膳食部安排, 合理控制血糖。

1.2.4 观察指标: 记录两组患者治疗前、后各临床症状(胃部饱胀不适感、压痛、暖气、食量及大便)评分以及实验室指标[胃动素(motilin, MTL)水平、胃泌素(gastrin, GAS)水平及空腹血糖水平]和辅助检查(胃内残留小钡条数)结果变化情况, 并比较两组患者治疗后痞满证疗效。MTL和GAS均采用放射免疫法测定<sup>[5]</sup>。痞满证疗效评价标准: 治愈: 患者痞满证完全消失; 有效: 患者痞满证分级最少减少1级; 无效: 患者痞满证无改善<sup>[6]</sup>。

**统计学处理** 本研究数据均采用SPSS18.0进行统计学处理, 计量资料采用mean ± SD表示, 差异性比较使用 $t$ 检验, 计数资料比较使用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患者痞满证疗效比较 实验组患者治愈率和总有效率均明显高于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ )(表2)。

2.2 两组患者治疗前、后各临床症状评分比较 两组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、暖气评分、食量评分及大便评分均明显降低, 与治疗前比较, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ ); 实验组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、暖气评分、食量评分及大便评分均明显低于对照组, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ )(表3)。

2.3 两组患者治疗前、后实验室指标和辅助检



表 3 两组患者治疗前、后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、暖气评分、食量评分及大便评分比较 ( $n = 40$ , mean  $\pm$  SD)

分组	时间	饱胀不适感评分	压痛评分	暖气评分	食量评分	大便评分
实验组	治疗前	1.72 $\pm$ 0.63	1.83 $\pm$ 0.62	1.71 $\pm$ 0.59	1.39 $\pm$ 0.56	1.52 $\pm$ 0.56
	治疗后	0.67 $\pm$ 0.56 <sup>ac</sup>	0.71 $\pm$ 0.53 <sup>ac</sup>	0.81 $\pm$ 0.48 <sup>ac</sup>	0.74 $\pm$ 0.53 <sup>ac</sup>	0.55 $\pm$ 0.47 <sup>ac</sup>
对照组	治疗前	1.75 $\pm$ 0.57	1.86 $\pm$ 0.64	1.73 $\pm$ 0.62	1.41 $\pm$ 0.62	1.50 $\pm$ 0.56
	治疗后	0.95 $\pm$ 0.58 <sup>a</sup>	1.00 $\pm$ 0.55 <sup>a</sup>	1.13 $\pm$ 0.56 <sup>a</sup>	1.03 $\pm$ 0.48 <sup>a</sup>	0.97 $\pm$ 0.50 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 同组治疗前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。

表 4 两组患者治疗前、后胃内残留小钋条数、MTL水平、GAS水平及空腹血糖水平比较 ( $n = 40$ , mean  $\pm$  SD)

分组	时间	胃内残留小钋条数(条)	MTL(ng/L)	GAS(ng/L)	空腹血糖(mmol/L)
实验组	治疗前	13.03 $\pm$ 2.77	408.61 $\pm$ 28.57	114.89 $\pm$ 17.91	9.53 $\pm$ 3.51
	治疗后	3.43 $\pm$ 1.33 <sup>ac</sup>	331.36 $\pm$ 14.82 <sup>ac</sup>	86.67 $\pm$ 10.30 <sup>ac</sup>	6.04 $\pm$ 1.01 <sup>ac</sup>
对照组	治疗前	13.32 $\pm$ 2.46	410.56 $\pm$ 33.55	117.02 $\pm$ 19.41	9.58 $\pm$ 2.64
	治疗后	3.51 $\pm$ 1.36 <sup>a</sup>	336.75 $\pm$ 15.83 <sup>a</sup>	93.85 $\pm$ 10.78 <sup>a</sup>	6.45 $\pm$ 0.90 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 同组治疗前; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs 对照组。MTL: 胃动素; GAS: 胃泌素。

查比较 两组患者治疗后胃内残留小钋条数、MTL水平、GAS水平及空腹血糖水平均明显降低, 与治疗前比较, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ ); 实验组患者胃内残留小钋条数、MTL水平、GAS水平及空腹血糖水平均明显低于对照组, 差异均具有显著性( $P < 0.05$ )(表4)。

### 3 讨论

糖尿病胃轻瘫主要是由于糖尿病患者血糖异常升高导致胃排空障碍并出现上消化道症状以及胃肠激素分泌紊乱<sup>[7]</sup>。患者临床主要表现为恶心、呕吐、饭后饱胀、食欲不振、暖气以及营养不良等, 属于中医“痞满证”范畴。

糖尿病胃轻瘫的临床治疗方法主要为控制血糖和服用促进胃动力药物<sup>[8]</sup>。奥美拉唑是具有抑制胃酸分泌的质子泵抑制剂, 能够特异性抑制胃壁细胞 $H^+-K^+-ATP$ 酶活性, 从而达到抑制胃酸的效果<sup>[9]</sup>。奥美拉唑在酸性环境中起效迅速, 其依赖pH活性的特点使其对质子泵的选择更加专一, 与其他药物的相互作用危险性更小<sup>[10]</sup>。西沙必利是常用胃肠道动力药, 为选择性5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT<sub>4</sub>)受体激动剂。其能够通过选择性地促进肠肌层神经丛节后处乙酰胆碱释放增强和协调食管、胃以及十二指肠的收缩和蠕动, 防止食物滞留或反流, 促进胃排空<sup>[11]</sup>。同时西沙必利并不会对乙酰胆碱酶活性产生抑制, 也不会影响黏膜分泌, 但用药后可能引发腹

痛、腹泻等不良症状<sup>[12]</sup>。奥美拉唑与西沙必利联用能够有效改善糖尿病胃轻瘫患者腹胀、腹痛、恶心呕吐等症状, 改善患者胃肠功能, 促进胃排空。

糖尿病胃轻瘫的中医病机为脾失运化、胃失和降, 因此本研究针对宜健脾理气、和胃降逆的治疗原则采取电针取穴中脘、天枢、足三里、梁门和上巨虚进行治疗<sup>[13]</sup>。其中中脘位于人体脐上4寸, 为胃募穴; 天枢位于人体旁2寸, 上巨虚位于人体足三里下3寸, 二者为大肠募穴。胃募穴和大肠募穴均为治疗胃肠腑疾病治疗的主要穴位<sup>[14]</sup>。足三里和梁门穴属于胃经, 足三里位于人体小腿外侧犊鼻下3寸, 可和胃健脾、通腑化痰; 梁门穴位于人体中院旁开2寸, 可和胃降逆、消积化滞<sup>[15]</sup>。诸穴配合共奏健脾理气、和胃降逆之功。

本研究结果显示, 两组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、暖气评分、食量评分及大便评分均明显降低, 两组患者治疗后胃内残留小钋条数、MTL水平、GAS水平及空腹血糖水平均明显降低, 与治疗前比较, 差异均具有显著性。表明两种方法治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍疗效均确切。而实验组患者治愈率和总有效率均明显高于对照组, 实验组患者治疗后胃部饱胀不适感评分、压痛评分、暖气评分、食量评分及大便评分均明显低于对照组, 差异具有显著性( $P < 0.05$ ), 实验组患者胃内残留小钋条数、MTL

### 同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 具有一定的学术价值。

水平、GAS水平及空腹血糖水平均明显低于对照组。表明在药物治疗基础上实施电针治疗疗效显著,能够有效改善患者胃动力状态。

总之,电针联合奥美拉唑治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍能够显著改善患者痞满证和胃动力障碍,促进胃排空,降低空腹血糖,临床疗效显著,可作为临床治疗糖尿病胃轻瘫胃动力障碍的经验方法。

#### 4 参考文献

- 1 李君玲, 仝小林, 逢冰, 田佳星, 周强, 李敏. 重度胃轻瘫治疗方式的研究进展. 世界华人消化杂志 2013; 21: 2537-2543
- 2 王君南, 黄文静, 陈莹, 王瑾, 胡茂清. 针刺治疗糖尿病胃轻瘫的研究近况. 现代中医药 2012; 32: 80-82
- 3 刘云, 孙岩, 薛绮萍, 李建民. 糖尿病胃轻瘫的诊断及发病机制. 世界华人消化杂志 2007; 15: 290-293
- 4 张议元, 杜元灏, 熊俊, 黎波. 针灸治疗胃轻瘫综合征临床随机对照试验质量评价. 辽宁中医药大学学报 2010; 12: 23-25
- 5 谭康联, 陈志强. 胃动素用于胃肠功能评价的研究进展. 世界华人消化杂志 2011; 19: 156-160
- 6 李君玲, 李敏, 田佳星, 逢冰, 仝小林. 糖尿病胃轻瘫临床疗效的评价方式. 世界华人消化杂志 2013; 21: 3198-3203
- 7 Yang W, Lu J, Weng J, Jia W, Ji L, Xiao J, Shan Z, Liu J, Tian H, Ji Q, Zhu D, Ge J, Lin L, Chen L, Guo X, Zhao Z, Li Q, Zhou Z, Shan G, He J. Prevalence of diabetes among men and women in China. *N Engl J Med* 2010; 362: 1090-1101 [PMID: 20335585 DOI: 10.1056/NEJMoa0908292]
- 8 Sanaka M, Yamamoto T, Kuyama Y. Retention, fixation, and loss of the [<sup>13</sup>C] label: a review for the understanding of gastric emptying breath tests. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1747-1756 [PMID: 18306041 DOI: 10.1007/s10620-007-0103-z]
- 9 邱书萍. 奥美拉唑的药理研究及最新应用进展. 临床和实验医学杂志 2007; 6: 128
- 10 陈永华, 郭慧. 雷贝拉唑与奥美拉唑治疗胃食管反流病的疗效对照研究. 中国现代医生 2013; 51: 71-73
- 11 Moshiree B, McDonald R, Hou W, Toskes PP. Comparison of the effect of azithromycin versus erythromycin on antroduodenal pressure profiles of patients with chronic functional gastrointestinal pain and gastroparesis. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 675-683 [PMID: 19924535 DOI: 10.1007/s10620-009-1038-3]
- 12 王玉芬. 奥美拉唑、铝碳酸镁、莫沙比利联合治疗胃食管反流病疗效分析. 吉林医学 2013; 34: 5855-5856
- 13 连春雪, 周学林. 针药结合治疗糖尿病胃轻瘫疗效观察. 现代中西医结合杂志 2011; 20: 57-58
- 14 刘兵. 电针联合多潘立酮治疗糖尿病胃轻瘫48例临床观察. 江苏中医药 2011; 43: 62-63
- 15 邓权. 中药配合针刺治疗糖尿病胃轻瘫34例观察. 实用中医药杂志 2011 27: 752-753

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志》(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569) 是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。



《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$ , *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。M<sub>r</sub>明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象、应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度。研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准。如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$ ( $P>0.05$ 不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在论述的句末右上



角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白浪 副教授  
四川大学华西医院感染性疾病中心

陈海龙 教授  
大连医科大学附属第一医院院办

陈进宏 副主任医师  
复旦大学附属华山医院普外科

陈贻胜 教授  
福建省立医院

崔莲花 副教授  
青岛大学医学院公共卫生系

冯志杰 主任医师  
河北医科大学第二医院消化内科

高英堂 研究员  
天津市第三中心医院

巩鹏 教授  
大连医科大学附属第一医院普外二科

郝纯毅 主任医师  
北京肿瘤医院肿瘤外科

李革 教授  
延边大学附属医院

李孟森 教授  
海南医学院/海南省肿瘤发生和干预重点实验室

李胜 研究员  
山东省肿瘤防治研究院肝胆外科

李增山 副教授  
中国人民解放军第四军医大学病理教研室

林潮双 副教授  
中山大学附属第三医院感染科

刘占举 教授  
同济大学附属上海市第十人民医院

刘丽江 教授  
江汉大学医学院病理学

禄韶英 博士  
西安交通大学医学院第一附属医院普外科

缪应雷 主任医师  
昆明医科大学第一附属医院消化内科

潘阳林 副教授  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

宋新明 教授  
中山大学附属第一医院胃肠外科

唐文富 副教授  
四川大学华西医院中西医结合科

魏睦新 教授  
江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院

杨柏霖 副主任医师  
南京中医药大学附属医院

杨江华 副教授  
皖南医学院弋矶山医院感染科

俞继卫 副主任医师  
上海交通大学医学院附属第三人民医院普外一科(胃肠外科)

袁建业 副研究员  
上海中医药大学附属龙华医院/脾胃病研究所

张火俊 副教授  
长海医院放射科

张力为 副教授  
新疆医科大学第一附属医院胸外科

赵春玲 副教授  
潍坊医学院细胞生物学教研室

郑培永 副教授  
上海中医药大学附属龙华医院消化内科

郑素军 副教授  
首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心

周晓武 副主任医师  
中国人民解放军空军总医院普外科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：\_\_\_\_\_





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079



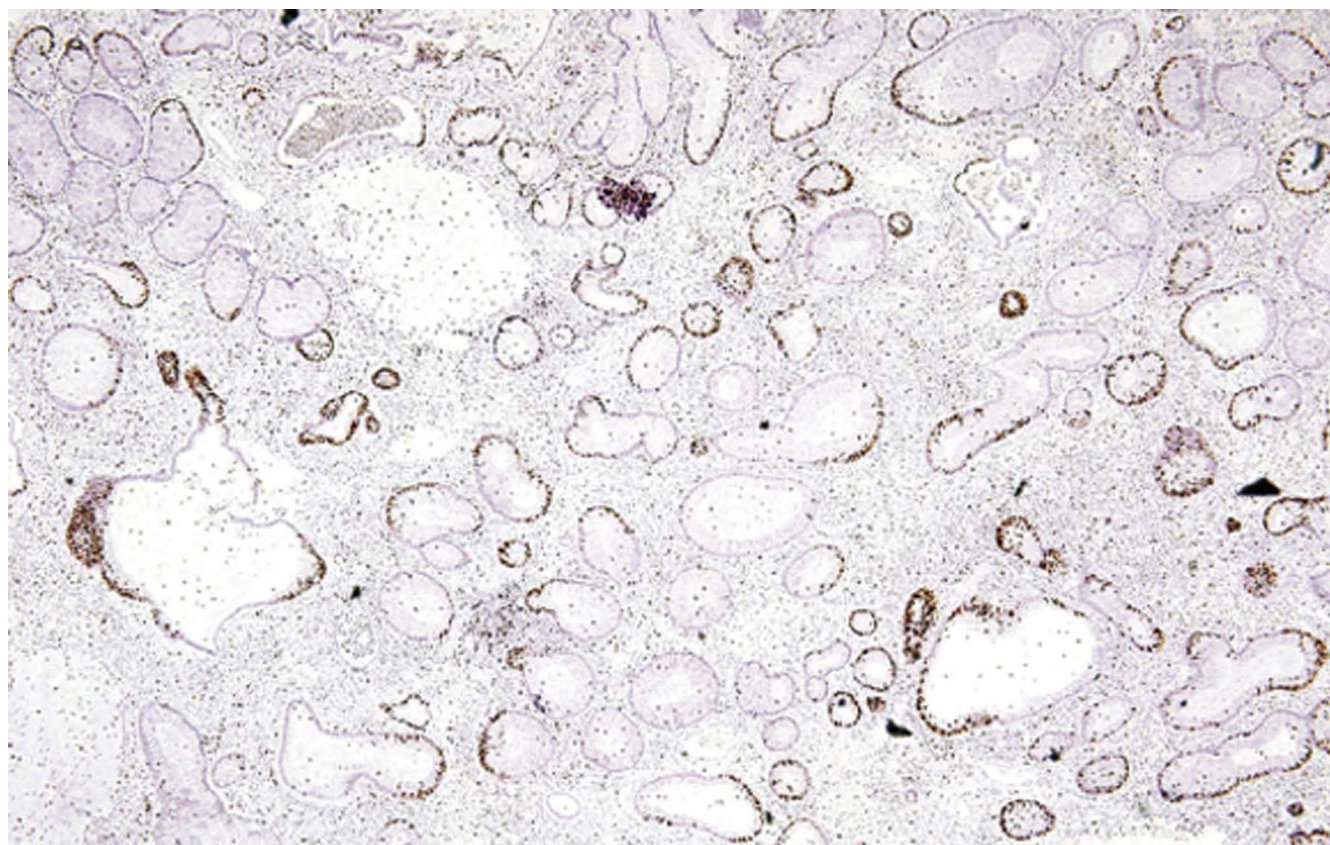
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2014 年 3 月 28 日      第 22 卷      第 9 期      (Volume 22 Number 9)**



**9/2014**

ISSN 1009-3079



《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊。《世界华人消化杂志》的英文摘要被《Chemical Abstracts》，《EMBASE/Excerpta Medica》，《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。



# 世界华人消化杂志®

## 编辑委员会

2012-01-01/2014-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》编辑委员会成员,由485位专家组成,分布在30个省市,自治区,特别行政区。其中,上海市81位、北京市71位、广东省40位、江苏省39位、辽宁省24位、陕西省22位、黑龙江省20位、湖北省18位、天津市16位、吉林省15位、湖南省14位、福建省13位、山东省13位、广西壮族自治区11位、河北省10位、四川省10位、浙江省10位、重庆市9位、安徽省8位、江西省8位、贵州省7位、新疆维吾尔自治区6位、云南省6位、海南省2位、河南省3位、甘肃省2位、宁夏回族自治区2位、山西省2位、内蒙古自治区1位和香港特别行政区1位。

### 总顾问

陈可冀教授  
黄志强教授  
纪小龙教授  
王宝恩教授  
王苑本教授  
杨春波教授  
杨思风教授  
姚希贤教授  
张万岱教授  
周学文教授

### 名誉主编

潘伯荣教授

### 主编

程英升教授  
党双锁教授  
江学良教授  
刘连新教授  
刘占举教授  
吕宾教授  
马大烈教授  
王俊平教授  
王小众教授  
姚登福教授  
张宗明教授

### 编委

#### 消化内科学

白爱平副教授  
白岚教授  
卜平教授  
陈国忠主任医师  
陈洪刚教授  
陈其奎教授  
陈卫昌教授  
陈贻胜教授  
程斌教授  
迟宝荣教授  
崔立红教授  
邓鑫教授  
丁士刚教授  
董蕾教授  
杜雅菊主任医师  
杜奕奇副教授  
樊冬梅副主任医师  
樊晓明教授

房静远教授  
冯志杰主任医师  
傅春彬主任医师  
甘华田教授  
高凌副教授  
戈之铮教授  
关玉盘教授  
关晓辉主任医师  
郭晓钟教授  
郝建宇教授  
郝丽萍副教授  
何继满教授  
何松教授

洪天配教授  
黄培林教授  
黄晓东主任医师  
黄颖秋教授  
黄缘教授  
季国忠教授  
江米足教授  
姜春萌教授  
姜慧卿教授  
姜相君主任医师  
金瑞教授  
蓝宇教授  
李淑德教授  
李瑜元教授  
李玉民教授  
廖家智副主任医师

林志辉教授  
刘冰熔教授  
刘凤斌教授  
刘改芳主任医师  
刘海峰主任医师  
刘海林主任医师  
刘亮明副教授  
陆伦根教授  
马红主任医师  
马欣主任医师  
毛恩强教授  
毛高平教授  
孟庆华教授  
缪应雷主任医师  
倪润洲教授  
欧希龙副教授  
潘秀珍教授  
潘阳林副教授  
朴云峰教授

秦成勇教授  
任粉玉教授  
任建林教授  
邵先玉教授  
沈琳主任医师  
沈薇教授  
施瑞华教授  
宋军副教授  
唐世刚教授  
田宇彬教授  
度必光教授  
宛新建副教授  
王邦茂教授  
王炳元教授  
王承党教授  
王江滨教授  
王蔚虹教授  
王晓艳副教授  
夏冰教授  
夏时海副教授  
徐灿霞教授  
徐可树教授  
杨建民教授  
张国主任医师  
姚树坤教授  
张国梁主任医师  
张军教授  
张庆瑜教授  
张小晋主任医师  
张筱茵副教授  
张志坚教授  
郑培永教授  
郑鹏远教授  
郑素军副主任医师  
郑勇教授  
周国雄主任医师  
周宇教授  
邹晓平主任医师  
诸琦教授  
于珮主任医师

#### 消化外科学

白雪副主任医师  
白雪巍副主任医师  
白玉作教授  
蔡开琳副教授  
蔡三军主任医师  
曹杰主任医师

陈炳官教授  
陈光教授  
陈海龙教授  
陈积圣教授  
陈进宏副主任医师  
陈凜教授  
陈汝福教授  
陈亚军主任医师  
陈钟教授  
程爱国教授  
程树群副教授  
崔云甫教授  
戴朝六教授  
戴冬秋教授  
丁义涛教授  
杜顺达副教授  
房林教授  
傅红副教授  
傅华群教授  
傅思源副教授  
傅晓辉副教授  
傅志仁主任医师  
高毅主任医师  
葛海燕教授  
巩鹏副教授  
谷俊朝主任医师  
顾国利副主任医师  
顾岩教授  
韩天权教授  
郝纯毅主任医师  
郝立强副教授  
何超教授  
何向辉教授  
何晓顺教授  
何裕隆教授  
胡安斌副教授  
黄志勇教授  
季加孚教授  
姜卫东教授  
姜波健教授  
金山主任医师  
康春博副主任医师  
孔静副教授  
黎乐群教授  
李革副教授  
李国威教授  
李华副教授  
李华山主任医师

李升平教授  
李胜研究员  
李涛副主任医师  
李文岗教授  
李小荣教授  
李旭副教授  
李永翔教授  
李正荣副教授  
李志霞教授  
李宗芳教授  
梁力建教授  
刘宝林教授  
刘超教授  
刘宏鸣副教授  
刘建教授  
刘亮副主任医师  
刘颖斌主任医师  
卢军华教授  
陆云飞教授  
禄韶英副教授  
吕凌副教授  
吕云福教授  
麻勇研究员  
齐清会教授  
秦春宏副主任医师  
秦华东教授  
秦环龙教授  
秦建民主任医师  
邱伟华主任医师  
仇毓东教授  
崔清波副教授  
单云峰主任医师  
沈柏用副教授  
施宝民教授  
施诚仁教授  
施晓雷副主任医师  
石毓君研究员  
宋新明教授  
宋振顺教授  
孙诚谊教授  
孙文兵教授  
孙星副教授  
孙学英教授  
邵升副教授  
谭晓冬教授  
汤朝晖副主任医师  
汤绍涛教授  
唐南洪教授

田晓峰教授  
汪波主任医师  
汪根树副教授  
王道荣主任医师  
王德盛副主任医师  
王凤山教授  
王刚副研究员  
王健生教授  
王蒙副教授  
王石林主任医师  
王文跃主任医师  
王悦华副主任医师  
王振宁教授  
王铮副研究员  
王正康教授  
王志刚副主任医师  
王忠裕教授  
吴泰璜教授  
伍晓汀教授  
谢敏主任医师  
徐迅迪教授  
徐泱副主任医师  
许戈良教授  
许剑民教授  
薛东波教授  
杨柏霖副主任医师  
杨桦教授  
杨家和主任医师  
杨银学教授  
殷正丰教授  
于聪慧教授  
俞继卫副主任医师  
于则利教授  
禹正杨副教授  
喻春钊教授  
张必翔主任医师  
张宏伟教授  
张佳林教授  
张进祥副教授  
张俊副研究员  
张力为副教授  
张伟辉主任医师  
赵刚副教授  
赵青川主任医师  
智绪亭教授  
周伟平教授  
周翔宇副主任医师  
邹小明教授

### 消化感染病学

白浪副教授  
陈国凤主任医师  
陈红松研究员  
陈建杰教授  
陈志辉副主任医师

丁惠国教授  
范建高教授  
范小玲主任医师  
范学工教授  
方今女教授  
高润平教授  
高泽立副教授  
龚国忠教授  
管世鹤副教授  
郭永红副主任医师  
胡国信主任医师  
靳雪源主任医师  
林潮双副教授  
刘正稳教授  
彭亮副主任医师  
钱林学主任医师  
孙殿兴主任医师  
谭德明教授  
汤华研究员  
王建明副教授  
王凯教授  
王怡主任医师  
吴君主任医师  
宣世英教授  
杨江华副教授  
姚鹏副教授  
张明辉副主任医师  
张占卿主任医师  
赵桂鸣主任医师  
赵秀英副教授  
周陶友副教授  
周霞秋教授  
朱传武教授  
庄林主任医师

### 消化中医药学

陈治水主任医师  
杜群副研究员  
扈晓宇主任医师  
黄恒青主任医师  
李军祥教授  
李康副教授  
李晓波教授  
李勇副教授  
李振华教授  
刘成海研究员  
刘绍能主任医师  
鲁玉辉副教授  
南极星教授  
牛英才研究员  
谭周进教授  
王富春教授  
王来友副教授  
王笑民主任医师

邢建峰副教授  
徐列明教授  
许玲教授  
徐庆教授  
袁红霞研究员  
张声生教授

### 消化肿瘤学

曹秀峰教授  
曹志成院士  
代智副研究员  
侯风刚副教授  
江建新副主任医师  
蒋敬庭教授  
李苏宜教授  
李瑗教授  
刘宝瑞教授  
刘炳亚研究员  
刘平教授  
刘云鹏教授  
卢宁副主任医师  
卢晓梅教授  
朴龙镇副教授  
沈克平主任医师  
王阁教授  
王锐副主任医师  
吴建兵教授  
向德兵副教授  
肖文华主任医师  
肖秀英副主任医师  
谢丹教授  
张凤春教授

### 消化影像学

白彬主任医师  
官泳松教授  
胡红杰主任医师  
李健丁教授  
龙学颖副主任医师  
倪才方教授  
魏经国教授  
肖恩华教授  
徐辉雄教授  
严惟力副教授  
杨薇副教授  
赵卫主任医师

### 消化内镜及介入治疗学

郝俊鸣副主任医师  
李家平教授  
刘杰民副主任医师  
茅爱武教授  
孙明军教授  
万军教授

吴沛宏教授  
余日胜主任医师  
袁友红副教授  
张火俊副教授

### 消化中西医结合学

范恒教授  
唐文富副教授  
王学美研究员  
魏睦新教授  
杨钦河教授  
袁建业副研究员  
张春虎副教授  
朱西杰教授

### 消化基础研究

曹洁副教授  
曹鹏副研究员  
陈敬贤教授  
陈志龙教授  
崔莲花副教授  
段义农教授  
樊红教授  
高国全教授  
高英堂研究员  
管冬元副教授  
郭长江研究员  
郭俊明教授  
何红伟副研究员  
何敏教授  
黄昆教授  
黄文林教授  
黄国教授  
洪艳教授  
李刚教授  
李君文研究员  
李孟森教授  
李文贵副教授  
李焱副研究员  
李增山副教授  
刘长征副教授  
刘克辛教授  
刘森副教授  
宁钧宇副研究员  
彭宗根副研究员  
任超世研究员  
任浩副教授  
任晓峰副教授  
邵华副主任药师  
沈东炎副教授  
沈涛副教授  
斯坎德尔·白克力教授  
台桂香教授  
谭学瑞教授

汤静主管药师  
滕旭副教授  
田文静副教授  
汪思应教授  
王钦红教授  
王书奎教授  
魏继福研究员  
文彬研究员  
吴道澄教授  
吴江锋副教授  
吴军研究员  
吴俊华副教授  
吴志强副教授  
夏敏教授  
徐健副主任医师  
徐宁志研究员  
许文燮教授  
杨晓明教授  
阴赓宏研究员  
郁卫东副研究员  
喻荣彬教授  
曾柱教授  
张红教授  
张淑坤副研究员  
赵平教授  
赵铁建教授  
周南进研究员  
周素芳教授  
周晓武副主任医师  
朱益民教授  
竺亚斌研究员

### 消化病理学

陈云昭副教授  
邓昊副教授  
杜祥教授  
樊祥山副主任医师  
郭炜教授  
季菊玲副教授  
李淳副教授  
李晟磊副主任医师  
刘丽江教授  
刘勇钢副主任医师  
门秀丽教授  
莫发荣副教授  
潘兴华副主任医师  
王鲁平主任医师  
王娅兰教授  
颜宏利副教授  
于颖彦教授  
余宏宇教授  
张锦生教授  
赵春玲副教授  
朱亮副教授

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2014 年 3 月 28 日 第 22 卷 第 9 期 (总第449期)

基础研究	1193 不同肠内营养制剂对小鼠肝切除术后肝再生及其结构功能的影响 段飞, 陈靓, 訾雪剑, 伏旭, 姚辉, 伏晓, 仇毓东
临床研究	1201 丙泊酚联合咪达唑仑及利多卡因在老年胃镜检查中麻醉效果的比较 卢海龙, 应佩华, 李伟杰 1207 乙型肝炎病毒相关肝癌组织及外周血膜联蛋白A2异常表达的临床意义 陈雯, 张海健, 顾星, 时运, 钱琦, 姚登福, 陆少林
文献综述	1214 维生素D在肝病中作用的研究进展 赵景, 郑素军 1219 肿瘤微环境在肝细胞癌中的作用 李晓鹏, 崔东来 1226 CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg细胞与肝移植免疫耐受的关系 廖晖, 杨定华 1235 uPA/uPAR系统在肿瘤中作用的研究进展 尚润泽, 戴斌, 王德盛 1241 抵抗素与胰岛素抵抗及肥胖关系的研究进展 陈信, 张琼方, 何颂华, 张意, 周时高
研究快报	1247 解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生模型大鼠p16、PTEN基因的去甲基化和蛋白诱导表达 李志钢, 张伟, 邱作成, 夏宽宏, 纪勇, 李玲, 连军, 安娟 1256 双氢青蒿素联合吉西他滨治疗胰腺癌及其机制 吴伟林, 郑继行, 陈玲玲, 蔡振寨, 薛战雄 1262 大黄酸与A2建立大鼠“泻剂结肠”模型的比较 刘兴, 王文革, 次苗苗 1266 HIPK2调控COX-2及β-catenin表达对人结直肠癌细胞VEGF表达的影响 胡强, 周利红, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 颜琳琳, 任建琳, 李琦
临床经验	1275 胃泌素与骨桥蛋白在胃癌及癌前病变组织中表达的相关性 苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛 1280 肝肠钙黏蛋白在新疆哈萨克族、汉族胃腺癌中的表达及意义 谷翠华, 尚国臣, 李睿, 田书信, 陈卫刚, 郑勇 1285 肝包虫内囊摘除术后胆漏再手术治疗9例 陈长义, 陈耀堂, 李慧明, 田希兰, 张志红, 时煜山 1289 肝病者肝病严重程度与心功能的相关性 朱飞飞, 何庆荣, 李兆一, 党立群, 夏庆 1294 非酒精性脂肪性肝病合并自身免疫异常132例 吴凤娟, 徐芸, 保洁, 刘象 1300 广西地区丙型肝炎病毒的基因型分布与流行病学特征 唐维, 苏明华, 江建宁, 刘志红, 韦智, 晏双龙, 覃锦耀, 滕春玲 1307 脂肪肝患者肝脏剪切波速度与实验室指标的关系 王宇, 李广霞, 李素梅, 邹松平, 靳元 1312 胆肠吻合术后早期进食与传统进食的临床疗效对比 彭沙沙, 段健, 黄汉飞, 林杰, 徐王刚, 黄智, 苏子庭, 曾仲 1317 监护室新生儿长期胃肠外营养致胆汁淤积症的表现及预后 赵军育, 吴立江, 刘晓莉 1322 定量检测溃疡性结肠炎患者血清色氨酸的临床意义 苏丽, 李楠, 吴凯, 王欣, 张萌 1328 CacyBP/SIP在不同大肠组织中的表达及临床意义 翟惠虹, 冯珊珊, 仇长青, 武婧, 王安萍 1334 Survivin基因启动子区多态性与结肠癌易感性及临床意义的相关性 朱正明, 欧阳喜, 罗洪亮, 黄俊, 朱培谦



病例报告	1341 原发性肝脏平滑肌肉瘤1例 刘春华, 李庆彦, 管珊, 王思奎
附录	I-V 《世界华人消化杂志》投稿须知 I 2014年国内国际会议预告
志谢	I 志谢世界华人消化杂志编委
消息	1200 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》影响因子0.873 1206 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》(2011年版) 1255 《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号 1288 《世界华人消化杂志》参考文献要求 1340 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊
封面故事	翟惠虹, 冯珊珊, 仇长青, 武婧, 王安萍. CacyBP/SIP在不同大肠组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1328-1333 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1328.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1328.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1328">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1328</a>
本期责任人	编务 车新鑫; 送审编辑 鲁亚静, 郭鹏; 组版编辑 鲁亚静; 英文编辑 王天奇; 责任编辑 郭鹏; 形式规范审核编辑部主任 田滢; 最终清样审核总编 马连生

# 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名  
(旬刊)

创刊 1993-01-15

改刊 1998-01-25

出版 2014-03-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

主编

程英升, 教授, 200233, 上海市, 上海交通大学附属第六人民医院放射科

党双锁, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

江学良, 教授, 250031, 山东省济南市, 中国人民解放军济南军区总医院消化科

刘连新, 教授, 150001, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学第一临床医学院普外科

刘占举, 教授, 200072, 上海市, 同济大学附属第十人民医院消化内科

吕宾, 教授, 310006, 浙江省杭州市, 浙江中医药大学附属医院(浙江省中医院)消化科

马大烈, 教授, 200433, 上海市, 中国人民解放军第二军医大学附属长海医院病理科  
王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

王小众, 教授, 350001, 福建省福州市, 福建医科大学附属协和医院消化内科

姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市, 南通大学附属医院临床医学研究中心

张宗明, 教授, 100016, 北京市, 清华大学第一附属医院消化医学中心

编辑部

田滢, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-59080035 手机: 13901166126

传真: 010-85381893

E-mail: wcjd@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Co., Limited

Flat C, 23/F., Lucky Plaza, 315-321 Lockhart

Road, Wan Chai, Hong Kong, China

Fax: +852-3177-9906

Telephone: +852-6555-7188

E-mail: bpgoffice@wjgnet.com

<http://www.wjgnet.com>

制作

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号,

远洋国际中心D座903室

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》,《中文核心期刊要目总览(2011年版)》,《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

《世界华人消化杂志》正式开通了在线办公系统(<http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>), 所有办公流程一律可以在线进行, 包括投稿、审稿、编辑、审读, 以及作者、读者、编者之间的信息反馈交流。

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表本刊编辑部和本刊编委会的观点, 除非特别声明。本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换。

定价

每期90.67元 全年36期3264.00元

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

# World Chinese Journal of Digestology

## March 2014 Contents in Brief Volume 22 Number 9

<b>BASIC RESEARCH</b>	1193 Effects of two kinds of enteral nutrition preparations on liver regeneration and function in mice after partial hepatectomy <i>Duan F, Chen L, Zi XJ, Fu X, Yao H, Fu X, Qiu YD</i>
<b>CLINICAL RESEARCH</b>	1201 Effects of propofol with midazolam versus lidocaine during gastroscopy in elderly patients <i>Lu HL, Ying PH, Li WJ</i> 1207 Overexpression of annexin A2 in hepatic tissue and serum of patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma <i>Chen W, Zhang HJ, Gu X, Shi Y, Qian Q, Yao DF, Lu SL</i>
<b>REVIEW</b>	1214 Role of vitamin D in liver diseases <i>Zhao J, Zheng SJ</i> 1219 Role of tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma <i>Li XP, Cui DL</i> 1226 CD4 <sup>+</sup> CD25 <sup>+</sup> Foxp3 <sup>+</sup> Treg cells and liver transplant tolerance <i>Liao H, Yang DH</i> 1235 Role of uPA/uPAR system in tumors <i>Shang RZ, Dai B, Wang DS</i> 1241 Role of resistin in insulin resistance and obesity <i>Chen X, Zhang QF, He SH, Zhang Y, Zhou SG</i>
<b>RAPID COMMUNICATION</b>	1247 Jiedu Huayu Jianpi Fang induces demethylation and increased expression of <i>p16</i> and <i>PTEN</i> genes in gastric dysplasia in rats <i>Li ZG, Zhang W, Qiu ZC, Xia KH, Ji Y, Li L, Lian J, An J</i> 1256 Effect of dihydroartemisinin combined with gemcitabine for treatment of pancreatic cancer in mice <i>Wu WL, Zheng JX, Chen LL, Cai ZZ, Xue ZX</i> 1262 Comparison of rat models of cathartic colon established with rhein and rhubarb <i>Liu X, Wang WG, Ci MM</i> 1266 HIPK2 reduces VEGF expression by regulating expression of COX-2 and $\beta$ -catenin in human colorectal cancer cells <i>Hu Q, Zhou LH, Liu X, Sui H, Fu XL, Yan LL, Ren JL, Li Q</i>
<b>CLINICAL PRACTICE</b>	1275 Correlation between expression of gastrin and osteopontin in gastric carcinoma <i>Su W, Wu HC, Yang YY, Mu YY</i> 1280 Significance of expression of Li-cadherin in gastric adenocarcinoma in Xinjiang Kazakh and Han patients <i>Gu CH, Shang GC, Li R, Tian SX, Chen WG, Zheng Y</i> 1285 Reoperation for biliary leakage after hepatic hydatid cyst removal <i>Chen CY, Chen YT, Li HM, Tian XL, Zhang ZH, Shi YS</i> 1289 Correlation between severity of liver diseases and left ventricular function in patients with liver diseases <i>Zhu FF, He QR, Li ZY, Dang LQ, Xia Q</i> 1294 Non-alcoholic fatty liver disease complicated with autoimmune problems: Analysis of 132 cases <i>Wu FJ, Xu Y, Bao J, Liu X</i> 1300 Epidemiological characteristics and genotype distribution of hepatitis C virus in Guangxi <i>Tang W, Su MH, Jiang JN, Liu ZH, Wei Z, Yan SL, Qin JY, Teng CL</i> 1307 Virtual touch tissue quantification and biochemical indicators for quantitative diagnosis of fatty liver <i>Wang Y, Li GX, Li SM, Zou SP, Jin Y</i> 1312 Clinical effects of early postoperative oral feeding versus traditional oral feeding after bilioenteric anastomosis <i>Peng SS, Duan J, Huang HF, Lin J, Xu WG, Huang Z, Su ZT, Zeng Z</i> 1317 Clinical manifestations and prognosis of long-term parenteral nutrition induced cholestasis in neonates <i>Zhao JY, Wu LJ, Liu XL</i> 1322 Clinical significance of quantitative detection of serum tryptophan in patients with ulcerative colitis <i>Su L, Li N, Wu K, Wang X, Zhang M</i> 1328 Clinical significance of expression of CacyBP/SIP in colorectal tissues <i>Zhai HH, Feng SS, Qiu CQ, Wu J, Wang AP</i> 1334 <i>Survivin</i> gene promoter polymorphisms: Clinical significance and association with susceptibility to colon cancer <i>Zhu ZM, Ouyang X, Luo HL, Huang J, Zhu PQ</i>

<b>CASE REPORT</b>	1341 A case of primary leiomyosarcoma of the liver <i>Liu CH, Li QY, Guang S, Wang SK</i>
<b>APPENDIX</b>	I – V Instructions to authors of <i>World Chinese Journal of Digestology</i> I Meeting events calendar in 2014
<b>ACKNOWLEDGMENT</b>	I Acknowledgments to reviewers of <i>World Chinese Journal of Digestology</i>
<b>COVER</b>	<i>Zhai HH, Feng SS, Qiu CQ, Wu J, Wang AP.</i> Clinical significance of expression of CacyBP/SIP in colorectal tissues. <i>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</i> 2014; 22(9): 1328-1333 <a href="http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1328.asp">http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1328.asp</a> <a href="http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1328">http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1328</a>
<b>RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE</b>	Assistant Editor: <i>Xin-Xin Che</i> Review Editor: <i>Ya-Jing Lu, Peng Guo</i> Electronic Page Editor: <i>Ya-Jing Lu</i> English Language Editor: <i>Tian-Qi Wang</i> Editor-in-Charge: <i>Peng Guo</i> Proof Editor: <i>Ying Tian</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i>

Indexed/Abstracted by Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica, Abstract Journals and Digital Object Identifier

## Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** March 28, 2014

### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

### ISSN

ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online)

### EDITOR-IN-CHIEF

**Ying-Sheng Cheng, Professor**, Department of Radiology, Sixth People's Hospital of Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

**Shuang-Suo Dang, Professor**, Department of Infectious Diseases, the Second Affiliated Hospital of Medical School of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710004, Shaanxi Province, China

**Xue-Liang Jiang, Professor**, Department of Gastroenterology, General Hospital of Jinan Military Command of Chinese PLA, Jinan 250031, Shandong Province, China

**Lian-Xin Liu, Professor**, Department of General Surgery, the First Clinical Medical College of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

**Zhan-Ju Liu, Professor**, Department of Gastroenterology, Shanghai Tenth People's Hospital, Tongji University, Shanghai 200072, China

**Bin Lv, Professor**, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hang-zhou 310006, Zhejiang Province, China

**Da-Lie Ma, Professor**, Department of Pathology,

Changhai Hospital, the Second Military Medical University of Chinese PLA, Shanghai 200433, China

**Jun-Ping Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, People's Hospital of Shanxi, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

**Xiao-Zhong Wang, Professor**, Department of Gastroenterology, Union Hospital, Fujian Medical University, Fuzhou 350001, Fujian Province, China

**Deng-Fu Yao, Professor**, Clinical Research Center, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China

**Zong-Ming Zhang, Professor**, Department of General Surgery, Digestive Medical Center, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Tsinghua University, Beijing 100016, China

### EDITORIAL OFFICE

Ying Tian, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-59080035 13901166126  
Fax: +86-10-85381893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>

### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Co., Limited  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai,  
Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188

E-mail: [bpg@baishideng.com](mailto:bpg@baishideng.com)

<http://www.wjgnet.com>

### PRODUCTION CENTER

Beijing Baishideng BioMed Scientific Co., Limited  
Room 903, Building D, Ocean International Center, No. 62 Dongsihuan Zhonglu, Chaoyang District, Beijing 100025, China  
Telephone: +86-10-85381892  
Fax: +86-10-85381893

### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 90.67 Yuan for each issue  
RMB 3264 Yuan for one year

### COPYRIGHT

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved. Articles published by this Open Access journal are distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Non-commercial License, which permits use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, the use is non commercial and is otherwise in compliance with the license.

### SPECIAL STATEMENT

All articles published in this journal represent the viewpoints of the authors except where indicated otherwise.

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

Full instructions are available online at [www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp](http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgzx.asp). If you do not have web access please contact the editorial office.



# 不同肠内营养制剂对小鼠肝切除术后肝再生及其结构功能的影响

段飞, 陈靛, 瞿雪剑, 伏旭, 姚辉, 伏晓, 仇毓东

段飞, 陈靛, 瞿雪剑, 伏旭, 姚辉, 伏晓, 仇毓东, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆胰外科 江苏省南京市 210008  
段飞, 2011级南京大学硕士, 主要从事肝再生与营养支持的研究。  
作者贡献分布: 此课题由仇毓东与段飞设计; 研究过程由段飞、陈靛、瞿雪剑及伏旭操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由仇毓东提供; 数据分析由段飞、姚辉及伏晓完成; 本论文写作由段飞完成。

通讯作者: 仇毓东, 教授, 主任医师, 210008, 江苏省南京市中山路321号, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆胰外科。

yudongqiu510@163.com

收稿日期: 2013-12-17 修回日期: 2014-01-22

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Effects of two kinds of enteral nutrition preparations on liver regeneration and function in mice after partial hepatectomy

Fei Duan, Liang Chen, Xue-Jian Zi, Xu Fu, Hui Yao, Xiao Fu, Yu-Dong Qiu

Fei Duan, Liang Chen, Xue-Jian Zi, Xu Fu, Hui Yao, Xiao Fu, Yu-Dong Qiu, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yu-Dong Qiu, Professor, Chief Physician, Department of Hepatopancreatobiliary Surgery, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. yudongqiu510@163.com

Received: 2013-12-17 Revised: 2014-01-22

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the effects of two kinds of enteral nutrition preparations on liver regeneration and function in mice after partial hepatectomy (PH).

**METHODS:** A mouse model of oral enteral nutrition (EN) after 70%PH was used in this study. Seventy-two male ICR mice were randomly divided into a PH control group (routine diet after PH), a TP-MCT group (EN with TP-MCT after PH) and a SP group (EN with Peptisorb after PH). Serum samples and liver tissue specimens were collected 1, 3 and 7 d after PH. Serum samples were used to measure the levels of alanine

aminotransferase (ALT), aspartate transaminase (AST), albumin, interleukin-6 (IL-6) and IL-10. The liver tissue specimens were used to measure the proliferation of hepatocytes and the morphology of liver tissue by immunohistostaining and HE staining.

**RESULTS:** In comparison with the PH control group, serum levels of ALT and AST on days 1, 3 and 7 decreased significantly in the TP-MCT group and SP group ( $P < 0.05$  for all). Compared with the PH control group, the level of IL-6 on day 1 decreased significantly in the TP-MCT group and SP group, but the level of IL-10 increased significantly in the TP-MCT group and SP group ( $P < 0.05$  for all). Liver regeneration was enhanced significantly on days 1, 3 and 7 in the TP-MCT group and SP group, especially in the SP group.

**CONCLUSION:** Enteral nutrition can well protect mouse liver function and promote liver regeneration after PH, with SP (Peptisorb) having a better effect.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatectomy; Enteral nutrition; Peptisorb; TP-MCT

Duan F, Chen L, Zi XJ, Fu X, Yao H, Fu X, Qiu YD. Effects of two kinds of enteral nutrition preparations on liver regeneration and function in mice after partial hepatectomy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1193-1200 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1193.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22i9.1193>

## 摘要

**目的:** 探讨两种不同肠内营养(enteral nutrition, EN)制剂对小鼠肝切除术后肝脏再生及其结构功能的影响。

**方法:** 建立小鼠70%肝切除术后口服EN模型, ♂ ICR小鼠72只随机均分为70%肝切除对照组

## ■背景资料

肠内营养(enteral nutrition, EN)在围手术期中营养支持治疗中的作用越来越受到重视。EN不仅能提供能量支持, 控制术后过度炎症反应, 更有利于肝脏的结构和功能的维护。目前临床上常用的EN制剂分为整蛋白型(EN混悬液TP-MCT, 商品名康全甘)和短肽游离氨基酸混合型(EN混悬液SP, 商品名百普力), 而对于肝切除围手术期EN的制剂的选择目前并无相关文献报道。

## ■同行评议者

潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院干细胞与组织器官工程研究中心

## ■研究前沿

本研究采用小鼠70%肝切除模型,通过围手术期喂养上述两种不同类型的营养制剂,旨在探讨不同EN制剂对肝切除术后肝脏结构功能恢复和肝再生的影响,为EN在肝脏外科的应用提供有价值的实验依据。

(术后常规饮食)、EN混悬液TP-MCT组(70%肝切除后选用TP-MCT喂养)、EN混悬液SP组(70%肝切除后选用SP喂养)。检测术后1、3、7 d肝功能指标,肝再生情况和残肝组织病理学改变及相关炎症因子的情况。

**结果:**与对照组相比,SP组及TP-MCT组术后1、3、7 d外周血中谷丙转氨酶、谷草转氨酶有所降低,差异有统计学意义( $P<0.05$ );与对照组相比,SP组及TP-MCT组术后第1天血清抗炎因子白介素-10(interleukin-10, IL-10)水平有所上升,血清促炎因子IL-6水平有所降低( $P<0.05$ );与对照组相比,HE染色及PCNA显示SP组和TP-MCT组术后肝再生明显,肝脏结构得到恢复,特别是SP组于术后1、3、7 d呈现显著性肝脏再生。

**结论:**小鼠肝切除后予以EN,可以保护术后肝脏结构功能,促进肝再生,应用EN混悬液SP优于TP-MCT。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**肝切除;肠内营养;肠内营养混悬液SP;肠内营养混悬液TP-MCT

**核心提示:**该论文重点探讨了肠内营养混悬液TP-MCT和SP对70%肝组织切除小鼠的肝再生及炎症反应水平的影响,结果从不同营养制剂辅助或支持肝再生的角度提示临床医师重视肝组织切除手术后营养支持治疗的重要性,结果证实营养支持治疗对肝再生有支持作用,最大的亮点是对临床治疗有较大的参考价值。

段飞, 陈靓, 訾雪剑, 伏旭, 姚辉, 伏晓, 仇毓东. 不同肠内营养制剂对小鼠肝切除术后肝再生及其结构功能的影响. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1193-1200 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1193.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1193>

## 0 引言

在当今外科学领域,学者们正积极致力于运用精准肝脏外科的理念和技术来保护肝切除术后肝功能,减少术后并发症<sup>[1,2]</sup>。近年来,在手术技术与理念飞速发展的同时,肠内营养(enteral nutrition, EN)在围手术期中营养支持治疗中的作用越来越受到重视<sup>[3,4]</sup>。相关基础研究表明,EN不仅能提供能量支持,控制术后过度炎症反应,更有利于肝脏的结构和功能的维护<sup>[5,6]</sup>。目前临床上常用的EN制剂分为整蛋白型(EN混悬液TP-

MCT, 商品名康全甘)和短肽游离氨基酸混合型(EN混悬液SP, 商品名百普力),而对于肝切除围手术期EN制剂的选择目前并无相关文献报道。本研究采用小鼠70%肝切除模型,通过围手术期喂养上述两种不同类型的营养制剂,旨在探讨不同EN制剂对肝切除术后肝脏结构功能恢复和肝再生的影响,为EN在肝脏外科的应用提供有价值的实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 实验采用♂ICR小鼠72只,8-15周龄,体质量25-30 g(购自南京大学附属鼓楼医院动物实验中心)。饲养室温度为18℃-22℃,湿度为60%,每天光照12 h(6:00-18:00)。动物被随机分为3组(每组24只):70%肝切除对照组(术后常规饮食)、TP-MCT组(70%肝切除术后行TP-MCT口服EN支持)、SP组(70%肝切除术后行SP口服EN支持)。EN混悬液TP-MCT(TP-MCT, 商品名“康全甘”,1 kal/mL,批号: H20093283),EN混悬液SP(peptisorb, 商品名“百普力”,1 kal/mL,批号: H20010285),小鼠抗PCNA购自Invitrogen公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 模型建立:**肝切除对照组术前禁食12 h,不禁水,行70%肝切除后行常规饮食。其他EN两组术前2 d起分别给予各自对应的EN液进行喂养,增加小鼠胃肠道适应,至术前12 h停止,术前不禁水,完成70%肝切除后,开始建立肝切除术后口服EN模型,即同组每2只小鼠置于1笼,每笼配备2个标有刻度的喂养瓶,分别灌装饮水和对应EN液,供小鼠随意饮用,此外不再供给小鼠其他任何营养能量来源。喂养瓶每日消毒换新并灌注新鲜营养液,同时计算并记录每笼每日营养液消耗量<sup>[7]</sup>。所有小鼠均采用乙醚吸入麻醉,上述70%肝切除术即经典的Higgins-Anderson 70%肝切除术,依次切除小鼠左叶及中叶后关腹<sup>[8]</sup>。

**1.2.2 标本处理:**各组分别于肝切除术后1、3、7 d处死小鼠,小鼠处死前称其体质量,处死后取出残肝,生理盐水漂洗后称质量,残肝组织保存方法:(1)部分组织固定在40 g/L甲醛保存;(2)部分组织放置液氮和-80℃冰箱中保存。

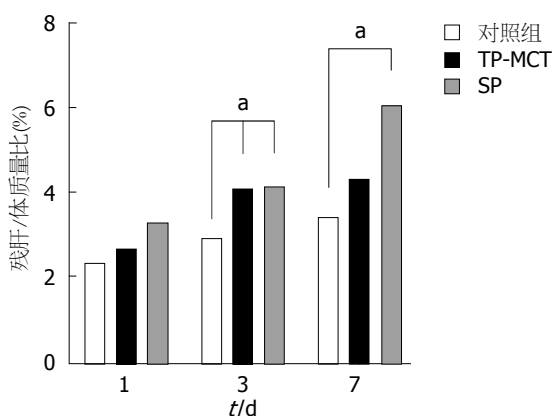
**1.2.3 术后血清学指标检测:**各组小鼠分别于肝切除术后1、3、7 d处死前取血,用生化分析仪检测血清中谷丙转氨酶(alanine aminotransferase,

表 1 小鼠肝切除后肠内营养液消耗量(mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ , mL)

分组	术后时间(d)		
	1	2-3	4-7
TP-MCT组	14.8 $\pm$ 2.6	21.4 $\pm$ 3.2	21.2 $\pm$ 2.8
SP组	13.6 $\pm$ 3.5	19.3 $\pm$ 3.2	19.6 $\pm$ 1.7

表 2 小鼠肝切除后血清谷丙转氨酶的变化(mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ , U/L)

分组	术后时间(d)		
	1	3	7
对照组	1478.9 $\pm$ 80.0	339.6 $\pm$ 30.2	132.5 $\pm$ 27.2
TP-MCT组	975.5 $\pm$ 26.4 <sup>a</sup>	167.8 $\pm$ 50.6 <sup>a</sup>	37.3 $\pm$ 15.2 <sup>a</sup>
SP组	786.7 $\pm$ 78.5 <sup>b</sup>	55.3 $\pm$ 17.2 <sup>b</sup>	30.8 $\pm$ 14.8 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.图 1 小鼠肝切除术后残肝/体质量比. <sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 相同时间对照组.

ALT)、谷草转氨酶(aspartate transaminase, AST)及白蛋白的水平.

1.2.4 组织病理学检测: 各组分别于肝切除术后1、3、7 d取0.5 cm  $\times$  0.5 cm  $\times$  0.5 cm左右小鼠肝组织在40 g/L甲醛中固定后, 包埋切片行HE染色, 并进行厚度为5  $\mu$ m的连续切片, HE染色观察肝脏病理结构的改变; PCNA免疫组织化学染色按试剂盒说明书进行, 免疫组织化学阳性结果判定标准: 以细胞核呈界限清楚的棕黄色-黄色反应为阳性. 每张切片随机选择相邻5个高倍视野, 每个视野计数100个肝细胞, 然后计算其平均阳性率.

1.2.5 血清白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IL-10检测: 取各组小鼠1、3、7 d冻存血清, 使用炎症因子检测试剂盒(BD公司)检测血清IL-6、IL-10水平.

统计学处理 采用SPSS16.0统计软件分析,

## ■ 相关报道

EN作为外科营养支持的首选途径目前已经得到业界的广泛认同, EN较之肠外营养, 可以维持肠壁完整, 抑制肠源性感染, 增加门静脉血流, 促进胃肠激素释放, 刺激肝再生, 更加符合生理等诸多优点.

实验数据以mean  $\pm$  SD表示, 两组间均数差异采用独立样本 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 基本情况 所有各组小鼠试验过程中处死前均未出现死亡. TP-MCT组与SP组间术后日均EN液消耗量差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表1).

2.2 肝再生情况 与对照组比较, 肝切除术后3 d EN两组小鼠残肝/体质量比有所增高, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, 术后7 d SP组残肝/体质量比有所增高, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); SP与TP-MCT组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(图1).

2.3 血清酶学指标变化 与对照组比较, 肝切除术后1、3、7 d两组EN组血清ALT、AST水平有所降低, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与TP-MCT组比较, SP组血清ALT、AST水平的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表2, 3); 与对照组比较, 术后1、3、7 d两组EN组血清白蛋白水平的差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(表4).

2.4 组织病理学检测 HE染色切片显示: 对照组肝切除术后1、3 d肝细胞呈现明显肿胀和气球样变改变, 汇管区炎症细胞浸润明显, 肝细胞排列混乱, 肝小叶结构不清; TP-MCT组肝切除术后3、7 d肝细胞肿胀和气球样变有所改善, 但肝细胞排列、肝小叶结构改善不明显, 可见少量分裂相伴核增大; SP组1、3、7 d肝细胞均无明显肿胀及气球样变, 汇管区仅少量炎症细胞浸润, 肝小叶结构清晰, 肝细胞排列整齐, 肝索、肝窦清楚, 可见较多分裂相伴核增大(图2).



## ■创新盘点

目前已有大量文章已经证实肝脏外科中营养支持的必要性,且临床类型文章居多,从基础层面探讨营养支持对于肝脏再生及结构功能恢复机制类型的文章较少。

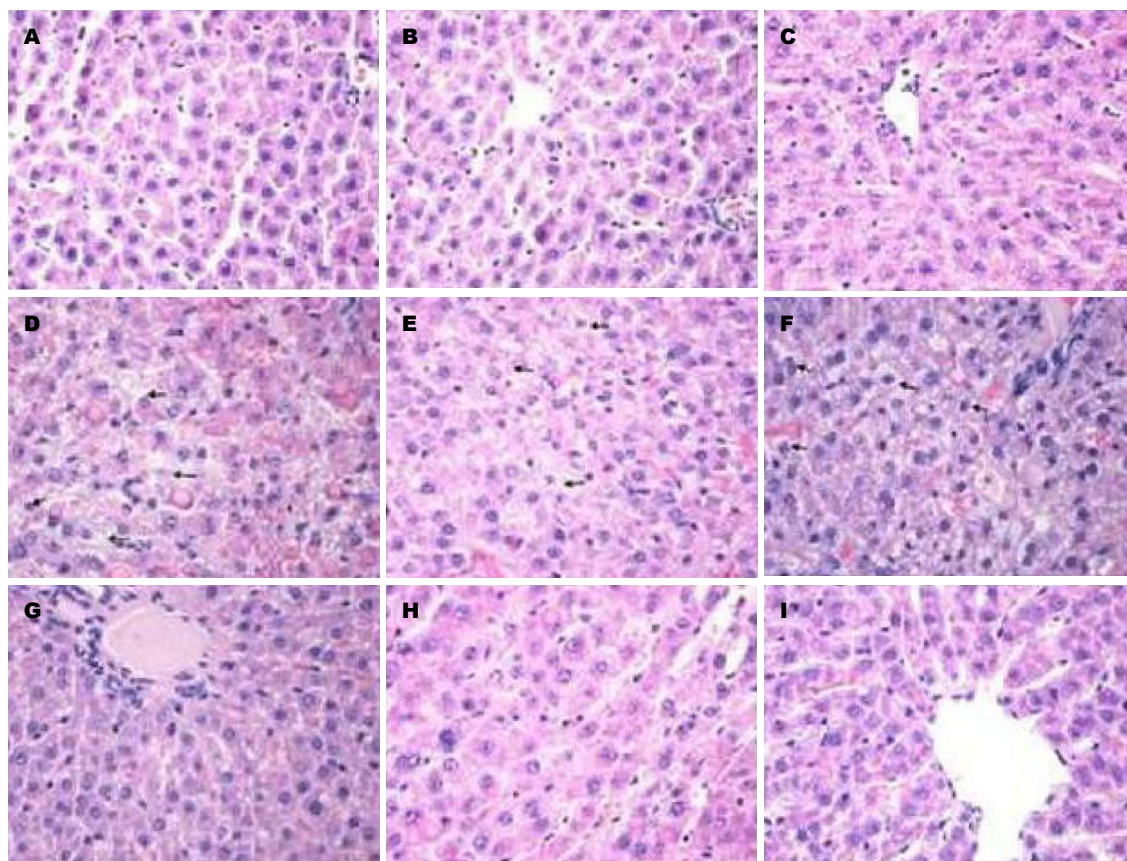


图2 小鼠肝切除术后肝脏HE染色( $\times 400$ ). A: 对照组肝切除术后1 d; B: 对照组肝切除术后3 d; C: 对照组肝切除术后7 d; D: TP-MCT组肝切除术后1 d; E: TP-MCT组肝切除术后3 d; F: TP-MCT组肝切除术后7 d; G: SP组肝切除术后1 d; H: SP组肝切除术后3 d; I: SP组肝切除术后7 d.

表3 小鼠肝切除后血清谷草转氨酶的变化(mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ , U/L)

分组	术后时间(d)		
	1	3	7
对照组	2290.1 $\pm$ 98.2	679.3 $\pm$ 78.3	247.3 $\pm$ 36.4
TP-MCT组	1548.3 $\pm$ 87.6 <sup>a</sup>	358.5 $\pm$ 48.2 <sup>a</sup>	137.3 $\pm$ 25.2 <sup>a</sup>
SP组	1254.7 $\pm$ 108.5 <sup>a</sup>	223.3 $\pm$ 37.2 <sup>a</sup>	90.8 $\pm$ 14.8 <sup>b</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组.

表4 小鼠肝切除后血清白蛋白的变化(mean  $\pm$  SD,  $n = 8$ , g/L)

分组	术后时间(d)		
	1	3	7
对照组	25.2 $\pm$ 1.5	27.3 $\pm$ 1.2	30.7 $\pm$ 1.2
TP-MCT组	26.7 $\pm$ 0.8	29.8 $\pm$ 0.9	33.6 $\pm$ 1.5
SP组	28.7 $\pm$ 1.1	31.3 $\pm$ 0.8	36.8 $\pm$ 1.3

2.5 PCNA免疫组织化学检测 与对照组相比, TP-MCT组肝切除术后第3天、第7天PCNA染色细胞明显增加, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 而SP组1、3、7 d PCNA染色细胞均显著增加, 差

异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); SP与TP-MCT组间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )(图3, 4).

2.6 血清IL-6、IL-10检测 (1)与对照组比较, 两组EN组肝切除术后第1天血清IL-6水平降低, 差异

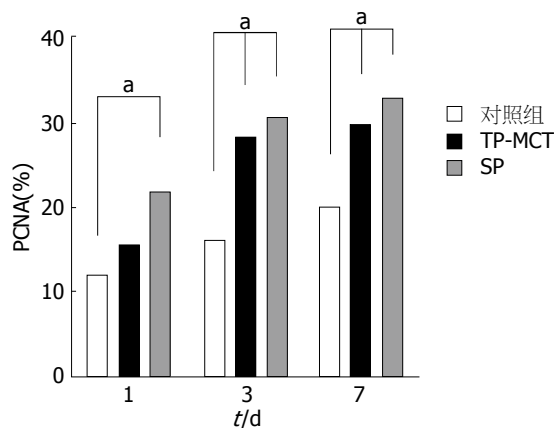


图3 小鼠肝切除术后PCNA表达。<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs 相同时间对照组。

具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与TP-MCT组比较, SP组肝切除术后1、3、7 d血清IL-6水平的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); (2)与对照组相比, 两组EN组肝切除术后第1天血清IL-10水平上升, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 与对照组相比, SP组术后第3天血清IL-10水平升高, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(图5, 6)。

### 3 讨论

肝切除术作为肝脏外科最主要的治疗手段面临着重大变革, 以精确的术前评估、精细的手术操作和精良的术后处理为核心的肝脏精准外科日益受到关注<sup>[1,9,10]</sup>。长期的临床实践证明, 对于肝脏肿瘤采取肝切除术有望提高患者的无瘤生存率, 但是病灶切除后的残余肝脏能否维持功能、顺利修复再生将直接影响患者的生存, 而围手术期采用有针对性的营养支持治疗可明显减轻患者肝功能损害, 显著降低并发症, 对肝再生有促进作用<sup>[11-13]</sup>。我们的前期研究证实: 大鼠肝切除围手术期静脉应用 $\omega$ -3不饱和脂肪酸( $\omega$ -3PUFA)可抑制血清中炎症因子的释放, 控制门静脉系统的内毒素血症, 有效保护肝功能和肝脏紧密连接, 促进肝再生<sup>[14,15]</sup>。但较之肠外营养, 目前EN作为目前外科临床营养支持的首选途径已经达成共识并已广泛引用于临床, EN具有促进肠蠕动功能的恢复, 保护肠道黏膜, 防止肠道细菌移位, 改善肠肝循环, 加速门静脉系统的血液循环, 促进胃肠道激素的分泌等作用, 使整个过程更加符合生理, 同时各种营养物质和营养因子直接进入肝脏, 为创伤后的肝脏提供良好的营养环境, 促进肝脏蛋白质的合成<sup>[16,17]</sup>。目前已有大量临床研究表明围手术期早期采用EN支持治疗和特异性营养成分可以促进患者胃肠功能

恢复, 减轻肝功能损害并降低肠外营养相关并发症如胆汁淤积、导管感染等的发生率<sup>[18-20]</sup>。但是, 肝脏切除围手术期应用何种EN制剂更有利于患者的恢复成了目前临床上迫切要了解的问题, 同时EN制剂对于术后肝再生和肝脏结构功能恢复的影响作用目前还不清楚<sup>[21-23]</sup>。因此, 我们选择TC-MCT、SP两种目前临床上常用的EN制剂作对照, 初步探讨了不同EN制剂对小鼠部分肝切除术后肝脏再生和结构功能的影响。

本实验重点观察了在口服EN条件下两种EN制剂对小鼠70%肝切除术后对肝再生及肝脏结构功能恢复有无促进作用。研究结果显示, 通过血清学指标检测发现, 与肝切除对照组相比, EN两组术后1、3 d血清ALT、AST均明显降低, 而SP效果更为显著, 说明EN对肝切除术后早期有很强的肝功能保护作用, 使肝损害得以很大的缓解, 使创伤后的肝脏提前进入恢复阶段。与对照组相比, 术后血清白蛋白水平EN两组无明显变化, 说明两种EN制剂对肝脏白蛋白合成功能影响不大, 这可能与白蛋白的半衰期时间较长有关, 后续研究可以检测血清前白蛋白, 其半衰期仅有2 d, 能更好地反映术后急性期肝脏合成代谢的变化<sup>[24]</sup>。HE染色及PCNA染色显示与对照组相比, EN两组术后肝脏结构的得到了更好的恢复且肝再生明显, 而SP效果更具优势, PCNA结果显示特别是在早期即肝切除术后1 d, 与对照组相比, 肝脏再生即出现显著性差异, 这与残肝/体质量比这一大体宏观结果当中SP晚期即术后7 d的优势得以体现不谋而合。这可能由于肝切除术后肠屏障受到应激性损伤导致营养吸收不良所致, 而SP作为短肽混合游离氨基酸型EN制剂, 较之整蛋白型EN制剂TC-MCT, 创伤应激条件下更易于被机体吸收利用, 减轻胃肠道负担, 从而能更好地恢复肝切除术后肠屏障, 促进营养物质的代谢吸收, 为肝脏再生及其结构功能的恢复良好的物质基础; 而肠屏障和肝脏结构及肝脏紧密连接等密切相关, 所以, 术后早期恢复肠屏障功能还有利于促进肝再生及肝脏小叶结构的修复<sup>[25-27]</sup>。同时围手术期营养EN能够很好地抑制全身炎症因子及促进抗炎因子的释放, 从而减少机体的应激性创伤, 本研究中, 术后应用EN于肝切除术后早期能很好地促进抗炎因子IL-10及抑制炎症因子IL-6的释放, 而SP对于其效果更为明显, 这也与其他同类研究结果相类似<sup>[28-30]</sup>。所

**应用要点**  
运用转化医学的方法, 通过基础实验探究机制, 取得结果, 指导临床肝脏外科围手术期EN制剂的选择。



■同行评价  
本文具有一定科学性和应用价值。

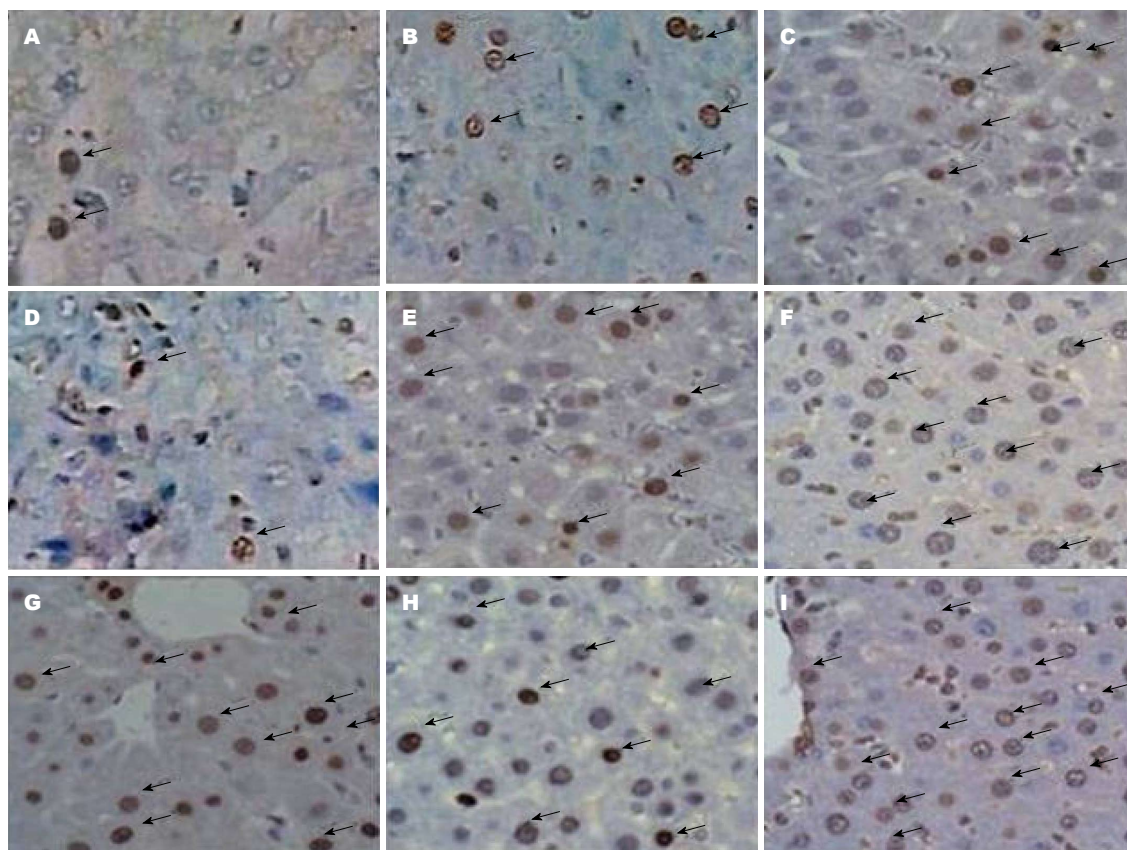


图4 小鼠肝切除术后肝脏PCNA染色( $\times 400$ )。A: 对照组肝切除术后1 d; B: 对照组肝切除术后3 d; C: 对照组肝切除术后7 d; D: TP-MCT组肝切除术后1 d; E: TP-MCT组肝切除术后3 d; F: TP-MCT组肝切除术后7 d; G: SP组肝切除术后1 d; H: SP组肝切除术后3 d; I: SP组肝切除术后7 d。箭头所指为阳性细胞核。

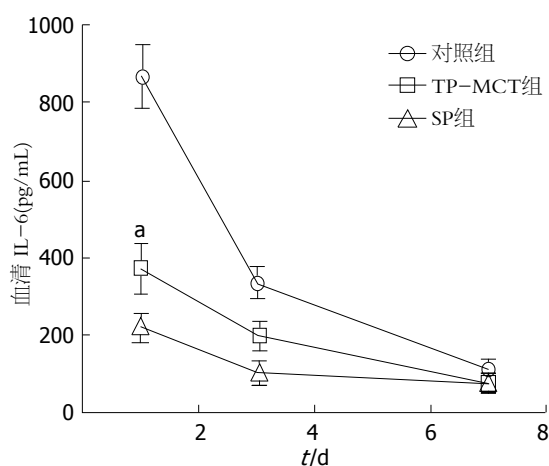


图5 小鼠肝切除术后IL-6水平比较。\* $P < 0.05$  vs 相同时间对照组。IL-6: 白介素6。

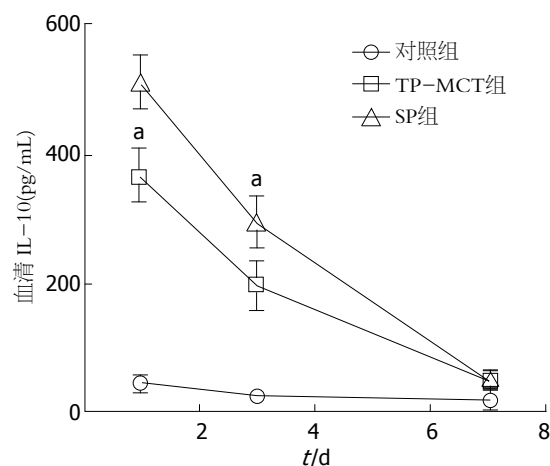


图6 小鼠肝切除术后IL-10水平比较。\* $P < 0.05$  vs 相同时间对照组。IL-6: 白介素6。

以我们认为术后应用EN制剂,尤其是短肽游离氨基酸混合型制剂可以在一定程度上减轻肝内实质组织和非实质组织的损伤,更有效的促进肝切除术后肝再生和肝脏结构恢复。

总之,本研究在小鼠70%肝切除后口服EN模型的基础上,采用围手术期应用两种目前临床

常用EN制剂的方法,通过肝脏血清学指标,组织病理学检测和相关炎症因子的比较,对比了不同EN制剂对于肝切除术后影响。本研究结果显示肝切除术后早期应用EN特别是短肽游离氨基酸混合型EN制剂可以保护术后肝脏结构及加速肝功能的恢复,并有效的促进肝再生,为临床上



肝切除术后EN制剂的选择以及进一步研究EN支持在肝切除中的应用提供了一定的借鉴意义。

#### 4 参考文献

- Fan ST. Precise hepatectomy guided by the middle hepatic vein. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 430-434 [PMID: 17690044]
- 仇毓东, 朱新华, 徐庆祥, 吴亚夫, 周建新, 丁义涛. 精准肝切除治疗原发性肝癌的疗效评价. *中华消化外科杂志* 2010; 9: 21-23
- Fan ST, Lo CM, Lai EC, Chu KM, Liu CL, Wong J. Perioperative nutritional support in patients undergoing hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 1994; 331: 1547-1552 [PMID: 7969324]
- 黎介寿. 围手术营养支持的需要性. *肠外与肠内营养* 2006; 13: 129-131
- Qiu Y, Wang M, Tan T, Yuan X, Ding Y. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on hepatic tight junction after partial hepatectomy in rats. *Transplant Proc* 2011; 43: 1480-1483 [PMID: 21693221 DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.02.060]
- 陈政, 仇毓东, 周建新, 张维, 周铁, 冯伟. 精准肝切除围手术期病人肠内营养治疗的临床研究. *肠外与肠内营养* 2011; 18: 266-268, 271
- Javid PJ, Greene AK, Garza J, Gura K, Alwayn IP, Voss S, Nose V, Satchi-Fainaro R, Zausche B, Mulkern RV, Jaksic T, Bistrian B, Folkman J, Puder M. The route of lipid administration affects parenteral nutrition-induced hepatic steatosis in a mouse model. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1446-1453 [PMID: 16150347]
- Mezera V, Kučera O, Moravcová A, Peterová E, Cervinková Z. Epigallocatechin Gallate Does Not Accelerate the Early Phase of Liver Regeneration After Partial Hepatectomy in Rats. *Dig Dis Sci* 2013 Dec 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24318805]
- 董家鸿, 黄志强. 精准肝切除-21世纪肝脏外科新理念. *中华外科杂志* 2009; 47: 1601-1605
- 董家鸿, 杨世忠, 段伟东, 纪文斌, 蔡守旺, 王敬, 史宪杰, 姜凯, 夏红天, 何蕾, 张文智, 黄晓强, 黄志强. 精准肝脏外科技术在复杂肝占位性病变切除中的应用. *中华外科杂志* 2009; 21: 1610-1615
- Omata J, Fukatsu K, Maeshima Y, Moriya T, Murakoshi S, Noguchi M, Okamoto K, Fukazawa S, Saitoh D, Mochizuki H, Yamamoto J, Hase K. Enteral nutrition rapidly reverses total parenteral nutrition-induced impairment of hepatic immunity in a murine model. *Clin Nutr* 2009; 28: 668-673 [PMID: 19541395 DOI: 10.1016/j.clnu.2009.05.015]
- 范上达, 邱宗祥, 潘冬平. 肝癌的综合治疗. *中华消化外科杂志* 2011; 10: 241-246
- Okabayashi T, Nishimori I, Sugimoto T, Maeda H, Dabanaka K, Onishi S, Kobayashi M, Hanazaki K. Effects of branched-chain amino acids-enriched nutrient support for patients undergoing liver resection for hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 1869-1873 [PMID: 18717761 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05504.x]
- Yan XP, Wang S, Yang Y, Qiu YD. Effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on rat livers after partial hepatectomy via LKB1-AMPK signaling pathway. *Transplant Proc* 2011; 43: 3604-3612 [PMID: 22172813 DOI: 10.1016/j.transproceed.2011.10.045]
- 杨跃, 段飞, 蔡浩, 陈靓, 林建宇, 仇毓东.  $\omega$ -3多不饱和脂肪酸对肝硬化大鼠肝切除术后肝细胞再生及肝纤维化程度的影响. *肠外与肠内营养* 2013; 20: 103-106
- Black D, Lyman S, Heider TR, Behrns KE. Molecular and cellular features of hepatic regeneration. *J Surg Res* 2004; 117: 306-315 [PMID: 15047136]
- 黎介寿. 肠内营养-外科临床营养支持的首选途径. *肠外与肠内营养* 2003; 10: 129-130
- Richter B, Schmandra TC, Golling M, Bechstein WO. Nutritional support after open liver resection: a systematic review. *Dig Surg* 2006; 23: 139-145 [PMID: 16809912 DOI: 10.1159/000094345]
- Kaido T, Mori A, Ogura Y, Hata K, Yoshizawa A, Iida T, Yagi S, Uemoto S. Impact of enteral nutrition using a new immuno-modulating diet after liver transplantation. *Hepatogastroenterology* 2010; 57: 1522-1525 [PMID: 21443114]
- Weimann A, Braga M, Harsanyi L, Laviano A, Ljungqvist O, Soeters P, Jauch KW, Kemen M, Hiesmayr JM, Horbach T, Kuse ER, Vestweber KH. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Surgery including organ transplantation. *Clin Nutr* 2006; 25: 224-244 [PMID: 16698152 DOI: 10.1016/j.clnu.2006.01.015]
- Javid PJ, Collier S, Richardson D, Iglesias J, Gura K, Lo C, Kim HB, Duggan CP, Jaksic T. The role of enteral nutrition in the reversal of parenteral nutrition-associated liver dysfunction in infants. *J Pediatr Surg* 2005; 40: 1015-1018 [PMID: 15991188 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2005.03.019]
- Kaufman SS. Prevention of parenteral nutrition-associated liver disease in children. *Pediatr Transplant* 2002; 6: 37-42 [PMID: 11906641 DOI: 10.1034/j.1399-3046.2002.10061.x]
- Rayes N, Seehofer D, Theruvath T, Schiller RA, Langrehr JM, Jonas S, Bengmark S, Neuhaus P. Supply of pre- and probiotics reduces bacterial infection rates after liver transplantation--a randomized, double-blind trial. *Am J Transplant* 2005; 5: 125-130 [PMID: 15636620 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00649.x]
- Robinson MK, Trujillo EB, Mogensen KM, Rounds J, McManus K, Jacobs DO. Improving nutritional screening of hospitalized patients: the role of prealbumin. *J Parenter Enteral Nutr* 2003; 27: 389-395; quiz 439 [PMID: 14621119 DOI: 10.1177/0148607103027006389]
- Miele L, Valenza V, La Torre G, Montalto M, Cammarota G, Ricci R, Mascianà R, Forgione A, Gabrieli ML, Perotti G, Vecchio FM, Rapaccini G, Gasbarrini G, Day CP, Grieco A. Increased intestinal permeability and tight junction alterations in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2009; 49: 1877-1887 [PMID: 19291785 DOI: 10.1002/hep.22848]
- Kakazu E, Kanno N, Ueno Y, Shimosegawa T. Extracellular branched-chain amino acids, especially valine, regulate maturation and function of monocyte-derived dendritic cells. *J Immunol* 2007; 179: 7137-7146 [PMID: 17982106]
- Fouts DE, Torralba M, Nelson KE, Brenner DA, Schnabl B. Bacterial translocation and changes in the intestinal microbiome in mouse models of liver disease. *J Hepatol* 2012; 56: 1283-1292 [PMID: 22326468 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.01.019]
- Bourdi M, Eiras DP, Holt MP, Webster MR, Reilly TP, Welch KD, Pohl LR. Role of IL-6 in an IL-10 and IL-4 double knockout mouse model uniquely susceptible to acetaminophen-induced liver injury. *Chem Res Toxicol* 2007; 20: 208-216 [PMID: 17305405]

- 29 Shibata M, Hirota M, Nozawa F, Okabe A, Kurimoto M, Ogawa M. Increased concentrations of plasma IL-18 in patients with hepatic dysfunction after hepatectomy. *Cytokine* 2000; 12: 1526-1530 [PMID: 11023668]
- 30 Tsiaousi ET, Hatzitolios AI, Trygonis SK, Savopoulos CG. Malnutrition in end stage liver disease: recommendations and nutritional support. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 527-533 [PMID: 18397483 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2008.05369.x]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 中国科技信息研究所发布《世界胃肠病学杂志(英文版)》 影响因子 0.873

**本刊讯** 一年一度的中国科技论文统计结果2012-12-07由中国科技信息研究所(简称中信所)在北京发布。《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 2011年《世界胃肠病学杂志(英文版)》总被引频次6 979次, 影响因子0.873, 综合评价总分88.5分, 分别位居内科学类52种期刊的第1位、第3位、第1位, 分别位居1998种中国科技核心期刊(中国科技论文统计源期刊)的第11位、第156位、第18位; 其他指标: 即年指标0.219, 他引率0.89, 引用刊数619种, 扩散因子8.84, 权威因子2 144.57, 被引半衰期4.7, 来源文献量758, 文献选出率0.94, 地区分布数26, 机构分布数1, 基金论文比0.45, 海外论文比0.71。

经过多项学术指标综合评定及同行专家评议推荐,《世界胃肠病学杂志(英文版)》再度被收录为“中国科技核心期刊”(中国科技论文统计源期刊)。根据2011年度中国科技论文与引文数据库(CSTPCD 2011)统计结果,《世界胃肠病学杂志(英文版)》荣获2011年“百种中国杰出学术期刊”称号。

# 丙泊酚联合咪达唑仑及利多卡因在老年胃镜检查中麻醉效果的比较

卢海龙, 应佩华, 李伟杰

卢海龙, 应佩华, 李伟杰, 浙江省丽水市缙云县第二人民医院麻醉科 浙江省丽水市 321404

卢海龙, 麻醉医师, 主要从事临床麻醉的研究。

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由卢海龙完成; 研究过程由应佩华完成; 数据分析由李伟杰完成。

通讯作者: 卢海龙, 麻醉医师, 321404, 浙江省丽水市缙云县壶镇溪东南路46号, 浙江省丽水市缙云县第二人民医院麻醉科。

10361238@qq.com

电话: 0578-3163459

收稿日期: 2014-02-08 修回日期: 2014-03-06

接受日期: 2014-03-13 在线出版日期: 2014-03-28

## Effects of propofol with midazolam versus lidocaine during gastroscopy in elderly patients

Hai-Long Lu, Pei-Hua Ying, Wei-Jie Li

Hai-Long Lu, Pei-Hua Ying, Wei-Jie Li, Department of Anesthesiology, the Second People's Hospital of Jinyun County, Lishui 321404, Zhejiang Province, China

Correspondence to: Hai-Long Lu, Clinical Anesthetist, Department of Anesthesiology, the Second People's Hospital of Jinyun County, 46 Huzhen Xidong South Road, Lishui 321404, Zhejiang Province, China. 10361238@qq.com

Received: 2014-02-08 Revised: 2014-03-06

Accepted: 2014-03-13 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To compare the effects of propofol with midazolam versus lidocaine during endoscopy in elderly patients.

**METHODS:** Ninety-seven ASA-II class patients were used as an experimental group. They were treated with propofol with midazolam for painless gastroscopy between July 2008 and July 2013 at our hospital. Eighty-two ASA-II level patients who used traditional lidocaine gel pulp in painless gastroscopy were used as a control group. Age, weight, baseline blood pressure between two groups had no significant differences ( $P > 0.05$  for all). Professional medical personnel recorded the changes in blood pressure, heart rate, oxygen saturation and adverse reactions in the examination process.

**RESULTS:** After the painless gastroscopy procedure, blood pressure and heart rate in the experimental group were significantly lower than those in the control group (blood pressure:  $90.2 \text{ mmHg} \pm 2.5 \text{ mmHg}$  vs  $131.2 \text{ mmHg} \pm 3.4 \text{ mmHg}$ ; heart rate:  $70.2 \pm 1.5$  vs  $85.0 \pm 6.4$ ,  $P < 0.05$ ). During the examination process, blood pressure and heart rate dropped initially and then rose to a stable level in the experimental group, while in the control group, blood pressure and heart rate initially increased and then decreased to a stable level. The differences were statistically significant ( $P < 0.05$ ) within the two groups. Oxygen saturation between groups and within groups showed no significant differences ( $P > 0.05$ ). Compared with the control group, adverse reactions in the experimental group were significantly reduced ( $\chi^2 = 12.991, 142.482, 55.838, 179.000, P < 0.05$ ). Times to wake up from anesthesia and drug elimination were relatively short in the experimental group ( $1.51 \text{ s} \pm 0.17 \text{ s}$ ,  $8.21 \text{ s} \pm 2.32 \text{ s}$ ).

**CONCLUSION:** Propofol combined with midazolam in painless gastroscopy can effectively reduce the risk of cardiovascular diseases in patients and is associated with shorter times to wake up and drug elimination.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Propofol; Midazolam; Painless gastroscopy; Anesthesia

Lu HL, Ying PH, Li WJ. Effects of propofol with midazolam versus lidocaine during gastroscopy in elderly patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1201-1206 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1201.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1201>

## 摘要

**目的:** 本文旨在探讨丙泊酚联合咪达唑仑及利多卡因胶浆两种麻醉方法在老年患者内镜检查中的效果。

## ■背景资料

无痛电子胃镜是指在检查前, 医生对患者使用麻醉手段减少检查时间及痛苦的方法, 因其无痛苦、创伤小、时间短和精确度高的优点, 已逐步代替普通胃镜。因此, 选择起效快、不良反应小、视野清晰的麻醉药对提高诊断效率具有重要作用。本研究通过对丙泊酚联合咪达唑仑静脉麻醉及传统利多卡因胶浆两种麻醉方法在胃镜检查中应用效果比较, 选择有效麻醉方式提高患者的舒适度并降低危险率。

**■同行评议者**  
陈贻胜, 教授, 福建省立医院



### ■相关报道

老年患者大多呼吸功能较差,可联合使用阿托品,减少呼吸道分泌物,有利于维护呼吸通畅。

**方法:** 选择2008-07/2013-07于我院应用丙泊酚联合咪达唑仑麻醉方式行无痛胃镜检查的美国麻醉医师协会(American Society of Anesthesiology, ASA) II级患者97例作为实验组,应用传统利多卡因胶浆行无痛胃镜检查患者的ASA-II级患者82例作为对照组,两组患者在年龄、体质量、基础血压方面均无统计学差异( $P>0.05$ ),具有可比性。分别由专业医护人员记录检查过程患者血压、心率、血氧饱和度及不良反应程度变化。

**结果:** 实验组检查中及检查后血压和心率均比对照组低(血压:  $90.2 \text{ mmHg} \pm 2.5 \text{ mmHg}$  vs  $131.2 \text{ mmHg} \pm 3.4 \text{ mmHg}$ , 心率:  $70.2 \text{ 次/min} \pm 1.5 \text{ 次/min}$  vs  $85.0 \text{ 次/min} \pm 6.4 \text{ 次/min}$ ,  $P<0.05$ ), 其差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 实验组检查过程中血压及心率先下降,再上升至稳定水平,对照组先上升,再下降至稳定水平,两组组内差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。血氧饱和度在组间和组内比较均无明显差异( $P>0.05$ )。实验组与对照组相比产生不良反应患者数明显减少( $\chi^2 = 12.991, 142.482, 55.838, 179.000$ ,  $P<0.05$ )。麻醉苏醒时间与药物消除时间较短( $1.51 \text{ s} \pm 0.17 \text{ s}, 8.21 \text{ s} \pm 2.32 \text{ s}$ )。

**结论:** 在无痛胃镜技术中使用丙泊酚联合咪达唑仑方式可有效降低患者发生心血管疾病的危险率,并因苏醒迅速、药物消除作用快、舒适度高等优点可广泛应用于临床。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 丙泊酚; 咪达唑仑; 无痛胃镜; 麻醉

**核心提示:** 实验组患者在实施麻醉后苏醒来、药物作用消除时间短,可在检查完成后立即离开,与传统局部麻醉方法无显著差异,而在患者检查后不良反应程度方面显出较大优势。实验组表现恶心呕吐、呛咳及躁动患者数明显少于对照组,且无主诉术后不良反应者,与对照组差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。说明丙泊酚联合咪达唑仑方法对老年麻醉患者的不良反应较少,患者在麻醉苏醒后较少发生不良反应,主观感受舒适度较好。

卢海龙, 应佩华, 李伟杰. 丙泊酚联合咪达唑仑及利多卡因在老年胃镜检查中麻醉效果的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1201-1206 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1201.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1201>

## 0 引言

纤维胃镜作为许多消化系统疾病诊断和治疗常见的方法,是一种侵入性的检测。由于其检查痛苦大、安全程度低,很容易使患者产生焦虑感及恐惧感,甚至导致检查中断,影响疾病及时诊断。除此之外,还可影响循环系统引发心脑血管意外<sup>[1]</sup>。而无痛电子胃镜(painless gastroscopy)的出现,较为有效地避免了这些不良反应。无痛电子胃镜是指在检查前,医生对患者使用麻醉手段减少检查时间及痛苦的方法,因其无痛苦、创伤小、时间短和精确度高的优点,已逐步代替普通胃镜<sup>[2]</sup>。因此,选择起效快、不良反应小、视野清晰的麻醉药对提高诊断效率具有重要作用<sup>[3,4]</sup>。本研究通过对丙泊酚联合咪达唑仑静脉麻醉及传统利多卡因胶浆两种麻醉方法在胃镜检查中应用效果比较,选择有效麻醉方式提高患者的舒适度并降低危险率,现报告如下。

苦大、安全程度低,很容易使患者产生焦虑感及恐惧感,甚至导致检查中断,影响疾病及时诊断。除此之外,还可影响循环系统引发心脑血管意外<sup>[1]</sup>。而无痛电子胃镜(painless gastroscopy)的出现,较为有效地避免了这些不良反应。无痛电子胃镜是指在检查前,医生对患者使用麻醉手段减少检查时间及痛苦的方法,因其无痛苦、创伤小、时间短和精确度高的优点,已逐步代替普通胃镜<sup>[2]</sup>。因此,选择起效快、不良反应小、视野清晰的麻醉药对提高诊断效率具有重要作用<sup>[3,4]</sup>。本研究通过对丙泊酚联合咪达唑仑静脉麻醉及传统利多卡因胶浆两种麻醉方法在胃镜检查中应用效果比较,选择有效麻醉方式提高患者的舒适度并降低危险率,现报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 材料** 2011-07/2013-07于我院行无痛胃镜检查患者共960例,根据患者病情程度及耐受能力不同,分别使用丙泊酚联合咪达唑仑及利多卡因胶浆麻醉两种方式进行检查,选择其中应用丙泊酚联合咪达唑仑麻醉方式行无痛胃镜检查的老年患者,共530例,按美国麻醉师学会(American Society of Anesthesiology, ASA)麻醉风险分级标准<sup>[5]</sup>选择ASA-II级患者97例作为实验组,其中男性45例,女性52例,年龄65-83岁,平均 $75.4 \text{ 岁} \pm 5.2 \text{ 岁}$ ,平均血压( $135.0 \text{ mmHg} \pm 10.4 \text{ mmHg}$ )/( $82.0 \text{ mmHg} \pm 7.9 \text{ mmHg}$ )。应用传统利多卡因胶浆行胃镜检查患者共430例,选择ASA-II级患者82例作为对照组,其中男性39例,女性43例,年龄55-85岁,平均 $77.4 \text{ 岁} \pm 6.1 \text{ 岁}$ ,平均血压( $141.0 \text{ mmHg} \pm 11.3 \text{ mmHg}$ )/( $87.0 \text{ mmHg} \pm 9.2 \text{ mmHg}$ )。排除心肺功能异常者后,两组患者在年龄、体质量、基础血压等一般资料方面均无统计学差异( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 麻醉:** 麻醉前所有患者和家属了解麻醉过程及手术方法,签署知情同意书。入室后对患者进行常规心电监护,观察患者检查前、检查中以及检查后收缩压、心率以及血气饱和度的变化。术后送入监护室复苏,由专业医护人员记录不良反应、主观感受和麻醉苏醒、药物消除时间。实验组:患者确认无麻醉禁忌症后禁食5 h,行完善术前准备,静脉注入咪达唑仑 $0.2 \text{ mg/kg}$ 后给予丙泊酚 $1.5 \text{ mg/kg}$ ( $20 \text{ mg/s}$ )至起效,再以微量泵静脉滴注维持<sup>[6]</sup>。检查中血氧饱和度低于90%时,可加面罩进行辅助呼吸,如术中血压低

表 1 两组患者基础状态差异比较 (mean ± SD)

分组	n	性别(n)		年龄(岁)	血压(mmHg)	
		男性	女性		舒张压	收缩压
实验组	97	45	52	75.4 ± 5.2	145.0 ± 10.4	112.3 ± 7.9
对照组	82	39	43	77.4 ± 6.1	151.0 ± 11.3	119.1 ± 9.2
$\chi^2/t$	—	0.024		2.337	1.181	1.356
P值	—	0.876		0.051	0.433	0.152

## ■应用要点

在无痛胃镜技术中使用丙泊酚联合咪达唑仑方式可有效降低患者发生心血管疾病的危险率, 并因苏醒迅速、药物消除作用快、舒适度高优点可广泛应用于临床。

表 2 两组患者检查过程中收缩压差异比较 (mean ± SD, mmHg)

分组	n	检查前	检查中	检查后	F值	P值
实验组	97	112.6 ± 7.9	90.2 ± 2.5	109.5 ± 10.1	13.225	0.000
对照组	82	119.3 ± 9.2	131.2 ± 3.4	120.4 ± 2.9	10.457	0.000
t值	—	1.356	1.849	9.437	—	—
P值	—	0.152	0.004	0.000	—	—

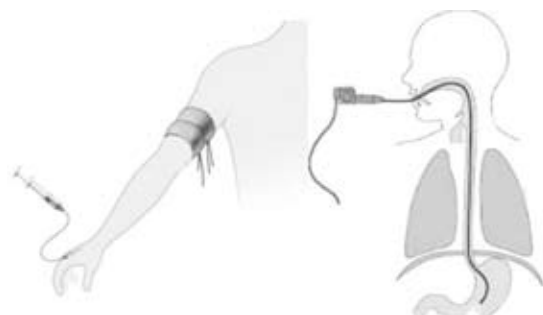


图 1 静脉麻醉及无痛电子胃镜示意图。

于90 mmHg/60 mmHg, 少量给予麻黄素静脉注射升压, 待患者生命体征稳定后再行检查。麻醉方式如图1。对照组: 患者禁食12 h, 禁饮6 h后, 在检查前给予5-10 min服用盐酸利多卡因胶浆10 mL(其中利多卡因成分150 mg), 在咽部含服1 min左右慢慢咽下, 待观察诱导起效后行无痛胃镜检查。

1.2.2 观察项目: 采用心电监护仪全程监测患者血压、心率和血氧饱和度值, 同时由专业医护人员观察患者不良反应、自主呼吸状态, 记录麻醉苏醒时间及药物消除时间<sup>[7]</sup>。麻醉苏醒时间以患者思想清晰、可正确回答问题为标准, 药物消除时间以患者可自由走动为标准, 跟踪患者术中舒适度及满意度<sup>[8]</sup>。

**统计学处理** 所有数据均采用SPSS20.0进行处理, 数据以mean ± SD表示, 计数资料利用四格表 $\chi^2$ 检验, 计量资料采用t检验, 不同时间点及组间分析使用统计学重复测量设计方差分析, 所有统计检验均为双侧概率检验, 检验标准为 $\alpha =$

0.05.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 比较两组患者基础状态差异 实验组和对照组在性别、年龄以及基础血压和患病程度方面经t检验及 $\chi^2$ 检验比较分析均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表1)。

2.2 比较两组检查过程中收缩压、心率及血氧饱和度的变化 经重复测量方差及t检验统计分析后可看出, 实验组检查中及检查后血压和心率均比对照组低, 其差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); 实验组检查过程中血压及心率先下降, 再上升至稳定水平, 对照组先上升, 再下降至稳定水平, 两组组内差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ). 血氧饱和度在组间和组内比较均无明显差异( $P > 0.05$ )(表2-4)。

2.3 比较两组患者不良反应及主观感受、麻醉苏醒时间、药物消除时间变化 根据两组患者主诉不良反应及体征变化, 可发现实验组即采用丙泊酚合并咪达唑仑方法与利多卡因胶浆方法相比产生不良反应患者数明显减少( $P < 0.05$ ). 麻醉苏醒时间与药物消除时间较短(表5)。

## 3 讨论

胃镜技术虽然已经非常成熟, 但是其在操作过程中对患者造成的不适感仍非常严重, 有时甚至引发心脑血管意外对生命安全造成极大威胁, 因此寻找一种安全、有效、迅速的麻醉方法对临床具有极具重要的意义<sup>[9-11]</sup>。而近些年来, 无痛

## ■同行评价

本文选题实用, 方法科学, 结果可靠, 结论对临床有指导意义。

表 3 两组患者检查过程中心率差异比较 (mean  $\pm$  SD, 次/min)

分组	n	检查前	检查中	检查后	F值	P值
实验组	97	79.7 $\pm$ 8.2	70.2 $\pm$ 1.5	72.3 $\pm$ 5.1	21.984	0.000
对照组	82	81.1 $\pm$ 7.8	85.0 $\pm$ 6.4	83.6 $\pm$ 3.2	32.456	0.000
t值	—	1.163	22.080	17.376	—	—
P值	—	0.246	0.000	0.000	—	—

表 4 两组患者检查过程中血氧饱和度差异比较 (mean  $\pm$  SD, %)

分组	n	检查前	检查中	检查后	F值	P值
实验组	97	95.5 $\pm$ 7.2	97.0 $\pm$ 2.5	96.6 $\pm$ 3.1	1.172	0.211
对照组	82	96.2 $\pm$ 8.8	96.0 $\pm$ 6.0	95.8 $\pm$ 4.2	1.413	0.121
t值	—	0.585	1.495	1.4631	—	—
P值	—	0.560	0.136	0.145	—	—

表 5 两组患者不良反应及主观感受及麻醉苏醒时间和药物消除时间差异比较 (n, mean  $\pm$  SD)

分组	n	呛咳	恶心呕吐	躁动	术后舒适	苏醒时间(min)	消除时间(min)
实验组	97	9	0	9	97	1.51 $\pm$ 0.17	8.21 $\pm$ 2.32
对照组	82	25	72	51	0	—	—
$\chi^2$ 值	—	12.991	142.482	55.838	179.000	—	—
P值	—	0.000	0.000	0.000	0.000	—	—

麻醉胃镜的出现合理的解决了这一问题, 倍受各领域内镜专家的青睐. 但丙泊酚单用因需要较大剂量而使不良反应明显, 例如呼吸抑制引起血压下降等, 已被相关领域研究证实<sup>[12,13]</sup>. 而咪达唑仑因具有较强镇痛作用, 对心血管影响小等优点, 广泛应用于心血管疾病患者的麻醉过程中. 两者联用, 可减少丙泊酚用量从而减小不良反应<sup>[14]</sup>. 本文根据丙泊酚联用咪达唑仑与传统利多卡因胶浆在血压、心率、血氧饱和度以及不良反应变化方面的比较, 验证了此方法临床应用的价值.

从本项研究中可以看出, 实验组在实施麻醉后, 收缩压及心率均有一定程度的下降, 检查结束后在一定程度内上升并稳定. 这说明丙泊酚联合咪达唑仑方法进行麻醉的过程是相对安全的, 收缩压及心率的降低使患者血液在一定范围内保持稳定<sup>[15]</sup>, 降低了患者在此过程中发生心脑血管等循环系统疾病的危险度. 而传统利多卡因胶浆法在检查过程中收缩压和心率持续上升, 检查结束后有所下降但仍保持在较高水平. 这说明传统方法严重影响患者血流稳定, 引起血管收缩等不良反应, 使血压升高及心率加快,

极有可能诱发心率失常及心脏衰竭<sup>[16,17]</sup>. 正常人可通过自身调节恢复正常, 而老年人代谢能力明显减弱, 危险程度大大提高<sup>[18]</sup>.

一般麻醉过程, 最危险的因素为血氧饱和度降低, 因麻醉造成的呼吸系统抑制使组织缺氧而使生命体征不稳定<sup>[19]</sup>. 本研究中两种方法的血氧饱和度无明显差异. 这与本研究术前给予常规低流量吸氧有关, 体内氧气储备量增加, 在麻醉过程中自动释放缓解组织缺氧状态, 对患者血氧饱和度的稳定具有重要意义<sup>[20]</sup>. 在此应注意, 部分肥胖及创伤患者使用静脉麻醉应注意气道易开放性<sup>[21,22]</sup>, 否则易引起气道功能障碍使窒息死亡.

实验组患者在实施麻醉后苏醒快、药物作用消除时间短, 可在检查完成后立即离开, 与传统局部麻醉方法无显著差异, 而在患者检查后不良反应程度方面显出较大优势. 实验组表现恶心呕吐、呛咳及躁动患者数明显少于对照组, 且无主诉术后不良反应者, 与对照组差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ ). 说明丙泊酚联合咪达唑仑方法对老年麻醉患者的不良反应较少, 患者在麻醉苏醒后较少发生不良反应, 主观感受舒适



度较好。

虽然此方法不良反应少、苏醒时间及药物作用时间短且减少过程中心血管疾病的诱发因素, 但仍有很多问题需要注意<sup>[14]</sup>。老年患者大多呼吸功能较差, 可联合使用阿托品<sup>[23-25]</sup>, 减少呼吸道分泌物, 有利于维护呼吸通畅<sup>[26]</sup>。麻醉过程中要时刻做好生命体征检测<sup>[27,28]</sup>, 若出现心动过速或过缓、低血压等, 可及时对症处理, 对胃镜检查一般无影响<sup>[29,30]</sup>。

总之, 丙泊酚联合咪达唑仑的麻醉方法在无痛苦胃镜技术中的应用是安全、无痛苦的, 本研究为胃镜检查开辟了更广阔的道路。

#### 4 参考文献

- 李淑琴, 张利勇, 王保国. 丙泊酚诱导期不良反应的多中心、大样本调查. 临床麻醉学杂志 2006; 22: 738-739
- 徐贵森, 吴晓玲, 刘合年. 无痛内镜术在胃肠道疾病诊治中的应用. 世界华人消化杂志 2008; 16: 1890-1896
- Kim JH, Byun H, Kim JH. Abuse potential of propofol used for sedation in gastric endoscopy and its correlation with subject characteristics. *Korean J Anesthesiol* 2013; 65: 403-409 [PMID: 24363842 DOI: 10.4097/kjae.2013.65.5.403]
- Lee S. Guilty, or not guilty?: a short story of propofol abuse. *Korean J Anesthesiol* 2013; 65: 377-378 [PMID: 24363838 DOI: 10.4097/kjae.2013.65.5.377]
- Haynes SR, Lawler PG. An assessment of the consistency of ASA physical status classification allocation. *Anaesthesia* 1995; 50: 195-199 [PMID: 7717481 DOI: 10.1111/j.1365-2044.1995.tb04554.x]
- Gu JW, Yang T, Kuang YQ, Huang HD, Kong B, Shu HF, Yu SX, Zhang JH. Comparison of the safety and efficacy of propofol with midazolam for sedation of patients with severe traumatic brain injury: A meta-analysis. *J Crit Care* 2014; 29: 287-290 [PMID: 24360821 DOI: 10.1016/j.jcrc.2013.10.021]
- Mama KR, Gaynor JS, Harvey RC, Robertson SA, Koenig RL, Cozzi EM. Multicenter clinical evaluation of a multi-dose formulation of propofol in the dog. *BMC Vet Res* 2013; 9: 261 [PMID: 24359719 DOI: 10.1186/1746-6148-9-261]
- 徐安忆, 洪广亮, 赵光举, 吴斌, 邱俏檬, 卢中秋. 丙泊酚与咪达唑仑对急诊危重病机械通气患者镇静效果的比较研究. 中华危重病急救医学 2013; 25: 356-359
- Wang H, Yang C, Zhang B, Xia Y, Liu H, Liang H. Efficacy of target-controlled infusion of propofol and remifentanyl with high frequency jet ventilation in fibre-optic bronchoscopy. *Singapore Med J* 2013; 54: 689-694 [PMID: 24356755 DOI: 10.1112/j.jcrc.2013.54.012]
- Sethi S, Wadhwa V, Thaker A, Chuttani R, Pleskow DK, Barnett SR, Leffler DA, Berzin TM, Sethi N, Sawhney MS. Propofol versus traditional sedative agents for advanced endoscopic procedures: A meta-analysis. *Dig Endosc* 2013 Dec 19. [Epub ahead of print] [PMID: 24354404 DOI: 10.1111/den.12219]
- Aghadoost D, Fazel MR, Fakharian E. Comparing remifentanyl versus propofol effect on pain and hemodynamic change of patients undergoing phacoemulsification with topical anesthesia. *Iran Red Crescent Med J* 2013; 15: 424-427 [PMID: 24349732 DOI: 10.5812/ircmj.2316]
- Zhou R, Yang Z, Tang X, Tan Y, Wu X, Liu F. Propofol Protects Against Focal Cerebral Ischemia via Inhibition of Microglia-Mediated Proinflammatory Cytokines in a Rat Model of Experimental Stroke. *PLoS One* 2013; 8: e82729 [PMID: 24349350 DOI: 10.1371/journal.pone.0082729]
- Gruenbaum SE, Bilotta F. Propofol versus thiopental use in patients undergoing craniotomy. *Minerva Anesthesiol* 2013 Nov 28. [Epub ahead of print] [PMID: 24287672]
- Fu F, Chen X, Feng Y, Shen Y, Feng Z, Bein B. Propofol EC50 for inducing loss of consciousness is lower in the luteal phase of the menstrual cycle. *Br J Anaesth* 2014; 112: 506-513 [PMID: 24285693 DOI: 10.1093/bja/aet383]
- Yuce HH, Altay N, Karahan MA, Ocal F. Propofol and Additives in Studies Evaluating Inflammatory Responses. *J Pediatr Hematol Oncol* 2013 Oct 31. [Epub ahead of print] [PMID: 24276048 DOI: 10.1092/MPH.0000000000000059]
- Schroeter A, Schlegel F, Seuwen A, Grandjean J, Rudin M. Specificity of stimulus-evoked fMRI responses in the mouse: The influence of systemic physiological changes associated with innocuous stimulation under four different anesthetics. *Neuroimage* 2014 Feb 2. [Epub ahead of print] [PMID: 24495809 DOI: 10.1016/j.neuroimage.2014.01.046]
- Glover CD, Carling NP. Neuromonitoring for Scoliosis Surgery. *Anesthesiol Clin* 2014; 32: 101-114 [PMID: 24491652 DOI: 10.1016/j.andclin.2013.10.001]
- Mandel JE. Considerations for the use of short-acting opioids in general anesthesia. *J Clin Anesth* 2014; 26: S1-S7 [PMID: 24485553 DOI: 10.1016/j.jclinane.2013.11.003]
- Amiconi S, Hirl B. A combination of predispositions and exposures as responsible for acute eosinophilic pneumonia. *Multidiscip Respir Med* 2014; 9: 7 [PMID: 24475879 DOI: 10.1186/2049-6958-9-7]
- 李昊, 刘鹤冰. 咪达唑仑、丙泊酚联合用于瓣膜置换术后患者的效果观察. 哈尔滨医科大学学报 2012; 46: 516-517
- 韩清萍. 1例丙泊酚联合咪达唑仑维持镇静下急诊冠脉介入术的急救护理. 中华现代护理杂志 2013; 19: 3683-3684
- Korman LY, Haddad NG, Metz DC, Brandt LJ, Benjamin SB, Lazerow SK, Miller HL, Mete M, Patel M, Egorov V. Effect of propofol anesthesia on force application during colonoscopy. *Gastrointest Endosc* 2014 Jan 25. [Epub ahead of print] [PMID: 24472761 DOI: 10.1016/j.gie.2013.12.002]
- Nogueira FN, Mendonça T, Rocha P. Controlling the depth of anesthesia by a novel positive control strategy. *Comput Methods Programs Biomed* 2014 Jan 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24468159 DOI: 10.1016/j.cmpb.2013.12.016]
- Ozgul U, Begec Z, Karahan K, Ali Erdogan M, Said Aydogan M, Colak C, Durmus M, Ozcan Ersoy M. Comparison of Propofol and Ketamine-Propofol Mixture (Ketofol) on Laryngeal Tube-Suction II Conditions and Hemodynamics: A Randomized, Prospective, Double-Blind Trial. *Curr Ther Res Clin Exp* 2013; 75: 39-43 [PMID: 24465041 DOI: 10.1016/j.curtheres.2013.06.003]
- 郑增旺, 王克杰. 咪达唑仑和丙泊酚用于全身麻醉效果的比较. 首都医科大学学报 2006; 27: 386-388

- 26 张耀中, 姚嵩梅, 赵国庆. 咪达唑仑和丙泊酚麻醉对胃癌手术患者围术期血浆细胞因子的影响. 吉林大学学报(医学版) 2006; 32: 501-503
- 27 Ching S, Brown EN. Modeling the dynamical effects of anesthesia on brain circuits. *Curr Opin Neurobiol* 2014; 25C: 116-122 [PMID: 24457211 DOI: 10.1016/j.conb.2013.12.011]
- 28 Chen KC, Cheng YJ, Hung MH, Tseng YD, Chen JS. Nonintubated thoracoscopic surgery using regional anesthesia and vagal block and targeted sedation. *J Thorac Dis* 2014; 6: 31-36 [PMID: 24455173 DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2014.01.01]
- 29 唐敏, 符义刚, 李蕊, 李莉娥, 刘进, 李杰, 张文胜. Beagle犬单次静脉注射水溶性丙泊酚前药(HX0507)或与咪达唑仑、芬太尼联用时的麻醉效果. 四川大学学报(医学版) 2009; 40: 350-352
- 30 Anand VG. Evaluation of the new supraglottic airway S.A.L.T to aid blind orotracheal intubation: A pilot study. *Int J Crit Illn Inj Sci* 2013; 3: 241-245 [PMID: 24459620 DOI: 10.4103/2229-5151.124112]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》 (2011年版)

**本刊讯** 依据文献计量学的原理和方法, 经研究人员对相关文献的检索、计算和分析, 以及学科专家评审, 《世界华人消化杂志》再次入选《中文核心期刊要目总览》2011年版(即第六版)核心期刊。

对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标, 选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种, 统计到的文献数量共计221177余万篇次, 涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审, 从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

《世界华人消化杂志》在编委、作者和读者的支持下, 期刊学术水平稳步提升, 编校质量稳定, 再次被北京大学图书馆《中文核心期刊要目总览》(2011年版)收录。在此, 向关心、支持《世界华人消化杂志》的编委、作者和读者, 表示衷心的感谢! (《世界华人消化杂志》编辑部)。

# 乙型肝炎病毒相关肝癌组织及外周血膜联蛋白A2异常表达的临床意义

陈雯, 张海健, 顾星, 时运, 钱琦, 姚登福, 陆少林

陈雯, 南通大学附属医院检验科 江苏省南通市 226001  
张海健, 顾星, 时运, 钱琦, 姚登福, 陆少林, 南通大学附属医院  
临床医学研究中心 江苏省南通市 226001  
陈雯, 副主任医师, 主要从事临床诊断与肿瘤发病机制的研究。  
国家自然科学基金国际合作专项基金资助项目, No. 2013DFA32150  
南通市社会事业科技创新与示范基金资助项目, No. 2012034  
作者贡献分布: 方法研究、数据整理及文章起草由陈雯与张海健完成; 临床资料与病例选择由顾星完成; 钱琦与时运参加完成部分研究; 统计分析由张海健完成; 设计、论文修改及审阅由姚登福与陆少林完成。  
通讯作者: 姚登福, 教授, 226001, 江苏省南通市西寺路20号, 南通大学附属医院临床医学研究中心. yaodf@ahnmc.com  
电话: 0513-85052413 传真: 0513-85052297  
收稿日期: 2013-12-14 修回日期: 2014-02-10  
接受日期: 2014-02-19 在线出版日期: 2014-03-28

## Overexpression of annexin A2 in hepatic tissue and serum of patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma

Wen Chen, Hai-Jian Zhang, Xing Gu, Yun Shi, Qi Qian, Deng-Fu Yao, Shao-Lin Lu

Wen Chen, Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China  
Hai-Jian Zhang, Xing Gu, Yun Shi, Qi Qian, Deng-Fu Yao, Shao-Lin Lu, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, Jiangsu Province, China  
Supported by: the International S&T Cooperation Program of China, No. 2013DFA32150; and the Innovation and Demonstration of Nantong Social Programs, No. 2012034  
Correspondence to: Deng-Fu Yao, Professor, Research Center of Clinical Medicine, Affiliated Hospital of Nantong University, 20 Xisi Road, Nantong 226001, Jiangsu Province, China. yaodf@ahnmc.com  
Received: 2013-12-14 Revised: 2014-02-10  
Accepted: 2014-02-19 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the expression of annexin A2 (ANXA2) in hepatic tissue and serum of hepatitis B virus (HBV)-associated hepatocellular carcinoma (HCC).

**METHODS:** ANXA2 expression in HCC, tumor-adjacent precancerous and distal normal tissues was analyzed by real-time polymerase chain

reaction (PCR) and Western blot. The cellular localization of ANXA2 in these specimens was detected by immunohistochemistry, and hepatic HBV DNA was detected by in situ hybridization technique. Levels of serum ANXA2 in patients with HCC or benign liver diseases were quantitatively detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**RESULTS:** Hepatic ANXA2 expression was localized in the cytoplasm and membrane of cells in cancerous tissues, and cytoplasm of cells in tumor adjacent cancerous tissues, but was undetectable in distal normal tissues ( $F = 498.221$ ,  $P < 0.001$ ). Overexpression of ANXA2 mRNA in cancerous tissues was significantly higher than that in tumor adjacent cancerous or distal normal tissues. ANXA expression was moderate to strong in cancerous tissues with HBV replication, but low in cancerous tissues without HBV replication ( $Z = 4.933$ ,  $P < 0.001$ ). Circulating ANXA2 levels in HCC patients were significantly higher than those in any group of other liver diseases ( $P < 0.01$ ) except the metastatic liver cancer group. Serum levels of ANXA2 in patients with HCC were associated with HBV infection ( $t = 6.820$ ,  $P < 0.001$ ), extrahepatic metastasis ( $t = 3.191$ ,  $P = 0.002$ ), presence of portal vein thrombus ( $t = 2.859$ ,  $P = 0.005$ ), lower differentiation degree and TNM stage ( $P < 0.01$ ), but not with patient sex, age, size or AFP level. Combined detection of serum ANXA2 and AFP substantially improved the diagnostic efficiency (96.5%).

**CONCLUSION:** Abnormal expression of ANXA2 in HBV-related HCC is useful for diagnosing HCC and understanding its pathogenesis.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatocellular carcinoma; Annexin A2; Expression; Diagnosis; Hepatitis B virus infection

Chen W, Zhang HJ, Gu X, Shi Y, Qian Q, Yao DF, Lu SL. Overexpression of annexin A2 in hepatic tissue and serum of

## ■背景资料

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是肝癌发生的主要病原学因素。膜联蛋白亚组分 A2 (annexin A2, ANXA2) 在肝细胞生长、信号转导和诱发恶性转变中发挥重要作用, 但在 HBV 相关肝癌患者, HBV 感染与 ANXA2 表达的相互关系尚未见报道。研究 HBV 感染相关肝癌组织和患者外周血 ANXA2 表达水平, 有助于探讨其临床价值。

## ■同行评议者

卢宁, 副主任医师, 兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科



## ■ 研究前沿

肝细胞癌防治是全球的医学难题,与HBV感染密切相关,早诊及有效治疗是提高患者生存率的有效措施。ANXA2在细胞生长、恶性转变过程中发挥重要作用。肝癌的手术切除仍是目前的主要手段,但并不适合多数已发生转移的患者,且术后患者生存率不理想,亟待发现其他新方法。

patients with HBV-associated hepatocellular carcinoma. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(9): 1207-1213 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1207.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1207>

## 摘要

**目的:** 探讨乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染对肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织及外周血中膜联蛋白A2(annexin A2, ANXA2)表达的影响。

**方法:** 以自身配对法收集30例术后肝癌组织、癌旁组织和远癌组织,以Western blot法和免疫组织化学法分析肝组织ANXA2表达与细胞中分布;并以生物素标记的HBV DNA探针检测肝组织中HBV DNA,以实时定量PCR技术分析肝组织ANXA2 mRNA转录与表达水平;以ELISA法定量肝病患者血ANXA2水平,分析其临床价值。

**结果:** 肝组织ANXA2表达定位于癌细胞的胞浆和胞膜,癌旁组织定位于胞浆;癌组织显著高于癌旁组织( $F = 498.221, P < 0.001$ ),远癌组织则未见明显表达;癌灶组织中ANXA2基因呈过转录状态,显著高于癌旁与远癌组织;在HBV阳性肝癌组织中,ANXA呈中等至强阳性全数表达,在HBV阴性肝癌组织ANXA呈低阳性表达,组间差异显著( $Z = 4.933, P < 0.001$ )。血ANXA2水平,肝癌患者显著高于良性肝病各组( $P < 0.01$ ),其表达与HBV感染( $t = 6.820, P < 0.001$ )、伴肝外转移( $t = 3.191, P = 0.002$ )、门静脉癌栓( $t = 2.859, P = 0.005$ )、中低程度分化和TNM分期期间显著相关( $P < 0.01$ ),但与患者性别、年龄、肿瘤大小和甲胎蛋白(alpha-fetoprotein)水平间未见明显相关;血ANXA2与AFP联检,其诊断阳性率为96.5%。

**结论:** HBV相关肝癌ANXA2过表达,有助于HCC诊断和发病机制解析。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝细胞癌; 膜联蛋白A2; 表达; 诊断; 乙型肝炎病毒感染

**核心提示:** 肝癌组织乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV) DNA阳性癌组织膜联蛋白亚组分(annexin, ANXA)表达显著高于阴性癌组织组;癌组织ANXA2 mRNA水平显著高于癌旁与远癌组织;肝癌患者血ANXA2表达与HBV感染、肝外转移、门静脉癌栓、中低程度分化和TNM分期期间显著相关;联检ANXA2与甲胎蛋白(alpha-

fetoprotein)诊断肝癌阳性率为96.5%。HBV相关肝癌中ANXA2异常表达,有助于肝癌(hepatocellular carcinoma)诊断和发病机制解析。

陈雯, 张海健, 顾星, 时运, 钱琦, 姚登福, 陆少林. 乙型肝炎病毒相关肝癌组织及外周血膜联蛋白A2异常表达的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1207-1213 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1207.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1207>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)防治是全球的医学难题<sup>[1]</sup>,与乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)和丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)的感染密切相关<sup>[2]</sup>,肝癌早诊和早治是提高患者生存率的有效措施。手术切除仍是目前的主要手段<sup>[3,4]</sup>,但并不适合多数已发生转移的患者,且术后患者生存率不理想<sup>[5]</sup>。膜联蛋白亚组分A2(annexin A2, ANXA2)是膜联蛋白家族成员之一,为钙离子依赖的磷脂酰结合蛋白,在细胞生长、信号转导调控、恶性转变和HCC发展过程中发挥重要作用<sup>[6,7]</sup>。在我国肝癌患者中HBV感染者占80%以上,尚未见报道ANXA2在HBV相关HCC中的表达和诊断价值评估,本文通过定量分析了肝癌患者的癌组织中ANXA2表达,与HBV DNA复制关系及与胞内分布,定量分析了不同肝病患者外周血中ANXA2的表达,与HBV感染的关系及对HBV相关HCC诊断价值。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** (1)肝组织标本: 以自身配对法收集南通大学附属医院住院治疗HCC患者术后肝癌、癌旁(离癌灶>3 cm)和远癌组织(离癌灶>5 cm)各30份,于液氮中保存。从部分组织中制备总RNA,以分析癌组织不同部分中ANXA2 mRNA表达;再将部分组织匀浆后制备蛋白,以Western blot法分析ANXA2表达水平。HCC诊断依据全国肝癌研究协作组制定的标准核实<sup>[8]</sup>。事先经患者知情同意,并经医院伦理委员会批准; (2)血清样本: 从住院治疗患者中收集肝癌115例(男88例,女27例),年龄范围在25-81岁,平均48.3岁;其他患者包括慢性肝炎35例、急性肝炎28例、肝硬化38例和转移性肝癌25例(肺癌、胃癌各6例;急性髓性白血病、乳腺癌各36例;结肠癌3例;宫颈癌和前列腺癌各2例);所有病例经生化检测、病毒性标志物和超声检查确诊,于清晨采集血液5 mL,分离血清后备用;以放射免疫法检测甲胎

蛋白(alpha-fetoprotein, AFP); 以30例献血员[肝炎病毒标志物阴性且谷氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)正常]血清标本作对照。

## 1.2 方法

1.2.1 总RNA提取和cDNA合成: 用TRIzol试剂(Invitrogen)分离50 mg肝组织总RNA, 琼脂糖凝胶电泳检测总RNA完整性, 核酸蛋白测定仪(Bio-RAD smartspec™ plus)检测其浓度和纯度。用cDNA合成试剂盒(Fermentas)以1 μg总RNA为模板同等条件下合成ANXA2和β-actin的cDNA。

1.2.2 实时定量PCR: 用stepone™实时定量PCR仪(Applied Biosystems), PCR反应。50 μL反应体系包含25 μL 2×SYBR Premix Ex Taq(TaKaRa, Japan), 2 μL引物混合物, 1 μL 50×ROX Reference Dye I, 4 μL cDNA, 和18 μL去离子水。ANXA2引物序列: 上游, 5'-TGAGCGGGATGCTTTGAAC-3', 下游5'-ATCCTGTCTCTGTGCAT TGCTG-3'; β-actin引物: 上游, 5'-ATTGCCGACAGGATGCAGA-3', 下游, 5'-GAGTACTTGCCTCAGGAGGA-3'<sup>[9]</sup>, 优化PCR条件如下: 95 °C 2 min; 95 °C 10 s, 62 °C 1 min, 40个循环; 60 °C 15 s, 以2<sup>-ΔΔCt</sup>值相对定量分析。

1.2.3 Western blot分析: 肝组织在预冷匀浆液匀浆(4 °C), 800 g离心10 min, 收集上清液, 以BCA法(碧云天生物技术有限公司)测定蛋白浓度。每个样品取20 mg蛋白上样到15%十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)上, 蛋白质然后转移到聚偏氟乙烯膜上, 用5%牛血清白蛋白tris缓冲液4 °C封闭过夜, 孵育在抗ANXA2和抗β-actin(Santa Cruz)一抗中4 h, 随后在连接有辣根过氧化物酶二抗中孵育1 h, 然后条带在化学发光系统(Millipore, USA)中可视化。用image J软件分析蛋白密度。用相对比值(RR)比较ANXA2表达,  $RR = SI_{ANXA2}/SI_{\beta-actin}$ , SI表示蛋白信号强度。

1.2.4 免疫组织化学染色: 采用Elivision一步法进行免疫组织化学。10%甲醛固定24 h、在梯增稀释的乙醇中脱水(5 min/次), 石蜡包埋, 制成厚度3 μm的组织切片。用二甲苯脱蜡两次(10 min/次), 在梯减稀释的乙醇中脱水(5 min/次)。脱蜡的切片用pH 7.4的PBS洗涤3次(5 min/次), 孵育在内源性过氧化物酶封闭液中, 0.01 mol/L pH 6.0的柠檬酸盐缓冲液处理10 min, 高压加热法修复抗原, 正常动物血清封闭非特异性结合, 滴加ANXA2抗体, 4 °C过夜, PBS缓冲液漂洗, 滴加二抗, 室温孵育10 min, PBS漂洗, 滴加链霉素抗

生物素蛋白-过氧化物酶, 室温孵育10 min, PBS冲洗, 滴加新鲜配制的DAB溶液, 室温显色。双蒸水洗涤, 苏木素复染, 无水乙醇脱水透明, 封片。Olympus BX50光学显微镜观察、摄像, 以0.01 mol/L PBS(pH 7.5)分别替代一抗、二抗作阴性对照。

1.2.5 酶联免疫吸附测定: 用人ANXA2 ELISA试剂盒(武汉优尔生科技股份有限公司)检测血清ANXA2表达水平, 100 μL血清样本或者标准品被分别添加到96孔板中, 接着添加100 μL检测试剂A并37 °C孵育1 h, 随后添加100 μL检测试剂B并37 °C孵育30 min, 然后添加90 μL底物溶液并37 °C孵育25 min, 最后每孔添加50 μL终止液并读取450 nm处的吸光度。

统计学处理 数据以mean±SD表示, 以t检验比较两样本均数; 以q检验作多样本均数的两两比较, 以受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估外周血ANXA2表达水平对肝癌诊断的灵敏性和特异性<sup>[10,11]</sup>,  $P<0.05$ 为有统计学意义。

## 2 结果

2.1 肝癌组织ANXA2表达与免疫组织化学分析 按自身配对法收集肝癌患者术后新鲜的30例肝癌的癌灶、癌旁和远癌组织, 以Western blot法, 相对定量分析肝组织ANXA2蛋白表达(图1A), 经组织ANXA2与β-actin相对定量显示: 癌灶组织ANXA2表达显著高于癌旁组织和远癌组织( $F=498.221$ ,  $P<0.001$ , 图1B); 免疫组织化学分析的细胞定位, ANXA2在HCC癌灶组织中定位于胞浆和胞膜, 癌旁中定位于胞浆, 而远癌组织中未见明显表达(图1C)。

2.2 实时荧光定量癌组织ANXA2 mRNA转录状态 肝癌不同组织ANXA2 mRNA转录水平如表1。肝癌的癌灶组织中ANXA2 mRNA相对表达水平(2<sup>-ΔΔCt</sup>值)明显高于自身配对的癌旁组织或远癌组织, 显示癌灶组织中ANXA2基因呈过转录状态。

2.3 癌组织ANXA表达与HBV复制关系 肝癌癌灶组织中ANXA全数表达(表2, 100%)。在HBV阳性肝癌组织中, ANXA呈中等至强阳性(++)-(+++)-表达, 而在HBV阴性肝癌组织ANXA呈低阳性(+)-(++)-表达, 组间差异显著( $Z=4.933$ ,  $P<0.001$ )。在23例HBV阳性肝癌组中ANXA的表达强度在(+++)以上为22例, 占95.7%; HBV阴

## ■ 相关报道

近期Dong和Zhang等报道了肝癌细胞中ANXA2高表达, 以小发夹型RNA特异性地抑制肝癌细胞株中ANXA2 mRNA转录, 可有效抑制肝癌细胞增殖与转移, 是一具有分子靶向作用的治疗方法, 值得深入研究, 具有应用前景与开发价值。

## ■ 创新盘点

正常肝或慢性肝炎肝组织罕见ANXA2表达。以自身对照方式分析肝癌、癌旁和远癌组织ANXA2转录和表达。癌组织ANXA2表达显著异常,定位于胞浆和胞膜。HBV相关肝癌组织ANXA呈全数阳性表达,呈中等至强阳性表达占95.7%,提示HBV复制与ANXA2表达明显相关。

表 1 肝组织ANXA2 mRNA相对定量(mean ± SD)分析 (n = 30)

分组	Ct <sub>ANXA2</sub>	Ct <sub>β-actin</sub>	ΔCt	2 <sup>-ΔΔCt</sup>
癌灶组	21.63 ± 0.09	21.19 ± 0.07	0.44 ± 0.06	1.00 ± 0.04
癌旁组	24.29 ± 0.09	22.60 ± 0.08	1.70 ± 0.12	0.43 ± 0.10 <sup>b</sup>
远癌组	24.71 ± 0.06	22.13 ± 0.06	2.57 ± 0.07	0.23 ± 0.07 <sup>b</sup>

<sup>b</sup>P < 0.01 vs 癌灶组。ANXA2: 膜联蛋白亚组分A2。

表 2 肝癌组织HBV复制与ANXA2表达的关系 (n = 30)

HBV DNA	n	肝细胞中ANXA2表达状态				Z值	P值
		-	+	++	+++		
阳性	23	0	0	1	22	4.933	<0.001
阴性	7	0	1	6	0		

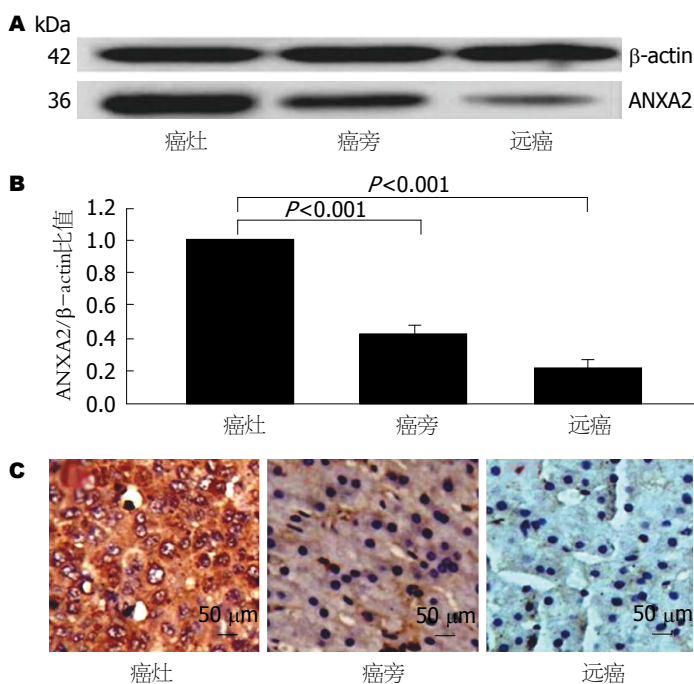


图 1 肝癌及癌旁组织中ANXA2表达水平的比较。A: Western blot; B: ANXA2/β-actin比率(n = 3, mean ± SD); C: 免疫组织化学。ANXA2: 膜联蛋白亚组分A2。

性肝癌组中ANXA的表达强度未见强阳性表达(+++),以中等阳性表达(++)者为6例,占85.7%。肝癌患者ANXA表达强度,在HBV阳/阴性组间差异显著。

2.4 肝病患者血ANXA2表达与临床病理学特征  
肝癌患者血ANXA2表达与HBV感染关系,在HBsAg阳性组(27.38 ng/mL ± 5.67 ng/mL)高于阴性组(18.58 ng/mL ± 7.83 ng/mL),差异显著( $t = 6.820$ ,  $P < 0.001$ ); 伴与不伴肝外转移组分别为26.03 ng/mL ± 5.99 ng/mL和22.79 ng/mL ± 5.64 ng/mL,组间差异显著( $t = 3.191$ ,  $P = 0.002$ ); 伴/不伴有门静脉癌栓组分别为26.03 ng/mL ± 5.99

ng/mL和23.06 ng/mL ± 5.03 ng/mL,差异显著( $t = 2.859$ ,  $P = 0.005$ ); 低分化组为27.05 ng/mL ± 5.13 ng/mL、中等分化组为26.19 ng/mL ± 5.34 ng/mL均显著高于高分化组20.43 ng/mL ± 4.97 ng/mL( $P < 0.001$ ); TNM分期显示III-IV期为27.44 ng/mL ± 6.01 ng/mL显著高于I-II期21.16 ng/mL ± 5.97 ng/mL( $t = 5.594$ ,  $P < 0.001$ ); 但在年龄 ≥ 50岁和 < 50岁组、肿块 ≥ 5.0 cm与 < 5.0 cm组、AFP在 ≥ 400 ng/mL组和 < 400 ng/mL组间,均未见明显差异。

2.5 血ANXA2过表达与AFP联合诊断肝癌 血ANXA2和AFP浓度对HCC诊断价值评估的ROC



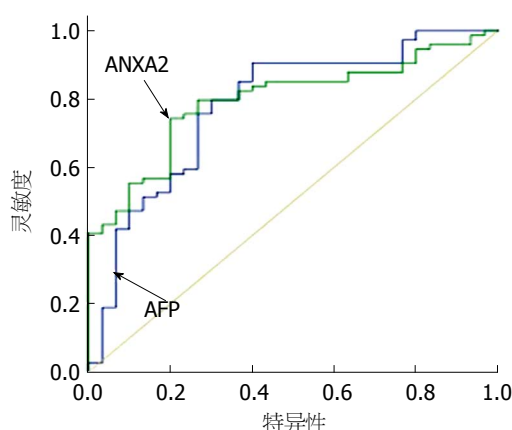


图2 血ANXA2和AFP诊断肝癌的ROC曲线. ANXA2: 膜联蛋白亚组分A2; AFP: 甲胎蛋白.

曲线如图2. 在该曲线下ANXA2的面积为0.903, AFP的面积为0.823. 血ANXA2敏感度是87.0%, 与AFP联合对HCC诊断的灵敏性96.5%, 阴性预测值提高到96.6%.

### 3 讨论

ANXA2是ANXA家族的重要成员, 其分子的核心岩藻糖基化水平随肿瘤转移潜能增加, 可激活并生成纤溶酶以降解环绕血管的细胞外基质(extracellular matrix, ECM)和基膜, 启动蛋白水解级联反应, 导致肿瘤细胞黏附、浸润和转移, 在肿瘤细胞转移和促血管形成中扮演重要角色<sup>[12,13]</sup>. 长江口地区为肝癌高发地区, HBV感染是肝癌发生的主要病原学因素<sup>[14,15]</sup>. ANXA2在肝细胞生长、信号转导和诱发恶性转变中发挥重要作用, 但在HBV相关肝癌患者, HBV感染与ANXA2表达的相互关系还尚未见报道<sup>[16,17]</sup>. 本文分析了HBV感染相关的肝癌患者, 手术切除标本和患者外周血ANXA2表达水平及其临床价值.

肝组织ANXA2表达显示, 正常肝或慢性肝炎肝组织中, 很少见ANXA2表达. 本研究以自身对照方式分析了肝癌组织的癌灶组织、癌旁组织和远癌组织中ANXA2转录和表达水平<sup>[6,10]</sup>. 以Western blot法相对定量分析癌灶、癌旁和远癌组织ANXA2表达(图1A)显示: 癌灶组织ANXA2表达显著高于癌旁组织和远癌组织(图1B); ANXA2在肝细胞定位, 免疫组织化学显示ANXA2定位于HCC癌组织的胞浆和胞膜, 癌旁组织胞浆, 远癌组织未见表达(图1C). ANXA2表达与肝细胞的程度分化呈负相关, 低分化肝癌组织中ANXA2表达越高, 高分化肝癌组织ANXA2表达越低. 从转录水平上分析不同肝组

织中ANXA2 mRNA表达(表1), 同样发现癌组织中ANXA2表达明显高于自身配对的癌旁或远癌组织. 癌组织中ANXA2过表达, 提示从ANXA2表达参与肝癌的进展过程<sup>[6,18]</sup>, 其水平异常是监测肝细胞恶性转化的有用标志物<sup>[19,20]</sup>.

HBV相关肝癌中ANXA2表达尚未见诸文献<sup>[21,22]</sup>. 本文资料显示30例肝癌组织中ANXA呈全数阳性表达(表2), 但在HBV阳性肝癌组织中, ANXA2呈中等至强阳性表达占95.7%; 而HBV阴性肝癌组织中, ANXA2表达程度较低, 组间差异显著; 肝癌患者外周血中ANXA2浓度较于正常对照明显升高, 血ANXA2异常有助于肝癌诊断, 且与AFP可互补诊断HCC(图2); ANXA2表达的临床病理学特征显示: 肝癌患者血ANXA2表达与HCC侵袭和转移、HBV感染、分化程度和TNM分期有关, 其机制可能与血纤维蛋白溶酶原/血纤维蛋白溶酶<sup>[23]</sup>、分子表面的酪氨酸23位磷酸化<sup>[24]</sup>及核因子(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)活化等相关<sup>[25]</sup>. 但与肝癌的瘤体大小度间未见明显相关. 肝癌患者血ANXA2表达与HBV感染呈明显的正相关关系, 在乙肝表面抗原(hepatitis B virus surface antigen, HBsAg)阳性组血ANXA2水平明显高于HBsAg阴性组, 组间差异十分显著, 提示肝组织中HBV复制与ANXA2表达明显相关.

HCC是最常见的恶性肿瘤, 发病率居全球恶性肿瘤的第5位, 死亡率居第3位<sup>[26,27]</sup>. HCC的发生发展由原癌基因激活和抑癌基因失活、信号传导通路异常、细胞周期调控因子突变、抗凋亡基因激活、血管形成及对放、化疗的耐药性等多种因素共同作用形成, 且发病率仍在持续增加, HCC预后极差, 早期特异诊断与有效治疗极为重要<sup>[1,28,29]</sup>. 最近证实ANXA2在HCC的诊断中具有较高的灵敏性和特异性, 可作为早期诊断HCC的标志物<sup>[10,30]</sup>. 对肝组织与外周血ANXA2研究, 显示在HBV感染相关的肝癌进展中, ANXA2过表达, 可为肝细胞恶性转化监测和肝癌的靶向治疗带来新契机, 对此深入研究将有助于揭示HCC发病机制或为HCC的治疗提供新靶点<sup>[31,32]</sup>.

### 4 参考文献

- 1 El-Serag HB. Hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2011; 365: 1118-1127 [PMID: 21992124 DOI: 10.1056/NEJMra1001683]
- 2 Shen YC, Hsu C, Cheng CC, Hu FC, Cheng AL. A critical evaluation of the preventive effect of

### ■应用要点

ANXA2在肝癌中异常表达和分子中Tyr23残基磷酸化上调. 定量夹心ELISA法检测肝癌患者血清ANXA2表达, 可能有助于肝癌早期诊断及肿瘤浸润和复发监测. 将血ANXA2检查添加到肝癌特异诊断标志物(GPC3、HS-GGT和HSP70)组合中, 可增加诊断的可靠性和客观性, 尤其是HBV相关肝癌诊断, 具有应用前景.

## ■同行评价

本文内容客观, 实验方法成熟, 观点新颖, 具有一定的科学意义。

- 3 DuBray BJ, Chapman WC, Anderson CD. Hepatocellular carcinoma: a review of the surgical approaches to management. *Mo Med* 2011; 108: 195-198 [PMID: 21736080]
- 4 Portolani N, Baiocchi GL, Coniglio A, Tiberio GA, Prestini K, Gheza F, Benetti A, Maria Giulini S. Limited liver resection: a good indication for the treatment of hepatocellular carcinoma in elderly patients. *Jpn J Clin Oncol* 2011; 41: 1358-1365 [PMID: 22039578 DOI: 10.1093/jjco/hyr154]
- 5 van Malenstein H, van Pelt J, Verslype C. Molecular classification of hepatocellular carcinoma anno 2011. *Eur J Cancer* 2011; 47: 1789-1797 [PMID: 21612914 DOI: 10.1016/j.ejca.2011.04.027]
- 6 Lokman NA, Ween MP, Oehler MK, Ricciardelli C. The role of annexin A2 in tumorigenesis and cancer progression. *Cancer Microenviron* 2011; 4: 199-208 [PMID: 21909879 DOI: 10.1007/s12307-011-0064-9]
- 7 Madureira PA, Surette AP, Phipps KD, Taboski MA, Miller VA, Waisman DM. The role of the annexin A2 heterotetramer in vascular fibrinolysis. *Blood* 2011; 118: 4789-4797 [PMID: 21908427]
- 8 Ministry of Health of the People's Republic of China. [Updated standards for the diagnosis and treatment of primary liver cancer]. *Zhonghua Gan-zangbing Zazhi* 2012; 20: 419-426 [PMID: 23230592]
- 9 Zhang HJ, Yao DF, Yao M, Huang H, Wang L, Yan MJ, Yan XD, Gu X, Wu W, Lu SL. Annexin A2 silencing inhibits invasion, migration, and tumorigenic potential of hepatoma cells. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3792-3801 [PMID: 23840117 DOI: 10.3748/wjg.v19.i24.3792]
- 10 Zhang HJ, Yao DF, Yao M, Huang H, Wu W, Yan MJ, Yan XD, Chen J. Expression characteristics and diagnostic value of annexin A2 in hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 5897-5904 [PMID: 23139605 DOI: 10.3748/wjg.v18.i41.5897]
- 11 Qian J, Yao D, Dong Z, Wu W, Qiu L, Yao N, Li S, Bian Y, Wang Z, Shi G. Characteristics of hepatic igf-ii expression and monitored levels of circulating igf-ii mRNA in metastasis of hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Pathol* 2010; 134: 799-806 [PMID: 20959664 DOI: 10.1309/AJCPTFDSE2V3LCZP]
- 12 Sharma MC, Sharma M. The role of annexin II in angiogenesis and tumor progression: a potential therapeutic target. *Curr Pharm Des* 2007; 13: 3568-3575 [PMID: 18220793 DOI: 10.2174/138161207782794167]
- 13 O'Connell PA, Surette AP, Liwski RS, Svenningsson P, Waisman DM. S100A10 regulates plasminogen-dependent macrophage invasion. *Blood* 2010; 116: 1136-1146 [PMID: 20424186 DOI: 10.1182/blood-2010-01-264754]
- 14 Pan N, Qiu J, Sun H, Miao F, Shi Q, Xu J, Jiang W, Jin H, Xie W, He Y, Zhang J. Combination of human leukocyte antigen and killer cell immunoglobulin-like receptor genetic background influences the onset age of hepatocellular carcinoma in male patients with hepatitis B virus infection. *Clin Dev Immunol* 2013; 2013: 874514 [PMID: 24312130]
- 15 Pan Y, Zhao L, Chen XM, Gu Y, Shen JG, Liu LM. The XRCC1 Arg399Gln genetic polymorphism contributes to hepatocellular carcinoma susceptibility: an updated meta-analysis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2013; 14: 5761-5767 [PMID: 24289575]
- 16 Liu W, Cao Y, Wang T, Xiang G, Lu J, Zhang J, Hou P. The N-Glycosylation Modification of LHBs (Large Surface Proteins of HBV) Effects on Endoplasmic Reticulum Stress, Cell Proliferation and its Secretion. *Hepat Mon* 2013; 13: e12280 [PMID: 24282423 DOI: 10.5812/hepatmon.12280]
- 17 Li J, Shi W, Gao Y, Yang B, Jing X, Shan S, Wang Y, Du Z. Analysis of microRNA expression profiles in human hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Clin Lab* 2013; 59: 1009-1015 [PMID: 24273923]
- 18 Mohammad HS, Kurokohchi K, Yoneyama H, Tokuda M, Morishita A, Jian G, Shi L, Murota M, Tani J, Kato K, Miyoshi H, Deguchi A, Himoto T, Usuki H, Wakabayashi H, Izuishi K, Suzuki Y, Iwama H, Deguchi K, Uchida N, Sabet EA, Arafa UA, Hassan AT, El-Sayed AA, Masaki T. Annexin A2 expression and phosphorylation are up-regulated in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2008; 33: 1157-1163 [PMID: 19020748]
- 19 Longerich T, Haller MT, Mogler C, Aulmann S, Lohmann V, Schirmacher P, Brand K. Annexin A2 as a differential diagnostic marker of hepatocellular tumors. *Pathol Res Pract* 2011; 207: 8-14 [PMID: 20971570 DOI: 10.1016/j.prp.2010.09.007]
- 20 Ji NY, Park MY, Kang YH, Lee CI, Kim DG, Yeom YI, Jang YJ, Myung PK, Kim JW, Lee HG, Kim JW, Lee K, Song EY. Evaluation of annexin II as a potential serum marker for hepatocellular carcinoma using a developed sandwich ELISA method. *Int J Mol Med* 2009; 24: 765-771 [PMID: 19885616]
- 21 Motavaf M, Safari S, Saffari Jourshari M, Alavian SM. Hepatitis B virus-induced hepatocellular carcinoma: the role of the virus x protein. *Acta Virol* 2013; 57: 389-396 [PMID: 24294951]
- 22 Fu Y, Wei X, Tang C, Li J, Liu R, Shen A, Wu Z. Circulating microRNA-101 as a potential biomarker for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Oncol Lett* 2013; 6: 1811-1815 [PMID: 24260081]
- 23 Kwaan HC, McMahon B. The role of plasminogen-plasmin system in cancer. *Cancer Treat Res* 2009; 148: 43-66 [PMID: 19377918 DOI: 10.1007/978-0-387-79962-9\_4]
- 24 Zheng L, Foley K, Huang L, Leubner A, Mo G, Olino K, Edil BH, Mizuma M, Sharma R, Le DT, Anders RA, Illei PB, Van Eyk JE, Maitra A, Laheru D, Jaffee EM. Tyrosine 23 phosphorylation-dependent cell-surface localization of annexin A2 is required for invasion and metastases of pancreatic cancer. *PLoS One* 2011; 6: e19390 [PMID: 21572519 DOI: 10.1371/journal.pone.0019390]
- 25 Dong ZZ, Yao DF, Wu W, Yao M, Yu HB, Shen JJ, Qiu LW, Yao NH, Sai WL, Yang JL. Delayed hepatocarcinogenesis through antiangiogenic intervention in the nuclear factor-kappa B activation pathway in rats. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2010; 9: 169-174 [PMID: 20382589]
- 26 Chen K, Shi W, Xin Z, Wang H, Zhu X, Wu X, Li Z, Li H, Liu Y. Replication of genome wide association studies on hepatocellular carcinoma susceptibility loci in a Chinese population. *PLoS One* 2013; 8: e77315 [PMID: 24204805 DOI: 10.1371/journal.pone.0077315]
- 27 Zhang J, Lu C, He S, Wan C, Zhang Y, Cheng C.

- Decreased expression of Small glutamine-rich tetratricopeptide repeat-containing protein (SGT) correlated with prognosis of Hepatocellular carcinoma. *Neoplasma* 2014; 61: 83-89 [PMID: 24195513 DOI: 10.4149/neo\_2014\_012]
- 28 Yao M, Wang L, Yan MJ, Gu X, Yan XD, Zhang HJ, Yao DF. Targeting Annexin A2 gene for suppressing invasion and tumor progression of liver cancer. *J Pure Appl Microbio* 2013; 7(Sp): 381-388
- 29 Thirion M, Ochiya T. Roles of microRNAs in the hepatitis B virus infection and related diseases. *Viruses* 2013; 5: 2690-2703 [PMID: 24212236 DOI: 10.3390/v5112690]
- 30 Hofmann A, Osman A, Leow CY, Driguez P, McManus DP, Jones MK. Parasite annexins--new molecules with potential for drug and vaccine development. *Bioessays* 2010; 32: 967-976 [PMID: 21105292 DOI: 10.1002/bies.200900195]
- 31 Dong ZZ, Yao M, Zhang HJ, Wang L, Huang H, Yan MJ, Yao DF. Inhibition of Annexin A2 gene transcription is a promising molecular-targeted for hepatoma cell proliferation and metastasis. *Oncology Letters* 2014; 7: 28-34
- 32 Jiang JH, Gao Q, Shen XZ, Yu Y, Gu FM, Yan J, Pan JF, Jin F, Fan J, Zhou J, Huang XW. An X-chromosomal association study identifies a susceptibility locus at Xq22.1 for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2013; 37: 586-595 [PMID: 24209690 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.09.002]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 维生素D在肝病中作用的研究进展

赵景, 郑素军

## ■背景资料

目前对维生素D的研究越来越多,许多过去未知的功能被一一开发,而慢性肝病作为一个世界性的难题亟待解决,两者之间的联系很可能为我们攻克这个难题带来一个新的视角。

赵景, 郑素军, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心北京市 100069

赵景, 主要从事肝病的基础与临床研究。

佑安肝病艾滋病基金资助项目, No. BJYAH-2011-045

北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养基金资助项目, No. 2011-3-083

首都卫生发展科研专项基金资助项目, No. 2011-2018-04

作者贡献分布: 本文综述由赵景完成; 郑素军审校。

通讯作者: 郑素军, 主任医师, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条8号, 首都医科大学附属北京佑安医院人工肝中心. zhengsujun003@126.com

收稿日期: 2013-12-30 修回日期: 2014-01-23

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Role of vitamin D in liver diseases

Jing Zhao, Su-Jun Zheng

Jing Zhao, Su-Jun Zheng, Artificial Liver Center, Beijing YouAn Hospital, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: Liver Disease and AIDS Foundation of YouAn Hospital, No. BJYAH-2011-045; Beijing Municipal Training Foundation for Highly-qualified and Technological Talents of Health System, No. 2011-3-083; and the Capital Special Health Research and Development Fund, No. 2011-2018-04

Correspondence to: Su-Jun Zheng, Chief Physician, Artificial Liver Center, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, 8 Youan Menwai Xitoutiao, Fengtai District, Beijing 100069, China. zhengsujun003@126.com

Received: 2013-12-30 Revised: 2014-01-23

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

Liver diseases, including hepatitis B, hepatitis C, fatty liver diseases, cirrhosis and liver cancer, seriously affect our lives, and patients with liver diseases often have different levels of vitamin D deficiency. The immune-regulatory, anti-infection and anticancer functions of vitamin D make it play a certain role in the occurrence and development of liver diseases. How to use vitamin D to delay the progression of liver diseases will be a valuable topic.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Vitamin D; Liver diseases

Zhao J, Zheng SJ. Role of vitamin D in liver diseases.

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(9): 1214-1218 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1214.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1214>

## 摘要

近年研究显示, 乙型肝炎、丙型肝炎、脂肪肝、肝硬化、肝癌等各类肝病患者, 均普遍存在不同程度的维生素D缺乏, 维生素D在肝病的发生、发展中发挥了一定作用。如何利用维生素D来延缓肝病患者的病程, 将是一个很有价值的课题。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 维生素D; 肝病

**核心提示:** 大量研究证实乙型肝炎、丙型肝炎、脂肪肝、肝硬化、肝癌患者体内存在维生素D不足, 维生素D缺乏影响肝病进展。

赵景, 郑素军. 维生素D在肝病中作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1214-1218 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1214.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1214>

## 0 引言

近年来, 各种关于维生素D(vitamin D, VD)的研究不断涌现, 大量资料均显示慢性肝病患者存在VD缺乏<sup>[1-6]</sup>。VD与肝病之间究竟存在什么联系、其在肝病发生、发展中作用怎样? VD能否为肝病的治疗带来新的突破, 值得探讨。本文对VD就上述方面的一些研究进展综述如下。

## 1 VD的生理功能

传统认为VD主要对钙磷代谢起调节作用。近来研究发现远不止此<sup>[7-10]</sup>, VD受体(vitamin D receptor, VDR)几乎遍布所有细胞的细胞核, 包括心脏、肝脏、肾脏、骨骼、甲状腺、脑、泌尿生殖系统以及各种免疫细胞<sup>[11]</sup>。一些VD新的生理作用如下。

1.1 VD的免疫调节作用 被激活的巨噬细胞会产生1,25-二羟维生素D<sub>3</sub>[1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>,

■同行评议者  
李勇, 副教授, 上海中医药大学附属市中医医院消化科

1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>], 免疫细胞内表达有VDR、VD缺乏易患各种急慢性传染病, 这些都说明VD影响着免疫系统功能的发挥, 其作为一种新型的神经内分泌-免疫调节激素已被我们接受. 一方面, VD可以使正常外周血单核细胞向巨噬细胞转化, 加强巨噬细胞的吞噬作用<sup>[12]</sup>, 从而参与调解固有免疫; 另一方面, 特异性免疫中, 1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>通过VDR作用于树突状细胞(dendritic cell, DC)抑制其成熟, 从而中止免疫反应<sup>[13]</sup>. 此外, VD还是T细胞发挥免疫作用的调节剂, 通过抑制Th细胞增殖、分化、分泌肿瘤坏死因子-β(tumor necrosis factor-β, TNF-β)、白介素(interleukin-2, IL-2)、干扰素-γ, 使细胞因子表达从T1途径转变为T2途径, 从而使T细胞发挥抑制性免疫调节作用<sup>[14]</sup>. VD也可增强免疫, 高水平的1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub> VDR转录活性能促进CD4<sup>+</sup> Th2细胞以及黏膜抗体对抗侵犯人体皮肤的抗原<sup>[15]</sup>, VD还可以作为疫苗的佐剂来增强机体体液免疫.

**1.2 VD的抗传染病作用** VD可对抗多种传染病. 英国的研究人员称高剂量的VD治疗能加速肺结核的痊愈, 减少肺损伤, 低水平的VD会提高活动性肺结核的发生率<sup>[16,17]</sup>. 这可能是因为VD会促使T细胞释放干扰素-γ的分子, 该分子会进而激活巨噬细胞进攻入侵的结核菌, 并释放一种抗菌肽, 来增强抗结核的能力<sup>[18]</sup>. 另外, 补充VD可以延缓艾滋病的母婴传播, 降低艾滋病的病死率<sup>[19]</sup>.

**1.3 VD的抗肿瘤作用** VD与癌症关系的研究炙手可热, 也充满了争议. 长期VD缺乏, 可能会引发一些恶性肿瘤, 如白血病、乳腺癌<sup>[20-25]</sup>. 而补充VD可以减少一些肿瘤的发生, 例如补充VD可以使结肠直肠癌的发生率降低6%<sup>[26]</sup>. 但有些研究表明, VD并非多多益善, 其与肿瘤呈U性曲线关系, 如乳腺癌、食管癌和胰腺癌, 推荐血清最佳浓度为40-80 nmol/L(16-32 ng/mL)<sup>[27]</sup>, 一项病例对照研究甚至指出高VD使得胰腺癌风险升高3倍<sup>[28]</sup>.

## 2 VD在肝病中作用

**2.1 VD与乙型肝炎** 慢性乙型病毒性肝炎是目前我国危害性最严重的一种传染病<sup>[29,30]</sup>. 乙型肝炎患者普遍存在VD缺乏, 并与乙型肝炎病毒载量相关. 一组实验测量了203例慢乙型肝炎患者的25-羟基维生素D<sub>3</sub>(25-OH-D<sub>3</sub>)水平, 分别有69例(34%)有严重的VD缺乏(25-OH-D<sub>3</sub><10 ng/mL), 95例(47%)有VD不足(25-OH-D<sub>3</sub>≥10并且

<20 ng/mL), 39例(19%)VD充足(25-OH-D<sub>3</sub>≥20 ng/mL), 观察其与乙型肝炎病毒载量的关系, 发现在病毒<2000 IU/mL及≥2000 IU/mL患者中, 25-OH-D<sub>3</sub>平均血清浓度分别为17、11 ng/mL. 单因素及多因素方差分析显示, 高乙型肝炎病毒载量预示着VD水平低下<sup>[31]</sup>. 国内也有类似研究, 随机挑选慢乙型肝炎患者300例, 其中202例VD缺乏者为实验组, 98名正常者为对照组, 测得两组HBV DNA均值分别为6.03±2.30及4.31±2.48(log10 copies/mL), 即实验组明显高于对照组<sup>[32]</sup>; 另有研究显示, VD与乙型肝炎表面抗原的自发清除相关. Mahamid等<sup>[33]</sup>在2007-2013年监测了53例发生乙型肝炎表面抗原自发清除的慢性乙型病毒性肝炎患者, 其中44例VD水平在正常范围, 9例VD水平低下, 说明了正常的VD水平有利于促进乙型肝炎表面抗原的自发清除. 最后, 有研究显示, 慢性肾病患者由于体内1,25-(OH)<sub>2</sub>-D<sub>3</sub>合成减少, 导致其接种乙型肝炎疫苗后无法得到有效的抗体滴度<sup>[34]</sup>.

**2.2 VD与丙型肝炎** 丙型肝炎病毒是引起肝硬化和肝癌的重要原因之一, 目前全球超过1.7亿例感染丙型肝炎病毒<sup>[35]</sup>. 血清VD水平能否预测丙型肝炎抗病毒治疗的持续应答反应率(sustained virological response, SVR), 目前仍不明确<sup>[36]</sup>. 有研究发现体内的25-OH-D<sub>3</sub>水平可能会影响进行标准抗病毒治疗患者的炎症反应及纤维化的过程. 对197例基因1型(genotype 1, G1)慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)和49例健康受试者进行年龄和性别匹配连续评估, 其中167例患者接受了聚乙二醇干扰素联合利巴韦林抗病毒治疗, 结果显示CHC血清25-OH-D<sub>3</sub>水平明显低于正常人(这可能是因为CHC患者减少CYP27A1的表达), 低VD水平导致严重纤维化以及低水平的持续病毒学应答率<sup>[37,38]</sup>. Gal-Tanamy等<sup>[39]</sup>的研究首次发现VD在体外病毒感染增殖系统中有直接抗病毒作用, 肝脏VD内分泌系统和丙型肝炎病毒之间存在相互影响, VD通过与干扰素发挥协同效应提高患者的抗病毒治疗效果. Kondo等<sup>[40]</sup>则认为1-羟基维生素D<sub>3</sub>(1-OH-D<sub>3</sub>)可以通过抑制外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)及免疫血清球蛋白(immune serum globulin, ISG)释放趋化因子(interferon-inducible protein-10, IP-10)来增加聚乙二醇干扰素联合利巴韦林治疗的敏感性. 还有研究表明IL28B的基因多态性如rs12979860C/T能有效预测CHC的抗病毒治疗的应答, 而VD能增

### ■研究前沿

目前研究慢性肝病尤其是乙型肝炎、丙肝与维生素D之间关系的临床试验颇多, 但仍缺乏一些大样本、多中心的系统动态的研究, 包括为慢性肝病患者补充维生素D并进行随访, 观察其肝病的进程.

## ■创新盘点

本文从乙型肝炎、丙型肝炎、脂肪肝、肝硬化、肝癌这5个方面来阐述与维生素D之间的关系,较为系统、全面地阐述了维生素D在肝病中的作用。

加其对初治CHC患者预测的准确性。当血清VD浓度 $>20\text{ ng/mL}$ 时, G1等难治性基因型的患者也可达到85%的SVR<sup>[41]</sup>。

**2.3 VD与脂肪肝** 研究表明, VD可以通过减少体质量及肝脏质量的增加、降低血清血脂浓度、减少肝脏脂肪生成相关基因的表达, 以及提高脂肪氧化相关基因的表达, 从而减弱高脂餐导致的大鼠肝脂肪变性, 对于高脂餐引起的大鼠肝脂肪变性, 有一定的预防作用<sup>[42]</sup>。而VD缺乏时, 可以激活Toll样受体, 加重肥胖大鼠的非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver, NAFLD)<sup>[43]</sup>。同样, 在临床研究中发现, 低VD水平增加非肥胖人群的NAFLD患病率<sup>[44]</sup>。在韩国, 一个由1081例糖尿病或胰岛素抵抗患者组成的队列中发现, 低VD水平, 独立于内脏性肥胖, 是NAFLD的危险因素<sup>[45]</sup>。与此同时, Targher等<sup>[46]</sup>也在60例非酒精性脂肪肝以及60例健康人的对照研究中, 发现NAFLD患者的VD显著低于正常人。

**2.4 VD与肝硬化** 肝纤维化是细胞外基质(extracellular matrix, ECM)的过量沉积, 是一种创伤修复反应。此修复过程涉及肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)的TGF- $\beta$ 1/SMAD活化, 使得ECM过量沉积并破坏肝功能。VD缺乏可能会加重肝纤维化。一项VD缺乏与HIV/HCV双重感染患者的肝病严重程度相关的研究中, 174例双重感染患者中, 伴有严重肝纤维化者维生素缺乏率更高, 达92.6%<sup>[47]</sup>。VD水平亦与非酒精性脂肪肝引起肝纤维化的几率呈负相关<sup>[48]</sup>。有学者认为VD-VDR轴通过SMAD路径诱导表观遗传学变异, 在抗肝纤维化中起重要作用<sup>[49]</sup>。更有研究认为1,25-(OH) $_2$ -D $_3$ 新陈代谢的普遍变异可以适度增加肝脏弹性, 抑制肝纤维化的发生<sup>[50]</sup>。这也提示VDR配体也许能作为抗肝纤维化的潜在治疗要去<sup>[51]</sup>。但在评价VDR配体作用的临床试验开展之前, 更深层面的基础研究尚待完善, 特别是围绕着VDR配体对于肝星状细胞作用的研究。

**2.5 VD与肝癌** 肝癌的发生机制, 目前认为是肝炎病毒在肝细胞内和人体的染色体整合, 使肝细胞易于受到刺激而发生转化。另外一些原癌基因如*N-ras*基因被激活、抑癌基因如*p53*发生突变, 均可以启动癌变, 促进癌症的发生。VD为肝癌的治疗带了新的希望。肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)对于化、放疗皆不敏感, 在细胞培养和动物实验中, 1,25-(OH) $_2$ -D $_3$ 显示出了抗癌活性, 但不足之处是其会引起高钙血症, 而其类似物MART-10[一种VD的类似物,

即19-Nor-2 $\alpha$ -(3-hydroxypropyl)-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D $_3$ ]在体外抗增殖活性比1,25-(OH) $_2$ -D $_3$ 强100倍, 并且注入动物体内不会引起高钙血症, 其很可能成为治疗HCC的潜在药物<sup>[52]</sup>。

## 3 结论

迄今为止, VD的在肝病中的作用还在不断更新。VD参与调控了免疫反应、病毒复制、肝纤维化发生、脂质代谢、肝癌发生等多个方面, 目前研究仍只是冰山一角。相信随着对VD研究的深入, 其可能会为我们治疗肝病、延缓其病情进展带来新思路、新视角。

## 4 参考文献

- 1 Arteh J, Narra S, Nair S. Prevalence of vitamin D deficiency in chronic liver disease. *Dig Dis Sci* 2010; 55: 2624-2628 [PMID: 19960254 DOI: 10.1007/s10620-009-1069-9]
- 2 吕呈, 张翀, 窦晓光. 慢性病毒性肝病患者维生素D水平的检测与分析. 第八届全国肝脏疾病临床学术大会暨第四届中国-印度尼西亚肝病峰会, 2012: 120-123
- 3 Villar LM, Del Campo JA, Ranchal I, Lampe E, Romero-Gomez M. Association between vitamin D and hepatitis C virus infection: a meta-analysis. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 5917-5924 [PMID: 24124339 DOI: 10.3748/wjg.v19.i35.5917]
- 4 Avihingsanon A, Apornpong T, Ramautarsing RA, Ubolyam S, Tangkijvanich P, Ananworanich J, Lange JM, Matthews G, Lewin SR, Ruxrungtham K; HIV-NAT 105 study team. Decline in serum 25 hydroxyvitamin D levels in HIV-HBV-coinfected patients after long-term antiretroviral therapy. *Antivir Ther* 2013 Aug 23. [Epub ahead of print] [PMID: 23970149 DOI: 10.3851/IMP2673]
- 5 Efe C, Purnak T, Ozaslan E. Vitamin D levels in patients with chronic hepatitis B. *Hepatology* 2013 Dec 6. [Epub ahead of print] [PMID: 24310781 DOI: 10.1002/hep.26962.]
- 6 魏兆勇, 武凤云. 慢性肝病患者血清维生素D检测及其意义. *肝脏* 2012; (10): 753-754
- 7 Grant WB, Garland CF. The vitamin D revolution. *Mol Nutr Food Res* 2010; 54: 1053 [PMID: 20698010 DOI: 10.1002/mnfr.201090030]
- 8 Sigmundsdottir H. From the bench to the clinic: New aspects on immunoregulation by vitamin D analogs. *Dermatoendocrinol* 2011; 3: 187-192 [PMID: 22110778 DOI: 10.4161/derm.3.3.15115]
- 9 Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D $_3$ : a helpful immunomodulator. *Immunology* 2011; 134: 123-139 [PMID: 21896008 DOI: 10.1111/j.1365-2567.2011.03482.x]
- 10 Han YP, Kong M, Zheng S, Ren Y, Zhu L, Shi H, Duan Z. Vitamin D in liver diseases: from mechanisms to clinical trials. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 1: 49-55 [PMID: 23855296 DOI: 10.1111/jgh.12016]
- 11 陈兆聪. 维生素D再认识. *医药导报* 2011; (5): 555-560
- 12 朱慧花, 赵琳. 维生素D与免疫功能的研究. *医学综述* 2013; (5): 820-822
- 13 辛星, 万献尧, 毕丽岩. 维生素D $_3$ 及其受体的临床意



- 义. 医学与哲学(临床决策论坛版) 2010; (4): 44-45
- 14 Ginde AA, Sutherland ER. Vitamin D in asthma: panacea or true promise? *J Allergy Clin Immunol* 2010; 126: 59-60 [PMID: 20620566 DOI: 10.1016/j.jaci.2010.05.030]
  - 15 Hayes CE, Nashold FE, Spach KM, Pedersen LB. The immunological functions of the vitamin D endocrine system. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2003; 49: 277-300 [PMID: 12887108]
  - 16 Linker-Israeli M, Elstner E, Klinenberg JR, Wallace DJ, Koeffler HP. Vitamin D(3) and its synthetic analogs inhibit the spontaneous in vitro immunoglobulin production by SLE-derived PBMC. *Clin Immunol* 2001; 99: 82-93 [PMID: 11286544]
  - 17 Mehta S, Mugusi FM, Bosch RJ, Aboud S, Urassa W, Villamor E, Fawzi WW. Vitamin D status and TB treatment outcomes in adult patients in Tanzania: a cohort study. *BMJ Open* 2013; 3: e003703 [PMID: 24247327 DOI: 10.1136/bmjopen-2013-003703]
  - 18 Gayoso CM, Mateos J, Méndez JA, Fernández-Puente P, Rumbo C, Tomás M, Martínez de Ilarduya O, Bou G. Molecular Mechanisms Involved in the Response to Desiccation Stress and Persistence in *Acinetobacter baumannii*. *J Proteome Res* 2014; 13: 460-476 [PMID: 24299215]
  - 19 Conesa-Botella A, Florence E, Lynen L, Colebunders R, Menten J, Moreno-Reyes R. Decrease of vitamin D concentration in patients with HIV infection on a non nucleoside reverse transcriptase inhibitor-containing regimen. *AIDS Res Ther* 2010; 7: 40 [PMID: 21092280 DOI: 10.1186/1742-6405-7-40]
  - 20 周建烈, 陈伟俊, 吴光驰. 维生素D补充的研究进展. *中华儿科杂志* 2009; 47: 714-715
  - 21 Stolzenberg-Solomon RZ, Hayes RB, Horst RL, Anderson KE, Hollis BW, Silverman DT. Serum vitamin D and risk of pancreatic cancer in the prostate, lung, colorectal, and ovarian screening trial. *Cancer Res* 2009; 69: 1439-1447 [PMID: 19208842 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-08-2694]
  - 22 Firmin N, Lamy PJ, Romieu G, Jacot W. Vitamin D and breast cancer: physiopathology, biological and clinical implications. *Bull Cancer* 2013 Oct 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24103818]
  - 23 Der T, Bailey BA, Youssef D, Manning T, Grant WB, Peiris AN. Vitamin D and prostate cancer survival in veterans. *Mil Med* 2014; 179: 81-84 [PMID: 24402990 DOI: 10.7205/MILMED-D-12-00540]
  - 24 Redaniel MT, Gardner MP, Martin RM, Jeffreys M. The association of vitamin D supplementation with the risk of cancer in postmenopausal women. *Cancer Causes Control* 2014; 25: 267-271 [PMID: 24337883]
  - 25 Bernstein CN. Should Patients With Inflammatory Bowel Disease Take Vitamin D to Prevent Cancer? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013 Nov 12. [Epub ahead of print] [PMID: 24239859 DOI: 10.1016/j.cgh.2013.11.004]
  - 26 Lappe JM, Travers-Gustafson D, Davies KM, Recker RR, Heaney RP. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk: results of a randomized trial. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 1586-1591 [PMID: 17556697]
  - 27 Huncharek M, Muscat J, Kupelnick B. Colorectal cancer risk and dietary intake of calcium, vitamin D, and dairy products: a meta-analysis of 26,335 cases from 60 observational studies. *Nutr Cancer* 2009; 61: 47-69 [PMID: 19116875 DOI: 10.1080/01635580802395733]
  - 28 Chiang KC, Yeh CN, Chen MF, Chen TC. Hepatocellular carcinoma and vitamin D: a review. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26: 1597-1603 [PMID: 21880026 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06892.x]
  - 29 林美芳, 何银珠. 乙肝的危害性、传播途径及相应的干预措施. *中国社区医师(医学专业)* 2010; 12: 57
  - 30 姜秀翠, 谢红. 关于乙型肝炎病毒的危害及其疫苗接种的几个问题的探讨. *中外健康文摘* 2012; 9: 101-102
  - 31 Farnik H, Bojunga J, Berger A, Allwinn R, Waidmann O, Kronenberger B, Keppler OT, Zeuzem S, Sarrazin C, Lange CM. Low vitamin D serum concentration is associated with high levels of hepatitis B virus replication in chronically infected patients. *Hepatology* 2013; 58: 1270-1276 [PMID: 23703797 DOI: 10.1002/hep.26488]
  - 32 陈肇杰, 詹杭锋, 洗汉福. 慢性乙肝青少年患者血清维生素D的相关性研究. *中国卫生产业* 2012; (36): 9-10
  - 33 Mahamid M, Nseir W, Abu Elhija O, Shteingart S, Mahamid A, Smamra M, Koslowsky B. Normal vitamin D levels are associated with spontaneous hepatitis B surface antigen seroclearance. *World J Hepatol* 2013; 5: 328-331 [PMID: 23805357 DOI: 10.4254/wjh.v5.i6.328]
  - 34 Zitt E, Sprenger-Mähr H, Knoll F, Neyer U, Lhotta K. Vitamin D deficiency is associated with poor response to active hepatitis B immunisation in patients with chronic kidney disease. *Vaccine* 2012; 30: 931-935 [PMID: 22142584 DOI: 10.1016/j.vaccine.2011.11.086]
  - 35 Ren Y, Zheng SJ, Duan ZP. [The progress of hepatitis C chronic infection in the immune mechanism]. *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2013; 21: 151-153 [PMID: 24000467 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2013.02.020]
  - 36 Lapiński TW, Flisiak R. [Predictive factors of virological response in chronically HCV infected]. *Pol Merkur Lekarski* 2012; 33: 159-162 [PMID: 23157135]
  - 37 Petta S, Cammà C, Scazzone C, Tripodo C, Di Marco V, Bono A, Cabibi D, Licata G, Porcasi R, Marchesini G, Craxi A. Low vitamin D serum level is related to severe fibrosis and low responsiveness to interferon-based therapy in genotype 1 chronic hepatitis C. *Hepatology* 2010; 51: 1158-1167 [PMID: 20162613 DOI: 10.1002/hep.23489]
  - 38 Amanzada A, Goralczyk AD, Moriconi F, van Thiel DH, Ramadori G, Mihm S. Vitamin D status and serum ferritin concentration in chronic hepatitis C virus type 1 infection. *J Med Virol* 2013; 85: 1534-1541 [PMID: 23852677 DOI: 10.1002/jmv.23632]
  - 39 Gal-Tanamy M, Bachmetov L, Ravid A, Koren R, Erman A, Tur-Kaspa R, Zemel R. Vitamin D: an innate antiviral agent suppressing hepatitis C virus in human hepatocytes. *Hepatology* 2011; 54: 1570-1579 [PMID: 21793032 DOI: 10.1002/hep.24575]
  - 40 Kondo Y, Kato T, Kimura O, Iwata T, Ninomiya M, Kakazu E, Miura M, Akahane T, Miyazaki Y, Kobayashi T, Ishii M, Kisara N, Sasaki K, Nakayama H, Igarashi T, Obara N, Ueno Y, Morosawa T, Shimosegawa T. 1(OH) vitamin D3 supplementation improves the sensitivity of the immune-response during Peg-IFN/RBV therapy in chronic hepatitis C patients-case controlled trial. *PLoS One* 2013; 8: e63672 [PMID: 23717463 DOI: 10.1371/journal.pone.0063672.]
  - 41 Bitetto D, Fattovich G, Fabris C, Ceriani E, Falletti E, Fornasiere E, Pasino M, Ieluzzi D, Cussigh A,

#### 同行评价

维生素D功能研究是目前研究的热点之一,已有临床报道证实慢性肝病患者体内普遍存在维生素D浓度异常。此文呼吁及引起临床医生对维生素D的重视,也具有一定的实际启发意义。

- Cmet S, Pirisi M, Toniutto P. Complementary role of vitamin D deficiency and the interleukin-28B rs12979860 C/T polymorphism in predicting antiviral response in chronic hepatitis C. *Hepatology* 2011; 53: 1118-1126 [PMID: 21480318 DOI: 10.1002/hep.24201]
- 42 Yin Y, Yu Z, Xia M, Luo X, Lu X, Ling W. Vitamin D attenuates high fat diet-induced hepatic steatosis in rats by modulating lipid metabolism. *Eur J Clin Invest* 2012; 42: 1189-1196 [PMID: 22958216 DOI: 10.1111/j.1365-2362.2012.02706.x.]
- 43 Roth CL, Elfers CT, Figlewicz DP, Melhorn SJ, Morton GJ, Hoofnagle A, Yeh MM, Nelson JE, Kowdley KV. Vitamin D deficiency in obese rats exacerbates nonalcoholic fatty liver disease and increases hepatic resistin and Toll-like receptor activation. *Hepatology* 2012; 55: 1103-1111 [PMID: 21994008 DOI: 10.1002/hep.24737]
- 44 Kasapoglu B, Turkay C, Yalcin KS, Carlioglu A, Sozen M, Koktener A. Low vitamin D levels are associated with increased risk for fatty liver disease among non-obese adults. *Clin Med* 2013; 13: 576-579 [PMID: 24298105 DOI: 10.7861/clinmedicine.13-6-576]
- 45 Seo JA, Eun CR, Cho H, Lee SK, Yoo HJ, Kim SG, Choi KM, Baik SH, Choi DS, Yim HJ, Shin C, Kim NH. Low vitamin D status is associated with nonalcoholic Fatty liver disease independent of visceral obesity in Korean adults. *PLoS One* 2013; 8: e75197 [PMID: 24130687 DOI: 10.1371/journal.pone.0075197]
- 46 Targher G, Bertolini L, Scala L, Cigolini M, Zenari L, Falezza G, Arcaro G. Associations between serum 25-hydroxyvitamin D3 concentrations and liver histology in patients with non-alcoholic fatty liver disease. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2007; 17: 517-524 [PMID: 16928437]
- 47 Guzmán-Fulgencio M, García-Álvarez M, Berenguer J, Jiménez-Sousa MÁ, Cosín J, Pineda-Tenor D, Carrero A, Aldámiz T, Alvarez E, López JC, Resino S. Vitamin D deficiency is associated with severity of liver disease in HIV/HCV coinfecting patients. *J Infect* 2014; 68: 176-184 [PMID: 24184809 DOI: 10.1016/j.jinf.2013.10.011.]
- 48 Nobili V, Giorgio V, Liccardo D, Bedogni G, Morino G, Alisi A, Cianfarani S. Vitamin D levels and liver histological alterations in children with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Eur J Endocrinol* 2014 Jan 10. [Epub ahead of print] [PMID: 24412930]
- 49 Firrincieli D, Braescu T, Housset C, Chignard N. Illuminating liver fibrosis with vitamin D. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2014; 38: 5-8 [PMID: 24238723 DOI: 10.1016/j.clinre.2013.10.004]
- 50 Grünhage F, Hochrath K, Krawczyk M, Höblinger A, Obermayer-Pietsch B, Geisel J, Trauner M, Sauerbruch T, Lammert F. Common genetic variation in vitamin D metabolism is associated with liver stiffness. *Hepatology* 2012; 56: 1883-1891 [PMID: 22576297 DOI: 10.1002/hep.25830]
- 51 Ding N, Liddle C, Evans RM, Downes M. Hepatic actions of vitamin D receptor ligands: a sunshine option for chronic liver disease? *Expert Rev Clin Pharmacol* 2013; 6: 597-599 [PMID: 24164608 DOI: 10.1586/17512433.2013.841078]
- 52 Chiang KC, Yeh CN, Chen HY, Lee JM, Juang HH, Chen MF, Takano M, Kittaka A, Chen TC. 19-Nor-2 $\alpha$ -(3-hydroxypropyl)-1 $\alpha$ ,25-dihydroxyvitamin D3 (MART-10) is a potent cell growth regulator with enhanced chemotherapeutic potency in liver cancer cells. *Steroids* 2011; 76: 1513-1519 [PMID: 21888924 DOI: 10.1016/j.steroids.2011.08.006]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 肿瘤微环境在肝细胞癌中的作用

李晓鹏, 崔东来

李晓鹏, 崔东来, 河北医科大学第二医院消化内科 河北省石家庄市 050000

李晓鹏, 河北医科大学在读硕士, 主要从事消化系统肿瘤的基础与临床研究。

作者贡献分布: 本文综述由李晓鹏完成; 崔东来审校。

通讯作者: 崔东来, 教授, 主任医师, 050000, 河北省石家庄市和平西路215号, 河北医科大学第二医院消化内科。

liver369@126.com

电话: 0311-66002958

收稿日期: 2013-12-29 修回日期: 2014-01-22

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Role of tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma

Xiao-Peng Li, Dong-Lai Cui

Xiao-Peng Li, Dong-Lai Cui, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China

Correspondence to: Dong-Lai Cui, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Hospital of Hebei Medical University, 215 Heping West Road, Shijiazhuang 050000, Hebei Province, China. liver369@126.com

Received: 2013-12-29 Revised: 2014-01-22

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the most common primary liver cancer and the third leading cause of cancer death worldwide, with an incidence increasing every year. HCC pathogenesis is very complex. Its occurrence, development and metastasis are closely related to multiple mutations, cell signaling pathways and abnormal angiogenesis. The main reason for the high mortality rate of liver cancer is the difficulties in early diagnosis, and most patients have had local or distant metastasis when diagnosed. Moreover, there is a lack of effective treatment, because the pathogenesis of HCC is not yet fully clear. In recent years, a large number of studies have found that stromal tumor microenvironment plays an important role in the occurrence, development and metastasis of HCC. Tumor microenvironment and tumor cells create a complex system with interacting signaling pathways. In this review, we will discuss the role of tumor microenvironment in HCC in terms of HCC stromal cell microenvironment, inflammatory microenvironment and angiogenesis microenvironment.

environment in HCC in terms of HCC stromal cell microenvironment, inflammatory microenvironment and angiogenesis microenvironment.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Tumor microenvironment

Li XP, Cui DL. Role of tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1219-1225 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1219.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1219>

## 摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见的原发性肝脏肿瘤, 并且是全世界癌症死亡的第3大原因, 其发病率还在逐年增加。肝癌的发病机制复杂, 其发生、发展和转移与多种基因突变、细胞信号传导通路和新生血管增生异常密切相关。其死亡率居高不下的主要原因是临床早期诊断困难, 确诊时大多数已达到局部晚期或发生远处转移, 且缺乏有效的治疗方法。近年来, 大量的研究发现基质肿瘤微环境在肝癌的发生、发展中发挥着重要作用, 其与肿瘤细胞共同创造了一个具有互相作用信号通路的复杂的系统。在这篇综述中, 从肿瘤微环境的概念、肝癌基质细胞微环境、炎症微环境、血管生成微环境等几个方面进行研究。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 肝细胞癌; 微环境

**核心提示:** 肿瘤微环境(tumor microenvironment)包括基质细胞微环境、炎症微环境、血管生成微环境及细胞外基质等, 通过微环境中各种细胞、趋化因子、信号通路的作用在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma)的增殖、侵袭和转移中起关键性作用。

李晓鹏, 崔东来. 肿瘤微环境在肝细胞癌中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1219-1225 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1219.asp>

## ■背景资料

原发性肝癌是我国常见恶性肿瘤之一, 包括肝细胞癌和胆管细胞癌, 肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)(简称肝癌)在原发性肝癌中占90%以上, 我国为肝癌高发区, 大多数患者确诊时已为局部晚期或远处转移。肿瘤微环境在肝癌发生发展和转移过程中起着至关重要的作用。

## ■同行评议者

代智, 副研究员, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所



## ■ 研发前沿

以往总是针对肿瘤细胞本身的特性进行研究,而忽略肿瘤微环境在肝细胞癌的发生发展和转移中发挥的重要作用,基质细胞微环境、炎症微环境、血管生成微环境等构成复杂的系统促进肿瘤增殖、侵袭和转移。

wjgnet.com/1009-3079/22/1219.asp DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1219>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种恶性程度极高的消化系统恶性肿瘤,是全世界癌症死亡的第3大原因<sup>[1]</sup>。在全球范围内每年有超过750000例新发确诊病例,尽管近年来通过各种方法对肝癌尽早诊断和治疗,但由于他的高复发和转移率,使其仍然是一个极具杀伤力的疾病<sup>[2]</sup>。肝癌是我国癌症中的第2号杀手,全球50%以上的肝癌发生在我国,并且发病率仍呈上升趋势。乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染、酒精和黄曲霉素均是导致HCC的危险因素,另外,对有慢性乙型肝炎和丙型肝炎病毒感染的患者,肝氧化应激可增加其发展为肝癌的风险<sup>[3]</sup>。HCC有高致死率,特别是肝硬化基础上发展为肝癌的患者容易发生早期肝内外转移,预后较差。因此,对于肝癌的研究是一个重要课题。

长期以来的研究多注重肿瘤细胞本身的特征和作用机制,而忽略了肿瘤微环境的作用,肿瘤微环境是一个不断变化的概念,癌症的定义不仅只是由肿瘤细胞基因决定的,还决定于肿瘤细胞需要存活、生长、增殖和转移的周边环境<sup>[4]</sup>。近年来,大量的注意力集中于对肿瘤微环境的研究,是为了更好的描述和预测癌症表型的特点<sup>[5]</sup>。此外,了解肿瘤细胞不同成分与微环境之间的相互作用,可能有助于发现新的分子治疗靶点。

## 1 肿瘤微环境的概念

肿瘤微环境是肿瘤发生发展和转移过程中所处的内环境,他是由肿瘤细胞、间质细胞和细胞外基质(extracellular matrix, ECM)共同组成的一个复杂的混合体。微环境的基质细胞组成可以分为3个部分:血管生成细胞、免疫细胞和肿瘤相关的成纤维细胞。尤其是基质纤维母细胞,在微环境中的改变,可能会影响相邻上皮细胞肿瘤的发生和促进其进展<sup>[6]</sup>。肿瘤微环境中的免疫细胞功能下调,促进了新生血管形成、肿瘤进展和转移。这些基质细胞和其周围由细胞外基质蛋白、生长因子、细胞趋化因子及一些基质降解酶类组成的肿瘤基质共同包绕着肿瘤,构成了肿瘤的整体<sup>[7]</sup>。

## 2 肝癌基质细胞微环境

在肿瘤进展过程中,恶性肝细胞和活化的肝星状细胞,连同肿瘤相关成纤维细胞、肌成纤维细胞和免疫细胞一起通常称为肿瘤基质细胞。这种新的动态的环境通过肿瘤基质细胞分泌的可溶性介质进一步增强了肿瘤细胞的反应,进而直接影响了肝细胞的恶变<sup>[8]</sup>。肝癌微环境中存在大量的基质细胞。目前,越来越多的证据证明基质细胞对肿瘤特征的重要作用,包括持续增殖信号、逃避生长抑制、抵抗细胞死亡、启动永久复制、引起血管生成、活化侵袭和转移、重编程能量代谢和逃避免疫破坏等<sup>[9]</sup>。

**2.1 肿瘤相关成纤维细胞** 肿瘤相关成纤维细胞(cancer-associated fibroblasts, CAFs)是肿瘤微环境中的中心成分,他们是许多癌症中肿瘤间质内突出的细胞类型,并且在肿瘤间质互相作用中发挥关键的作用<sup>[10]</sup>。CAF参与肝癌的生长和侵袭,因为他们能产生表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)、成纤维细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)、肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、细胞因子、趋化因子和金属蛋白酶(metalloproteinase, MMP)(如MMP-3、MMP-9)<sup>[11]</sup>。CAF还可以分泌白介素-8(interleukin-8, IL-8)、环氧化酶-2(cyclooxygenase-2, COX-2)和富含半胱氨酸的酸性蛋白,聚集和刺激巨噬细胞的产生,这些可以通过分泌肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和血小板源性生长因子(platelet-derived growth factor, PDGF)来增加CAF的活性<sup>[12]</sup>。癌细胞和CAF的入侵共培养实验显示,肿瘤进展中走在前面的细胞总是CAF,而癌细胞会在CAF之后移入ECM<sup>[13]</sup>。因此,肝癌细胞的生长和转移扩散取决于CAF的存在和其与肝癌细胞互相作用<sup>[14]</sup>。

**2.2 肝星状细胞** 肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是窦周细胞,这些细胞的激活在肝脏中是负责胶原蛋白合成的。对于肝脏反复损伤的反应是HSCs被激活,然后他们转分化为肌成纤维细胞样细胞,这种表型的转化被认为是肝纤维化发生的一个中心环节<sup>[15]</sup>。在这一过程中活化的HSCs负责产生细胞因子、趋化因子、生长因子和广泛的ECM<sup>[16]</sup>。收集于HSCs的条件培养基在培养中诱导肝癌细胞增殖和转移,而且通过核转录因子- $\kappa$ B(nuclear factor kappa B, NF- $\kappa$ B)的激活和细胞外调节激酶(extracellular

regulated kinase, ERK)途径, HSCs可促进肝癌生长和减少中心坏死的程度<sup>[17]</sup>. Xia等<sup>[18]</sup>阐明了在大鼠细胞培养中肝癌细胞是如何促进HSC活化的. 因此, HSCs和肝癌细胞共培养会刺激HSC的增殖、迁移和促血管生成基因的表达, 随后, I型、IV型胶原和层粘连蛋白沉积, 内皮细胞聚集, 新生血管形成和组织修复, HSC的激活和基底膜的聚集可能是细胞增殖和再生的一个重要步骤. 乙型肝炎病毒X蛋白、丙型肝炎病毒的非结构蛋白、MMP-9、PDGF、转化生长因子- $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ 1, TGF- $\beta$ 1)、JNK、胰岛素样生长因子结合蛋白5、组织蛋白B和D是HSCs活化、增殖的强诱导剂, 从而增强肝纤维化和癌变<sup>[19]</sup>.

另外, HSCs的免疫抑制特性也有助于肝癌的发生和发展. 具有免疫抑制活性的细胞如骨髓源抑制细胞(myeloid-derived suppressor cells, MDSCs)和调节性T细胞的大量积累是肿瘤免疫逃逸的关键机制. 活化的HSCs促进肝癌生长不仅是因为可以诱导肿瘤血管和淋巴管生成, 而且还可以显著增加对调节性T细胞和MDSCs这些免疫性细胞群在脾脏、骨髓和肿瘤组织中的抑制作用<sup>[20]</sup>.

### 3 肝癌炎症微环境

肝脏的慢性炎症状态, 肝炎病毒感染的持续状态和细胞因子及生长因子的产生, 导致一个复杂的微环境, 肝癌经常发生于肝脏有动态炎症反应的环境中, 这种环境易于肿瘤的发生. 炎症是肝脏损伤修复反应中必要的环节, 持续的慢性炎症产生一种不适当的修复反应, 刺激肝细胞死亡和再生, 这与异常结节和癌症的发生密切相关.

**3.1 肿瘤相关巨噬细胞** 在肝癌的免疫细胞中, 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)在肿瘤细胞与间质细胞之间的相互作用中占主导地位, TAMs起源于循环的单核细胞, 通过肿瘤源性信号, 包括趋化因子配体2(chemokine ligand, CCL2)和巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, MCSF), 聚集到肿瘤微环境中, 并分化为成熟的巨噬细胞. 肿瘤相关巨噬细胞(tumor-associated macrophages, TAMs)是形成白细胞在肿瘤不同级别中浸润模型的基础, 他们存在于肿瘤基质中, 并能开始广泛的极化激活, TAMs表型的激活可以是经典激活形式即M1型, 也可以是选择性激活形

式即M2型. 肿瘤微环境中IL-4、IL-10、TGF- $\beta$ 通过M2型巨噬细胞促进肿瘤相关巨噬细胞极化<sup>[21]</sup>. M2型巨噬细胞支持组织的修复和重塑, 并可以通过产生血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)或EGF促进血管生成<sup>[22]</sup>. 另外, 还发现枯否细胞是肝特异性的TAMs, 他可以通过与CD8<sup>+</sup> T细胞的程序性死亡受体1(programmed death receptor, PDR-1)和枯否细胞-TAMs产生的程序性死亡配体1(programmed death ligand, PDL-1)相互作用, 引起CD8<sup>+</sup> T细胞毒性功能下降, 减弱免疫依赖应答<sup>[23]</sup>, 此外, 阻断PDL-1和PDR-1之间的互相作用可以恢复CD8<sup>+</sup> T细胞的功能. 另外, 枯否细胞以及星状细胞, 当被炎症性细胞因子刺激后会产生大量的骨桥蛋白, 这些骨桥蛋白在不同细胞信号转导途径中起着举足轻重的作用, 并促进了炎症反应及肿瘤的进展和转移<sup>[24]</sup>.

**3.2 淋巴细胞** 淋巴细胞可见于人类各种肿瘤中. 肝细胞癌中有丰富的免疫细胞, 肿瘤浸润性淋巴细胞在实体肿瘤和宿主抗肿瘤反应中都是主要的免疫成分<sup>[25]</sup>. 在某些情况下, 这些浸润的淋巴细胞与良好的预后相关. 但是, 并非所有的T细胞都是抗肿瘤免疫效应细胞. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>的T细胞亚群被称为Tregs细胞(调节性T细胞), 一种功能独特的T细胞, 可以有效地抑制抗肿瘤免疫应答<sup>[26]</sup>. 他们通过抑制抗肿瘤免疫反应, 在促进肿瘤的生长和进展中起关键作用<sup>[27]</sup>. 调节性T细胞在不同位置表现出不同的功能状态. 关于肝癌, 已经证实, 肝癌组织与邻近组织相比, Tregs细胞比CD8<sup>+</sup> T细胞表达占主导地位, Tregs细胞还可以破坏CD8<sup>+</sup> T细胞的增殖、活化和脱颗粒, 抑制颗粒酶和穿孔素的产生<sup>[28]</sup>. 此外, 肿瘤内低CD8<sup>+</sup> T细胞和高Tregs细胞与肝癌的不良预后相关. Lin等<sup>[29]</sup>用流式细胞仪、定量PCR和趋化性试验分析了瘤内调节性T细胞的活性、功能和趋化性. 发现肿瘤内Foxp3<sup>+</sup>Tregs细胞所占比例与患者预后成负相关. Shen等<sup>[30]</sup>最近的一项研究证明, 调节性T细胞的水平和功能与肝癌患者的TNM分级相关, SDF-1可能有趋化Tregs细胞到肿瘤部位的作用. Chen等<sup>[31]</sup>通过动物实验证明, 应用次级淋巴组织趋化因子(Secondary lymphoid tissue chemokine, SLC)和抗CD25单克隆抗体瘤内联合用药是治疗肝癌的有效方法, 其机制是改变了肿瘤微环境, 使Tregs细胞、CD8<sup>+</sup> T细胞和CD4<sup>+</sup> T细胞在外周免疫器官得到了系统性优化的分配. 通过特定区

#### ■ 相关报道

随着对肿瘤微环境的深入研究, 其中很多趋化因子/趋化因子受体的作用得到了证实, 并有研究证明一些可以调控这些因子的药物如索拉菲尼, 在晚期肝癌的治疗中起重要作用.

## ■创新盘点

本文主要介绍了肿瘤微环境的概念、肝癌基质细胞微环境、炎症微环境、血管生成微环境等几个方面,特别重点阐述了这些方面促进肝肿瘤细胞增殖、侵袭、转移的作用,为恶性肿瘤的治疗以及预后评估提供新的思路,对临床及实验工作都有一定的参考价值。

域Tregs的消除或抑制,可能会改善肝癌的免疫治疗效果<sup>[32]</sup>。

**3.3 Th17细胞** Th17细胞是产生IL-17的CD4<sup>+</sup>淋巴细胞,近来发现,他们在某些肿瘤中表达增高<sup>[33]</sup>。但是, Th17细胞与肿瘤免疫病理学之间的关系还存在争议。在肝癌中,发现Th17细胞存在于大量肿瘤中,与低生存率和高术后复发率相关,这表明Th17细胞和IL-17在肝癌患者中可能会促进肿瘤进展<sup>[34]</sup>。还有研究表明,肝内IL-17<sup>+</sup> T细胞和Foxp3<sup>+</sup>的调节性T细胞可能联合作用,共同促进肝癌的进展<sup>[35]</sup>。Th17细胞在肝细胞癌中是构成炎症/免疫性细胞的关键部分, IL-17和IL-17受体的高表达能很好地预测肝癌患者的不良预后。活化的肝星状细胞可诱导IL-17体外扩增,在肿瘤的进展过程中各种炎症/免疫细胞和细胞因子之间存在着复杂的内在联系<sup>[36]</sup>。

## 4 细胞外基质的作用

细胞外基质对肝脏结构的支撑和对外环境的持续作用十分重要,能使信号转导和改变基因表达。在疾病中,细胞外基质重塑酶的活性失去控制,导致微环境纤维化,表现为硬度增加和大量的生长因子产生,从而促进肿瘤的生成<sup>[37]</sup>。胶原交联的失控和细胞外基质硬化通过加强整合蛋白信号在癌症发病机制中扮演重要角色<sup>[38]</sup>,这种情况导致过量的I型纤维胶原、II型纤维胶原和纤连蛋白在肝脏中沉积。另外,通过整合素家族的调节,肿瘤细胞大量的生长和增殖。整合素 $\alpha 1\beta 1$ 和整合素 $\alpha 2\beta 1$ 也参与癌细胞的进展和侵袭<sup>[39]</sup>,因为通过一些生长因子诱导使他们受抑制后会减少肝癌细胞转移。

细胞外基质内环境的失调会直接影响上皮细胞,导致细胞转化和转移。肿瘤生长需要先前存在屏障的破裂和肝组织的重塑,这一过程主要受MMPs和基质金属蛋白酶组织抑制剂(tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMPs)的调节, MMPs的过量表达能侵蚀基底膜屏障,促进癌细胞对组织的侵袭。肝癌与高蛋白酶水解活性和高MMP-2水平有关。另外, MMP2和TIMP2水平之间的失衡与肿瘤转移有关,造成不良的预后<sup>[40]</sup>。有研究表明反式肝动脉化疗栓塞术后,较高的血清MMP-2水平和MMP-2/TIMP-2比值可以预测不良预后,这提示这些生物标志物在肝癌预后中的重要作用<sup>[41]</sup>。并且,大量的临床和实验证据表明高浓度的MMP-9与肿瘤进展、转移和缩短病人生存时间关系密切<sup>[42]</sup>。

细胞外基质在肿瘤血管生成中也有重要作用,要建立新的血管分支,基底膜必须被MMPs侵蚀掉,细胞外基质还参与血管内腔构造、血管生成和基底膜沉积物的形成。肿瘤新生血管比正常血管孔径多,渗透性大<sup>[43]</sup>,有利于免疫细胞浸润、转移和促进肿瘤进展。细胞外基质还可以通过损害T辅助细胞的正常成熟而影响免疫细胞和T细胞的活化,免疫细胞的分化<sup>[44]</sup>。由于基质金属蛋白酶导致的细胞外基质降解与肿瘤细胞侵袭、转移关系密切,并且已经表明,通过合成的和天然的抑制剂抑制可能是肝癌治疗中非常重要的方法<sup>[45]</sup>。

## 5 血管微环境

血管生成从肝癌发生的早期阶段即发挥重要的作用<sup>[46]</sup>,肝癌是一种高血供肿瘤,病态的血管生成是慢性肝病形成的重要贡献者之一,对于慢性肝损伤,肝脏的损伤修复反应会导致纤维化的发生,这一过程需要基质细胞分泌一些促血管生成因子,尤其是MMP、PDGF、TGF- $\alpha 1$ 、纤维母细胞生长因子(fibroblast growth factor, FGF)和VEGF。此外,在纤维化发生的过程中,细胞外基质和组织结构的改变会增加血流阻力,从而减少氧气的交换代谢,造成低氧。

VEGF是非常重要的促血管生成因子,他的表达在退变结节中已经发生,并且在肝细胞癌的发展过程中逐渐增加。肿瘤一旦形成,癌细胞的存活就需要一种新的血管网的形成来为他提供营养和氧气。在肝癌中,血管生成过程是非常复杂的,并且被严密调控,使来自肿瘤和宿主细胞的多种血管生成因子和抗血管生成因子的达到平衡。肿瘤快速的生长会造成营养和氧气的缺乏,这种营养和氧气缺乏的环境会刺激内皮细胞(endothelial cells, ECs)的活化和增殖<sup>[47]</sup>,会在先前存在的血管基础上生成新的血管,内皮细胞的增殖和他所释放酶类会破坏基底膜,最后游走到最终的区域,在这里他们和细胞外基质一起形成一新的血管<sup>[48]</sup>。

VEGF的表达与肝癌的侵袭有关,其发挥作用需要他的受体,也就是血管内皮生长因子受体1(vascular endothelial growth factor receptor 1, VEGFR1)和VEGFR2去激活一些内皮细胞中的增殖、转移和侵袭的信号通路<sup>[49]</sup>。此外, VEGF还具有细胞因子样功能直接作用于肝星状细胞、Kupffer细胞和肝细胞<sup>[50]</sup>,进而调节血管基底膜和间隙基质的溶解。在晚期肝癌患者,



VEGF和血管生成素2的血浆浓度水平被认为是独立的预后标志物<sup>[51]</sup>。血管生成素2在肝癌中表达上调,并在内皮细胞中增强VEGF的作用,内皮细胞和星状细胞都能表达Tie-2受体,此受体能够进一步协调肝癌中血管生成的调节<sup>[52]</sup>。

纤维母细胞生长因子是肝素结合生长因子家族中的一员,他与VEGF协同作用诱导血管生成,而血小板源性生长因子参与细胞迁移和新生血管的成熟。癌细胞分泌血小板源性生长因子,这是一种旁分泌机制,还分泌一些如内皮细胞和纤维母细胞等其他,参与癌症进展。肿瘤血管生成中的一些其他重要的调节因子如整联蛋白和钙粘蛋白,他们分别调节细胞基质和细胞与细胞之间的连接,从而为新生血管的形成创造条件。

## 6 结论

随着研究的深入,肝癌肿瘤微环境在肝癌形成和演进中的重要作用已经逐步被人们所认识,微环境中各种基质、细胞、细胞因子和趋化因子等之间相互作用,形成一个复杂的网络系统,通过对此系统的研究,对肝癌的发生、发展、复发及转移过程有了更加全面的了解,为肝癌的进一步研究提供了新的思路。肝癌的很多治疗是以微环境中的某一环节作为靶点,对抗肿瘤的治疗开辟了新的道路,对于提高目前常用抗肿瘤的手段和最终控制肝癌具有十分重要的战略意义。

## 7 参考文献

- 1 Yang JD, Nakamura I, Roberts LR. The tumor microenvironment in hepatocellular carcinoma: current status and therapeutic targets. *Semin Cancer Biol* 2011; 21: 35-43 [PMID: 20946957 DOI: 10.1016/j.semcancer.2010.10.007]
- 2 Bruix J, Boix L, Sala M, Llovet JM. Focus on hepatocellular carcinoma. *Cancer Cell* 2004; 5: 215-219 [PMID: 15050913]
- 3 Porta C, Riboldi E, Sica A. Mechanisms linking pathogens-associated inflammation and cancer. *Cancer Lett* 2011; 305: 250-262 [PMID: 21093147 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.10.012]
- 4 Mbeunkui F, Johann DJ. Cancer and the tumor microenvironment: a review of an essential relationship. *Cancer Chemother Pharmacol* 2009; 63: 571-582 [PMID: 19083000 DOI: 10.1007/s00280-008-0881-9]
- 5 Mohla S, Witz IP. The 5th international conference on tumor microenvironment: progression, therapy and prevention versailles, france, october 20-24, 2009: conference summary. *Cancer Microenviron* 2010; 3: 1-5 [PMID: 21209771 DOI: 10.1007/s12307-010-0039-2]
- 6 Trimboli AJ, Cantemir-Stone CZ, Li F, Wallace JA, Merchant A, Creasap N, Thompson JC, Caserta E, Wang H, Chong JL, Naidu S, Wei G, Sharma SM, Stephens JA, Fernandez SA, Gurcan MN, Weinstein MB, Barsky SH, Yee L, Rosol TJ, Stromberg PC, Robinson ML, Pepin F, Hallett M, Park M, Ostrowski MC, Leone G. Pten in stromal fibroblasts suppresses mammary epithelial tumours. *Nature* 2009; 461: 1084-1091 [PMID: 19847259 DOI: 10.1038/nature08486]
- 7 Egeblad M, Nakasone ES, Werb Z. Tumors as organs: complex tissues that interface with the entire organism. *Dev Cell* 2010; 18: 884-901 [PMID: 20627072 DOI: 10.1016/j.devcel.2010.05.012]
- 8 Carloni V, Luong TV, Rombouts K. Hepatic stellate cells and extracellular matrix in hepatocellular carcinoma: more complicated than ever. *Liver Int* 2014 Jan 8. [Epub ahead of print] [PMID: 24397349 DOI: 10.1111/liv.12465]
- 9 Hanahan D, Coussens LM. Accessories to the crime: functions of cells recruited to the tumor microenvironment. *Cancer Cell* 2012; 21: 309-322 [PMID: 22439926 DOI: 10.1016/j.ccr.2012.02.022]
- 10 Pietras K, Ostman A. Hallmarks of cancer: interactions with the tumor stroma. *Exp Cell Res* 2010; 316: 1324-1331 [PMID: 20211171 DOI: 10.1016/j.yexcr.2010.02.045]
- 11 Orimo A, Gupta PB, Sgroi DC, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Naeem R, Carey VJ, Richardson AL, Weinberg RA. Stromal fibroblasts present in invasive human breast carcinomas promote tumor growth and angiogenesis through elevated SDF-1/CXCL12 secretion. *Cell* 2005; 121: 335-348 [PMID: 15882617]
- 12 Mueller L, Goumas FA, Affeldt M, Sandtner S, Gehling UM, Brilloff S, Walter J, Karnatz N, Lamszus K, Rogiers X, Broering DC. Stromal fibroblasts in colorectal liver metastases originate from resident fibroblasts and generate an inflammatory microenvironment. *Am J Pathol* 2007; 171: 1608-1618 [PMID: 17916596]
- 13 Gaggioli C, Hooper S, Hidalgo-Carcedo C, Grosse R, Marshall JF, Harrington K, Sahai E. Fibroblast-led collective invasion of carcinoma cells with differing roles for RhoGTPases in leading and following cells. *Nat Cell Biol* 2007; 9: 1392-1400 [PMID: 18037882]
- 14 Fransvea E, Mazzocca A, Antonaci S, Giannelli G. Targeting transforming growth factor (TGF)-betaRI inhibits activation of beta1 integrin and blocks vascular invasion in hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 839-850 [PMID: 19115199 DOI: 10.1002/hep.22731]
- 15 Wynn TA. Cellular and molecular mechanisms of fibrosis. *J Pathol* 2008; 214: 199-210 [PMID: 18161745]
- 16 Friedman SL. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol Rev* 2008; 88: 125-172 [PMID: 18195085 DOI: 10.1152/physrev.00013.2007]
- 17 Amann T, Bataille F, Spruss T, Mühlbauer M, Gäbele E, Schölmerich J, Kiefer P, Bosserhoff AK, Hellerbrand C. Activated hepatic stellate cells promote tumorigenicity of hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 646-653 [PMID: 19175606 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2009.01087.x]
- 18 Xia Y, Chen R, Song Z, Ye S, Sun R, Xue Q, Zhang Z. Gene expression profiles during activation of cultured rat hepatic stellate cells by tumoral hepatocytes and fetal bovine serum. *J Cancer Res Clin*

## ■应用要点

肿瘤微环境是近期消化系统肿瘤及其它恶性肿瘤研究的一个热点,明确肿瘤微环境在肝细胞癌中的作用及机制后,将为肝癌的治疗及进一步研究提供新的靶点。

## ■同行评价

本文选题很好, 有一定的新颖性, 有一定的参考价值.

- 19 Sokolović A, Sokolović M, Boers W, Elferink RP, Bosma PJ. Insulin-like growth factor binding protein 5 enhances survival of LX2 human hepatic stellate cells. *Fibrogenesis Tissue Repair* 2010; 3: 3 [PMID: 20163708 DOI: 10.1186/1755-1536-3-3]
- 20 Zhao W, Zhang L, Xu Y, Zhang Z, Ren G, Tang K, Kuang P, Zhao B, Yin Z, Wang X. Hepatic stellate cells promote tumor progression by enhancement of immunosuppressive cells in an orthotopic liver tumor mouse model. *Lab Invest* 2014; 94: 182-191 [PMID: 24296878 DOI: 10.1038/labinvest.2013.139]
- 21 Mantovani A, Sica A, Allavena P, Garlanda C, Locati M. Tumor-associated macrophages and the related myeloid-derived suppressor cells as a paradigm of the diversity of macrophage activation. *Hum Immunol* 2009; 70: 325-330 [PMID: 19236898 DOI: 10.1016/j.humimm.2009.02.008]
- 22 Biswas SK, Mantovani A. Macrophage plasticity and interaction with lymphocyte subsets: cancer as a paradigm. *Nat Immunol* 2010; 11: 889-896 [PMID: 20856220 DOI: 10.1038/ni.1937]
- 23 Barajas M, Mazzolini G, Genové G, Bilbao R, Narvaiza I, Schmitz V, Sangro B, Melero I, Qian C, Prieto J. Gene therapy of orthotopic hepatocellular carcinoma in rats using adenovirus coding for interleukin 12. *Hepatology* 2001; 33: 52-61 [PMID: 11124820]
- 24 Ramaiah SK, Rittling S. Pathophysiological role of osteopontin in hepatic inflammation, toxicity, and cancer. *Toxicol Sci* 2008; 103: 4-13 [PMID: 17890765]
- 25 Qin LX. Inflammatory immune responses in tumor microenvironment and metastasis of hepatocellular carcinoma. *Cancer Microenviron* 2012; 5: 203-209 [PMID: 22678823 DOI: 10.1007/s12307-012-0111-1]
- 26 Facciabene A, Motz GT, Coukos G. T-regulatory cells: key players in tumor immune escape and angiogenesis. *Cancer Res* 2012; 72: 2162-2171 [PMID: 22549946 DOI: 10.1158/0008-5472]
- 27 Chen W, Jin W, Hardegen N, Lei KJ, Li L, Marinos N, McGrady G, Wahl SM. Conversion of peripheral CD4+CD25- naive T cells to CD4+CD25+ regulatory T cells by TGF-beta induction of transcription factor Foxp3. *J Exp Med* 2003; 198: 1875-1886 [PMID: 14676299]
- 28 Fu J, Xu D, Liu Z, Shi M, Zhao P, Fu B, Zhang Z, Yang H, Zhang H, Zhou C, Yao J, Jin L, Wang H, Yang Y, Fu YX, Wang FS. Increased regulatory T cells correlate with CD8 T-cell impairment and poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *Gastroenterology* 2007; 132: 2328-2339 [PMID: 17570208]
- 29 Lin SZ, Chen KJ, Xu ZY, Chen H, Zhou L, Xie HY, Zheng SS. Prediction of recurrence and survival in hepatocellular carcinoma based on two Cox models mainly determined by FoxP3+ regulatory T cells. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 594-602 [PMID: 23599540 DOI: 10.1158/1940-6207]
- 30 Shen X, Li N, Li H, Zhang T, Wang F, Li Q. Increased prevalence of regulatory T cells in the tumor microenvironment and its correlation with TNM stage of hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2010; 136: 1745-1754 [PMID: 20221638 DOI: 10.1007/s00432-010-0833-8]
- 31 Chen L, Zhou S, Qin J, Hu H, Ma H, Liu B, Wang X, Ma J, Ye S, Zhong C, Zhou G, Liang C. Combination of SLC administration and Tregs depletion is an attractive strategy for targeting hepatocellular carcinoma. *Mol Cancer* 2013; 12: 153 [PMID: 24304581]
- 32 Wu H, Chen P, Liao R, Li YW, Yi Y, Wang JX, Cai XY, He HW, Jin JJ, Cheng YF, Fan J, Sun J, Qiu SJ. Intratumoral regulatory T cells with higher prevalence and more suppressive activity in hepatocellular carcinoma patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28: 1555-1564 [PMID: 23517245 DOI: 10.1111/jgh.12202]
- 33 Kryczek I, Banerjee M, Cheng P, Vatan L, Szeliga W, Wei S, Huang E, Finlayson E, Simeone D, Welling TH, Chang A, Coukos G, Liu R, Zou W. Phenotype, distribution, generation, and functional and clinical relevance of Th17 cells in the human tumor environments. *Blood* 2009; 114: 1141-1149 [PMID: 19470694 DOI: 10.1182/blood-2009-03-208249]
- 34 Zhang JP, Yan J, Xu J, Pang XH, Chen MS, Li L, Wu C, Li SP, Zheng L. Increased intratumoral IL-17-producing cells correlate with poor survival in hepatocellular carcinoma patients. *J Hepatol* 2009; 50: 980-989 [PMID: 19329213 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.12.033]
- 35 Huang Y, Wang F, Wang Y, Zhu Z, Gao Y, Ma Z, Xu R, Du Z. Intrahepatic IL-17(+) T cells and FoxP3(+) Tregs cooperate to promote development and affect the prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2013 Oct 21. [Epub ahead of print] [PMID: 24303990 DOI: 10.1111/jgh.12418]
- 36 Liao R, Sun J, Wu H, Yi Y, Wang JX, He HW, Cai XY, Zhou J, Cheng YF, Fan J, Qiu SJ. High expression of IL-17 and IL-17RE associate with poor prognosis of hepatocellular carcinoma. *J Exp Clin Cancer Res* 2013; 32: 3 [PMID: 23305119 DOI: 10.1186/1756-9966-32-3]
- 37 Lu P, Weaver VM, Werb Z. The extracellular matrix: a dynamic niche in cancer progression. *J Cell Biol* 2012; 196: 395-406 [PMID: 22351925 DOI: 10.1083/jcb.201102147]
- 38 Schrader J, Gordon-Walker TT, Aucott RL, van Deemter M, Quaas A, Walsh S, Benten D, Forbes SJ, Wells RG, Iredale JP. Matrix stiffness modulates proliferation, chemotherapeutic response, and dormancy in hepatocellular carcinoma cells. *Hepatology* 2011; 53: 1192-1205 [PMID: 21442631 DOI: 10.1002/hep.24108]
- 39 Yang C, Zeisberg M, Lively JC, Nyberg P, Afdhal N, Kalluri R. Integrin alpha1beta1 and alpha2beta1 are the key regulators of hepatocarcinoma cell invasion across the fibrotic matrix microenvironment. *Cancer Res* 2003; 63: 8312-8317 [PMID: 14678990]
- 40 Giannelli G, Bergamini C, Marinucci F, Fransvea E, Quaranta M, Lupo L, Schiraldi O, Antonaci S. Clinical role of MMP-2/TIMP-2 imbalance in hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2002; 97: 425-431 [PMID: 11802202]
- 41 Daniele A, Divella R, Quaranta M, Mattioli V, Casamassima P, Paradiso A, Garrisi VM, Gadaleta CD, Gadaleta-Caldarola G, Savino E, Maci R, Bellizzi A, Fazio V. Clinical and prognostic role of circulating MMP-2 and its inhibitor TIMP-2 in HCC patients prior to and after trans-hepatic arterial chemoembolization. *Clin Biochem* 2014; 47: 184-190 [PMID: 24355694 DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2013.11.022]
- 42 Roomi MW, Kalinovsky T, Rath M, Niedzwiecki A. Effect of a nutrient mixture on matrix metalloproteinase-9 dimers in various human cancer cell lines. *Int J Oncol* 2014; 44: 986-992 [PMID: 24378964 DOI: 10.3892/ijo.2013.2235]

- 43 Hashizume H, Baluk P, Morikawa S, McLean JW, Thurston G, Roberge S, Jain RK, McDonald DM. Openings between defective endothelial cells explain tumor vessel leakiness. *Am J Pathol* 2000; 156: 1363-1380 [PMID: 10751361]
- 44 Bollyky PL, Wu RP, Falk BA, Lord JD, Long SA, Preisinger A, Teng B, Holt GE, Standifer NE, Braun KR, Xie CF, Samuels PL, Vernon RB, Gebe JA, Wight TN, Nepom GT. ECM components guide IL-10 producing regulatory T-cell (TR1) induction from effector memory T-cell precursors. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 7938-7943 [PMID: 21518860 DOI: 10.1073/pnas.1017360108]
- 45 Ordoñez R, Carbajo-Pescador S, Prieto-Dominguez N, García-Palomo A, González-Gallego J, Mauriz JL. Inhibition of matrix metalloproteinase-9 and nuclear factor kappa B contribute to melatonin prevention of motility and invasiveness in HepG2 liver cancer cells. *J Pineal Res* 2014; 56: 20-30 [PMID: 24117795 DOI: 10.1111/jpi.12092]
- 46 Zhu AX, Duda DG, Sahani DV, Jain RK. HCC and angiogenesis: possible targets and future directions. *Nat Rev Clin Oncol* 2011; 8: 292-301 [PMID: 21386818 DOI: 10.1038/nrclinonc.2011.30]
- 47 North S, Moenner M, Bikfalvi A. Recent developments in the regulation of the angiogenic switch by cellular stress factors in tumors. *Cancer Lett* 2005; 218: 1-14 [PMID: 15639335]
- 48 Coulon S, Heindryckx F, Geerts A, Van Steenkiste C, Colle I, Van Vlierberghe H. Angiogenesis in chronic liver disease and its complications. *Liver Int* 2011; 31: 146-162 [PMID: 21073649 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2010.02369]
- 49 Liu Y, Poon RT, Li Q, Kok TW, Lau C, Fan ST. Both antiangiogenesis- and angiogenesis-independent effects are responsible for hepatocellular carcinoma growth arrest by tyrosine kinase inhibitor PTK787/ZK222584. *Cancer Res* 2005; 65: 3691-3699 [PMID: 15867364]
- 50 Lichtenberger BM, Tan PK, Niederleithner H, Ferrara N, Petzelbauer P, Sibilio M. Autocrine VEGF signaling synergizes with EGFR in tumor cells to promote epithelial cancer development. *Cell* 2010; 140: 268-279 [PMID: 20141840 DOI: 10.1016/j.cell.2009.12.046]
- 51 Llovet JM, Peña CE, Lathia CD, Shan M, Meinhardt G, Bruix J. Plasma biomarkers as predictors of outcome in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2012; 18: 2290-2300 [PMID: 22374331 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-2175]
- 52 Yoshiji H, Kuriyama S, Noguchi R, Yoshii J, Ikenaka Y, Yanase K, Namisaki T, Kitade M, Uemura M, Masaki T, Fukui H. Angiopoietin 2 displays a vascular endothelial growth factor dependent synergistic effect in hepatocellular carcinoma development in mice. *Gut* 2005; 54: 1768-1775 [PMID: 16033879]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞与肝移植免疫耐受的关系

廖晖, 杨定华

## ■背景资料

肝移植(liver transplantation, LT)是目前治疗终末期肝病最有效的方法。但移植术后长期乃至终生应用免疫抑制剂, 不仅会加重患者的经济负担, 而且免疫抑制剂本身的不不良反应也会严重地影响移植受者的生存质量。因此, 如何诱导LT受者产生免疫耐受一直以来都是LT研究领域的一大热点。

廖晖, 杨定华, 南方医科大学南方医院肝胆外科 广东省广州市 510515

廖晖, 博士, 主要从事肝癌、肝移植方面的研究。

作者贡献分布: 本文综述由廖晖完成; 杨定华审核。

通讯作者: 杨定华, 教授, 主任医师, 510515, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医科大学南方医院肝胆外科。

dhyang5810@yahoo.com

电话: 020-61641706

收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells and liver transplant tolerance

Hui Liao, Ding-Hua Yang

Hui Liao, Ding-Hua Yang, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanfang Hospital Affiliated to Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China  
Correspondence to: Ding-Hua Yang, Professor, Chief Physician, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanfang Hospital Affiliated to Southern Medical University, 1838 Guangzhou Avenue North, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. dhyang5810@yahoo.com

Received: 2014-01-06 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

Several subgroups of regulatory T (Treg) cells play crucial roles in both induction and maintenance of immune tolerance to self-antigens and alloantigens. The most extensively and comprehensively studied regulatory T cell subgroup is CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells. Numerous studies indicate that insufficiency or dysfunction of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells is responsible for the development of many autoimmune diseases and rejections after organ transplantation. Therefore, harnessing CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells may provide a promising approach for inducing and maintaining liver transplant tolerance. In this review, we will focus on the history and classification of regulatory T cells, the mechanisms by which regulatory T cells induce transplant tolerance and their roles in liver transplant tolerance.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Regulatory T cells; Liver transplant; Immune tolerance

Liao H, Yang DH. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg cells and liver transplant tolerance. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1226-1234 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1226.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1226>

## 摘要

调节性T(regulatory T, Treg)细胞包含有不同的亚群, 在诱导和维持机体对自身和同种异体抗原免疫耐受中具有重要的作用。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞是目前研究的最广泛和深入的调节性T细胞。大量研究显示, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞功能或数量的异常可引起多种自身免疫性疾病以及器官移植排斥反应。因此, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞在诱导和维持肝移植免疫耐受方面可能具有较好的应用前景。本文就调节性T细胞的历史、分类、诱导免疫耐受的机制以及与肝移植免疫耐受的关系作如下综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 调节性T细胞; 肝移植; 免疫耐受

**核心提示:** 新型免疫抑制剂的应用极大地改善了肝移植术后的短期预后, 但远期疗效有限。诱导肝移植免疫耐受是解决这一问题最理想的方法。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞可以通过多种机制参与器官移植免疫耐受的形成, 在诱导和维持肝移植免疫耐受过程中起着重要作用, 可能具有较好的临床应用前景。

廖晖, 杨定华. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞与肝移植免疫耐受的关系. *世界华人消化杂志* 2014; 22(9): 1226-1234 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1226.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1226>

## 0 引言

对于终末期肝病来说, 肝移植(liver transplantation, LT)可能是唯一有效的方法。在手术技术日趋成熟之后, LT排斥反应已成为影响移植物长期存

## ■同行评议者

何晓顺, 教授, 中山大学附属第一医院

活的重要因素<sup>[1]</sup>。LT术后, 需要长期乃至终生应用免疫抑制剂, 才能有效地控制排斥反应, 维持移植肝脏长期、有功能的存活。目前, 临床上常用的免疫抑制剂均具有多种不良反应, 如糖尿病、高血压、慢性肾功能损害以及对感染和肿瘤易感性增加等<sup>[1]</sup>。因此, 诱导LT受者产生针对供者抗原特异性的免疫耐受, 才是彻底解决LT排斥反应最理想的措施。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性T(regulatory T, Treg)细胞约占外周血CD4<sup>+</sup> T细胞的5%-10%, 是免疫系统中重要的调节细胞, 可以抑制自身反应性T细胞和同种反应性T细胞的功能, 他所介导的免疫调节反应是机体对自身和同种异体抗原产生免疫耐受的重要机制<sup>[2,3]</sup>。近年来, 大量的研究发现, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞在诱导和维持LT免疫耐受中起着重要的作用。

## 1 Treg细胞的研究历史

早在20世纪70年代初, 科学家就发现T细胞除了具有促进免疫反应的功能外, 还有一部分T细胞具有抑制免疫反应的作用, 这部分T细胞被称为抑制性T细胞(suppressor T cells)<sup>[4]</sup>。当时普遍认为, 抑制性T细胞通过主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)基因I-J亚区编码的抗原决定簇发挥免疫抑制作用, 但后来的研究未能在MHC基因中发现I-J亚区<sup>[5,6]</sup>。同时, 由于未能确定该细胞亚群特异性的标志, 因此对于是否存在“抑制性T细胞”, 存在争议, 甚至有人在解释免疫抑制现象时, 故意回避使用“抑制性T细胞”一词<sup>[7]</sup>。直到1995年, Sakaguchi等<sup>[8]</sup>发现, 将CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞输入裸鼠体内, 可诱发多种自身免疫性疾病; 如果输入CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞后, 立即输入CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞, 可防止自身免疫性疾病的发生; 如果输入CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞后, 用抗原刺激裸鼠, 可引起异常强烈的免疫反应, 此时输入CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞, 可使免疫反应正常化。因此, Sakaguchi等<sup>[8]</sup>认为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞中包含有一群具有免疫抑制功能的T细胞亚群, 在维持机体自身免疫耐受中具有重要的作用, 后来这群细胞被称为Treg细胞。一年后, Asano等<sup>[9]</sup>发现, 出生后第3天切除小鼠的胸腺, 会影响外周CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞的出现, 以及引起严重的自身免疫性疾病, 提示CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞来源于胸腺。2002年Zheng等<sup>[10]</sup>报道, 人外周血中的初始T细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>)在转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)的诱

导下, 可转化为具有免疫抑制功能的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞。从而证明, Treg细胞还可来源于外周初始T细胞。2003年, 日本科学家<sup>[11]</sup>和美国科学家<sup>[12]</sup>几乎在同一时间发现转录因子Foxp3特异性表达于CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞, 将Foxp3基因导入CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞中, 可以使其获得Treg细胞表型, 在体内、体外均具有免疫抑制作用, 从而确立了Foxp3在调控Treg细胞分化发育和维持其免疫抑制功能中的重要地位<sup>[13]</sup>。Foxp3是迄今为止, Treg细胞最具有特异性的标志物, 他的出现极大地推动了Treg细胞的研究进展。

## 2 抑制性T细胞和调节性T细胞

回顾Treg细胞的研究历史, 可以发现免疫学家在解释T细胞介导的免疫抑制现象时, 会把“抑制性T细胞”与“调节性T细胞”这两个词, 相互替换使用。起初“抑制性T细胞”的使用频率远远高于“调节性T细胞”, 但是在20世纪80年代末至90年代初期, 由于不少免疫学家对于是否存在抑制性T细胞持怀疑态度, 因此回避使用“抑制性T细胞”一词, 而倾向于使用“调节性T细胞”<sup>[14]</sup>。故“调节性T细胞”一直沿用至今。

## 3 Treg细胞的来源及分类

Asano等<sup>[9]</sup>发现正常小鼠出生后, 外周淋巴组织中无CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞, 3 d后, 外周淋巴组织才开始出现CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞, 2 wk内达到成年水平(约占CD4<sup>+</sup> T细胞的5%-10%)。如果出生后第3天切除小鼠的胸腺, 外周淋巴组织出现CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞的时间, 将延迟至出生后的第10天, 成年后CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞明显低于正常小鼠<sup>[9]</sup>。这说明小鼠出生后第3-10天, 外周淋巴组织中出现的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞来自胸腺, 现在被称为天然调节性T细胞(natural Treg cells, nTreg)。出生后第3天切除胸腺的小鼠延迟出现的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞来自何处呢? Asano等<sup>[9]</sup>将Thy-1.1<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞注入出生后第3天切除胸腺的小鼠(Thy-1.1<sup>-</sup>), 一段时间后在外周淋巴组织中可检测到Thy-1.1<sup>+</sup> CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞。说明CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞在外周淋巴组织中可以转化为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞, 遗憾的是作者没有检测这群CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞是否具有免疫抑制功能, 因此并没有证明CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞可以转化为Treg细胞。因为有研究表明CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞活化后也可以上调CD25分子, 成为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 效应性T细胞, 但不具有免疫抑制功能<sup>[2,15]</sup>。之后,

■**研发前沿**  
CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>调节性T(regulatory T, Treg)细胞是外周免疫耐受机制的重要组成部分。他可以抑制自身反应性T淋巴细胞和同种反应性T淋巴细胞的功能, 是机体对自身和同种异体抗原产生免疫耐受的重要机制。目前, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg细胞在诱导实体器官移植(如LT)免疫耐受方面的研究, 主要处于动物实验阶段。

#### ■相关报道

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>细胞在骨髓移植中的应用已进入了临床研究阶段,得出的结论是Treg细胞可以促进宿主免疫系统重建,降低移植抗宿主病的发生率和肿瘤的复发,是安全有效的。

有研究发现初始T细胞(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>)在TGF-β诱导下,可上调CD25分子,表达Foxp3,转化为具有免疫抑制功能的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞<sup>[10,16]</sup>。现在,由初始T细胞转化而来的具有免疫抑制功能的T细胞被称为诱导性调节性T细胞(induced Treg cells, iTreg)。因此,Treg细胞除了来源于胸腺外,还可以来源于外周初始T细胞。

由此可见,Treg细胞不是均一的细胞群,包含有不同的亚群(图1)。根据来源不同,Treg细胞可大致分为nTreg和iTreg细胞<sup>[17]</sup>。nTreg细胞指来源于胸腺,具有免疫抑制功能的T细胞。根据表面标志物的不同,nTreg细胞可进一步分为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>nTreg细胞、CD8<sup>+</sup>nTreg细胞、CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>nTreg细胞、γδ<sup>+</sup>nTreg细胞和NKT细胞。一般情况下,nTreg细胞指胸腺来源的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T细胞。iTreg细胞指初始T细胞在不同的细胞因子的作用下转化而来的具有免疫抑制功能的T细胞,主要包括CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>iTreg细胞、Tr1细胞、Th3细胞、CD8<sup>+</sup>iTreg细胞和CD4<sup>+</sup>CD8<sup>-</sup>iTreg细胞。一般情况下iTreg细胞指前三者。在此特别说明,以下所提及的“nTreg细胞”特指胸腺来源的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞,“iTreg细胞”特指由初始T细胞转化而来的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞。

#### 4 同种异体抗原识别的机制

在器官移植术中,由于供受体遗传背景不同,受体的免疫系统可以识别移植植物中的抗原并产生免疫应答,同时移植植物中残留的免疫细胞也可以识别受体组织中的抗原并产生免疫应答,此为移植排斥反应。前者被称为宿主抗移植植物反应,主要包括超急性排斥反应、急性排斥反应和慢性排斥反应;后者被称为移植植物抗宿主反应。现已证明多种免疫细胞可参与排斥反应,但是CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞是参与同种异体排斥反应的主要效应细胞<sup>[18,19]</sup>。T细胞可以通过3种方式识别同种异体抗原,分别为直接识别、间接识别和半直接识别,如图2所示。直接识别是指移植植物中的抗原提呈细胞(antigen-presenting cells, APC)将其表面的MHC-抗原肽复合物直接递呈给受体的同种反应性T细胞;间接识别是指供体抗原经过受体APC处理、加工后,以受体MHC II类分子-供体抗原肽复合物的形式递呈给受体CD4<sup>+</sup>同种反应性T细胞;半直接识别是指供体APC与受体APC进行细胞膜片段交换时,有

可能将MHC-抗原肽复合物交换至对方,最后由受体APC将供体的MHC-抗原肽复合物递呈给受体同种反应性T细胞<sup>[18,19]</sup>。同种反应性T细胞识别同种异体抗原后(第一信号)还需要CD28分子提供的第二信号才能被激活<sup>[19]</sup>。第二信号可以降低同种反应性T细胞的活化阈值,促进白介素-2(interleukin-2, IL-2)的分泌,而IL-2(第三信号)又可以促进同种反应性T细胞活化、增殖和预防活化诱导的细胞凋亡<sup>[19]</sup>。因此,移植排斥反应从本质上来说是一种免疫反应。

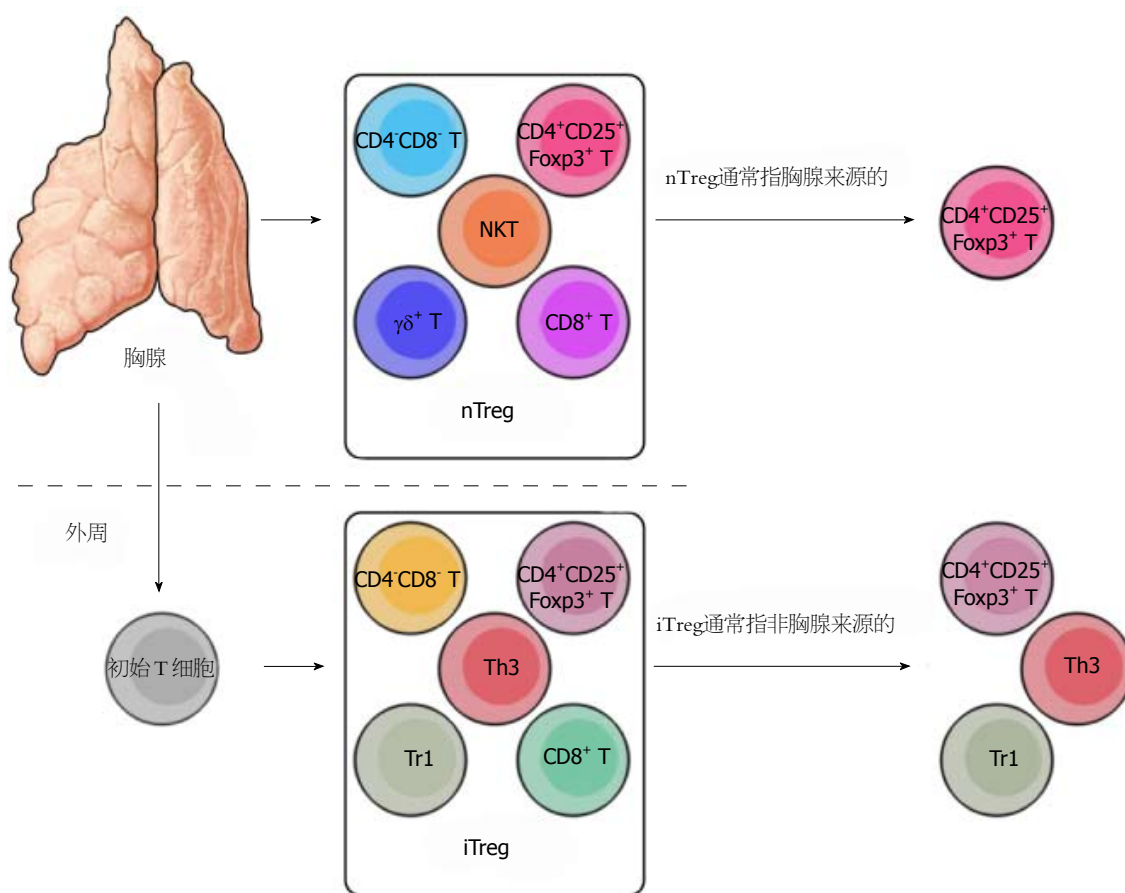
#### 5 Treg细胞诱导移植免疫耐受的机制

首先,Treg细胞可以通过APC抑制同种反应性T细胞的活化、增殖和功能。Treg细胞持续性高表达CTLA-4(CD152),CTLA-4与B7的亲合力是CD28分子的20倍,可与初始T细胞表面的CD28分子竞争性地结合APC表面的B7分子,从而减弱甚至阻断T细胞活化的信号<sup>[20]</sup>。CTLA-4与B7分子结合后还可以诱导APC表达吡咯酮2,3双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO),促进色氨酸的分解代谢,从而抑制T细胞的增殖或诱导其凋亡<sup>[21]</sup>。因此,CTLA-4在诱导移植免疫耐受中具有重要的作用<sup>[22,23]</sup>。Treg细胞还表达淋巴细胞活化基因-3,可与MHC II类分子以高亲和力结合,向APC内传导抑制性信号,抑制APC的成熟<sup>[24,25]</sup>。Treg细胞的某些表面分子,如淋巴细胞功能相关抗原和神经菌毛素(neuropilin-1)的表达水平也高于初始T细胞,可促进Treg细胞与APC结合<sup>[26,27]</sup>。

其次,Treg细胞可通过分泌TGF-β、IL-10和IL-35等细胞因子抑制排斥反应。虽然体外实验证明Treg是通过细胞间的接触而发挥免疫抑制作用,不依赖细胞因子,但体内实验却证实Treg细胞还可以通过分泌细胞因子,发挥免疫抑制作用<sup>[28]</sup>。Treg细胞分泌的TGF-β,除了可以直接抑制效应性T细胞的增殖和功能外<sup>[29,30]</sup>,还可以通过诱导APC表达IDO和Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞参与器官移植免疫耐受的形成<sup>[31,32]</sup>。Treg细胞还可分泌IL-10,阻断IL-10信号通路可以终止Treg细胞诱导的小鼠皮肤移植免疫耐受<sup>[22]</sup>。供体来源的Treg细胞分泌的IL-10在控制骨髓移植后移植植物抗宿主病中具有重要作用<sup>[33]</sup>。最近有研究发现,Treg细胞还可分泌IL-35,并且在体外实验中证明IL-35是Treg细胞发挥非细胞接触性免疫抑制作用的重要因子<sup>[22,34]</sup>。

还有,Treg细胞可以通过改变周围的微环





#### ■创新盘点

本文重点阐述了  $CD4^+CD25^+Foxp3^+$  Treg细胞参与器官移植免疫耐受的机制及其对动物LT免疫排斥反应的影响。此外, 文章还深入浅出地阐述了Treg细胞的研究历史和分类。

图 1 Treg细胞的来源及分类. nTreg细胞: 天然调节性T细胞; iTreg细胞: 诱导性调节性T细胞.

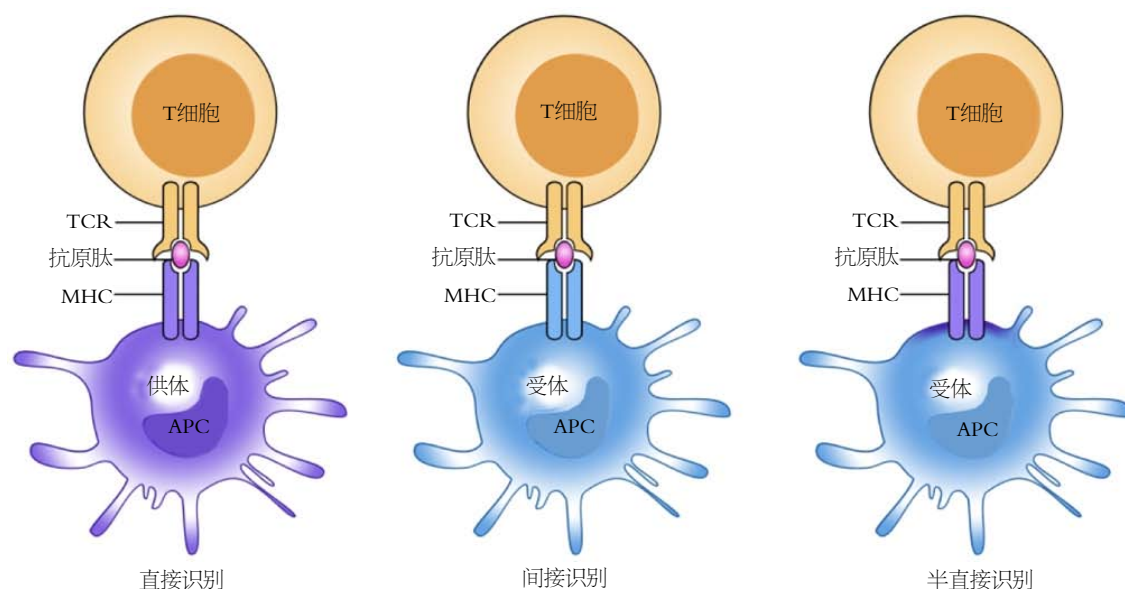


图 2 同种异体抗原识别的机制. TCR: T细胞抗原受体; MHC: 主要组织溶性复合体; APC: 抗原提呈细胞.

境抑制排斥反应. Treg细胞持续表达高亲和力的IL-2受体( $CD25-CD122-CD132$ 三聚体), 可大量消耗周围环境中效应性T细胞赖以生存的IL-2, 从而诱导效应性T细胞发生凋亡<sup>[35]</sup>. Treg细

胞还高表达胞外水解酶CD39和CD73, CD39可以将ATP水解成AMP, AMP又可以被CD73水解成腺苷<sup>[36]</sup>. 一方面可消耗T细胞活化所需的能量(ATP)<sup>[37]</sup>; 另一方面产生的腺苷还可激活效应性

## ■应用要点

成功地诱导和维持肝移植免疫耐受可以减轻患者的经济负担,降低甚至消除免疫抑制剂对移植受者生存质量的影响。目前,Treg细胞在骨髓移植研究中显现出了迷人的临床应用前景。如果能够通过Treg细胞成功地诱导并维持肝移植免疫耐受,可以带来巨大的经济和社会效益。

T细胞表面的腺苷受体2A,不仅可以抑制T细胞的增殖,还可以抑制IL-6的表达以及促进TGF- $\beta$ 的分泌,有利于iTreg细胞的形成<sup>[36,38,39]</sup>。CD39缺陷的Treg细胞诱导小鼠皮肤移植免疫耐受的能力明显低于正常Treg细胞<sup>[36]</sup>。

再有,Treg细胞可以通过穿孔素(perforin)<sup>[40]</sup>、颗粒酶(granzyme)<sup>[41]</sup>、凋亡诱导配体受体DR5<sup>[42]</sup>、半乳糖凝集素(galectin-1)<sup>[43]</sup>和 $\gamma$ 干扰素<sup>[44]</sup>等直接杀伤效应性T细胞。此外,Treg细胞还可以通过传染性免疫耐受(infectious tolerance)诱导更多的初始T细胞转变为具有免疫抑制功能的T细胞<sup>[45,46]</sup>。

## 6 Treg细胞与肝移植免疫耐受的关系

早在1975年,就有科学家提出抑制性T细胞(Treg细胞)可以诱导小鼠同种异体皮肤移植免疫耐受<sup>[47]</sup>。现已证实,Treg细胞在诱导和维持同种异体器官移植免疫耐受中具有重要作用<sup>[48]</sup>。有关Treg细胞与LT免疫耐受的文献最早见于1984年,Myburgh等<sup>[49]</sup>利用全身淋巴照射(total lymphoid irradiation, TLI)的方法成功地诱导了狻狻同种异体LT免疫耐受,作者推测移植长期存活的原因可能是TLI可以促进受体抑制性T细胞增殖。这一推测之后被Fujiki等证实。Fujiki等<sup>[50]</sup>发现,TLI可以显著延长大鼠同种异体LT(DA $\rightarrow$ Lewis)受体的生存时间(>100 d),照射组移植肝(未被照射)内CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup> T细胞凋亡的数量以及Treg细胞的数量明显高于未照射组。提示TLI可以通过促进效应性T细胞凋亡和Treg细胞形成来诱导和维持LT免疫耐受。目前,诱导LT免疫耐受的方法有很多,研究表明这些方法或多或少都与Treg细胞有关。Sato等<sup>[51]</sup>报道,反复、多次从门静脉输入供体来源的血液可明显减少活体LT术后急性排斥反应的发生率,并且可以迅速减少免疫抑制剂的用量,主要的机制包括促进Treg细胞的形成和诱导移植肝脏形成大嵌合体。Abe等<sup>[52]</sup>在大鼠LT模型中也发现,供体特异性输血可以通过促进Treg细胞形成来诱导LT免疫耐受。近年来,雷帕鸣与其他诱导免疫耐受的方法(如未成熟树突状细胞)联合应用取得了较好的实验结果,已成为诱导移植免疫耐受领域的研究热点<sup>[53,54]</sup>。其中非常重要的原因是,与其他免疫抑制剂(如糖皮质激素、他克莫司和环孢素A等)相比,雷帕鸣可以促进Treg细胞的形成,并且维持其功能稳定<sup>[55]</sup>。肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)<sup>[56]</sup>、间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)<sup>[57]</sup>以

及供体来源的凋亡淋巴细胞<sup>[58]</sup>,最近也被认为与LT免疫耐受有关,研究表明这些细胞诱导LT免疫耐受的机制也与其能够诱导Treg细胞形成有关。

Treg细胞在诱导和维持自发性免疫耐受中具有重要的作用。Li等<sup>[59]</sup>发现,小鼠LT自发性免疫耐受组(C57BL/10 $\rightarrow$ C3H/HeJ),移植肝和脾脏中Treg细胞的比例(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T/T)明显高于对照组,术前或术后用CD25抗体清除受体CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T细胞,可引发急性排斥反应。还有研究报道,Th17/Treg细胞功能失调与LT免疫耐受和急性排斥反应有关。大鼠LT自发性免疫耐受组(BN $\rightarrow$ Lewis)中Th17细胞相关的细胞因子(IL-17、IL-6和IL-23)和转录因子(ROR $\gamma$ t)表达水平明显低于排斥组(Lewis $\rightarrow$ BN),而Treg细胞相关的细胞因子(IL-10和TGF- $\beta$ )和转录因子(Foxp3)则明显高于排斥组<sup>[60]</sup>;排斥反应组的情况正好相反,并且IL-17、IL-6、IL-23、ROR $\gamma$ t的表达水平与排斥反应的严重程度呈正相关,而IL-10、TGF- $\beta$ 和Foxp3的表达水平与排斥反应的严重程度呈负相关<sup>[60]</sup>。最近,Zhang等<sup>[61]</sup>在大鼠LT急性排斥反应模型中也发现,排斥反应与受体外周血中Treg细胞下降有关。

Pu等<sup>[62]</sup>对nTreg细胞诱导大鼠LT(DA $\rightarrow$ Lewis)免疫耐受的能力进行了直接地研究。作者分别于LT术后第1天和第7天从阴茎背静脉输入 $1 \times 10^6$  nTreg细胞,发现未作任何治疗的大鼠平均生存时间为12 d;短期服用他克莫司[0.1 mg/(kg·d),术后1-7 d]的大鼠平均生存时间为28 d;输注新鲜nTreg细胞的大鼠平均生存时间为22 d;输注第三方(BN)抗原刺激过的nTreg细胞的大鼠平均生存时间为18 d;输注供体抗原刺激过的nTreg细胞的大鼠平均生存时间为28 d;而短期服用他克莫司+输注供体抗原刺激过的nTreg细胞的大鼠生存时间均超过60 d<sup>[62]</sup>。上述结果充分说明Treg细胞确实可延长移植肝的存活时间,但效果并不优于短期小剂量应用他克莫司,似乎提示Treg细胞诱导LT免疫耐受的能力非常有限。但作者并不这样认为,因为有研究表明nTreg细胞在炎性环境中不稳定,容易丢失Foxp3,失去免疫抑制功能,甚至转化为炎性细胞<sup>[63]</sup>,而iTreg细胞在炎性环境中却表现的较稳定<sup>[64]</sup>。最近,Feng等<sup>[65]</sup>在小鼠缺血再灌注模型中也证实iTreg细胞比nTreg细胞更稳定。因此,利用iTreg细胞诱导LT免疫耐受可能会取得更好的

效果。另外, Pu等<sup>[62]</sup>的研究发现短期服用他克莫司+输注Treg细胞可以显著延长移植肝的存活时间。但有研究表明, 他克莫司不利于Treg细胞的生长和发育<sup>[66]</sup>。而在Pu等的研究中他克莫司+输注Treg细胞却取得了“1+1>2”的效果。可能的解释是, LT术后他克莫司可以抑制排斥反应, 减轻Treg细胞所处环境中的炎症程度, 更有利Treg细胞的存活和作用的发挥, 故而产生协同作用。与他克莫司相反, 目前大量的研究表明, 雷帕鸣不仅可以选择性地扩增nTreg细胞, 增强其免疫抑制功能和稳定其表型(即使在炎症环境中)<sup>[63,67-69]</sup>, 还可以促进iTreg细胞生成<sup>[70,71]</sup>。据此, 我们推测联合应用雷帕鸣与输注iTreg细胞可能在诱导和维持LT免疫耐受方面具有更好的应用前景。

## 7 结论

Treg细胞可以通过多种机制抑制器官移植排斥反应, 在诱导和维持同种异体LT免疫耐受中具有重要的作用。目前需解决的问题有: (1)在排斥反应LT模型中进一步确定Treg细胞作用的大小, 直接比较nTreg与iTreg细胞的疗效以及明确Treg细胞疗法是否优于免疫抑制剂; (2)优化iTreg细胞的诱导方案或nTreg细胞的扩增方案, 以便获得功能强大、表型稳定的Treg细胞; (3)目前, LT术后彻底放弃使用免疫抑制剂是不切实际的想法, 较为可行的方案是短期或小剂量应用免疫抑制剂+Treg细胞疗法, 因此, 有必要明确各种免疫抑制剂对Treg细胞的影响。

## 8 参考文献

- 1 Lim KB, Schiano TD. Long-term outcome after liver transplantation. *Mt Sinai J Med* 2012; 79: 169-189 [PMID: 22499489 DOI: 10.1002/msj.21302]
- 2 Suri-Payer E, Amar AZ, Thornton AM, Shevach EM. CD4+CD25+ T cells inhibit both the induction and effector function of autoreactive T cells and represent a unique lineage of immunoregulatory cells. *J Immunol* 1998; 160: 1212-1218 [PMID: 9570536]
- 3 Issa F, Robb RJ, Wood KJ. The where and when of T cell regulation in transplantation. *Trends Immunol* 2013; 34: 107-113 [PMID: 23228885 DOI: 10.1016/j.it.2012.11.003]
- 4 Gershon RK, Cohen P, Hencin R, Liebhauer SA. Suppressor T cells. *J Immunol* 1972; 108: 586-590 [PMID: 4401006]
- 5 Kronenberg M, Steinmetz M, Kobori J, Kraig E, Kapp JA, Pierce CW, Sorensen CM, Suzuki G, Tada T, Hood L. RNA transcripts for I-J polypeptides are apparently not encoded between the I-A and I-E subregions of the murine major histocompatibility complex. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1983; 80: 5704-5708 [PMID: 6193520 DOI: 10.1073/pnas.80.18.5704]
- 6 Volpé R. Suppressor T lymphocyte dysfunction is important in the pathogenesis of autoimmune thyroid disease: a perspective. *Thyroid* 1993; 3: 345-352 [PMID: 8118229 DOI: 10.1089/thy.1993.3.345]
- 7 Bloom BR, Salgame P, Diamond B. Revisiting and revising suppressor T cells. *Immunol Today* 1992; 13: 131-136 [PMID: 1533765 DOI: 10.1016/0167-5699(92)90110-s]
- 8 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164 [PMID: 7636184]
- 9 Asano M, Toda M, Sakaguchi N, Sakaguchi S. Auto-immune disease as a consequence of developmental abnormality of a T cell subpopulation. *J Exp Med* 1996; 184: 387-396 [PMID: 8760792 DOI: 10.1084/jem.184.2.387]
- 10 Zheng SG, Gray JD, Ohtsuka K, Yamagiwa S, Horwitz DA. Generation ex vivo of TGF-beta-producing regulatory T cells from CD4+CD25- precursors. *J Immunol* 2002; 169: 4183-4189 [PMID: 12370347]
- 11 Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003; 299: 1057-1061 [PMID: 12522256 DOI: 10.1126/science.1079490]
- 12 Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003; 4: 330-336 [PMID: 12612578 DOI: 10.1038/ni904]
- 13 Gao Y, Lin F, Su J, Gao Z, Li Y, Yang J, Deng Z, Liu B, Tsun A, Li B. Molecular mechanisms underlying the regulation and functional plasticity of FOXP3(+) regulatory T cells. *Genes Immun* 2012; 13: 1-13 [PMID: 22048454 DOI: 10.1038/gene.2011.77]
- 14 Beissert S, Schwarz A, Schwarz T. Regulatory T cells. *J Invest Dermatol* 2006; 126: 15-24 [PMID: 16417213 DOI: 10.1038/sj.jid.5700004]
- 15 Itoh M, Takahashi T, Sakaguchi N, Kuniyasu Y, Shimizu J, Otsuka F, Sakaguchi S. Thymus and autoimmunity: production of CD25+CD4+ naturally anergic and suppressive T cells as a key function of the thymus in maintaining immunologic self-tolerance. *J Immunol* 1999; 162: 5317-5326 [PMID: 10228007]
- 16 Fu S, Zhang N, Yopp AC, Chen D, Mao M, Chen D, Zhang H, Ding Y, Bromberg JS. TGF-beta induces Foxp3 + T-regulatory cells from CD4 + CD25 - precursors. *Am J Transplant* 2004; 4: 1614-1627 [PMID: 15367216 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2004.00566.x]
- 17 Shalev I, Schmelzle M, Robson SC, Levy G. Making sense of regulatory T cell suppressive function. *Semin Immunol* 2011; 23: 282-292 [PMID: 21592823 DOI: 10.1016/j.smim.2011.04.003]
- 18 Sagoo P, Lombardi G, Lechler RI. Relevance of regulatory T cell promotion of donor-specific tolerance in solid organ transplantation. *Front Immunol* 2012; 3: 184 [PMID: 22811678 DOI: 10.3389/fimmu.2012.00184]
- 19 Wood KJ, Goto R. Mechanisms of rejection: current perspectives. *Transplantation* 2012; 93: 1-10 [PMID: 22138818 DOI: 10.1097/TP.0b013e31823cab44]
- 20 Wing K, Onishi Y, Prieto-Martin P, Yamaguchi T, Miyara M, Fehervari Z, Nomura T, Sakaguchi S. CTLA-4 control over Foxp3+ regulatory T cell function. *Science* 2008; 322: 271-275 [PMID: 18845758]

## ■同行评价

本文综述了目前国内外Treg细胞在诱导和维持肝移植免疫耐受的研究进展, 对于Treg细胞疗法在肝移植领域的应用有一定的参考价值。



- DOI: 10.1126/science.1160062]
- 21 Wing K, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. *Trends Immunol* 2011; 32: 428-433 [PMID: 21723783 DOI: 10.1016/j.it.2011.06.002]
  - 22 Kingsley CI, Karim M, Bushell AR, Wood KJ. CD25+CD4+ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4- and IL-10-dependent immunoregulation of alloresponses. *J Immunol* 2002; 168: 1080-1086 [PMID: 11801641]
  - 23 Zhang T, Fresnay S, Welty E, Sangrampurkar N, Rybak E, Zhou H, Cheng XF, Feng Q, Avon C, Laaris A, Whitters M, Nagelin AM, O'Hara RM, Azimzadeh AM. Selective CD28 blockade attenuates acute and chronic rejection of murine cardiac allografts in a CTLA-4-dependent manner. *Am J Transplant* 2011; 11: 1599-1609 [PMID: 21749640 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2011.03624.x]
  - 24 Bayry J, Triebel F, Kaveri SV, Tough DF. Human dendritic cells acquire a semimature phenotype and lymph node homing potential through interaction with CD4+CD25+ regulatory T cells. *J Immunol* 2007; 178: 4184-4193 [PMID: 17371975]
  - 25 Liang B, Workman C, Lee J, Chew C, Dale BM, Colonna L, Flores M, Li N, Schweighoffer E, Greenberg S, Tybulewicz V, Vignali D, Clynes R. Regulatory T cells inhibit dendritic cells by lymphocyte activation gene-3 engagement of MHC class II. *J Immunol* 2008; 180: 5916-5926 [PMID: 18424711]
  - 26 Onishi Y, Fehervari Z, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Foxp3+ natural regulatory T cells preferentially form aggregates on dendritic cells in vitro and actively inhibit their maturation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 10113-10118 [PMID: 18635688 DOI: 10.1073/pnas.0711106105]
  - 27 Sarris M, Andersen KG, Randow F, Mayr L, Betz AG. Neuropilin-1 expression on regulatory T cells enhances their interactions with dendritic cells during antigen recognition. *Immunity* 2008; 28: 402-413 [PMID: 18328743 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.01.012]
  - 28 Sakaguchi S, Wing K, Yamaguchi T. Dynamics of peripheral tolerance and immune regulation mediated by Treg. *Eur J Immunol* 2009; 39: 2331-2336 [PMID: 19662638 DOI: 10.1002/eji.200939688]
  - 29 Green EA, Gorelik L, McGregor CM, Tran EH, Flavell RA. CD4+CD25+ T regulatory cells control anti-islet CD8+ T cells through TGF-beta-TGF-beta receptor interactions in type 1 diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 10878-10883 [PMID: 12949259 DOI: 10.1073/pnas.1834400100]
  - 30 Li MO, Wan YY, Sanjabi S, Robertson AK, Flavell RA. Transforming growth factor-beta regulation of immune responses. *Annu Rev Immunol* 2006; 24: 99-146 [PMID: 16551245 DOI: 10.1146/annurev.immunol.24.021605.090737]
  - 31 Pallotta MT, Orabona C, Volpi C, Vacca C, Belladonna ML, Bianchi R, Servillo G, Brunacci C, Calvitti M, Biciato S, Mazza EM, Boon L, Grassi F, Fioretti MC, Fallarino F, Puccetti P, Grohmann U. Indoleamine 2,3-dioxygenase is a signaling protein in long-term tolerance by dendritic cells. *Nat Immunol* 2011; 12: 870-878 [PMID: 21804557 DOI: 10.1038/ni.2077]
  - 32 Regateiro FS, Howie D, Cobbold SP, Waldmann H. TGF-beta in transplantation tolerance. *Curr Opin Immunol* 2011; 23: 660-669 [PMID: 21839624 DOI: 10.1016/j.coi.2011.07.003]
  - 33 Tawara I, Sun Y, Liu C, Toubai T, Nieves E, Evers R, Alrubaie M, Mathewson N, Tamaki H, Reddy P. Donor- but not host-derived interleukin-10 contributes to the regulation of experimental graft-versus-host disease. *J Leukoc Biol* 2012; 91: 667-675 [PMID: 22262800 DOI: 10.1189/jlb.1011510]
  - 34 Chaturvedi V, Collison LW, Guy CS, Workman CJ, Vignali DA. Cutting edge: Human regulatory T cells require IL-35 to mediate suppression and infectious tolerance. *J Immunol* 2011; 186: 6661-6666 [PMID: 21576509 DOI: 10.4049/jimmunol.1100315]
  - 35 Pandiyan P, Zheng L, Ishihara S, Reed J, Lenardo MJ. CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells induce cytokine deprivation-mediated apoptosis of effector CD4+ T cells. *Nat Immunol* 2007; 8: 1353-1362 [PMID: 17982458 DOI: 10.1038/ni1536]
  - 36 Deaglio S, Dwyer KM, Gao W, Friedman D, Usheva A, Erat A, Chen JF, Enyoyi K, Linden J, Oukka M, Kuchroo VK, Strom TB, Robson SC. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med* 2007; 204: 1257-1265 [PMID: 17502665 DOI: 10.1084/jem.20062512]
  - 37 Yip L, Woehrle T, Corriden R, Hirsh M, Chen Y, Inoue Y, Ferrari V, Insel PA, Junger WG. Autocrine regulation of T-cell activation by ATP release and P2X7 receptors. *FASEB J* 2009; 23: 1685-1693 [PMID: 19211924 DOI: 10.1096/fj.08-126458]
  - 38 Zarek PE, Huang CT, Lutz ER, Kowalski J, Horton MR, Linden J, Drake CG, Powell JD. A2A receptor signaling promotes peripheral tolerance by inducing T-cell anergy and the generation of adaptive regulatory T cells. *Blood* 2008; 111: 251-259 [PMID: 17909080 DOI: 10.1182/blood-2007-03-081646]
  - 39 Han KL, Thomas SV, Koontz SM, Changprirao CM, Ha SK, Malech HL, Kang EM. Adenosine A2A receptor agonist-mediated increase in donor-derived regulatory T cells suppresses development of graft-versus-host disease. *J Immunol* 2013; 190: 458-468 [PMID: 23225892 DOI: 10.4049/jimmunol.1201325]
  - 40 Czystowska M, Strauss L, Bergmann C, Szajnik M, Rabinowich H, Whiteside TL. Reciprocal granzyme/perforin-mediated death of human regulatory and responder T cells is regulated by interleukin-2 (IL-2). *J Mol Med (Berl)* 2010; 88: 577-588 [PMID: 20225066 DOI: 10.1007/s00109-010-0602-9]
  - 41 Kubach J, Lutter P, Bopp T, Stoll S, Becker C, Huter E, Richter C, Weingarten P, Warger T, Knop J, Müllner S, Wijdenes J, Schild H, Schmitt E, Jonuleit H. Human CD4+CD25+ regulatory T cells: proteome analysis identifies galectin-10 as a novel marker essential for their anergy and suppressive function. *Blood* 2007; 110: 1550-1558 [PMID: 17502455 DOI: 10.1182/blood-2007-01-069229]
  - 42 Ren X, Ye F, Jiang Z, Chu Y, Xiong S, Wang Y. Involvement of cellular death in TRAIL/DR5-dependent suppression induced by CD4(+)CD25(+) regulatory T cells. *Cell Death Differ* 2007; 14: 2076-2084 [PMID: 17762882 DOI: 10.1038/sj.cdd.4402220]
  - 43 Garín MI, Chu CC, Golshayan D, Cernuda-Morollón E, Wait R, Lechler RI. Galectin-1: a key effector of regulation mediated by CD4+CD25+ T cells. *Blood* 2007; 109: 2058-2065 [PMID: 17110462 DOI: 10.1182/blood-2006-04-016451]
  - 44 Koenecke C, Lee CW, Thamm K, Föhse L, Schaffer M, Mittrücker HW, Floess S, Huehn J, Ganser

- A, Förster R, Prinz I. IFN- $\gamma$  production by allogeneic Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells is essential for preventing experimental graft-versus-host disease. *J Immunol* 2012; 189: 2890-2896 [PMID: 22869903 DOI: 10.4049/jimmunol.1200413]
- 45 Zheng SG, Wang JH, Gray JD, Soucier H, Horwitz DA. Natural and induced CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> cells educate CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> cells to develop suppressive activity: the role of IL-2, TGF-beta, and IL-10. *J Immunol* 2004; 172: 5213-5221 [PMID: 15100259]
- 46 Gravano DM, Vignali DA. The battle against immunopathology: infectious tolerance mediated by regulatory T cells. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69: 1997-2008 [PMID: 22205213 DOI: 10.1007/s00018-011-0907-z]
- 47 Kilshaw PJ, Brent L, Pinto M. Suppressor T cells in mice made unresponsive to skin allografts. *Nature* 1975; 255: 489-491 [PMID: 1094296]
- 48 Shalev I, Selzner N, Shyu W, Grant D, Levy G. Role of regulatory T cells in the promotion of transplant tolerance. *Liver Transpl* 2012; 18: 761-770 [PMID: 22523007 DOI: 10.1002/lt.23458]
- 49 Myburgh JA, Smit JA, Stark JH, Browde S. Total lymphoid irradiation in kidney and liver transplantation in the baboon: prolonged graft survival and alterations in T cell subsets with low cumulative dose regimens. *J Immunol* 1984; 132: 1019-1025 [PMID: 6228586]
- 50 Fujiki M, Esquivel CO, Martinez OM, Strober S, Uemoto S, Krams SM. Induced tolerance to rat liver allografts involves the apoptosis of intra-graft T cells and the generation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> T regulatory cells. *Liver Transpl* 2010; 16: 147-154 [PMID: 20104482 DOI: 10.1002/lt.21963]
- 51 Sato Y, Chikako T, Oya H, Yamamoto S, Kokai H, Miura K, Hatakeyama K. Regulatory T-cell activation among patients who displayed operational tolerance following intra-portal administration of donor-specific antigens in living donor liver transplantation. *Transplant Proc* 2012; 44: 560-564 [PMID: 22410069 DOI: 10.1016/j.transproceed.2012.01.045]
- 52 Abe Y, Urakami H, Ostanin D, Zibari G, Hayashida T, Kitagawa Y, Grisham MB. Induction of Foxp3-expressing regulatory T-cells by donor blood transfusion is required for tolerance to rat liver allografts. *PLoS One* 2009; 4: e7840 [PMID: 19956764 DOI: 10.1371/journal.pone.0007840]
- 53 Li X, Li JJ, Yang JY, Wang DS, Zhao W, Song WJ, Li WM, Wang JF, Han W, Zhang ZC, Yu Y, Cao DY, Dou KF. Tolerance induction by exosomes from immature dendritic cells and rapamycin in a mouse cardiac allograft model. *PLoS One* 2012; 7: e44045 [PMID: 22952868 DOI: 10.1371/journal.pone.0044045]
- 54 Wang GY, Yang Y, Li H, Zhang J, Li MR, Zhang Q, Chen GH. Rapamycin combined with donor immature dendritic cells promotes liver allograft survival in association with CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cell expansion. *Hepatol Res* 2012; 42: 192-202 [PMID: 22103959 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2011.00909.x]
- 55 Lu L, Qian XF, Rao JH, Wang XH, Zheng SG, Zhang F. Rapamycin promotes the expansion of CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells after liver transplantation. *Transplant Proc* 2010; 42: 1755-1757 [PMID: 20620516 DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.10.008]
- 56 Jiang G, Yang HR, Wang L, Wildey GM, Fung J, Qian S, Lu L. Hepatic stellate cells preferentially expand allogeneic CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells in an IL-2-dependent manner. *Transplantation* 2008; 86: 1492-1502 [PMID: 19077880 DOI: 10.1097/TP.0b013e318181bdf13]
- 57 Xia X, Chen W, Ma T, Xu G, Liu H, Liang C, Bai X, Zhang Y, He Y, Liang T. Mesenchymal stem cells administered after liver transplantation prevent acute graft-versus-host disease in rats. *Liver Transpl* 2012; 18: 696-706 [PMID: 22344929 DOI: 10.1002/lt.23414]
- 58 Cheng J, Zhou L, Qin YS, Wang Y, Xie HY, Feng XW, Zheng SS. Donor apoptotic lymphocyte transfusion-induced liver allograft tolerance by up-regulation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in peripheral blood. *Transplant Proc* 2009; 41: 3893-3897 [PMID: 19917407 DOI: 10.1016/j.transproceed.2009.05.033]
- 59 Li W, Kuhr CS, Zheng XX, Carper K, Thomson AW, Reyes JD, Perkins JD. New insights into mechanisms of spontaneous liver transplant tolerance: the role of Foxp3-expressing CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> regulatory T cells. *Am J Transplant* 2008; 8: 1639-1651 [PMID: 18557727 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2008.02300.x]
- 60 Li J, Lai X, Liao W, He Y, Liu Y, Gong J. The dynamic changes of Th17/Treg cytokines in rat liver transplant rejection and tolerance. *Int Immunopharmacol* 2011; 11: 962-967 [PMID: 21376155 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.02.010]
- 61 Zhang Y, Zhao H, Bo L, Yang Y, Lu X, Sun J, Wen J, He X, Yin G. Total body irradiation of donors can alter the course of tolerance and induce acute rejection in a spontaneous tolerance rat liver transplantation model. *Sci China Life Sci* 2012; 55: 774-781 [PMID: 23015125 DOI: 10.1007/s11427-012-4370-3]
- 62 Pu LY, Wang XH, Zhang F, Li XC, Yao AH, Yu Y, Lv L, Li GQ. Adoptive transfusion of ex vivo donor alloantigen-stimulated CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells ameliorates rejection of DA-to-Lewis rat liver transplantation. *Surgery* 2007; 142: 67-73 [PMID: 17630002 DOI: 10.1016/j.surg.2007.02.014]
- 63 Yurchenko E, Shio MT, Huang TC, Da Silva Martins M, Szyf M, Levings MK, Olivier M, Piccirillo CA. Inflammation-driven reprogramming of CD4<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells into pathogenic Th1/Th17 T effectors is abrogated by mTOR inhibition in vivo. *PLoS One* 2012; 7: e35572 [PMID: 22545118 DOI: 10.1371/journal.pone.0035572]
- 64 Lan Q, Fan H, Quesniaux V, Ryffel B, Liu Z, Zheng SG. Induced Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells: a potential new weapon to treat autoimmune and inflammatory diseases? *J Mol Cell Biol* 2012; 4: 22-28 [PMID: 22107826 DOI: 10.1093/jmcb/mjr039]
- 65 Feng M, Wang Q, Zhang F, Lu L. Ex vivo induced regulatory T cells regulate inflammatory response of Kupffer cells by TGF-beta and attenuate liver ischemia reperfusion injury. *Int Immunopharmacol* 2012; 12: 189-196 [PMID: 22155100 DOI: 10.1016/j.intimp.2011.11.010]
- 66 Levitsky J, Mathew JM, Abecassis M, Tambur A, Leventhal J, Chandrasekaran D, Herrera N, Al-Saden P, Gallon L, Abdul-Nabi A, Yang GY, Kurian SM, Salomon DR, Miller J. Systemic immunoregulatory and proteogenomic effects of tacrolimus to sirolimus conversion in liver transplant recipients. *Hepatology* 2013; 57: 239-248 [PMID: 22234876 DOI: 10.1002/hep.25579]
- 67 Zeiser R, Leveson-Gower DB, Zambricki EA, Kamb-

- ham N, Beilhack A, Loh J, Hou JZ, Negrin RS. Differential impact of mammalian target of rapamycin inhibition on CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells compared with conventional CD4+ T cells. *Blood* 2008; 111: 453-462 [PMID: 17967941 DOI: 10.1182/blood-2007-06-094482]
- 68 Tresoldi E, Dell'Albani I, Stabilini A, Jofra T, Valle A, Gagliani N, Bondanza A, Roncarolo MG, Battaglia M. Stability of human rapamycin-expanded CD4+CD25+ T regulatory cells. *Haematologica* 2011; 96: 1357-1365 [PMID: 21565906 DOI: 10.3324/haematol.2011.041483]
- 69 Hester J, Schiopu A, Nadig SN, Wood KJ. Low-dose rapamycin treatment increases the ability of human regulatory T cells to inhibit transplant arteriosclerosis in vivo. *Am J Transplant* 2012; 12: 2008-2016 [PMID: 22500984 DOI: 10.1111/j.1600-6143.2012.04065.x]
- 70 Sauer S, Bruno L, Hertweck A, Finlay D, Leleu M, Spivakov M, Knight ZA, Cobb BS, Cantrell D, O'Connor E, Shokat KM, Fisher AG, Merken-schlager M. T cell receptor signaling controls Foxp3 expression via PI3K, Akt, and mTOR. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7797-7802 [PMID: 18509048 DOI: 10.1073/pnas.0800928105]
- 71 Shi LZ, Wang R, Huang G, Vogel P, Neale G, Green DR, Chi H. HIF1alpha-dependent glycolytic pathway orchestrates a metabolic checkpoint for the differentiation of TH17 and Treg cells. *J Exp Med* 2011; 208: 1367-1376 [PMID: 21708926 DOI: 10.1084/jem.20110278]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# uPA/uPAR系统在肿瘤中作用的研究进展

尚润泽, 戴斌, 王德盛

尚润泽, 戴斌, 王德盛, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科 陕西省西安市 710032

尚润泽, 在读硕士, 主要从事肝癌侵袭与转移机制的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81030010

陕西省科技研究发展计划基金资助项目 No. 2012FS2-09-1

作者贡献分布: 本文综述由尚润泽与戴斌共同完成; 由王德盛审校。

通讯作者: 王德盛, 教授, 710032, 陕西省西安市长乐西路15号, 中国人民解放军第四军医大学西京医院肝胆外科。

wangdesh@163.com

电话: 029-84775259

收稿日期: 2013-12-30 修回日期: 2014-01-29

接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-28

## Role of uPA/uPAR system in tumors

Run-Ze Shang, Bin Dai, De-Sheng Wang

Run-Ze Shang, Bin Dai, De-Sheng Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81030010; Shaanxi Provincial Science and Technology Research and Development Program Funded Projects, No. 2012FS2-09-1

Correspondence to: De-Sheng Wang, Professor, Department of Hepatobiliary Surgery, Xijing Hospital, the Fourth Military Medical University, 15 Changle West Road, Xi'an 710032, Shaanxi Province, China. wangdesh@163.com

Received: 2013-12-30 Revised: 2014-01-29

Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-28

## Abstract

Urokinase type plasminogen activator (uPA) is a major activator of plasminogen, and uPA receptor is the specific receptor of uPA. The uPA/uPAR system regulates plasminogen activity, which participates in degradation and remodeling of the extracellular matrix (ECM), and is involved in many pathophysiological processes. In neoplasms, the activation of plasminogen into plasmin caused by the uPA/uPAR system induces the degradation of components in the basement membrane as well as in the ECM, which provides a favorable microenvironment for tumor invasion and metastasis. In addition, the uPA/uPAR system regulates tumor proliferation and angiogenesis. In this review, we will discuss the role of the uPA/uPAR system in tumors and its potential clinical implications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** urokinase type plasminogen activator/urokinase type plasminogen activator receptor system; Tumors; Urokinase type plasminogen activator; Plasminogen

Shang RZ, Dai B, Wang DS. Role of uPA/uPAR system in tumors. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1235-1240  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1235.asp>  
DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1235>

## 摘要

尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase type plasminogen activator, uPA)是纤溶酶原的重要激活物之一, 其特异性受体为纤溶酶原激活物受体(urokinase type plasminogen activator receptor, uPAR)。大量研究表明, uPA/uPAR系统对纤溶酶原活性起调控作用, 参与多种与细胞外基质降解、重塑相关的病理生理过程。肿瘤组织中, 在uPA/uPAR系统的作用下将纤溶酶原激活为纤溶酶, 促进基底膜和细胞外基质内相关成分的降解, 为肿瘤的侵袭、转移提供有利微环境。此外, uPA/uPAR系统对于肿瘤的增殖及肿瘤血管形成也具有调控作用。本文就uPA/uPAR系统在肿瘤中的作用及其临床意义做一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 尿激酶型纤溶酶原激活物/纤溶酶原激活物受体系统; 肿瘤; 尿激酶型纤溶酶原激活物; 纤溶酶原

**核心提示:** 尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase type plasminogen activator)/纤溶酶原激活物受体(urokinase type plasminogen activator receptor)系统的表达受到多种细胞因子及促癌因子的调节, 与多条肿瘤相关信号通路之间密切作用, 其作用贯穿于肿瘤的增殖、侵袭转移及肿瘤血管生成的各个环节, 是研究肿瘤进展机制和肿瘤诊断及治疗的重要靶点。

尚润泽, 戴斌, 王德盛. uPA/uPAR系统在肿瘤中作用的研究进

## ■背景资料

尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase type plasminogen activator, uPA)是纤溶酶原的重要激活物之一, uPA/纤溶酶原激活物受体(urokinase type plasminogen activator receptor, uPAR)系统对纤溶酶原活性起调控作用, 参与多种与细胞外基质降解、重塑相关的病理生理过程。在肿瘤中, uPA/uPAR系统通过促进基底膜和细胞外基质内相关成分的降解, 为肿瘤的侵袭、转移提供有利微环境, 是肿瘤研究的热点。

## ■同行评议者

朴龙镇, 副教授, 延边大学附属医院肿瘤科

## ■ 研发前沿

uPA/uPAR系统的表达受到多种激素、细胞因子及促癌因子的调节,并与多条肿瘤相关信号通路之间密切作用,在肿瘤的增殖、侵袭转移及肿瘤血管生成等方面全面发挥作用,但其具体分子机制尚不明确。

展. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1235-1240 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1235.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1235>

## 0 引言

自上世纪70年代第1次在肿瘤中提取出尿激酶型纤溶酶原激活物(urokinase type plasminogen activator, uPA)以来, uPA/纤溶酶原激活物受体(urokinase type plasminogen activator receptor, uPAR)系统在肿瘤中的作用越来越受到关注. uPA/uPAR系统由uPA、uPAR以及纤溶酶原激活物抑制物(plasminogen activator inhibitors, PAIs)共同组成. 回顾既往文献[1-4]发现, uPA/uPAR系统可通过降解细胞外基质和基底膜促进肿瘤细胞的侵袭与转移. 近年来研究发现, uPA/uPAR系统的表达受到多种激素、细胞因子及促癌因子的调节<sup>[5,6]</sup>, 并与多条肿瘤相关信号通路之间密切作用, 在肿瘤的增殖、侵袭转移及肿瘤血管生成等方面全面发挥作用. 同时uPA/uPAR系统用于肿瘤标志物及作为潜在治疗靶向的研究日益受到重视.

## 1 uPA/uPAR系统概述

**1.1 uPA** uPA是一种特异性较强的丝氨酸蛋白酶. 最初分泌的uPA, 其结构为单链的pro-uPA, 称为单链尿激酶纤溶酶原激活剂(scuPA)<sup>[7]</sup>, 该蛋白分子内包含3个结构域: 生长因子结构域、催化结构域和Kringle结构域<sup>[8-10]</sup>. 在纤溶酶、组织蛋白酶等酶的作用下, pro-uPA在158Lys-159Ile位点处酶解, 酶解后的两条单链通过二硫键结合成为有活性的双链尿激酶<sup>[11]</sup>. 在黏附细胞中, uPA几乎都分布于细胞与细胞间或细胞与细胞外基质间接接触的部位<sup>[12]</sup>. 活性uPA可单独激活纤溶酶原或与uPAR相结合, 参与基底膜与细胞外基质降解, 在生理性细胞迁移和肿瘤细胞转移中发挥作用.

**1.2 uPAR** uPAR是一种单链膜糖蛋白受体, 他通过碳端的糖基磷脂酰肌醇锚定于细胞表面, 并在磷脂酰肌醇特异性的磷脂酶C作用下释放. 成熟uPAR含3个同源结构域: D1、D2、D3. 其中D1与抗原决定簇相关, D2、D3与定位于细胞膜有关, 最新报道显示D3结构域的uPAR/α5β1作用位点在新血管生成的过程中十分重要<sup>[13]</sup>. uPAR与uPA特异性结合, 使纤溶酶原的激活增强, 加速细胞外基质降解, 便于细胞迁移. 报道<sup>[14]</sup>显示, 在乳腺癌中uPA-uPAR复合物对于维持和放大纤溶酶活性是必要的. 此外, uPAR也可与被

PAI-1抑制的uPA结合, 共同组成uPAR-uPA-PAI复合物, 该复合物在体内被迅速内吞降解, 释放出的uPAR被循环利用, 出现在细胞表面的不同位点<sup>[6,15]</sup>, 这一过程在细胞迁移中起重要作用. 当uPAR从细胞表面脱落进入血液循环则成为可溶性uPAR(suPAR), suPAR的循环浓度在急性感染时显著增高<sup>[16]</sup>, 也有研究发现其血浆浓度变化可能与肿瘤相关<sup>[17]</sup>.

**1.3 PAIs** PAIs包括PAI-1、PAI-2. 目前认为, PAI-1与肿瘤的关系更为密切. PAI-1是52 kDa大小的糖蛋白, 属于丝氨酸蛋白酶抑制剂家族(serine protease inhibitor, serpin)成员之一. 他可由内皮细胞、肝细胞、血管平滑肌细胞及多种肿瘤细胞合成. 血浆中PAI-1水平具有昼夜节律, 清晨较高, 但其整体水平与机体纤维蛋白溶解活性相一致. 血浆PAI-1水平异常升高可见于代谢综合征、炎症状态及肿瘤<sup>[18]</sup>. 肿瘤中PAI-1表现为双重作用, 首先PAI-1作为uPA的特异性抑制剂与玻连蛋白等多种细胞外基质蛋白关系密切, 调节细胞外基质的降解平衡, 具有抑制肿瘤侵袭作用; 另一方面PAI-1又可能通过抑制肿瘤细胞和血管平滑肌凋亡, 从而促进肿瘤生长和肿瘤血管形成<sup>[19,20]</sup>.

## 2 uPA/uPAR系统与肿瘤

**2.1 uPA/uPAR系统与肿瘤增殖** uPA与uPAR在正常细胞和肿瘤细胞的增殖中都发挥作用. 研究显示, uPA可通过激活肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)促进肝细胞的增殖<sup>[21]</sup>, 此外uPA能够诱导一些增殖信号通路的级联反应, 如信号转导与转录激活因子3(signal transducer and activator of transcription, Stat3)通路、细胞外信号调节激酶1/2(extracellular signal-regulated kinase 1/2, ERK1/2)通路、与磷脂酰肌醇3激酶/蛋白激酶B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)通路<sup>[22-25]</sup>. 在肝癌HEp3肿瘤细胞系中抑制uPAR表达, 可破坏uPAR/integrin偶联, 抑制MAPK通路并迫使肿瘤细胞进入休眠状态、停留在细胞周期的G<sub>0</sub>/G<sub>1</sub>时相<sup>[26]</sup>. 另外, Gogineni等<sup>[25]</sup>发现, 体外shRNA转染抑制uPAR的表达可下调脑膜瘤细胞中TGF-β1信号诱导的肿瘤细胞增殖信号通路. 由此不难看出, uPA与uPAR对于肿瘤细胞增殖状态的维持发挥着重要作用. PAI-1在一些肿瘤中同时起促进增殖和抑制凋亡作用<sup>[19,26]</sup>, 但在不同肿瘤细胞系中的作用及机制并不确定. 一项关于结肠癌的研究发现,

间充质干细胞分泌的高浓度PAI-1可促进HT29肿瘤细胞系增殖, 但对于HCT-116肿瘤细胞系并无显著影响<sup>[27]</sup>. Lara等<sup>[28]</sup>对43例宫颈癌标本进行一系列研究提出, PAI-1过表达可能通过增加突变型P53和cyclin D1的表达从而抑制肿瘤细胞进入凋亡周期, 进而促进肿瘤生长. 可见, PAI-1在肿瘤增殖与凋亡中的确切作用和机制还需进一步深入研究.

**2.2 uPA/uPAR系统与肿瘤侵袭转移** uPA/uPAR系统在肿瘤侵袭转移中的作用不仅限于对细胞外基质和基底膜的降解, 还涉及许多复杂的分子机制, 多条与肿瘤侵袭转移密切相关的信号通路牵涉其中. uPA能够直接催化纤溶酶原的激活, 后者进一步降解多种细胞外基质中的蛋白质, 例如纤连蛋白(fibronectin, FN)、玻连蛋白(vitronectin, VN)等, 同时也能催化激活多种基质金属蛋白酶的酶原, 进一步降解细胞外基质成分<sup>[29,30]</sup>, 上述步骤为肿瘤细胞向深部组织播散及侵入循环并最终形成远处转移提供了有利条件. 吴畅等<sup>[31]</sup>研究发现, uPA在肝癌组织中的表达相较癌旁组织和正常肝组织显著增高, 且其高表达与肝门静脉处癌栓形成和肿瘤侵及肝被膜关系密切; 此外有研究显示uPA的表达与结肠癌侵袭、转移密切相关<sup>[32]</sup>. 这些研究进一步印证了uPA在肿瘤侵袭转移中可能发挥重要作用. 近年研究<sup>[33]</sup>发现uPA可作为独立配体直接激活Notch受体、调控Notch信号通路活性, 影响脑胶质瘤的侵袭性, 这一发现为理解uPA在调控肿瘤侵袭转移中的机制提供了新的思路. uPAR与uPA特异结合除了进一步激活细胞外基质降解相关进程外, 还可通过激活Src、Raf、FAK、ERK、MAPK等多种在肿瘤演进中起重要作用的信号通路, 实现对肿瘤细胞侵袭转移的调控<sup>[34-36]</sup>. 研究表明, ERK信号通路是甲状腺乳头状瘤发生发展的中心信号通路, 而uPAR可通过激活ERK通路促进甲状腺癌的侵袭转移<sup>[36]</sup>. 另有研究显示, uPA-uPAR复合物和ERK可通过中间信号通路相互激活并组成正反馈环路, 维持肿瘤细胞的高增殖性与侵袭性<sup>[14]</sup>. 此外, 有报道显示uPA/uPAR系统与MAPK、核因子- $\kappa$ B(nuclear factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)通路的相互作用促进结肠癌、乳腺癌、宫颈癌等多种肿瘤的侵袭转移<sup>[30,37,38]</sup>. 在星形胶质瘤细胞中, 通过激活Ras/Raf/MEK信号可以增加uPA的表达, 促进肿瘤转移<sup>[39]</sup>. 可见uPA/uPAR系统可能处于多条与肿瘤侵袭转移相关的信号分子或通路的交叉点, 这意味着uPA/uPAR系统可能会成

为一个重要的潜在治疗靶点.

**2.3 uPA/uPAR系统与肿瘤血管生成** 不论在生理或病理情况下, 新生血管形成的起始步骤都需要内皮细胞在局部降解基底膜, 为其迁移和侵袭开辟一条道路. 在这个过程中受uPA/uPAR系统调控的纤溶酶的活性起到重要作用. 首先, pro-uPA可在细胞表面uPAR的生长因子位点与uPAR受体结合, 促进pro-uPA激活为uPA, 后者激活纤溶酶原为活性纤溶酶, 进而激活基质金属蛋白酶参与基底膜降解, 上述步骤形成正反馈环路促进细胞表面基底膜与细胞外基质的降解, 而该环路的激活受到PAI-1的抑制调节<sup>[13]</sup>. 此外, uPA-uPAR复合体水平上调可通过促进E-cadherin的降解增加血管通透性, 促进血管内皮细胞的游走迁移, 这对于血管出芽生长也是有利的<sup>[40]</sup>. 众所周知, 血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)是启动血管生成的中心调节因子, 大量研究<sup>[13,41-43]</sup>显示, uPA/uPAR系统参与了VEGF对血管生成的调节. 因此, 目前对于uPA/uPAR系统在血管生成机制的研究多与VEGF相结合. Jiang等<sup>[44]</sup>发现, 食管癌中uPA与VEGF的表达具有一致性, 特别是在高微血管密度(microvessel density, MVD)组中两者蛋白质的表达显著增高, 进一步分析发现VEGF与uPA在食道癌肿瘤血管形成中起协同作用并相互调节: 即高水平的uPA可能通过上调VEGF或直接激活VEGF诱导肿瘤血管生成, 而高水平的VEGF进一步通过上调uPA水平增加细胞外基质的降解. 可见, uPA与VEGF可能组成正反馈通路, 该通路的激活使细胞外基质和血管基底膜快速降解, 为内皮细胞的迁移和增殖及肿瘤血管生成提供了有利的微环境. 研究<sup>[26]</sup>表明, 通过抑制PAI-1, 可以抑制移植瘤模型中膀胱癌细胞系和宫颈癌细胞系中的肿瘤血管形成, 这提示PAI-1在肿瘤血管形成中可能发挥促进作用. Fang等<sup>[19]</sup>则认为PAI-1促进肿瘤血管形成的可能机制为其抑制了血管平滑肌的凋亡.

总之, uPA/uPAR系统在肿瘤的发展中发挥着全面的作用. 近年发现uPA可能处在与肿瘤发展密切相关的多个分子与通路的中心, 这确立了uPA在肿瘤演进机制研究中的关键地位, 同时也为将uPA/uPAR系统作为肿瘤治疗的中心靶点提供了依据.

### 3 uPA/uPAR系统在肿瘤中的临床意义

uPA/uPAR系统在肿瘤诊断、判断肿瘤预后等方面

#### ■ 相关报道

近年研究发现uPA/uPAR系统的成分可以直接激活包括Notch信号通路在内的多条与肿瘤侵袭转移密切相关的信号调节通路, 为阐明该系统在肿瘤侵袭转移中的具体机制提供了新的研究思路.



## ■创新盘点

本文对近年来uPA/uPAR系统参与的与肿瘤增殖及侵袭转移相关的分子信号通路进行总结和简介,并对近期uPA/uPAR系统在临床应用探索工作做出归纳和展望。

有一定的意义,但该系统各成分在不同类型肿瘤中的表达意义存在差异<sup>[45-49]</sup>。对7例胃癌腹膜转移患者的研究发现:7例CEA阳性的转移癌患者腹膜内转移灶中uPA、uPAR以及PAI-1的水平相较正常腹膜组显著增高,更重要的是,在CEA阴性的4例和CEA阳性的3例转移癌病灶外正常腹膜组织中,uPA、uPAR及PAI-1水平均高于正常,由此可见,相较于CEA,uPA/uPAR成分的测定在一些亚临床胃癌腹膜转移患者的诊断中可能具有更高的价值<sup>[46]</sup>。另外,研究发现uPA和PAI-1在甲状腺癌组织中的浓度都显著高于正常甲状腺组织,而发生了甲状腺外侵袭、远处转移者uPA和PAI-1的浓度更高,进一步分析显示:uPA和PAI-1可作为甲状腺癌远处转移的独立预测因子<sup>[47]</sup>。而Ren等<sup>[48]</sup>对卵巢癌中的肝癌缺失基因1(deleted in liver cancer 1, DLC1)和PAI-1进行分析,发现PAI-1在卵巢癌组织中显著升高而DLC1显著下降,但DLC1水平与国际妇产科协会(Federation International Of Gynecology And Obstetrics, FIGO)肿瘤分级、腹水和淋巴结转移都密切相关,但PAI-1只与FIGO分级相关,在所有患者中DLC1低表达与PAI-1高表达同时存在者预后最差,因此认为PAI-1只有与DLC1结合才能对卵巢癌预后做出准确判断。Fidan等<sup>[17]</sup>对胃癌患者和正常人血浆中suPAR进行对比分析发现,胃癌患者血浆suPAR水平显著高于正常人,且其水平越高肿瘤发生侵袭转移的可能性越大。一项关于非小细胞肺癌的研究<sup>[49]</sup>也提示了suPAR高水平与不良预后间存在关联。可见血浆suPAR水平有可能作为肿瘤辅助诊断与判断预后的标志物,但仍需更大规模的研究以评判其临床应用的可行性。另一些研究则着眼于PAI-1的基因多态性分析在判断肿瘤预后中的意义。一项针对253例口腔癌患者PAI-1等位基因的研究发现,患者基因型为4G/5G或5G/5G者相较于4G/4G基因型者发展为临床III期或IV期肿瘤以及伴有淋巴结转移的风险低<sup>[50]</sup>。而Lee等<sup>[51]</sup>发现PAI-1启动子为4G/4G基因型的人群患乳腺癌的风险轻度增加,5G/5G基因型则与乳腺癌淋巴结转移相关,而4G/5G基因型在乳腺癌中的意义尚不明确。总之,尽管uPA/uPAR系统在不同肿瘤组织中的临床意义略有差别,还需要在更多肿瘤类型中进行深入研究加以明确,但不论在分子水平还是基因水平,uPA/uPAR系统在肿瘤诊断、判断肿瘤预后等方面都显示出了一定的潜力。

## 4 结论

uPA/uPAR系统在细胞外基质和基底膜降解中的调控作用与肿瘤侵袭转移密切相关,这是我们研究其在肿瘤中作用最初切入点。近年的研究发现,uPA/uPAR系统在肿瘤中的作用贯穿于肿瘤演进过程中的各个方面,并可能处于肿瘤相关的多种分子与信号通路的调节中心,这奠定了以该系统作为靶向治疗中心的基础。尽管目前对于uPA/uPAR系统在肿瘤中作用的研究取得了一些成就,但具体机制还需进一步明确和完善。此外,大多针对uPA/uPAR系统的研究结论都来源于体外实验和动物实验的结果,因此还需要进行更多关于该系统的深入研究。

## 5 参考文献

- 1 de Bock CE, Wang Y. Clinical significance of urokinase-type plasminogen activator receptor (uPAR) expression in cancer. *Med Res Rev* 2004; 24: 13-39 [PMID: 14595671 DOI: 10.1002/med.10054]
- 2 Liotta LA, Kohn EC. The microenvironment of the tumour-host interface. *Nature* 2001; 411: 375-379 [PMID: 11357145 DOI: 10.1038/35077241]
- 3 Duffy MJ. The urokinase plasminogen activator system: role in malignancy. *Curr Pharm Des* 2004; 10: 39-49 [PMID: 14754404 DOI: 10.2174/1381612043453559]
- 4 Dutta S, Bandyopadhyay C, Bottero V, Veettil MV, Wilson L, Pins MR, Johnson KE, Warshall C, Chandran B. Angiogenin interacts with the plasminogen activation system at the cell surface of breast cancer cells to regulate plasmin formation and cell migration. *Mol Oncol* 2014 Jan 4. [Epub ahead of print] [PMID: 24457100 DOI: 10.1016/j.molonc.2013.12.017]
- 5 Montuori N, Cosimato V, Rinaldi L, Rea VE, Alfano D, Ragno P. uPAR regulates pericellular proteolysis through a mechanism involving integrins and fMLF-receptors. *Thromb Haemost* 2013; 109: 309-318 [PMID: 23238745 DOI: 10.1160/TH12-08-0546]
- 6 Poettler M, Unseld M, Mihaly-Bison J, Uhrin P, Koban F, Binder BR, Zielinski CC, Prager GW. The urokinase receptor (CD87) represents a central mediator of growth factor-induced endothelial cell migration. *Thromb Haemost* 2012; 108: 357-366 [PMID: 22782499 DOI: 10.1160/TH11-12-0868]
- 7 Järvinen HM, Laakkonen L, Haiko J, Johansson T, Juuti K, Suomalainen M, Buchrieser C, Kalkkinen N, Korhonen TK. Human single-chain urokinase is activated by the ompTins PgtE of *Salmonella enterica* and Pla of *Yersinia pestis* despite mutations of active site residues. *Mol Microbiol* 2013; 89: 507-517 [PMID: 23763588 DOI: 10.1111/mmi.12293]
- 8 Beloglazova IB, Beabealashvili RSh, Gursky YG, Bocharov EV, Mineev KS, Parfenova EV, Tkachuk VA. Structural investigations of recombinant urokinase growth factor-like domain. *Biochemistry (Mosc)* 2013; 78: 517-530 [PMID: 23848154 DOI: 10.1134/S0006297913050106]
- 9 Takada Y. Potential role of kringle-integrin interac-

- tion in plasmin and uPA actions (a hypothesis). *J Biomed Biotechnol* 2012; 2012: 136302 [PMID: 23125522 DOI: 10.1155/2012/136302]
- 10 Bager R, Kristensen TK, Jensen JK, Szczur A, Christensen A, Andersen LM, Johansen JS, Larsen N, Baatrup E, Huang M, Ploug M, Andreassen PA. Urokinase-type plasminogen activator-like proteases in teleosts lack genuine receptor-binding epidermal growth factor-like domains. *J Biol Chem* 2012; 287: 27526-27536 [PMID: 22733817 DOI: 10.1074/jbc.M112.369207]
  - 11 Choong PF, Nadesapillai AP. Urokinase plasminogen activator system: a multifunctional role in tumor progression and metastasis. *Clin Orthop Relat Res* 2003; (415 Suppl): S46-S58 [PMID: 14600592 DOI: 10.1097/01.blo0000093845.72468.bd]
  - 12 Sidenius N, Blasi F. The urokinase plasminogen activator system in cancer: recent advances and implication for prognosis and therapy. *Cancer Metastasis Rev* 2003; 22: 205-222 [PMID: 12784997 DOI: 10.1023/A:1023099415940]
  - 13 Breuss JM, Uhrin P. VEGF-initiated angiogenesis and the uPA/uPAR system. *Cell Adh Migr* 2012; 6: 535-615 [PMID: 23076133 DOI: 10.4161/cam.22243]
  - 14 Luo J, Sun X, Gao F, Zhao X, Zhong B, Wang H, Sun Z. Effects of ulinastatin and docetaxel on breast cancer invasion and expression of uPA, uPAR and ERK. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 71 [PMID: 21798065 DOI: 10.1186/1756-9966-30-71]
  - 15 McMahon B, Kwaan HC. The plasminogen activator system and cancer. *Pathophysiol Haemost Thromb* 2008; 36: 184-194 [PMID: 19176991 DOI: 10.1159/000175156]
  - 16 Mussap M, Noto A, Cibecchini F, Fanos V. The importance of biomarkers in neonatology. *Semin Fetal Neonatal Med* 2013; 18: 56-64 [PMID: 23164809 DOI: 10.1016/j.siny.2012.10.006]
  - 17 Fidan E, Mentese A, Ozdemir F, Deger O, Kavgaci H, Caner Karahan S, Aydin F. Diagnostic and prognostic significance of CA IX and suPAR in gastric cancer. *Med Oncol* 2013; 30: 540 [PMID: 23512428 DOI: 10.1007/s12032-013-0540-9]
  - 18 Vaughan DE, De Taeye BM, Eren M. PAI-1 antagonists: predictable indications and unconventional applications. *Curr Drug Targets* 2007; 8: 962-970 [PMID: 17896947 DOI: 10.2174/138945007781662364]
  - 19 Fang H, Placencio VR, DeClerck YA. Protumorigenic activity of plasminogen activator inhibitor-1 through an antiapoptotic function. *J Natl Cancer Inst* 2012; 104: 1470-1484 [PMID: 22984202 DOI: 10.1093/jnci/djs377]
  - 20 Rossignol P, Anglès-Cano E, Lijnen HR. Plasminogen activator inhibitor-1 impairs plasminogen activation-mediated vascular smooth muscle cell apoptosis. *Thromb Haemost* 2006; 96: 665-670 [PMID: 17080225 DOI: 10.1160/TH06-06-0321]
  - 21 Park ES, Park YK, Shin CY, Park SH, Ahn SH, Kim DH, Lim KH, Kwon SY, Kim KP, Yang SI, Seong BL, Kim KH. Hepatitis B virus inhibits liver regeneration via epigenetic regulation of urokinase-type plasminogen activator. *Hepatology* 2013; 58: 762-776 [PMID: 23483589 DOI: 10.1002/hep.26379]
  - 22 Shetty S, Rao GN, Cines DB, Bdeir K. Urokinase induces activation of STAT3 in lung epithelial cells. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2006; 291: L772-L780 [PMID: 16751220 DOI: 10.1152/ajplung.00476.2005]
  - 23 Stewart AG, Xia YC, Harris T, Royce S, Hamilton JA, Schuliga M. Plasminogen-stimulated airway smooth muscle cell proliferation is mediated by urokinase and annexin A2, involving plasmin-activated cell signalling. *Br J Pharmacol* 2013; 170: 1421-1435 [PMID: 24111848 DOI: 10.1111/bph.12422]
  - 24 Ulisse S, Baldini E, Sorrenti S, D'Armiento M. The urokinase plasminogen activator system: a target for anti-cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2009; 9: 32-71 [PMID: 19200050 DOI: 10.2174/156800909787314002]
  - 25 Gogineni VR, Gupta R, Nalla AK, Velpula KK, Rao JS. uPAR and cathepsin B shRNA impedes TGF- $\beta$ 1-driven proliferation and invasion of meningioma cells in a XIAP-dependent pathway. *Cell Death Dis* 2012; 3: e439 [PMID: 23222509 DOI: 10.1038/cd-dis.2012.170]
  - 26 Gomes-Giacoa E, Miyake M, Goodison S, Rosser CJ. Targeting plasminogen activator inhibitor-1 inhibits angiogenesis and tumor growth in a human cancer xenograft model. *Mol Cancer Ther* 2013; 12: 2697-2708 [PMID: 24072883 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-13-0500]
  - 27 Hogan NM, Joyce MR, Murphy JM, Barry FP, O'Brien T, Kerin MJ, Dwyer RM. Impact of mesenchymal stem cell secreted PAI-1 on colon cancer cell migration and proliferation. *Biochem Biophys Res Commun* 2013; 435: 574-579 [PMID: 23685140 DOI: 10.1016/j.bbrc.2013.05.013]
  - 28 Lara PC, Lloret M, Valenciano A, Clavo B, Pinar B, Rey A, Henríquez-Hernández LA. Plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) expression in relation to hypoxia and oncoproteins in clinical cervical tumors. *Strahlenther Onkol* 2012; 188: 1139-1145 [PMID: 23111469 DOI: 10.1007/s00066-012-0216-y]
  - 29 Lijnen HR. Plasmin and matrix metalloproteinases in vascular remodeling. *Thromb Haemost* 2001; 86: 324-333 [PMID: 11487021]
  - 30 Tang L, Han X. The urokinase plasminogen activator system in breast cancer invasion and metastasis. *Biomed Pharmacother* 2013; 67: 179-182 [PMID: 23201006 DOI: 10.1016/j.biopha.2012.10.003]
  - 31 吴畅, 刘玉武, 何琼琼, 文继舫, 冯德云. 肝细胞肝癌中 uPA 及 vimentin 蛋白的表达及意义. *中国普通外科杂志* 2013; 22: 469-473
  - 32 Sánchez-Tilló E, de Barrios O, Siles L, Amendola PG, Darling DS, Cuatrecasas M, Castells A, Postigo A. ZEB1 Promotes invasiveness of colorectal carcinoma cells through the opposing regulation of uPA and PAI-1. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 1071-1082 [PMID: 23340304 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2675]
  - 33 Raghu H, Gondi CS, Dinh DH, Gujrati M, Rao JS. Specific knockdown of uPA/uPAR attenuates invasion in glioblastoma cells and xenografts by inhibition of cleavage and trafficking of Notch-1 receptor. *Mol Cancer* 2011; 10: 130 [PMID: 22004682 DOI: 10.1186/1476-4598-10-130]
  - 34 Blasi F, Sidenius N. The urokinase receptor: focused cell surface proteolysis, cell adhesion and signaling. *FEBS Lett* 2010; 584: 1923-1930 [PMID: 20036661 DOI: 10.1016/j.febslet.2009.12.039]
  - 35 Eastman BM, Jo M, Webb DL, Takimoto S, Gonias SL. A transformation in the mechanism by which the urokinase receptor signals provides a selection advantage for estrogen receptor-expressing breast cancer cells in the absence of estrogen. *Cell Signal*

## ■应用要点

本文研究 uPA / uPAR 系统在肿瘤发生发展中的重要调控作用为更好地理解肿瘤进展的分子生物学机制提供了新的思路, 为肿瘤的诊断及治疗提供了新的策略。

## ■同行评价

本文通过阐述 uPA/uPAR 系统在肿瘤的增殖、肿瘤侵袭、转移及肿瘤血管生成等方面的重要作用,提示 uPA/uPAR 系统贯穿于肿瘤演进过程的各个方面,同时说明该系统与各种肿瘤相关分子与信号传导通路之间的关系。内容新颖、比较完整的阐述了近几年的研究成果,具有一定的科学意义。

- 2012; 24: 1847-1855 [PMID: 22617030 DOI: 10.1016/j.cellsig.2012.05.011]
- 36 Nowicki TS, Zhao H, Darzynkiewicz Z, Moscatello A, Shin E, Schantz S, Tiwari RK, Geliebter J. Down-regulation of uPAR inhibits migration, invasion, proliferation, FAK/PI3K/Akt signaling and induces senescence in papillary thyroid carcinoma cells. *Cell Cycle* 2011; 10: 100-107 [PMID: 21191179 DOI: 10.4161/cc.10.1.14362]
- 37 Liu SQ, Huang JA, Qin MB, Su YJ, Lai MY, Jiang HX, Tang GD. Sphingosine kinase 1 enhances colon cancer cell proliferation and invasion by up-regulating the production of MMP-2/9 and uPA via MAPK pathways. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 1569-1578 [PMID: 22684547 DOI: 10.1007/s00384-012-1510-y]
- 38 Chou RH, Hsieh SC, Yu YL, Huang MH, Huang YC, Hsieh YH. Fisetin inhibits migration and invasion of human cervical cancer cells by down-regulating urokinase plasminogen activator expression through suppressing the p38 MAPK-dependent NF- $\kappa$ B signaling pathway. *PLoS One* 2013; 8: e71983 [PMID: 23940799 DOI: 10.1371/journal.pone.0071983]
- 39 Zhao Y, Xiao A, Dipierro CG, Abdel-Fattah R, Amos S, Redpath GT, Carpenter JE, Pieper RO, Hussaini IM. H-Ras increases urokinase expression and cell invasion in genetically modified human astrocytes through Ras/Raf/MEK signaling pathway. *Glia* 2008; 56: 917-924 [PMID: 18383343 DOI: 10.1002/glia.20667]
- 40 Navaratna D, Menicucci G, Maestas J, Srinivasan R, McGuire P, Das A. A peptide inhibitor of the urokinase/urokinase receptor system inhibits alteration of the blood-retinal barrier in diabetes. *FASEB J* 2008; 22: 3310-3317 [PMID: 18559877 DOI: 10.1096/fj.08-110155]
- 41 Alexander RA, Prager GW, Mihaly-Bison J, Uhrin P, Sunzenauer S, Binder BR, Schütz GJ, Freissmuth M, Breuss JM. VEGF-induced endothelial cell migration requires urokinase receptor (uPAR)-dependent integrin redistribution. *Cardiovasc Res* 2012; 94: 125-135 [PMID: 22287577 DOI: 10.1093/cvr/cvs017]
- 42 Uhrin P, Breuss JM. uPAR: a modulator of VEGF-induced angiogenesis. *Cell Adh Migr* 2013; 7: 23-26 [PMID: 23076213 DOI: 10.4161/cam.22124]
- 43 Montuori N, Ragno P. Role of uPA/uPAR in the modulation of angiogenesis. *Chem Immunol Allergy* 2014; 99: 105-122 [PMID: 24217605 DOI: 10.1159/000353310]
- 44 Jiang JT, Zhang LF, Zhou B, Zhang SQ, Li SM, Zhang W, Zhang J, Qiao Z, Kong RR, Ma YF, Chen S. Relationships of uPA and VEGF expression in esophageal cancer and microvascular density with tumorous invasion and metastasis. *Asian Pac J Cancer Prev* 2012; 13: 3379-3383 [PMID: 22994764 DOI: 10.7314/APJCP.2012.13.7.3379]
- 45 Yang L, Sajja HK, Cao Z, Qian W, Bender L, Marcus AL, Lipowska M, Wood WC, Wang YA. uPAR-targeted optical imaging contrasts as theranostic agents for tumor margin detection. *Theranostics* 2013; 4: 106-118 [PMID: 24396518 DOI: 10.7150/thno.7409]
- 46 Ding Y, Zhang H, Zhong M, Zhou Z, Zhuang Z, Yin H, Wang X, Zhu Z. Clinical significance of the uPA system in gastric cancer with peritoneal metastasis. *Eur J Med Res* 2013; 18: 28 [PMID: 23985164 DOI: 10.1186/2047-783X-18-28]
- 47 Horvatic Herceg G, Herceg D, Kralik M, Kulic A, Bence-Zigman Z, Tomic-Brzac H, Bracic I, Kusacic-Kuna S, Prgommet D. Urokinase plasminogen activator and its inhibitor type-1 as prognostic factors in differentiated thyroid carcinoma patients. *Otolaryngol Head Neck Surg* 2013; 149: 533-540 [PMID: 23835563 DOI: 10.1177/0194599813496374]
- 48 Ren F, Shi H, Zhang G, Zhang R. Expression of deleted in liver cancer 1 and plasminogen activator inhibitor 1 protein in ovarian carcinoma and their clinical significance. *J Exp Clin Cancer Res* 2013; 32: 60 [PMID: 23988121 DOI: 10.1186/1756-9966-32-60]
- 49 Almasi CE, Høyer-Hansen G, Christensen IJ, Pappot H. Prognostic significance of urokinase plasminogen activator receptor and its cleaved forms in blood from patients with non-small cell lung cancer. *APMIS* 2009; 117: 755-761 [PMID: 19775344 DOI: 10.1111/j.1600-0463.2009.02533.x]
- 50 Weng CJ, Lin CW, Chung TT, Tsai CM, Chen MK, Yang SF. Impact of uPA system gene polymorphisms on the susceptibility of environmental factors to carcinogenesis and the development of clinicopathology of oral cancer. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 805-812 [PMID: 21125336 DOI: 10.1245/s10434-010-1432-2]
- 51 Lee JH, Kim Y, Choi JW, Kim YS. Clinicopathological significance of plasminogen activator inhibitor-1 promoter 4G/5G polymorphism in breast cancer: a meta-analysis. *Arch Med Res* 2013; 44: 39-45 [PMID: 23291383 DOI: 10.1016/j.arcmed.2012.12.002]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# 抵抗素与胰岛素抵抗及肥胖关系的研究进展

陈 信, 张琼方, 何颂华, 张 意, 周时高

陈信, 张琼方, 何颂华, 张意, 周时高, 上海中医药大学附属龙华医院示范科 上海市 200032

陈信, 在读硕士, 主要从事代谢综合征的基础与临床研究。

传统医学示范中心建设基金资助项目, No. ZYSN XD-YL-CTXK

作者贡献分布: 本文综述由陈信完成; 文献搜集由陈信、张琼方及张意完成; 何颂华与周时高审校。

通讯作者: 何颂华, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院示范科. songhuahe3032@sina.com

收稿日期: 2013-12-26 修回日期: 2014-01-22

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Role of resistin in insulin resistance and obesity

Xin Chen, Qiong-Fang Zhang, Song-Hua He, Yi Zhang, Shi-Gao Zhou

Xin Chen, Qiong-Fang Zhang, Song-Hua He, Yi Zhang, Shi-Gao Zhou, Department of Demonstration, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: the Construction Project of Traditional Medicine Demonstration Center, No. ZYSN XD-YL-CTXK

Correspondence to: Song-Hua He, Professor, Chief Physician, Master Tutor, Department of Demonstration, Longhua Hospital Affiliated to Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Xuhui District, Shanghai 200032, China. songhuahe3032@sina.com

Received: 2013-12-26 Revised: 2014-01-22

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

Resistin is an adipose-derived hormone postulated to link adiposity to insulin resistance. Rodent animal experiments and *in vitro* experimental studies showed that resistin can induce insulin resistance, glucose and lipid metabolism disorders, and be closely related to metabolic syndrome. However, the specific mechanisms of action of resistin in humans are not clear. There is still controversy over the relationship between resistin and obesity. This review aims to elucidate the role of resistin in insulin resistance and discuss the relationship between resistin and obesity.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Resistin; Insulin resistance; Obesity

Chen X, Zhang QF, He SH, Zhang Y, Zhou SG. Role of resistin in insulin resistance and obesity. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1241-1246 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1241.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1241>

## 摘要

抵抗素是由脂肪组织特异表达分泌的细胞因子。在啮齿类动物实验和离体实验研究显示抵抗素可以诱导机体的胰岛素抵抗, 引起糖脂代谢紊乱, 和代谢综合征密切相关。但是抵抗素在人体的作用机制尚需更多的研究, 另外抵抗素和肥胖的关系也有争议, 故本文就抵抗素和胰岛素抵抗及肥胖之间的关系作一综述。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

关键词: 抵抗素; 胰岛素抵抗; 肥胖

**核心提示:** 对抵抗素的深入研究会为临床治疗以胰岛素抵抗为中心的代谢综合征提供新的思路和方法, 本文重点综述了抵抗素诱发胰岛素抵抗的机制以及抵抗素与肥胖的关系, 可供科研及临床参考。

陈信, 张琼方, 何颂华, 张意, 周时高. 抵抗素与胰岛素抵抗及肥胖关系的研究进展. *世界华人消化杂志* 2014; 22(9): 1241-1246 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1241.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1241>

## 0 引言

当今社会经济发展迅速, 随着人们生活质量的改善和方式的改变, 代谢综合征的发病率日益增高。目前认为胰岛素抵抗是代谢综合征一重要的发病基础, 而导致胰岛素抵抗的原因和具体机制尚不甚明确。近年来, 脂肪细胞的功能和胰岛素抵抗的关系备受重视。抵抗素作为一种脂肪分泌因子在肥胖和胰岛素抵抗的发病过程中发挥着重要的作用。

## 1 抵抗素概述

1.1 抵抗素的发现 2001年Steppan等<sup>[1]</sup>在研究胰

## ■背景资料

我国代谢综合征的发病率逐年上升, 按WHO或NCEP-ATP III标准, MS患病率在西方普通人群为20%-30%, 我国为12.7%-14.2%。抵抗素在以胰岛素抵抗为中心的MS的发病过程中起着重要的作用。

## ■同行评议者

何继满, 教授, 南方医科大学南方医院消化研究所

## ■ 研发前沿

目前关于抵抗素的研究仍集中在啮齿类动物和离体实验上, 研究结论还不一致, 仍有一些问题未解决, 比如抵抗素作用受体及靶器官是什么? 在人体作用的研究以及临床研究中都存在不少争议, 尚需进一步探究。

胰岛素增敏剂噻唑烷二酮类(thiazolidinedione, TZDs)药物的机制时发现了一种由3T3-L1脂肪细胞特异分泌的富含半胱氨酸的蛋白质。由于该蛋白通过抑制胰岛素信号转导通路, 从而导致胰岛素抵抗, 故称之为抵抗素。

**1.2 抵抗素的结构** 2004年, Arnal等<sup>[2]</sup>使用X-射线晶体学方法解析了抵抗素的多聚体结构特性, 发现抵抗素是一种多肽类激素。啮齿类的抵抗素基因位于第8号染色体, 由114个氨基酸残基组成, 共有591个碱基对, 相对分子质量为11 kDa<sup>[3]</sup>; 人类的抵抗素基因位于第19号染色体, 由108个氨基酸残基组成, 共有476个碱基对, 相对分子质量为12.5 kDa<sup>[4]</sup>。啮齿类和人类编码抵抗素的基因组片段, 在氨基酸水平, 两种蛋白有59%的同源性, 在mRNA水平有64.4%的一致性<sup>[5]</sup>。抵抗素是以二硫键连接的同型二聚体, 其二聚作用由一单半胱氨酸残基完成, 其余的10个半胱氨酸残基可能参与分子内的二硫键连接, 形成高度保守的多肽结构<sup>[6]</sup>。

**1.3 抵抗素的分布** 人抵抗素在脂肪组织<sup>[1]</sup>、胎盘滋养层细胞<sup>[7]</sup>、肝脏<sup>[8]</sup>、胰岛细胞<sup>[9]</sup>、骨骼肌细胞<sup>[10]</sup>、外周血单核细胞和巨噬细胞、人急性白血病细胞、髓系细胞U937和HL60都有分布, 而以外周血单核细胞和巨噬细胞中的抵抗素表达比较丰富<sup>[11]</sup>。鼠类的抵抗素分布和人类不同, 由于目前对抵抗素的研究还限于动物和离体实验, 所以关于人抵抗素对胰岛素抵抗及肥胖的作用机制尚有争议。

**1.4 抵抗素的表达调控** 抵抗素的表达受多种因素的调控。甲状腺激素<sup>[12]</sup>、肾上腺素<sup>[13]</sup>、异丙肾上腺素<sup>[14]</sup>、瘦素、内皮素-1、禁食<sup>[4]</sup>、维生素A<sup>[15]</sup>等抑制抵抗素mRNA的表达, 而二甲双胍<sup>[16]</sup>、生长激素<sup>[17]</sup>、地塞米松<sup>[13]</sup>、睾酮<sup>[18]</sup>、脱氢异雄酮、神经肽Y<sup>[19]</sup>、白介素-1(interleukin-1, IL-1)、IL-6、脂多糖<sup>[20]</sup>、衰老等因素可以诱导其基因的表达。TZDs<sup>[1,21,22]</sup>、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )<sup>[13,14]</sup>和胰岛素<sup>[21,23]</sup>对抵抗素表达是诱导还是抑制的报道都有, 尚待进一步研究。

## 2 抵抗素与胰岛素抵抗

### 2.1 抵抗素诱导的糖代谢异常与胰岛素抵抗

**2.1.1 抵抗素诱导肝脏的胰岛素抵抗:** 抵抗素通过拮抗空腹状态胰岛素抑制肝糖输出的作用, 导致肝脏胰岛素抵抗。Rajala等<sup>[24]</sup>采用正葡钳技术, 给成年雄鼠颈动脉输注重组抵抗素, 结果可

以迅速诱导肝脏的胰岛素抵抗, 肝糖输出增加, 但不会引起外周组织的胰岛素抵抗。Muse等<sup>[25]</sup>予小鼠3 wk高脂饮食使其产生胰岛素抵抗, 发现其肝糖产生(glucose production, GP)比正常组增高了2倍。用针对抵抗素mRNA的特异性反义寡核苷酸(antisense oligodeoxynucleotide, ASO)处理1 wk使抵抗素降至正常组水平后, GP也降至正常组水平。然后急性输注重组抵抗素蛋白, 则GP再次升高。认为抵抗素可以导致肝糖产生增多, 从而引起肝脏IR。Rangwala等<sup>[26]</sup>在转基因小鼠的实验中也得出了类似的结论。

但其具体机制还不是特别清楚, 目前认为可能的机制如下: 抵抗素过表达抑制肝脏AMPK活性, 肝糖原输出增加, 从而导致胰岛素抵抗。Satoh等<sup>[27]</sup>给雄鼠静脉注射腺病毒编码的大鼠抵抗素, 使其体内抵抗素过表达, 发现肝脏葡萄糖输出减少, 在肌肉和脂肪组织中胰岛素受体底物(insulin receptor substrate, IRS)-1、IRS-2的磷酸化和蛋白激酶B(protein kinase B, PKB/Akt)的活化受损。重要的是在肝脏、骨骼肌、脂肪组织中AMPK的激活明显减少。在Banerjee等<sup>[28]</sup>的小鼠实验中, 通过5-氨基-4-咪唑甲酰胺核苷酸(5-amino-4-imidazole-carboxamide ribonucleotide, AICAR)激活AMPK和糖异生酶的减少而使肝糖生成减少, 从而降低血糖水平。另外, 由于磷酸烯醇丙酮酸羧激酶(phosphoenol-pyruvate carboxykinase, PEPCK)及葡萄糖-6-磷酸酶(G6Pase)可以抑制AMPK的激活, 所以Samuel等<sup>[29]</sup>在小鼠研究中用Foxo1减少PEPCK及G6Pase的表达后, AMPK的生成增加, 糖异生受到抑制, 血糖降低, 胰岛素抵抗改善。同样, 后来Viana等<sup>[30]</sup>在研究中用腺病毒介导的基因转移方法, 使显性负相(dominant negative, DN)小鼠和组成性激活突变基因(constitutively active, CA)小鼠AMPK $\alpha$ 1亚基和LacZ基因过表达, 结果DN小鼠比CA小鼠的肝脏AMPK活性高5倍, PEPCK的表达在DN小鼠和CA小鼠分别增加了131.54%和48.92%, 他们也同时研究了地塞米松处理的大鼠肝, 小鼠肝脏以及原代肝细胞, AMPK的表达也都增加了。Li等<sup>[31]</sup>的研究中抵抗素过表达也可升高小鼠G6Pase、PEPCK的表达以及胰岛素水平, 抑制AMPK的活化、降低肝糖原水平、葡萄糖耐量和胰岛素敏感性。

抵抗素高表达损害肝细胞胰岛素的正常信号转导通路, 导致胰岛素抵抗。Zhou等<sup>[32]</sup>研究抵抗素对人肝细胞影响的过程中, 从糖代谢的关

键基因和胰岛素信号通路分析表明, 抵抗素可以刺激G6Pase, 固醇调节元件结合蛋白1(sterol regulatory element-binding protein 1c, SREBP1c)和细胞因子信号转导抑制因子3(suppressor of cytokine signaling 3, SOCS-3)的表达, 抑制过氧化物酶体增殖蛋白激活性受体 $\gamma$ (peroxisome proliferator-activated receptor gamma, PPAR $\gamma$ )以及IRS-2, 而没有影响葡萄糖激酶(glucokinase, GK)活性和葡萄糖转运蛋白(glucose transporter, GLUT)-2的表达. 抵抗素可以刺激SOCS-3的表达, 表明它损害糖耐量可能是通过阻断胰岛素信号转导通路而实现的. Luo等<sup>[33]</sup>后来在人肝癌HepG2细胞的研究中也得出同样的结论, 并且发现抵抗素抑制胰岛素诱导的Akt磷酸化不依赖AMPK, 认为抵抗素诱导SOCS-3的表达和抑制Akt磷酸化而导致肝脏HepG2细胞的胰岛素抵抗的机制是非AMPK依赖性的.

**2.1.2 抵抗素诱导脂肪组织的胰岛素抵抗:** Stepan等<sup>[34]</sup>利用重组抵抗素处理3T3-L1脂肪细胞, 可明显抑制胰岛素刺激下脂肪细胞的葡萄糖摄取能力. 改用从抵抗素抗血清中纯化得到的抵抗素抗体IgG处理3T3-L1脂肪细胞, 结果在抗体的作用下, 胰岛素刺激下的葡萄糖的摄取显著高于基础状态下的摄取量. 说明抵抗素可以诱导脂肪组织的IR. 机制可能是抵抗素诱导SOCS-3抑制胰岛素信号通路. SOCS-3可以抑制胰岛素的传导, 抵抗素可以刺激脂肪细胞增加SOCS-3表达, 促进SOCS-3与胰岛素受体竞争性结合. Stepan等<sup>[35]</sup>后来的研究表明, 抵抗素对胰岛素的影响包括胰岛素受体及IRS-1的磷酸化水平降低, 磷脂酰肌醇-3-激酶(phosphatidylinositol-3-kinase, PI3K)的激活减弱, 磷脂酰肌醇三磷酸的生产减少和Akt的激活减少等, 从而导致脂肪细胞的胰岛素抵抗. 而且SOCS-3诱导胰岛素抵抗是独立的. SOCS-3的诱导作用可能是脂肪细胞中抵抗素对胰岛素信号传导抑制的主要机制.

**2.1.3 抵抗素诱导骨骼肌的胰岛素抵抗:** Satoh等<sup>[27]</sup>在其研究中发现: 在动物实验中, 抵抗素作用于骨骼肌细胞的胰岛素信号转导途径, 使AMPK激活减少、IRS-1和IRS-2磷酸化减少, Akt激活减少, 从而减少骨骼肌对葡萄糖的摄取. 在体外实验中, 抵抗素可使骨骼肌细胞葡萄糖摄取减少, 但是对其胰岛素信号转导及GLUT-4的膜转位没有影响. Fan等<sup>[36]</sup>发现抵抗素可以抑制小鼠骨骼肌的胰岛素信号传导, 减少胰岛素刺激的2-脱

氧葡萄糖摄取和GLUT-4的转位. 突触相关蛋白23(synaptosomal-associated protein 23, SNAP23)含量降低, GLUT-4和GLUT-1蛋白含量均无影响. SNAP23表达的下降可能因为给予抵抗素后骨骼肌对葡萄糖摄取的减少, 所以有可能参与了抵抗素诱导骨骼肌胰岛素抵抗的过程. Jørgensen等<sup>[37]</sup>用培养的小鼠趾长伸肌和比目鱼肌(extensor digitorum longus, EDL)研究低聚人抵抗素对胰岛素信号和骨骼肌葡萄糖代谢的影响, 结果表明抵抗素诱导的胰岛素刺激的葡萄糖摄取降低是不减少Akt激活和IRS-1的磷酸化或增加SOCS-3 mRNA的表达. 测量AS160/TBC1d4苏氨酸(642)在肌管磷酸化和GLUT-4易位, 抵抗素不损害TBC1d4磷酸化, 但没有减少胰岛素与AICAR刺激的GLUT-4膜易位. 结论认为抵抗素损害胰岛素刺激的葡萄糖摄取是通过降低血浆膜GLUT-4易位而不依赖AMPK和SOCS-3. 新的胰岛素信号研究表明<sup>[38]</sup>, 磷酸化的开始是通过胰岛素受体调节键GLUT-4转运蛋白实现的, 包括小GTP酶, 圈状复合物(tethering complexes)和囊泡融合组织(the vesicle fusion machinery). 这些蛋白质能通过胞内系统控制GLUT-4转运, 形成专门的GLUT-4囊泡和针对这些囊泡的胞吐作用.

**2.2 抵抗素引起脂代谢异常与胰岛素抵抗** Sato等<sup>[39]</sup>用表达抵抗素的腺病毒(admres)处理C57BL/6小鼠, admres处理的小鼠与对照组之间空腹血糖没有不同, 但admres处理小鼠的基础胰岛素浓度、总胆固醇、甘油三酯和低密度脂蛋白明显升高, 而高密度脂蛋白水平显著降低. 此外, 在体内的Triton WR-1339研究表明admres处理小鼠的极低密度脂蛋白产生增多. 低密度脂蛋白受体和载脂蛋白在肝脏的基因表达减少. 表明抵抗素表达诱导小鼠血脂异常, 而且在胰岛素抵抗状态下最常见. Liu等<sup>[40]</sup>通过给小鼠肌注表达猪抵抗素基因的重组真核表达载体pcDNA3.1-retn发现: pcDNA3.1-retn处理组与对照组相比血清抵抗素水平、血清葡萄糖、总胆固醇显著增加; 游离脂肪酸、高密度脂蛋白、脂肪酶的活性明显降低, 而低密度脂蛋白和甘油三酯水平两组之间没有差异. 数据表明, 小鼠抵抗素的高表达和脂代谢异常有关.

脂代谢紊乱可以导致胰岛素抵抗. 游离脂肪酸的增高直接影响胰岛素的合成和分泌, 而且可以影响胰岛素的信号转导, 抑制胰岛素与受体的结合, 减少靶组织细胞的胰岛素受体数量

#### ■ 相关报道

Liu等的研究提示: 抵抗素诱导大鼠肝细胞胰岛素抵抗的途径可能是通过抑制胰岛素信号传导的IRS磷酸化. Hegarty等研究表明抵抗素可抑制AMPK在肝脏和骨骼肌中的活性, 导致胰岛素抵抗. Yang等的研究发现抵抗素仅在蛋白质水平上影响糖代谢.



## ■创新盘点

目前对脂肪因子的研究比较多,而抵抗素是一种新发现的脂肪因子,和胰岛素抵抗密切相关。本文总结了近年来国内外对抵抗素的研究成果,并重点阐述了抵抗素诱导胰岛素抵抗的机制,具有有理论及实践意义。

从而抑制外周组织对葡萄糖的摄取和葡萄糖的有氧氧化,促进糖异生,引起胰岛素抵抗。高甘油三酯长期与葡萄糖竞争进入细胞内,阻碍葡萄糖的氧化和利用,并且可以产生过多的游离脂肪酸,干扰胰岛素在周围组织中与受体结合,使胰岛素生物效应降低从而导致胰岛素抵抗。

## 3 抵抗素与肥胖

最早在Steppan<sup>[1]</sup>研究中就提示抵抗素可能介导饮食性肥胖相关的胰岛素抵抗。Milan等<sup>[41]</sup>在研究中发现随着胖鼠体质量的减少,抵抗素的表达也明显降低,指出抵抗素和脂肪量密切相关。Asensio等<sup>[42]</sup>的研究发现,在C57BL/6J野生型小鼠高脂饲料喂养,抵抗素表达增加,并且和肥胖ob/ob小鼠抵抗素基因表达之间呈显著正相关。同样,Rajala等<sup>[43]</sup>的研究也发现,肥胖小鼠抵抗素mRNA表达受到抑制,循环抵抗素水平明显升高,并且和胰岛素、血糖、血脂呈正相关,在瘦素治疗抑制后抵抗素mRNA及蛋白表达水平、血糖、胰岛素并行减少。野生小鼠在禁食后抵抗素mRNA及蛋白表达水平、空腹血糖、胰岛素水平下降,在恢复喂食后这些指标又恢复到禁食前水平。这些说明抵抗素参与了肥胖的发病,抵抗素的变化受到营养的调节。后来Lee等<sup>[44]</sup>在研究中发现,小鼠血清抵抗素水平与体质量相关,与血清胰岛素、血糖水平无关。抵抗素mRNA的表达水平与三者皆无关。

关于人的研究中,McTernan等<sup>[45]</sup>证实在人类腹部皮下脂肪组织和大网膜脂肪有抵抗素mRNA表达,且远高于大腿部的脂肪组织,表明抵抗素的表达与中心性肥胖有关。在人群研究中,Norata等<sup>[46]</sup>通过对1090例的研究发现血浆抵抗素水平与甘油三酯、腰围、腰臀比、收缩压、apoAI/apoB比值高度正相关,而与高密度脂蛋白、ApoAI水平呈负相关。尤其在女性更显著。在Malo等<sup>[47]</sup>对1508例芬兰男性和年龄45-74岁女性的研究中发现,高抵抗素水平是代谢综合征的患病率的独立预测因子。抵抗素与腰围、体质量指数(body mass index, BMI)、总胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇,低密度脂蛋白胆固醇相关。Ortega等<sup>[48]</sup>研究712例随机选择的12-16岁儿童,发现抵抗素水平与脂肪量呈显著正相关,而与BMI无关。Bai等<sup>[49]</sup>研究发现单纯肥胖大学生血浆抵抗素和男学生BMI、腰臀围比(waist-to-hip ratio, WHR)相关,但和女性没有相关性。然而,Heilbronn等<sup>[50]</sup>的小样本研究发现

血清抵抗素与BMI、脂肪百分比、脂肪细胞大小不相关。认为抵抗素不太可能是人类肥胖和胰岛素抵抗之间的主要环节。Krohn等<sup>[51]</sup>研究认为抵抗素可能参与调节体质量,但在肥胖发病中抵抗素不参与诱导胰岛素抵抗。Reinehr等<sup>[52]</sup>对肥胖儿童的研究发现:胖瘦儿童的抵抗素水平没有差异。1年内抵抗素水平的变化与SDS-BMI(standard deviation score-body mass index, SDS-BMI)、身体脂肪百分比、WHR、胰岛素抵抗指数的变化无关。16例减肥后儿童抵抗素水平也无显著变化。数据不支持抵抗素与儿童的体质量状况有关。抵抗素与中心型肥胖的关系目前尚无定论。

## 4 结论

抵抗素通过不同途径诱导糖脂代谢的异常,从而在胰岛素抵抗以及肥胖的发病过程中充当着重要的角色。然而,关于抵抗素的研究虽然在啮齿类动物和离体实验取得了一定进展,但在人体的作用机制尚需更多的研究。在临床上,抵抗素与肥胖的关系研究的不同结果也需要进一步探究。虽然如此,对抵抗素研究的深入,必将为治疗胰岛素抵抗为中心的代谢综合征提供新的方法。

## 5 参考文献

- 1 Steppan CM, Bailey ST, Bhat S, Brown EJ, Banerjee RR, Wright CM, Patel HR, Ahima RS, Lazar MA. The hormone resistin links obesity to diabetes. *Nature* 2001; 409: 307-312 [PMID: 11201732 DOI: 10.1038/35053000]
- 2 Arnal JF, Dinh-Xuan AT, Pueyo M, Darblade B, Rami J. Endothelium-derived nitric oxide and vascular physiology and pathology. *Cell Mol Life Sci* 1999; 55: 1078-1087 [PMID: 10442089 DOI: 10.1126/science.1093466]
- 3 Juan CC, Kan LS, Huang CC, Chen SS, Ho LT, Au LC. Production and characterization of bioactive recombinant resistin from *Escherichia coli*. *J Biotechnol* 2003; 103: 113-117 [PMID: 12814870 DOI: 10.1016/S0168-1656(03)00099-3]
- 4 Kim KH, Lee K, Moon YS, Sul HS. A cysteine-rich adipose tissue-specific secretory factor inhibits adipocyte differentiation. *J Biol Chem* 2001; 276: 11252-11256 [PMID: 11278254 DOI: 10.1074/jbc.C100028200]
- 5 Ghosh S, Singh AK, Aruna B, Mukhopadhyay S, Ehtesham NZ. The genomic organization of mouse resistin reveals major differences from the human resistin: functional implications. *Gene* 2003; 305: 27-34 [PMID: 12594039 DOI: 10.1016/S0378-1119(02)01213-1]
- 6 Banerjee RR, Lazar MA. Dimerization of resistin and resistin-like molecules is determined by a single cysteine. *J Biol Chem* 2001; 276: 25970-25973

- [PMID: 11358969 DOI: 10.1074/jbc.M103109200]
- 7 Yura S, Sagawa N, Itoh H, Kakui K, Nuamah MA, Korita D, Takemura M, Fujii S. Resistin is expressed in the human placenta. *J Clin Endocrinol Metab* 2003; 88: 1394-1397 [PMID: 12629135 DOI: 10.1210/jc.2002-011926]
  - 8 Szalowska E, Elferink MG, Hoek A, Groothuis GM, Vonk RJ. Resistin is more abundant in liver than adipose tissue and is not up-regulated by lipopolysaccharide. *J Clin Endocrinol Metab* 2009; 94: 3051-3057 [PMID: 19454585 DOI: 10.1210/jc.2008-2787]
  - 9 Minn AH, Patterson NB, Pack S, Hoffmann SC, Gavrilova O, Vinson C, Harlan DM, Shalev A. Resistin is expressed in pancreatic islets. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 310: 641-645 [PMID: 14521959]
  - 10 Dietze D, Koenen M, Röhrig K, Horikoshi H, Hauner H, Eckel J. Impairment of insulin signaling in human skeletal muscle cells by co-culture with human adipocytes. *Diabetes* 2002; 51: 2369-2376 [PMID: 12145147]
  - 11 Fain JN. Release of interleukins and other inflammatory cytokines by human adipose tissue is enhanced in obesity and primarily due to the nonfat cells. *Vitam Horm* 2006; 74: 443-477 [PMID: 17027526 DOI: 10.1016/S0083-6729(06)74018-3]
  - 12 Nogueiras R, Gualillo O, Caminos JE, Casanueva FF, Diéguez C. Regulation of resistin by gonadal, thyroid hormone, and nutritional status. *Obes Res* 2003; 11: 408-414 [PMID: 12634438 DOI: 10.1038/oby.2003.55]
  - 13 Shojima N, Sakoda H, Ogihara T, Fujishiro M, Katagiri H, Anai M, Onishi Y, Ono H, Inukai K, Abe M, Fukushima Y, Kikuchi M, Oka Y, Asano T. Humoral regulation of resistin expression in 3T3-L1 and mouse adipose cells. *Diabetes* 2002; 51: 1737-1744 [PMID: 12031960]
  - 14 Fasshauer M, Klein J, Neumann S, Eszlinger M, Paschke R. Isoproterenol inhibits resistin gene expression through a G(S)-protein-coupled pathway in 3T3-L1 adipocytes. *FEBS Lett* 2001; 500: 60-63 [PMID: 11434927]
  - 15 Felipe F, Bonet ML, Ribot J, Palou A. Modulation of resistin expression by retinoic acid and vitamin A status. *Diabetes* 2004; 53: 882-889 [PMID: 15047602]
  - 16 Fujita H, Fujishima H, Morii T, Koshimura J, Narita T, Kakei M, Ito S. Effect of metformin on adipose tissue resistin expression in db/db mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 298: 345-349 [PMID: 12413946]
  - 17 Delhanty PJ, Mesotten D, McDougall F, Baxter RC. Growth hormone rapidly induces resistin gene expression in white adipose tissue of spontaneous dwarf (SDR) rats. *Endocrinology* 2002; 143: 2445-2448 [PMID: 12021211 DOI: 10.1210/endo.143.6.8947]
  - 18 Ling C, Kindblom J, Wennbo H, Billig H. Increased resistin expression in the adipose tissue of male prolactin transgenic mice and in male mice with elevated androgen levels. *FEBS Lett* 2001; 507: 147-150 [PMID: 11684088]
  - 19 Yuzuriha H, Inui A, Goto K, Asakawa A, Fujimiya M, Kasuga M. Intracerebroventricular administration of NPY stimulates resistin gene expression in mice. *Int J Mol Med* 2003; 11: 675-676 [PMID: 12684710]
  - 20 Kaser S, Kaser A, Sandhofer A, Ebenbichler CF, Tilg H, Patsch JR. Resistin messenger-RNA expression is increased by proinflammatory cytokines in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 309: 286-290 [PMID: 12951047]
  - 21 Way JM, Görgün CZ, Tong Q, Uysal KT, Brown KK, Harrington WW, Oliver WR, Willson TM, Klierer SA, Hotamisligil GS. Adipose tissue resistin expression is severely suppressed in obesity and stimulated by peroxisome proliferator-activated receptor gamma agonists. *J Biol Chem* 2001; 276: 25651-25653 [PMID: 11373275 DOI: 10.1074/jbc.C100189200]
  - 22 Viengchareun S, Zennaro MC, Pascual-Le Tallec L, Lombes M. Brown adipocytes are novel sites of expression and regulation of adiponectin and resistin. *FEBS Lett* 2002; 532: 345-350 [PMID: 12482590]
  - 23 Kawashima J, Tsuruzoe K, Motoshima H, Shirakami A, Sakai K, Hirashima Y, Toyonaga T, Araki E. Insulin down-regulates resistin mRNA through the synthesis of protein(s) that could accelerate the degradation of resistin mRNA in 3T3-L1 adipocytes. *Diabetologia* 2003; 46: 231-240 [PMID: 12627322 DOI: 10.1007/s00125-002-1022-3]
  - 24 Rajala MW, Obici S, Scherer PE, Rossetti L. Adipose-derived resistin and gut-derived resistin-like molecule-beta selectively impair insulin action on glucose production. *J Clin Invest* 2003; 111: 225-230 [PMID: 12531878 DOI: 10.1172/JCI16521]
  - 25 Muse ED, Obici S, Bhanot S, Monia BP, McKay RA, Rajala MW, Scherer PE, Rossetti L. Role of resistin in diet-induced hepatic insulin resistance. *J Clin Invest* 2004; 114: 232-239 [PMID: 15254590 DOI: 10.1172/JCI21270]
  - 26 Rangwala SM, Rich AS, Rhoades B, Shapiro JS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. Abnormal glucose homeostasis due to chronic hyperresistinemia. *Diabetes* 2004; 53: 1937-1941 [PMID: 15189975 DOI: 10.2337.04.db04-0422]
  - 27 Satoh H, Nguyen MT, Miles PD, Imamura T, Usui I, Olefsky JM. Adenovirus-mediated chronic "hyperresistinemia" leads to in vivo insulin resistance in normal rats. *J Clin Invest* 2004; 114: 224-231 [PMID: 15254589 DOI: 10.1172/JCI20785]
  - 28 Banerjee RR, Rangwala SM, Shapiro JS, Rich AS, Rhoades B, Qi Y, Wang J, Rajala MW, Poci A, Scherer PE, Steppan CM, Ahima RS, Obici S, Rossetti L, Lazar MA. Regulation of fasted blood glucose by resistin. *Science* 2004; 303: 1195-1198 [PMID: 14976316 DOI: 10.1126/science.1092341]
  - 29 Samuel VT, Choi CS, Phillips TG, Romanelli AJ, Geisler JG, Bhanot S, McKay R, Monia B, Shutter JR, Lindberg RA, Shulman GI, Veniant MM. Targeting foxo1 in mice using antisense oligonucleotide improves hepatic and peripheral insulin action. *Diabetes* 2006; 55: 2042-2050 [PMID: 16804074 DOI: 10.2337/db05-0705]
  - 30 Viana AY, Sakoda H, Anai M, Fujishiro M, Ono H, Kushiya A, Fukushima Y, Sato Y, Oshida Y, Uchijima Y, Kurihara H, Asano T. Role of hepatic AMPK activation in glucose metabolism and dexamethasone-induced regulation of AMPK expression. *Diabetes Res Clin Pract* 2006; 73: 135-142 [PMID: 16503364 DOI: 10.1016/j.diabres.2005.12.011]
  - 31 Li FP, He J, Li ZZ, Luo ZF, Yan L, Li Y. Effects of resistin expression on glucose metabolism and hepatic insulin resistance. *Endocrine* 2009; 35: 243-251 [PMID: 19184634 DOI: 10.1007/s12020-009-9148-4]
  - 32 Zhou L, Li Y, Xia T, Feng S, Chen X, Yang Z. Resistin overexpression impaired glucose tolerance

## ■应用要点

研究抵抗素对临床诊断及治疗胰岛素抵抗为中心的疾病有重要的意义。

## ■同行评价

本文从抵抗素的侧面综述了其胰岛素抵抗及肥胖的关系。立题重要, 理据合理, 有实际意义。

- 33 Luo Z, Zhang Y, Li F, He J, Ding H, Yan L, Cheng H. Resistin induces insulin resistance by both AMPK-dependent and AMPK-independent mechanisms in HepG2 cells. *Endocrine* 2009; 36: 60-69 [PMID: 19440859 DOI: 10.1007/s12020-009-9198-7]
- 34 Steppan CM, Brown EJ, Wright CM, Bhat S, Banerjee RR, Dai CY, Enders GH, Silberg DG, Wen X, Wu GD, Lazar MA. A family of tissue-specific resistin-like molecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98: 502-506 [PMID: 11209052 DOI: 10.1073/pnas.98.2.502]
- 35 Steppan CM, Wang J, Whiteman EL, Birnbaum MJ, Lazar MA. Activation of SOCS-3 by resistin. *Mol Cell Biol* 2005; 25: 1569-1575 [PMID: 15684405 DOI: 10.1128/MCB.25.4.1569-1575.2005]
- 36 Fan HQ, Gu N, Liu F, Fei L, Pan XQ, Guo M, Chen RH, Guo XR. Prolonged exposure to resistin inhibits glucose uptake in rat skeletal muscles. *Acta Pharmacol Sin* 2007; 28: 410-416 [PMID: 17303005 DOI: 10.1111/j.1745-7254.2007.00523.x]
- 37 Jørgensen SB, Honeyman J, Oakhill JS, Fazakerley D, Stöckli J, Kemp BE, Steinberg GR. Oligomeric resistin impairs insulin and AICAR-stimulated glucose uptake in mouse skeletal muscle by inhibiting GLUT4 translocation. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2009; 297: E57-E66 [PMID: 19435854 DOI: 10.1152/ajpendo.90744.2008]
- 38 Leto D, Saltiel AR. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2012; 13: 383-396 [PMID: 22617471 DOI: 10.1038/nrm3351]
- 39 Sato N, Kobayashi K, Inoguchi T, Sonoda N, Imamura M, Sekiguchi N, Nakashima N, Nawata H. Adenovirus-mediated high expression of resistin causes dyslipidemia in mice. *Endocrinology* 2005; 146: 273-279 [PMID: 15471967 DOI: 10.1210/en.2004-0985]
- 40 Liu Y, Wang Q, Pan YB, Gao ZJ, Liu YF, Chen SH. Effects of over-expressing resistin on glucose and lipid metabolism in mice. *J Zhejiang Univ Sci B* 2008; 9: 44-50 [PMID: 18196612 DOI: 10.1631/jzus.B071479]
- 41 Milan G, Granzotto M, Scarda A, Calcagno A, Paganò C, Federspil G, Vettor R. Resistin and adiponectin expression in visceral fat of obese rats: effect of weight loss. *Obes Res* 2002; 10: 1095-1103 [PMID: 12429872 DOI: 10.1038/oby.2002.149]
- 42 Asensio C, Cettour-Rose P, Theander-Carrillo C, Rohner-Jeanrenaud F, Muzzin P. Changes in glycemia by leptin administration or high-fat feeding in rodent models of obesity/type 2 diabetes suggest a link between resistin expression and control of glucose homeostasis. *Endocrinology* 2004; 145: 2206-2213 [PMID: 14962997 DOI: 10.1210/en.2003-1679]
- 43 Rajala MW, Qi Y, Patel HR. Regulation of resistin expression and circulating levels in obesity, diabetes, and fasting. *Diabetes* 2004; 53: 1671-1679 [PMID: 15220189 DOI: 10.2337/diabetes.53.7.1671]
- 44 Lee JH, Bullen JW, Stoyneva VL, Mantzoros CS. Circulating resistin in lean, obese, and insulin-resistant mouse models: lack of association with insulinemia and glycemia. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: E625-E632 [PMID: 15522996 DOI: 10.1152/ajpendo.00184.2004]
- 45 McTernan CL, McTernan PG, Harte AL, Levick PL, Barnett AH, Kumar S. Resistin, central obesity, and type 2 diabetes. *Lancet* 2002; 359: 46-47 [PMID: 11809189 DOI: 10.1016/S0140-6736(02)07281-1]
- 46 Norata GD, Ongari M, Garlaschelli K, Raselli S, Grigore L, Catapano AL. Plasma resistin levels correlate with determinants of the metabolic syndrome. *Eur J Endocrinol* 2007; 156: 279-284 [PMID: 17287419 DOI: 10.1530/eje]
- 47 Malo E, Ukkola O, Jokela M, Moilanen L, Kähönen M, Nieminen MS, Salomaa V, Jula A, Kesäniemi YA. Resistin is an indicator of the metabolic syndrome according to five different definitions in the Finnish Health 2000 survey. *Metab Syndr Relat Disord* 2011; 9: 203-210 [PMID: 21332410 DOI: 10.1089/met.2010.0106]
- 48 Ortega L, Riestra P, Navarro P, Gavela-Pérez T, Soriano-Guillén L, Garcés C. Resistin levels are related to fat mass, but not to body mass index in children. *Peptides* 2013; 49: 49-52 [PMID: 24012666 DOI: 10.1016/j.peptides.2013.08.019]
- 49 Bai Y, Zhang J, Jiang S, Sun J, Zheng C, Wang K, Qian J, Nie L. [Effects of the body fat mass and blood sugar and plasma resistin to slim exercise prescription for overweight and obesity students]. *Weisheng Yanjiu* 2013; 42: 538-542, 549 [PMID: 24024360]
- 50 Heilbronn LK, Rood J, Janderova L, Albu JB, Kelley DE, Ravussin E, Smith SR. Relationship between serum resistin concentrations and insulin resistance in nonobese, obese, and obese diabetic subjects. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; 89: 1844-1848 [PMID: 15070954 DOI: 10.1210/jc.2003-031410]
- 51 Krohn K, Boczan C, Bauer CP. Resistin decreases after weight loss in obese children: PN1-08. *Pediatric Gastroenterology and Nutrition* 2005; 40: 689 [DOI: 10.1097/00005176-200505000-00223]
- 52 Reinehr T, Roth CL, Menke T, Andler W. Resistin concentrations before and after weight loss in obese children. *Int J Obes (Lond)* 2006; 30: 297-301 [PMID: 16189500 DOI: 10.1038/sj.ijo.0803116]

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 解毒化痰健脾方对胃黏膜异型增生模型大鼠*p16*、*PTEN*基因的去甲基化和蛋白诱导表达

李志钢, 张伟, 邱作成, 夏宽宏, 纪勇, 李玲, 连军, 安娟

李志钢, 邱作成, 新疆维吾尔自治区中医医院专家门诊 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

张伟, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

夏宽宏, 新疆维吾尔自治区中医医院病理科 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

纪勇, 李玲, 连军, 安娟, 新疆医科大学动物实验中心 新疆维吾尔自治区乌鲁木齐市 830000

李志钢, 博士后, 副主任医师, 硕士生导师, 主要从事消化病的基础与临床研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 81060288

作者贡献分布: 本课题由李志钢与张伟共同设计; 研究过程由李志钢、张伟、邱作成、连军及安娟共同完成; 病理分析由夏宽宏完成; 数据分析由纪勇与李玲共同完成; 写作由李志钢完成; 纪勇与李玲进行修改。

通讯作者: 张伟, 主管护理师, 830000, 乌鲁木齐市黄河路116号, 新疆维吾尔自治区中医医院耳鼻喉科。

doctorzhangwei@163.com

电话: 0991-5857265

收稿日期: 2013-12-13 修回日期: 2014-01-23

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-28

## Jiedu Huayu Jianpi Fang induces demethylation and increased expression of *p16* and *PTEN* genes in gastric dysplasia in rats

Zhi-Gang Li, Wei Zhang, Zuo-Cheng Qiu, Kuan-Hong Xia, Yong Ji, Ling Li, Jun Lian, Juan An

Zhi-Gang Li, Zuo-Cheng Qiu, Department of Expert Outpatient Service, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Wei Zhang, Department of ENT, Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Kuan-Hong Xia, Department of Pathology, Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Yong Ji, Ling Li, Jun Lian, Juan An, the Animal Experimental Center of Xinjiang Medical University, Xinjiang Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81060288

Correspondence to: Wei Zhang, Competent Care Division, Department of ENT, the Xinjiang Uygur Autonomous Region Hospital of Traditional Chinese Medicine, 116 Huanghe Road, Urumqi 830000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. doctorzhangwei@163.com

Received: 2013-12-13 Revised: 2014-01-23

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To observe the effect of Jiedu Huayu Jianpi Fang (JHJF) on the methylation status and expression of cyclin-dependent kinase inhibitor 2A (*p16*) and phosphatase and tensin homolog (*PTEN*) in rats with gastric dysplasia (GD), and to explore the therapeutic effect of JHJF on GD.

**METHODS:** A low concentration of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG)-based modeling method was adopted to induce GMD, and model rats were randomly divided into a model control group, a retinoic acid treatment group, and a JHJF treatment group. Normal rats treated with JHJF were used as positive controls. Methylation specific PCR was used to detect the methylation status of *p16* and *PTEN* genes in gastric mucosal cells, and real-time PCR, Western blot and immunohistochemistry were used to detect the mRNA and protein expression of *p16* and *PTEN*.

**RESULTS:** The rates of *p16* and *PTEN* gene methylation in the model control group were both 33.33% (6/18), higher than those in the normal control group 20% (2/10), but the differences were not significant. In the JHJF treatment group, the rates of *p16* and *PTEN* gene methylation were both 0% (0/15), significantly lower than those in the model control group (33.33%, 6/18). The expression levels of *p16* and *PTEN* mRNAs ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.05$ ) and proteins ( $P < 0.01$  for both) were significantly higher in the JHJF treatment group than in the model control groups.

**CONCLUSION:** JHJF can induce demethylation and increase expression of the *p16* and *PTEN* genes in GD in rats. JHJF has a potential value for the treatment of GD.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Jiedu Huayu Jianpi; Gastric mucosal dysplasia; *p16*; *PTEN*; Methylation

## ■背景资料

肠化生与胃黏膜异型增生属胃癌前病变阶段, 如何有效阻断胃癌前病变向胃癌的转变成为目前防治胃癌的研究关键。

## ■同行评议者

唐世刚, 教授, 湖南省人民医院

## ■ 研发前沿

DNA甲基化与胃癌的发生发展密切相关。*p16*和*PTEN*是机体重要的抑癌基因。基因甲基化状态可因外界因素干预发生逆转,选择有效的药物干预,抑制抑癌基因的甲基化程度,对于抑制胃癌前病变向胃癌发展的进程具有重要意义。

Li ZG, Zhang W, Qiu ZC, Xia KH, Ji Y, Li L, Lian J, An J. Jiedu Huayu Jianpi Fang induces demethylation and increased expression of *P16* and *PTEN* genes in gastric dysplasia in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1247-1255 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1247>

## 摘要

**目的:** 观察解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生模型大鼠细胞周期蛋白依赖性激酶抑制剂2A(cyclin-dependent kinase inhibitor 2A, *p16*)、磷酸酶张力蛋白同源蛋白(phosphatase and tensin homolog, *PTEN*)基因甲基化状态和蛋白表达的影响,并探讨解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生的治疗作用。

**方法:** 采用低浓度N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)的综合造模方法,创建实验性大鼠胃黏膜异型增生病变模型;分模型对照组、西药维甲酸治疗组、解毒化瘀健脾方治疗组,并选择正常大鼠作为阳性对照组进行干预;应用甲基化特异PCR技术检测大鼠胃黏膜*p16*、*PTEN*基因甲基化状态;Real-time PCR、Western blot、免疫组织化学技术检测*p16*、*PTEN*在mRNA和蛋白表达水平的变化。

**结果:** 模型组胃黏膜异型增生细胞*p16*、*PTEN*基因的甲基化阳性检出率均为33.33%(6/18),均高于正常对照组20%(2/10),但差异不显著;解毒化瘀健脾方治疗组*p16*基因甲基化检出率均未0%(0/15),相比模型组20%(2/10)甲基化程度降低,但差异均无统计学意义;*p16*在mRNA( $P<0.001$ )和蛋白( $P<0.01$ )水平的表达相比模型组极显著升高;*PTEN*在mRNA( $P<0.05$ )和蛋白( $P<0.01$ )水平的表达相比模型组极显著升高。

**结论:** 解毒化瘀健脾方对异型增生胃黏膜细胞*p16*、*PTEN*基因具有一定的去甲基化作用,并显著诱导二者的表达量增加。解毒化瘀健脾方的对胃黏膜异型增生具有潜在的治疗作用。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词** 解毒化瘀健脾;胃黏膜异型增生;*p16*基因;*PTEN*基因;甲基化

**核心提示:** 解毒化瘀健脾中药可通过对抑癌基因*p16*、*PTEN*一定的去甲基化作用及诱导二者mRNA和蛋白水平表达量增加,实现对胃黏膜异型增生的治疗作用。

李志钢, 张伟, 邱作成, 夏宽宏, 纪勇, 李玲, 连军, 安娟. 解毒化瘀健脾方对胃黏膜异型增生模型大鼠*p16*、*PTEN*基因的去甲基化和蛋白诱导表达. *世界华人消化杂志* 2014; 22(9): 1247-1255 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1247.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1247>

## 0 引言

胃癌居全球癌症病死率第2位<sup>[1]</sup>,居我国恶性肿瘤死亡率首位<sup>[2,3]</sup>,严重威胁人类健康。一般认为胃癌的发生常在癌变之前经历多个步骤的演变。Correa等<sup>[4]</sup>在1988年提出目前较为认可的胃癌进展模式:正常胃黏膜-慢性浅表性胃炎-慢性萎缩性胃炎-小肠型肠上皮化生-大肠型肠上皮化生-异型增生(中重度)-胃癌(肠型)。其中肠上皮化生和异型增生又称为胃癌前病变(precancerous lesions of gastric cancer, PLGC),其中重度异型增生的患者发展为胃癌的几率高达60%-80%<sup>[5-7]</sup>。如何有效阻断异型增生向胃癌的转变成为目前防治胃癌的研究关键。而研究表明,胃癌的发生涉及遗传学与表观遗传学两大机制的共同作用,其中表观遗传学机制的DNA甲基化在胃癌发生进展中具有重要的作用<sup>[8,9]</sup>。研究证实DNA甲基化是使抑癌基因失活的除基因突变和缺失之外的第3种机制<sup>[10]</sup>,*p16*和*PTEN*基因是机体重要的抑癌基因。*p16*可抑制周期蛋白依赖性激酶CDK4/6的活性使细胞周期停滞于G<sub>1</sub>/S期,对细胞周期起负控的作用<sup>[11]</sup>;目前研究证实胃癌中*p16*基因启动子区甲基化可导致表达缺失,引起肿瘤的发生<sup>[12,13]</sup>。*PTEN*基因DNA甲基化导致其基因失活与胃癌的关系,目前仍存在一定的争议。因此,本实验拟通过检测中药解毒化瘀健脾方干预异型增生的胃黏膜细胞中*p16*、*PTEN*的甲基化状态,以及二者的蛋白表达变化,旨在探讨该中药方对于胃黏膜异型增生的治疗作用,为临床预防治疗胃癌前病变提供参考资料。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** SPF级健康♂SD大鼠[SCXK(新)2011-00-04]260只,体质量100 g±10 g(体质量<120 g),均购自新疆医科大学实验动物中心。DNeasy Blood and Tissue Kit(69581, Lot: 143374302)与EpiTect Fast Bisulfite Conversion Kits(59104, Lot: 142347785)均购自德国Qiagen公司;Robust HotStart DNA Polymerase购自美国KAPA Biosystems公司;96孔PCR板及封板膜(PCR-96M2-HS-C)购自美国AXYGEN公司;Rever-

tAid First Strand cDNA Synthesis Kit(K1622, Lot#E00143469)购自美国Thermo公司; SYBR Select Master Mix(4472919, Lot#1210006)购自美国ABI公司; 小鼠抗P16单克隆抗体(sc1661, Lot#B0612)购自美国Santa Cruz公司; 兔抗PTEN多克隆抗体(ab31392, Lot#GR51025-1)购自美国ABCAM公司; 兔抗小鼠HPR标记二抗(31431, Lot#90091028)购自美国Thermo scientific; 免疫组织化学染色试剂盒(KIT9902, Lot#1301319902), 浓缩型DAB试剂盒(DAB0031, Lot#1307290031)购自福州迈新生物公司; 抗体稀释液(ABD0030, Lot#13147A01)购自北京中杉金桥生物技术公司; 0.45  $\mu$ m PVDF膜(IPVH0010, Lot#K9NN010313)购自美国Millipore公司; BCA蛋白定量试剂盒(Sk3021, Lot#L1101), RIPA裂解液(PL006, Lot#20130626)购自上海生工公司。

解毒化痰健脾方全方制备药液3 mL/kg(含生药9 g/kg); 维甲酸(货号: 20090506 河北环海药业)使用当日碾成粉末状, 配制成10 mL/kg(4 mg/mL)悬浊液; N-甲基-N'-硝基-N-亚硝基胍(N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine, MNNG)(货号: M0527日本TCI东京化成工业)用去离子水配制成1 g/L的母液, 存放于4  $^{\circ}$ C冰箱备用, 使用当日用SPF级动物饮用水稀释成120  $\mu$ g/mL的溶液, 整个过程均需避光操作保存; 盐酸雷尼替丁胶囊(2011杭州赛诺菲安万特制药)制成0.04%雷尼替丁的颗粒状SPF级大鼠饲料。

## 1.2 方法

1.2.1 胃黏膜异型增生动物模型建立: 根据朱萱萱等<sup>[14]</sup>采用低浓度MNNG的综合法综合造模方法, 创建实验性大鼠胃黏膜异型增生病变模型。具体方法如下: 动物分笼饲养, 每日自由饮用167  $\mu$ g/L MNNG溶液, 期间不再给予其他饮水; 同时下午灌胃0.017 mol/L浓度的MNNG溶液, 每只每天灌液1 mL; 给其食用含0.04%雷尼替丁的标准粉末状饲料, 同时每只大鼠每3天给予1 mL 40 mL/L乙醇灌胃1次, 造模期间每进食2 d, 再禁食1 d; 每24 h更换1次饮用水和饲料, 连续9 wk, 9 wk末时随机检杀造模大鼠8只, 通过光镜下观察确认造模成功, 大鼠胃黏膜萎缩, 异型增生。

1.2.2 分组及给药: 分组: SPF级 $\delta$  SD大鼠260只, 随机选择10只作为正常对照组(control group CG), 其余大鼠全部进行9 wk造模。经造模后存活的SD大鼠131只, 造模死亡率为47.6%。8 wk末时随机检杀造模大鼠8只, 检测造模是否成功后。

将剩余的123只大鼠随机分为8组: 模型组(model group MG)18只、维甲酸治疗组(PCG)15只、中药解毒化痰健脾治疗组(A)15只、五组中药拆方治疗组各15只(结果本文中暂未作介绍), 进行药物干预治疗。给药: 正常对照组和模型对照组灌服生理盐水10 mL/kg, 1次/d; 维甲酸对照组灌服维甲酸悬浊液10 mL/kg(4 mg/mL), 1次/d; 解毒化痰健脾方组用制备药液灌胃, 1次/d, 每次灌液2 mL; 共治疗6 wk, 药物剂量的换算按照人和动物体表面积折算。所有大鼠于实验第15 wk末处死。

1.2.3 取材: 断颈法处死大鼠, 剪取完整的胃黏膜腺区, 随机分为两份: 一半新鲜胃组织样品置于40 g/L甲醛溶液中固定, 常温保存, 待后续免疫组织化学试验用; 剩余样品置于液氮中, 用于蛋白、DNA、RNA提取。

1.2.4 甲基化特异PCR法(methylation specific PCR, MSP)法检测胃黏膜细胞中*p16*、*PTEN*基因的甲基化状态: 将液氮中保存的组织样品, 参照天根公司动物组织基因组提取试剂盒说明书提取细胞DNA; Nanodrop 2000核酸定量仪检测DNA浓度和纯度, 琼脂糖凝胶电泳检测DNA完整性; 用EpiTect Fast Bisulfite Conversion Kits试剂盒对DNA进行亚硫酸盐修饰, 纯化。甲基化特异PCR反应体系50  $\mu$ L, 包括样品DNA 1  $\mu$ L, 10 $\times$ PCR buffer 5  $\mu$ L, MgCl<sub>2</sub> 4  $\mu$ L, 引物各0.75  $\mu$ L, dNTP 1  $\mu$ L, Taq酶0.3  $\mu$ L, 双蒸水37.2  $\mu$ L。反应条件: 95  $^{\circ}$ C预变性3 min; 95  $^{\circ}$ C 30 s, 51  $^{\circ}$ C 30 s, 72  $^{\circ}$ C 1 min, 40个循环; 72  $^{\circ}$ C延伸7 min。*p16*甲基化(M)引物: F: 5'-TGTTTGTTGAGGATAAGGATTATTC-3', R: 5'-AAAAAAAACACAAAAAAATCACGAC-3', 扩增产物147 bp; *p16*非甲基化(U)引物: F: 5'-GTTTGTTGAGGATAAGGATTATTTG-3', R: 5'-AAAAAAAACACAAAAAAATCACAAC-3', 扩增产物147 bp; *PTEN*甲基化(M)引物: F: 5'-TTTTTGAGTAGTTTTCGAAAGAGAC-3', R: 5'-CCAACCCTAACAATAATAACAAACG-3', 扩增产物167 bp; *PTEN*非甲基化(U)引物: F: 5'-TTTTTGAGTAGTTTTCGAAAGAGATG-3', R: 5'-AACCCTAACAATAATAACAAACAAC-3', 扩增产物126 bp; PCR产物经琼脂糖凝胶电泳, EB染色, 激光密度扫描仪(Pharmacia LKB Ultrascan)采集数据, 取同一基因的所有样本的平均值进行统计分析。

1.2.5 Real-time PCR法检测*p16*、*PTEN*基因mRNA

## ■ 相关报道

Shim等证实胃癌中*p16*基因启动子区异常甲基化是使其失活的主要机制; 范尧夫等研究认为*p16*蛋白异常表达对胃癌的发生发展、恶变程度密切相关。刘芬、kang等认为*PTEN*的甲基化与胃癌的发生及分化程度存在一定到各相关性, 但Sato的报道得出截然相反的结论。



## ■创新盘点

本研究采用MSP法检测解毒化癥健脾中药干预后抑癌基因*p16*和*PTEN*甲基化受抑制程度及二者的表达量变化,探索该中药治疗胃黏膜异型增生的可能机制。

表 1 造模对大鼠*p16*、*PTEN*甲基化程度的影响

基因	分组	甲基化		$\chi^2$	<i>P</i> 值	OR	95%CI	
		M	U				Down	Up
<i>p16</i>	MG组	6	12	1.023	0.312	2.500	0.410	15.230
	CG组	2	10					
<i>PTEN</i>	MG组	6	18	0.321	0.571	1.667	0.282	9.856
	CG组	2	10					

M: 使用甲基化引物扩增; U: 使用非甲基化引物扩增; MG: 模型组; CG: 正常对照组. 差异显著性以 $P < 0.05$ 表示。

的表达: 将液氮中冻存的组织样品在液氮中研磨成粉末, TRIzol法总RNA; 核酸定量仪及琼脂糖凝胶电泳检测RNA浓度及完整性; 逆转录酶和Oligo(dT)15引物合成cDNA. *p16*引物: F: 5'-TCGTGCGGTATTTGCGGTAT-3', R: 5'-TAGTCTCGCGTTGCCAGAAG-3', 扩增产物184 bp; *PTEN*引物: F: 5'-TACCAGGACCAGAGGAAACCT-3', R: 5'-GGGTGAGCACAAAGATACTCCT-3', 扩增产物120 bp; 以 $\beta$ -actin为外参, 引物: F: 5'-GTGGGGCGCCCCAGGCACCA-3', R: 5'-CTCCTTAATGTCACGCACGATTTC-3', 扩增长度为198 bp. 荧光定量PCR反应体系20  $\mu$ L, 包含样品cDNA 1  $\mu$ L, 上下游引物各0.4  $\mu$ L, SYBR Select Master Mix(2 $\times$ )10  $\mu$ L, RNase-free water 8.2  $\mu$ L. 在ABI 7500 fast荧光定量仪上设置以下反应条件: *p16* PCR反应条件为: 50  $^{\circ}$ C 2 min, 95  $^{\circ}$ C变性2 min, 95  $^{\circ}$ C 15 s, 72  $^{\circ}$ C, 共40个循环; *PTEN* PCR反应条件为: 50  $^{\circ}$ C 2 min, 95  $^{\circ}$ C变性2 min, 95  $^{\circ}$ C 15 s, 72  $^{\circ}$ C, 共40个循环。

1.2.6 免疫组织化学检测*p16*、*PTEN*蛋白的表达: 将制作好的石蜡切片60  $^{\circ}$ C烤片2 h使蜡熔化, 脱蜡2次, 经无水乙醇, 950、900、800、700 mL/L乙醇、蒸馏水完成水化; 抗原修复采用柠檬酸高温高压法; 加一抗前用H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>处理切片以灭活内源性过氧化物酶, 并用山羊血清封闭; 滴加稀释后的一抗50  $\mu$ L, 37  $^{\circ}$ C孵育2 h; PBS漂洗3次, 滴加约50  $\mu$ L二抗, 37  $^{\circ}$ C孵育30 min; DAB显色, 苏木素复染; 经700、800、900、950 mL/L乙醇、无水乙醇脱水, 二甲苯透明2次, 中性树脂胶封片. 100倍光学显微镜下选择*p16*、*PTEN*阳性表达部位采集照片。

1.2.7 Western blot法检测*p16*、*PTEN*蛋白表达情况: 称取100 mg冷冻的胃黏膜组织样品, 按与细胞裂解液1:3的比例加入300  $\mu$ L RIPA裂解

液, 提取总蛋白, BCA法进行蛋白定量. 取100  $\mu$ L总蛋白沸水浴加热变性3 min后, 取20  $\mu$ L上样, SDS-PAGE凝胶(分离胶: 10%, 积层胶: 5%)电泳; 蛋白电泳分离后移至0.45  $\mu$ m孔径的PVDF膜; 5%脱脂奶粉室温封闭1 h; PVDF膜置于10 mL稀释的一抗稀释液中, 4  $^{\circ}$ C过夜; 洗涤3次, 再置于10 mL碱性磷酸酶标记的二抗稀释液中, 37  $^{\circ}$ C孵育2 h; 显色, 以 $\beta$ -actin蛋白表达为参照, 用Chemiscope 3000成像, Image-proplus(Version 4.1)系统采集数据, 采用条带灰度密度值与相应的 $\beta$ -actin灰度密度值的比值作为指标进行结果分析. 实验重复3次。

统计学处理 所有实验结果均采用SPSS19.0统计软件进行数据分析, GraphPad Prism 5.0软件作图. 计数资料的比较采用秩和检验; 计量资料组间比较采用*t*检验; 所有数据均以3次独立实验结果mean $\pm$ SD表示,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 大鼠胃黏膜组织中*p16*、*PTEN*的甲基化情况 胃黏膜异型增生模型组大鼠与正常对照组*p16*基因甲基化阳性检出率分别为50%(6/12)与20%(2/10), 模型组*p16*甲基化程度高于正常组, 但差异不显著( $\chi^2 = 1.023$ ,  $P > 0.05$ ); *PTEN*基因甲基化阳性检出率分别为33.33%(6/18)与20%(2/10), 模型组*PTEN*甲基化程度高于正常组, 但差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.321$ ,  $P > 0.05$ )(表1). 图1分别为模型组*p16*与*PTEN*基因琼脂糖凝胶电泳检测结果. 维甲酸治疗组、中药治疗组均未检测到*p16*与*PTEN*基因甲基化(表2).

2.2 大鼠胃黏膜组织*p16*、*PTEN*基因mRNA的表达 胃黏膜异型增生模型组*p16*基因相比正常对照组呈现较低的表达; 西药维甲酸组该基因的

表 2 药物治疗对大鼠p16、PTEN去甲基化影响

基因	分组	甲基化		$\chi^2$	P值	OR	95%CI
		U	M				
p16	MG组	12	6	6.111	0.013	0.4	/
	PCG组	15	0				
	A组	15	0	6.111	0.013	/	/
PTEN	MG组	12	6	4.432	0.035	0.6	/
	PCG组	15	0				
	A组	15	0	4.432	0.035	/	/

M: 使用甲基化引物扩增; U: 使用非甲基化引物扩增; MG: 模型组; CG: 正常对照组。以OR<1为疾病保护性因素, 差异显著性以 $P<0.05$ 表示。

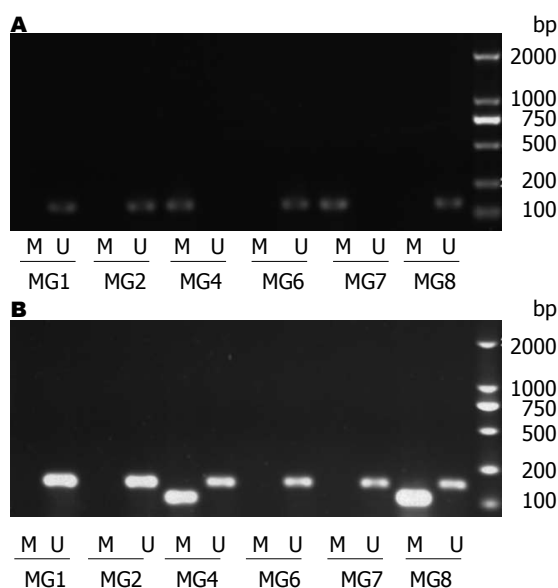


图 1 大鼠胃黏膜组织中p16、PTEN的甲基化检测。A: p16基因甲基化检测; B: PTEN基因甲基化检测。M: 使用甲基化引物扩增; U: 使用非甲基化引物扩增; MG: 模型组。

表达呈现增高趋势, 但无显著性差异; 中药治疗组该基因的表达量相比正常对照组和模型对照组均极显著被诱导增加( $P<0.001$ ), 增加倍数约是对照组及模型组基因表达量的1700倍(图2)。

胃黏膜异型增生模型组PTEN基因相比正常对照组呈现较低的表达(图2), 中药治疗组和西药维甲酸治疗组治疗干预后该基因的表达呈现回升趋势, 与正常对照组的表达量基本相同, 即中西药治疗干预后, 该基因的表达显著高于模型对照组( $P<0.05$ )。

**2.3 免疫组织化学及Western blot分析p16蛋白的表达** p16蛋白免疫组织化学结果为胞核、胞浆着色(图3A), 中西药药物处理组该蛋白表达阳性率均显著高于模型组; 胃黏膜异型增生模型

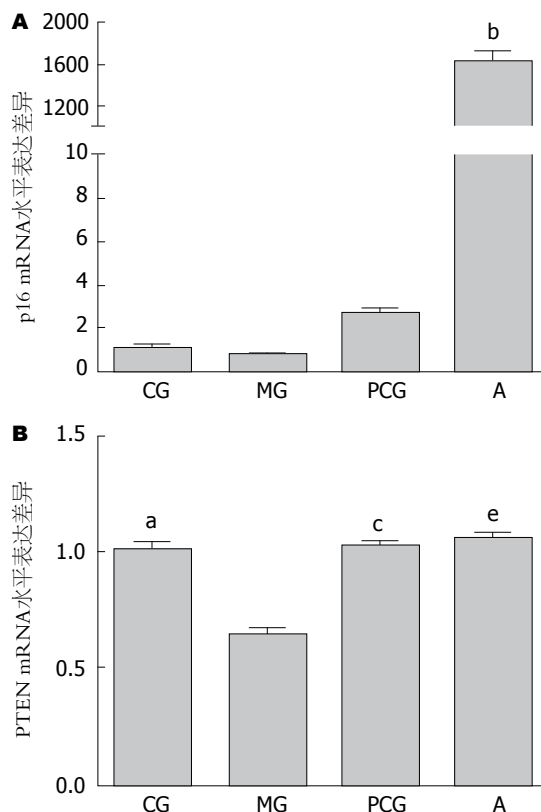


图 2 解毒化痰健脾方干预后大鼠胃黏膜组织中p16、PTEN mRNA水平表达差异。A: 各组p16基因表达差异。B: 各组PTEN基因表达差异。a:  $P<0.01$  vs 模型MG组; b:  $P<0.05$ , c:  $P<0.05$ , e:  $P<0.05$  vs 模型MG组。所有结果均以3次独立实验mean $\pm$ SD表示。MG: 模型组; PCG: 维甲酸治疗组; A: 中药解毒化痰健脾治疗组; CG: 正常对照组。

组p16蛋白相比正常对照组均呈现微量表达, 差异极显著( $P<0.01$ ); 且也极显著低于中药治疗组与西药维甲酸治疗组p16蛋白的表达量( $P<0.01$ ); 其中西药维甲酸组p16蛋白的表达量约为模型组的3.74倍, 中药组p16蛋白的表达量约为模型组的5.28倍(图3B, C)。

**2.4 免疫组织化学及Western blot分析PTEN蛋白的表达** PTEN蛋白免疫组织化学结果为胞浆着色(图4A), 与p16蛋白相同, 中西药药物处理组该蛋白表达阳性率均显著高于模型组( $P<0.01$ ); 胃黏膜异型增生模型组PTEN蛋白相比正常对照组均呈现微量表达; 其中西药维甲酸组PTEN蛋白的表达量约为模型组的8.65倍, 中药组p16蛋白的表达量约为模型组的5.54倍。与p16蛋白不同的是中西药药物处理PTEN蛋白的表达量也显著地高于正常对照组; 但中药处理组该蛋白的表达量显著低于西药维甲酸治疗组(图4B, C)。

### 3 讨论

肿瘤的发生涉及遗传学与表观遗传学的共同

**应用要点**  
探讨中药解毒化痰健脾方对胃黏膜异型增生抑制基因的甲基化及蛋白表达异常的干预作用, 为中药靶基因治疗胃癌前病变提供依据, 且有助于降低胃癌的发生率。

# 同行评价

该课题设计比较合理,研究方法可靠,结论可信,推论合理.文章用较经典的方法建立胃黏膜异型增生大鼠模型,观察证实中药解毒化痰健脾方干预对胃黏膜 $p16$ 、 $PTEN$ 基因具有一定的去甲基化作用,并可诱导二者在mRNA和蛋白水平表达量增加.提示解毒化痰健脾组方对胃黏膜异型增生具有潜在的治疗作用.

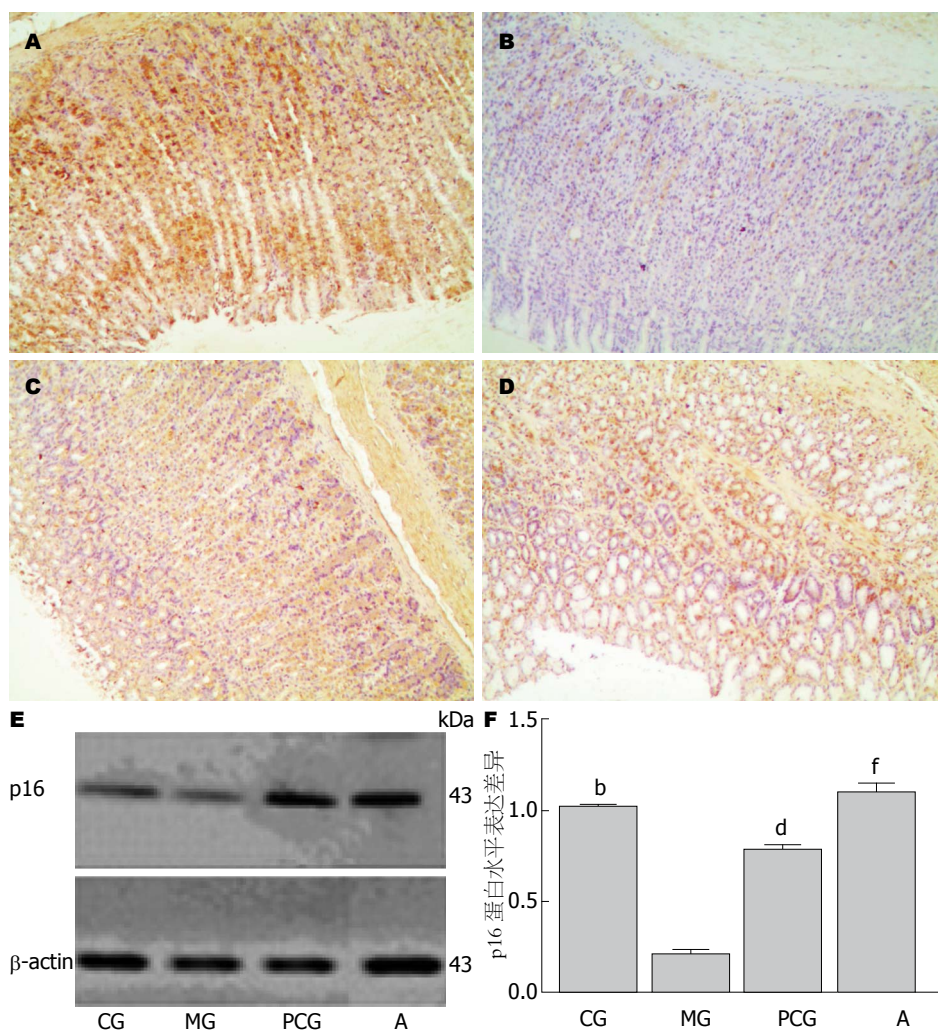


图3 免疫组织化学及Western blot检测解毒化痰健脾方干预对大鼠胃黏膜组织p16蛋白的表达影响. A: 正常对照(CG组)(SP × 100); B: 模型组(MG组)(SP × 100); C: 维甲酸(PCG组)(SP × 100); D: 中药解毒化痰健脾方(A组)(SP × 100); E: Western blot结果; F: p16相对表达量分析图. <sup>b</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$  vs 模型MG组. MG: 模型组; PCG: 维甲酸治疗组; A: 中药解毒化痰健脾治疗组; CG: 正常对照组.

作用,其中DNA甲基化是表观遗传学的重要内容,是对DNA的一种化学修饰,在维持染色体结构、胚胎发育、细胞分化及肿瘤发生等方面发挥重要的作用<sup>[15]</sup>. DNA高甲基化可能抑制基因的表达,相应的DNA低甲基化则可促进基因表达<sup>[16]</sup>. 抑癌基因由于5'端启动子调控区CpG岛异常高甲基化而抑制mRNA转录作用<sup>[17]</sup>,从而使抑癌基因沉默或低表达,在某些情况下可能是抑癌基因失活的唯一机制<sup>[10,18]</sup>. 胃癌的发展是一个多基因参与的多阶段过程,抑癌基因功能的缺失逐渐导致癌症的发生. 胃癌前病变是胃癌发生和发展过程中的一个重要阶段,该阶段的逆转消失是预防胃癌发生的有效措施<sup>[19]</sup>. 由于甲基化调节基因的表达过程是可逆且受环境因素的影响,因此可以通过药物干预使抑癌基因去甲基化,诱导抑癌基因蛋白的表达,以此来改变胃

癌前病变的进程. 目前去甲基化的诱导多用去甲基化制剂,利用中药实现对抑癌基因的去甲基化国内外鲜有报道,而传统中药在治疗胃癌前病变及胃癌方面发挥重要的作用,因此,本研究选择解毒化痰健脾方干预胃黏膜异型增生大鼠,检测 $p16$ 和 $PTEN$ 基因的甲基化状态和表达变化,通过传统中药对抑癌基因的甲基化状态和蛋白表达的影响为临床采用中药治疗影响胃癌病程提供参考依据.

$p16$ 是一个重要的多肿瘤抑制基因,通过与CDK4/6结合抑制后者的作用,从而是RB蛋白低磷酸化,调控G<sub>1</sub>/S期转变而抑制细胞增殖<sup>[20]</sup>,已证实胃癌中 $p16$ 基因启动子区异常甲基化是使其失活的主要机制<sup>[21]</sup>. 近期的研究表明 $p16$ 基因蛋白异常表达对胃癌的发生发展、恶变程度、淋巴结转移预后有密切关系<sup>[19]</sup>.  $p16$ 基因的启动



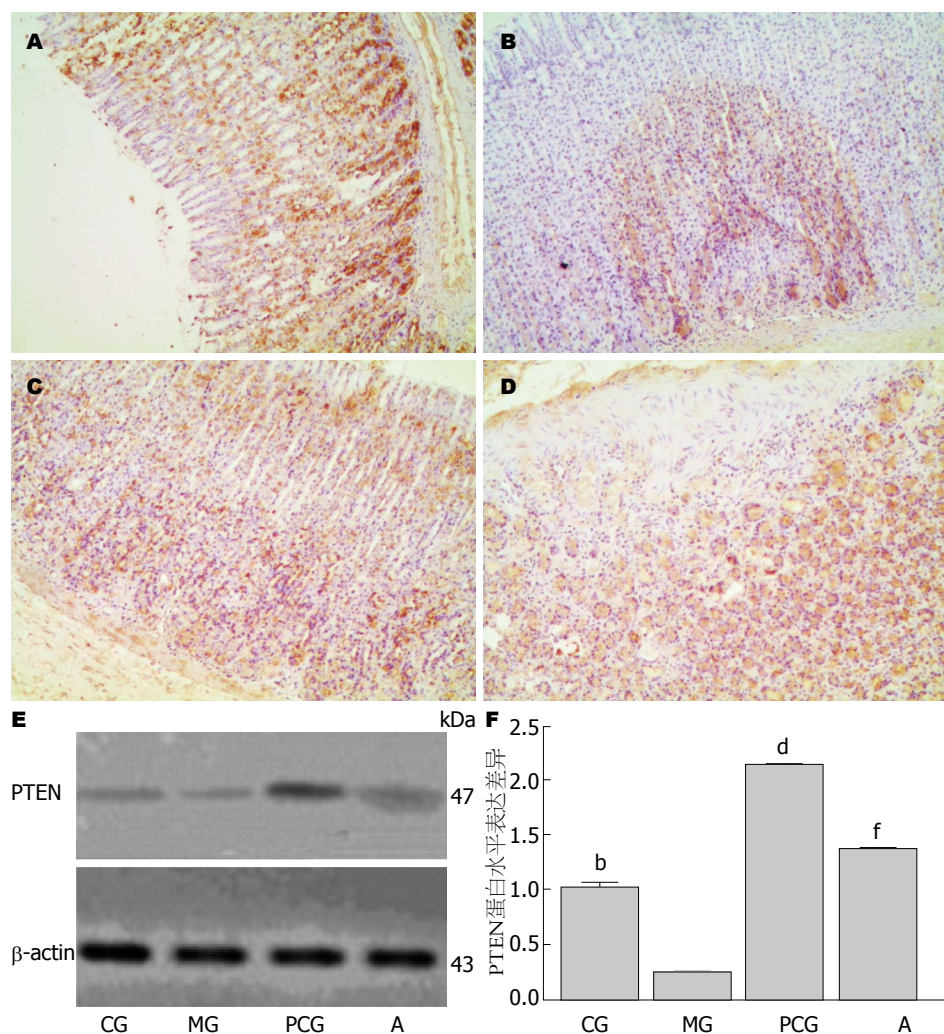


图 4 免疫组织化学及Western blot检测解毒化癥健脾方干预对大鼠胃黏膜组织PTEN蛋白的表达影响。A: 正常对照(CG组)(SP×100); B: 模型组(MG组)(SP×100); C: 维甲酸(PCG组)(SP×100); D: 中药解毒化癥健脾方(A组)(SP×100); E: Western blot结果; F: p16相对表达量分析图。<sup>b</sup> $P<0.01$ , <sup>d</sup> $P<0.01$ , <sup>f</sup> $P<0.01$  vs 模型MG组。MG: 模型组; PCG: 维甲酸治疗组; A: 中药解毒化癥健脾治疗组; CG: 正常对照组。

子区域甲基化后, 其表达被抑制, 使得p16蛋白依赖的人转化生长因子 $\beta$ 1生长抑制信号通路失去作用, 进而促进细胞分裂<sup>[21]</sup>。本实验的研究结果表明, 解毒化癥健脾中药组方和西药维甲酸能一定程度实现大鼠异型增生胃黏膜细胞的p16基因的去甲基化; 此外, 该基因在mRNA表达水平和蛋白表达水平的变化结果均表明中药组方和西药维甲酸治疗组显著诱导了p16的表达量增加, 且中药组方治疗组p16 mRNA和蛋白表达水平(免疫组织化学与Western blot)显著高于西药维甲酸治疗组。这说明中药解毒化癥健脾组方能使得异型增生的胃黏膜细胞p16基因一定程度去甲基化, 同时诱导p16蛋白的高表达, 从而使胃癌前病变的逆转成为可能。

自1997年PTEN基因首次被发现以来, 在遗传学方面的突变和缺失在多种肿瘤中多有报道, 表

观遗传学方面由PTEN基因DNA甲基化导致基因失活相继在前列腺癌及其他肿瘤中得到报道<sup>[23]</sup>。胃癌组织中PTEN甲基化检测的文献较少, 且结论存在争议, 部分报道认为PTEN的甲基化与胃癌的发生及分化程度存在一定到各相关性<sup>[23-25]</sup>, 但也有文献得出截然相反的结论<sup>[26]</sup>。关于药物使PTEN去甲基化的文献鲜有报道。本实验采用MSP法检测解毒化癥健脾中药组方治疗对PTEN基因甲基化的影响发现, 中药组方和西药维甲酸治疗组亦一定程度促进了PTEN基因的去甲基化。PTEN的表达结果也表明, 解毒化癥健脾组方同西药维甲酸均可以诱导PTEN基因在mRNA水平和蛋白表达水平的显著增加。与对p16基因的影响不同, 中药治疗组的诱导作用在mRNA和蛋白表达水平均未显现出优于西药维甲酸治疗组组的趋势, 但是相比模型对照组, 解毒化癥健脾中

药的干预的确诱导了PTEN在mRNA水平和蛋白表达水平的极显著的增加. 因此, 我们认为中药解毒化瘀健脾方对于异型增生的胃黏膜细胞PTEN基因具有一定的去甲基化和表达诱导作用. 因PTEN的甲基化与胃癌的相关性存在争议, 故本实验中药组方引起该基因的去甲基化是否对胃癌前病变的转归治疗具有参考价值, 仍需要进一步的实验探索得以确认. 但PTEN作为重要的抑癌基因, 本实验中药物诱导其蛋白表达量的增加仍提示我们解毒化瘀健脾中药组方对异型增生的胃黏膜组织有一定的保护和治疗作用.

实验提示我们解毒化瘀健脾中药可能通过影响p16、PTEN的甲基化状态和蛋白表达实现一定的胃黏膜异型增生治疗作用, 这为临床采用中药干预抑癌基因的甲基化状态和蛋白表达实现胃癌前病变的逆转, 防治胃癌的发生具有一定的参考价值.

此外, 模型组p16、PTEN的甲基化程度虽高于其他各组, 但无显著性差异; 以及正常对照组甲基化程度为20%, 高于两种中药治疗组(0%). 分析其原因, 可能是: 胃黏膜异型增生在胃内呈散发状态, 实验大鼠模型中检测取材针对整个胃窦部位的胃黏膜随机取样, 典型的异型增生的病变部位有遗漏检测或部分样品为非特征性明显的异型增生胃黏膜组织.

#### 4 参考文献

- 胡品津, 刘新光. 消化内科学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 34
- Jemal A, Siegel R, Xu J, Ward E. Cancer statistics, 2010. *CA Cancer J Clin* 2010; 60: 277-300 [PMID: 20610543 DOI: 10.3322/caac.20073]
- 李连弟, 张思维, 鲁凤珠, 牧人, 孙秀娣, 皇甫小梅, 孙杰, 周有尚, 夏毅, 戴旭东, 饶克勤, 陈育德, 孙爱明, 薛志福. 中国恶性肿瘤死亡谱及分类构成特征研究. *中华肿瘤杂志* 1997; 19: 323-328
- Correa P, Haenszel W, Cuello C, Tannenbaum S, Archer M. A model for gastric cancer epidemiology. *Lancet* 1975; 2: 58-60 [PMID: 49653 DOI: 10.1016/S0140-6736(75)90498-5]
- Lee JR, Chung WC, Kim JD, Lee KM, Paik CN, Jung SH, Jung JH, Lee YK, Han SW. Differential LINE-1 Hypomethylation of Gastric Low-Grade Dysplasia from High Grade Dysplasia and Intramucosal Cancer. *Gut Liver* 2011; 5: 149-153 [PMID: 21814593 DOI: 10.5009/gnl.2011.5.2.149]
- 蒋时红, 刘旺根, 张文娟, 刘燕. 中医治法对胃癌前病变大鼠胃黏膜细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 3012-3015
- 游伟程. 胃癌早诊早治进展. *中国肿瘤* 2009; 18: 698
- 关志宇, 戴冬秋. DNA甲基化与胃肠道肿瘤. *国外医学肿瘤学分册* 2005; 32: 135-137
- 朱新江, 戴冬秋. 表遗传学与胃肠道肿瘤. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 3251-3256
- Lund AH, van Lohuizen M. Epigenetics and cancer. *Genes Dev* 2004; 18: 2315-2335 [PMID: 15466484 DOI: 10.1101/gad.1232504]
- 王燕, 周力, 陈晓琴, 张维, 王岚. 巢式MSP法检测胃癌患者血浆p16, MGMT基因甲基化. *世界华人消化杂志* 2010; 18: 384-387
- Honoki K, Tsujiuchi T, Mori T, Yoshitani K, Tsutsumi M, Takakura Y, Mii Y. Expression of the p16INK4a gene and methylation pattern of CpG sites in the promoter region in rat tumor cell lines. *Mol Carcinog* 2004; 39: 10-14 [PMID: 14694443 DOI: 10.1002/mc.10165]
- Kim H, Kim YH, Kim SE, Kim NG, Noh SH, Kim H. Concerted promoter hypermethylation of hMLH1, p16INK4A, and E-cadherin in gastric carcinomas with microsatellite instability. *J Pathol* 2003; 200: 23-31 [PMID: 12692837 DOI: 10.1002/path.1325]
- 朱萱萱, 王海丹, 周继发, 史淋峰. 仁术健胃颗粒对慢性萎缩性胃炎脾气虚证大鼠血清MTL、SS和GAS水平的实验研究. *中华中医药学刊* 2012; 30: 1459-1461
- Li Y, Tollefsbol TO. Impact on DNA methylation in cancer prevention and therapy by bioactive dietary components. *Curr Med Chem* 2010; 17: 2141-2151 [PMID: 20423306 DOI: 10.2174/092986710791299966]
- 沈文静, 戴冬秋, 滕玥, 刘洁. 5-Aza-CdR体外诱导胃癌细胞系p16基因去甲基化及表达增强. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 2082-2086
- Kaneda A, Kaminishi M, Yanagihara K, Sugimura T, Ushijima T. Identification of silencing of nine genes in human gastric cancers. *Cancer Res* 2002; 62: 6645-6650 [PMID: 12438262]
- Wajed SA, Laird PW, DeMeester TR. DNA methylation: an alternative pathway to cancer. *Ann Surg* 2001; 234: 10-20 [PMID: 11420478 DOI: 10.1097/0000658-200107000-00003]
- 范尧夫, 魏睦新. 胃癌癌前病变的研究进展及防治对策. *世界华人消化杂志* 2012; 20: 1807-1812
- Sherr CJ. Cancer cell cycles. *Science* 1996; 274: 1672-1677 [PMID: 8939849 DOI: 10.1126/science.274.5293.1672]
- Shim YH, Kang GH, Ro JY. Correlation of p16 hypermethylation with p16 protein loss in sporadic gastric carcinomas. *Lab Invest* 2000; 80: 689-695 [PMID: 10830779 DOI: 10.1038/labinvest.3780072]
- Attri J, Srinivasan R, Majumdar S, Radotra BD, Wig J. Alterations of tumor suppressor gene p16INK4a in pancreatic ductal carcinoma. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 22 [PMID: 15985168 DOI: 10.1186/1471-230X-5-22]
- 刘芬, 于皆平, 于红刚. 胃癌中抑癌基因PTEN甲基化状态的检测. *中华消化杂志* 2006; 28: 551-552
- Kang GH, Lee S, Kim WH, Lee HW, Kim JC, Rhyu MG, Ro JY. Epstein-barr virus-positive gastric carcinoma demonstrates frequent aberrant methylation of multiple genes and constitutes CpG island methylator phenotype-positive gastric carcinoma. *Am J Pathol* 2002; 160: 787-794 [PMID: 11891177 DOI: 10.1016/S0002-9440(10)64901-2]
- Kang YH, Lee HS, Kim WH. Promoter methylation and silencing of PTEN in gastric carcinoma. *Lab Invest* 2002; 82: 285-291 [PMID: 11896207 DOI: 10.1038/labinvest.3780422]
- Sato K, Tamura G, Tsuchiya T, Endoh Y, Sakata K, Motoyama T, Usuba O, Kimura W, Terashima M,

Nishizuka S, Zou T, Meltzer SJ. Analysis of genetic and epigenetic alterations of the PTEN gene in gas-

tric cancer. *Virchows Arch* 2002; 440: 160-165 [PMID: 11964046 DOI: 10.1007/s004280100499]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》于 2012-12-26 获得 RCCSE 中国权威学术期刊 (A+) 称号

本刊讯 《世界华人消化杂志》在第三届中国学术期刊评价中被武汉大学中国科学评价研究中心(RCCSE)评为“RCCSE中国权威学术期刊(A+)”。本次共有6 448种中文学术期刊参与评价,计算出各刊的最终得分,并将期刊最终得分按照从高到低依次排列,按照期刊在学科领域中的得分划分到A+、A、A-、B+、B、C级6个排名等级范围。其中A+(权威期刊)取前5%; A(核心期刊)取前5%-20%; A-(扩展核心期刊)取前20%-30%; B+(准核心期刊)取前30%-50%; B(一般期刊)取前50%-80%; C(较差期刊)为80%-100%。



# 双氢青蒿素联合吉西他滨治疗胰腺癌及其机制

吴伟林, 郑继行, 陈玲玲, 蔡振寨, 薛战雄

## ■背景资料

胰腺癌预后差, 发现时大多属晚期, 化疗是目前改善胰腺癌预后的重要措施, 但由于肿瘤耐药, 目前胰腺癌的化疗效果仍不理想。青蒿素具有显著的抗肿瘤效应, 且具有逆转肿瘤耐药的作用。

吴伟林, 温岭市第一人民医院神经内科 浙江省温岭市 317500

郑继行, 蔡振寨, 薛战雄, 温州医科大学附属第二医院消化内科 浙江省温州市 325027

陈玲玲, 温岭市第一人民医院消化内科 浙江省温岭市 317500

吴伟林, 硕士, 住院医师, 主要从事中西医结合的基础与临床研究。浙江省自然科学基金资助项目, No. Y2100546

温州市科技局基金资助项目, No. Y20090086

作者贡献分布: 此课题由蔡振寨与陈玲玲设计, 薛战雄指导; 细胞培养与动物模型制作及治疗由吴伟林完成; Western blot部分由郑继行完成; 数据统计由陈玲玲完成; 本论文写作由吴伟林完成。

通讯作者: 蔡振寨, 副主任医师, 325027, 浙江省温州市学院西路109号, 温州医科大学附属第二医院消化内科。czz77@sina.com  
电话: 0577-88002715

收稿日期: 2013-12-22 修回日期: 2014-01-13

接受日期: 2013-01-18 在线出版日期: 2014-03-28

## Effect of dihydroartemisinin combined with gemcitabine for treatment of pancreatic cancer in mice

Wei-Lin Wu, Ji-Xing Zheng, Ling-Ling Chen, Zhen-Zhai Cai, Zhan-Xiong Xue

Wei-Lin Wu, Department of Neurology, Wenling City No. 1 People's Hospital, Wenling 317500, Zhejiang Province, China

Ji-Xing Zheng, Zhen-Zhai Cai, Zhan-Xiong Xue, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, Wenzhou 325000, Zhejiang Province, China

Ling-Ling Chen, Department of Gastroenterology, Wenling City No. 1 People's Hospital, Wenling 317500, Zhejiang Province, China

Supported by: the Zhejiang Provincial Natural Science Foundation of China, No. Y2100546; the Foundation of Wenzhou Municipal Sci-Tech Bureau, No. Y20090086

Correspondence to: Zhen-Zhai Cai, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College, 109 Xueyuan West Road, Wenzhou 325027, Zhejiang Province, China. czz77@sina.com

Received: 2013-12-22 Revised: 2014-01-13

Accepted: 2014-01-18 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the anticancer effect of dihydroartemisinin combined with gemcitabine against pancreatic cancer in mice and the possible mechanisms involved.

**METHODS:** A xenograft model of SW1990

pancreatic cancer was developed in nude mice. Model mice were randomized into four groups according to the drug(s) injected: C (normal saline), D (dihydroartemisinin), G (gemcitabine), and D + G (dihydroartemisinin + gemcitabine). All groups underwent intraperitoneal injection of the corresponding drug(s) once every 4 days for a total of 5 times. Tumor volume was measured during the drug therapy. The mice were sacrificed 4 d after the last drug injection. TUNEL assay was used to detect the apoptosis of tumor cells. Western blot was used to detect the protein expression of Bcl-2 and C-myc.

**RESULTS:** The average tumor volume in group D + G was significantly decreased compared with the other groups. TUNEL assay showed that group D + G presented with apparently more apoptosis than the other groups. Western blot analysis showed the expression of Bcl-2 and C-myc in group D + G was significantly down-regulated compared with the other groups.

**CONCLUSION:** Dihydroartemisinin combined with gemcitabine can significantly decrease pancreatic cancer xenograft growth in nude mice possibly via mechanisms related to the down-regulation of Bcl-2 and C-myc expression.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Pancreatic cancer; Dihydroartemisinin; Gemcitabine; Apoptosis

Wu WL, Zheng JX, Chen LL, Cai ZZ, Xue ZX. Effect of dihydroartemisinin combined with gemcitabine for treatment of pancreatic cancer in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1256-1261 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1256.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1256>

## 摘要

**目的:** 研究双氢青蒿素联合吉西他滨抗胰腺癌作用及其机制。

**方法:** 构建裸鼠胰腺癌移植瘤模型, 按治疗用

## ■同行评议者

肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

药随机分为对照组(C组)、双氢青蒿素组(D组)、吉西他滨组(G组)、联合用药组(D+G组). 各组均采取腹腔注射药物, 4 d 1次, 前后共5次. 观察各组用药过程中肿瘤体积的变化. 末次用药后4 d处死裸鼠取肿瘤组织. 采用Tunel法检测各组肿瘤组织凋亡情况. 采用Western blot法检测肿瘤组织凋亡相关蛋白Bcl-2和C-myc的表达变化.

**结果:** 联合用药组肿瘤体积明显小于其他各组( $P<0.05$ ); Tunel法显示联合用药组肿瘤细胞凋亡比其余各组显著增多( $P<0.05$ ); Western blot法显示联合用药组凋亡相关蛋白Bcl-2和C-myc的表达比其余各组明显降低( $P<0.05$ ).

**结论:** 双氢青蒿素联合吉西他滨能明显抑制裸鼠SW1990细胞皮下移植瘤的生长, 其机制可能是抑制细胞中凋亡相关蛋白Bcl-2和C-myc的表达.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 胰腺癌; 双氢青蒿素; 吉西他滨; 凋亡

**核心提示:** 双氢青蒿素联合吉西他滨能显著抑制裸鼠胰腺癌移植瘤的生长并具有化疗增敏作用, 其机制可能是下调胰腺癌移植瘤组织中Bcl-2和C-myc蛋白的表达, 从而促进胰腺癌的凋亡有关.

吴伟林, 郑继行, 陈玲玲, 蔡振寨, 薛战雄. 双氢青蒿素联合吉西他滨治疗胰腺癌及其机制. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1256-1261 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1256.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1256>

## 0 引言

近年来, 胰腺癌发病率有上升趋势, 在西方国家中, 胰腺癌是恶性肿瘤的第4位死因, 由于早期诊断困难, 胰腺癌发现时大多已失去手术机会, 因此大多数胰腺癌患者需要选择包括化疗在内的辅助治疗<sup>[1]</sup>. 美国国立综合癌症网络(National Comprehensive Cancer Network, NCCN)和欧洲肿瘤学协会临床指南均把吉西他滨作为胰腺癌的第一线化疗药物. 但在长期的临床应用中发现, 单用吉西他滨效果仍不理想, 总有效率 $<20\%$ <sup>[2]</sup>, 原因主要在于胰腺癌细胞获得性或内在的耐药性. 寻求高效低毒的新型抗肿瘤药物或化疗增敏剂成了肿瘤研究亟待解决的问题.

青蒿素是我国传统的中草药, 他在抗疟方面的卓越成效, 挽救了数以亿万计的生命, 青蒿素在抗肿瘤方面的疗效也同样令人瞩目. 近年来

研究发现, 青蒿素具有显著的抗癌作用, 并且具有化疗增敏作用<sup>[3-6]</sup>. 有报道双氢青蒿素在体外或者体内均能通过抑制细胞核因子(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路促进吉西他滨对胰腺癌的化疗效果<sup>[7]</sup>, 但目前研究大多基于细胞株的体外研究, 青蒿素抗胰腺癌的体内研究较少.

本研究构建裸鼠胰腺癌移植瘤模型, 探讨双氢青蒿素联合吉西他滨治疗胰腺癌的效果并初步探讨两药协同作用的机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人胰腺癌细胞株SW1990购自中国科学院细胞库(中国科学院上海生命科学研究院细胞资源中心). SW1990细胞培养于37 °C含5%CO<sub>2</sub>、37 °C培养箱中, 使用含10%胎牛血清、100 U/mL青霉素和100 U/mL链霉素的DMEM细胞单层贴壁生长至70%-80%融合时胰蛋白酶消化传代. ♀4-6周龄健康Balb/c小鼠, 体重18-20 g购自中科院上海实验动物中心, 饲养于SPF环境中层流架内; 饲养和处理经温州医学院动物伦理委员会审批并通过. 双氢青蒿素购自中国药品生物制品检定所, 使用DMSO溶解, DMSO终浓度 $\leq 1\%$ ; 盐酸吉西他滨注射液(健择)购自法国Lilly公司, 使用生理盐水溶解. DMEM、胎牛血清、含0.25%EDTA的胰蛋白酶、不含0.25%EDTA的胰蛋白酶、青链霉素为Gibco公司产品; TRIzol试剂为美国Invitrogen公司产品; 原位细胞凋亡检测(Tunel检测)试剂盒为瑞士Roche公司产品; 兔抗人Bcl-2多克隆抗体、鼠抗人C-myc单克隆抗体、鼠抗人 $\beta$ -actin单克隆抗体、羊抗兔二抗、羊抗鼠二抗为美国abcam公司. 3111型CO<sub>2</sub>细胞培养箱(美国, ThermoForma公司); 细胞培养瓶(美国, Corning公司); 石蜡包埋机、病理切片机(Leika公司); 电子天平(瑞士, Mettler Toledo公司); CH20-BIM光学显微镜(日本, 奥林巴斯); 放射自显影暗盒(乐凯胶片集团有限公司); 超净工作台、电热恒温水浴箱、电烤箱、立式高压蒸汽灭菌器(上海医疗设备厂); 3K15型台式冷冻离心机(美国, Sigma公司); 微量移液器(德国, Eppendorf公司); 垂直蛋白电泳装置和垂直型蛋白电泳槽转膜装置(美国, Bio-Rad公司).

## 1.2 方法

**1.2.1 人胰腺癌细胞株SW1990的培养:** 人胰腺癌细胞SW1990细胞培养于37 °C含5%CO<sub>2</sub>饱和湿度的培养箱中, 使用含10%胎牛血清、100 U/mL

## ■ 研究前沿

青蒿素抗肿瘤效应及其机制是目前中医药抗肿瘤研究的热点之一, 但青蒿素联合吉西他滨治疗胰腺癌的研究及其机制目前报道较少.

## ■相关报道

Wang等报道双氢青蒿素在体外或者体内研究中均能通过抑制核因子- $\kappa$ B信号通路促进吉西他滨对胰腺癌的化疗效果。

青霉素和100 U/mL链霉素的DMEM, 细胞单层贴壁生长至70%-80%融合时胰蛋白酶消化传代。

1.2.2 胰腺癌裸鼠模型的建立: 胰蛋白酶消化对数生长期SW1990细胞, 用含10%胎牛血清的完全培养基终止消化, 离心后(1000 r/min, 5 min)将细胞用不含血清的DMEM培养基洗涤1次, 再次离心将细胞混匀于不含血清的DMEM培养基中。将SW1990细胞悬液注射于裸小鼠背部靠近后肢部位的皮下, 每只鼠约注射 $4 \times 10^6$ 个细胞。

1.2.3 实验分组及用药: 当裸鼠移植瘤长径4-6 mm时, 将裸鼠随机分成4组, 分别为对照组(C、生理盐水组)、双氢青蒿素组(D)、吉西他滨组(G)和联合组(D+G), 每组15只。对照组腹腔注射同量生理盐水, 双氢青蒿素组腹腔注射双氢青蒿素(40 mg/kg), 吉西他滨组腹腔注射吉西他滨(125 mg/kg), 联合组为腹腔注射双氢青蒿素(40 mg/kg)和吉西他滨(80 mg/kg)。分组当天即开始用药, 随后4 d 1次, 前后共5次, 末次用药4 d后处死裸鼠。并且从分组当天开始每4 d测一次裸鼠体重, 每次均在注射药物前测体重, 以此体重为标准进行用药, 并用游标卡尺测量1次皮下瘤的大小, 包括长径a(mm)和短径b(mm), 并计算皮下瘤的体积, 体积(V) =  $\frac{4}{3} \times \pi \times r^3$ ,  $r = (a+b)/4$ 。处死之前最后测一次瘤体体积和裸鼠体重, 前后共测量6次裸鼠体重和瘤体大小。末次用药4 d后用水合氯醛麻醉裸鼠, 取出瘤体组织称质量, 分取部分瘤体组织置于40 g/L甲醛固定液, 石蜡包埋, 行Tunel法检测, 并留取剩余部分新鲜肿瘤组织存于液氮中供Western blot法使用。

1.2.4 Tunel法检测肿瘤细胞凋亡: 取固定好的肿瘤组织, 经脱水、透明、浸蜡、4  $\mu$ m包埋切片、贴片、烘片。按Tunel试剂盒所示操作步骤进行操作, 最后加Tunel反应液37  $^{\circ}$ C孵育1 h后中性树脂封片, 用光学显微镜400倍下进行观察拍照; 取10个高倍视野, 数每个高倍视野下调亡细胞数, 再取平均值; 将对照组调亡细胞数调整为1, 计算双氢青蒿素组、吉西他滨组、双氢青蒿素+吉西他滨组相对调亡值。阳性对照样本处理: 样本经蛋白酶K处理、PBS浸洗后, 再加入100  $\mu$ L DNase I 反应液, 37  $^{\circ}$ C处理30 min, 其余步骤同待检样本。阴性对照样本处理: 在标记反应制备TdT酶反应液时, 不添加TdT酶, 其余步骤均相同。

1.2.5 Western blot法检测C-myc、Bcl-2蛋白表达: 用RIPA裂解液试剂盒说明书提取新鲜瘤体组织中的总蛋白, 按照BCA蛋白浓度测定试剂盒(碧

云天)测定总蛋白浓度。将定量后的蛋白质样品以每孔30  $\mu$ g点样于SDS-PAGE凝胶上样孔中, 200 V电泳至溴酚蓝迁移到距分离胶底部0.5 cm处, 300 mA转膜45 min, 将转好的硝酸纤维素膜至于5%的脱脂奶粉中, 室温振荡封闭2 h, 加入一抗, 4  $^{\circ}$ C孵育过夜, TBS缓冲液漂洗3次, 每次10 min, 再加入二抗, 37  $^{\circ}$ C于摇床孵育1 h, TBS缓冲液漂洗3次, 每次10 min, 化学发光显影, 胶片曝光, AlphaEaseFC扫描分析软件系统检测条带灰度值, 以目的蛋白与内参蛋白比值作为蛋白相对表达量。阴性对照组不加一抗, 其余步骤相同, 阳性对照为Miapaca-2胰腺癌细胞, 本课题组先前已经验证该细胞系表达C-myc、Bcl-2蛋白, 将 $\beta$ -actin作为内参对照。

**统计学处理** 实验数据结果用mean  $\pm$  SD表示, 采用SPSS17.0软件ANOVA方差分析进行统计分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

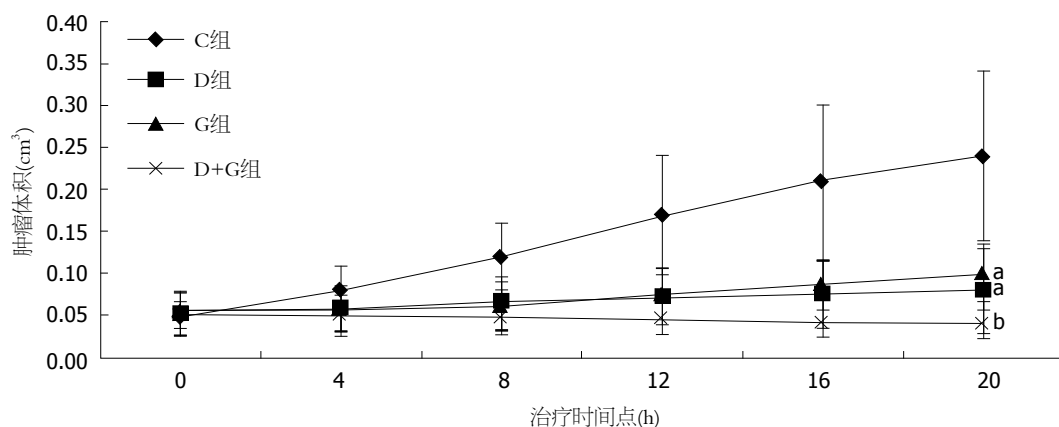
## 2 结果

2.1 各组瘤体体积的变化 随机分组当天C组、D组、G组及D+G组瘤体平均体积分别为 $0.048 \text{ cm}^3 \pm 0.018 \text{ cm}^3$ 、 $0.052 \text{ cm}^3 \pm 0.02 \text{ cm}^3$ 、 $0.056 \text{ cm}^3 \pm 0.026 \text{ cm}^3$ 及 $0.051 \text{ cm}^3 \pm 0.024 \text{ cm}^3$ , 各组裸鼠移植瘤体积比较无显著差异( $P > 0.05$ )。用药20 d后处死裸鼠取肿瘤, C组、D组、G组及D+G组瘤体平均体积分别为 $0.24 \text{ cm}^3 \pm 0.01 \text{ cm}^3$ 、 $0.08 \text{ cm}^3 \pm 0.034 \text{ cm}^3$ 、 $0.1 \text{ cm}^3 \pm 0.05 \text{ cm}^3$ 及 $0.04 \text{ cm}^3 \pm 0.017 \text{ cm}^3$ 。与C组相比, D组与G组的瘤体平均体积明显减小( $P < 0.05$ ), 但D+G组抑制肿瘤的作用更为明显( $P < 0.01$ )(图1)。

2.2 双氢青蒿素联合吉西他滨诱导胰腺癌细胞凋亡的作用 在光学显微镜下, Tunel染色法阳性对照组调亡细胞表现为棕黄色(或者棕褐色)为细胞核染色, 细胞核突出在细胞边缘; 对照组细胞不显色。C组调亡细胞稀少(图2A), D组、G组、D+G组(图2B)调亡细胞明显增加。随机选取10个高倍视野( $\times 400$ ), 数每个高倍视野下调亡细胞数, 再取平均值; 将C组调亡细胞数调整为1, D组和G组相对调亡值分别为 $3.7 \pm 0.8$ 和 $3.5 \pm 0.7$ , 均显著高于C组( $P < 0.05$ ); D+G组相对调亡值为 $7.0 \pm 1.5$ , 显著高于其他3组( $P < 0.05$ )(图3)。

2.3 Western blot法检测双氢青蒿素联合吉西他滨对裸鼠移植瘤SW1990细胞调亡相关蛋白C-myc和Bcl-2表达的影响 阴性对照组未表达目的蛋白, 阳性对照组表达目的蛋白。与对照组(C)相比较, 双氢青蒿素组(D)和吉西他滨组(G)均能抑制





# ■创新盘点

本文探讨双氢青蒿素联合吉西他滨治疗胰腺癌的移植瘤体内研究及其机制, 丰富和完善了青蒿素类中药抗肿瘤作用机制。

图 1 不同治疗组胰腺癌移植瘤体积变化曲线。<sup>a</sup> $P<0.05$ , <sup>b</sup> $P<0.01$  vs 对照组。C组: 对照组; D组: 双氢青蒿素组; G组: 吉西他滨组; D+G组: 联合组。

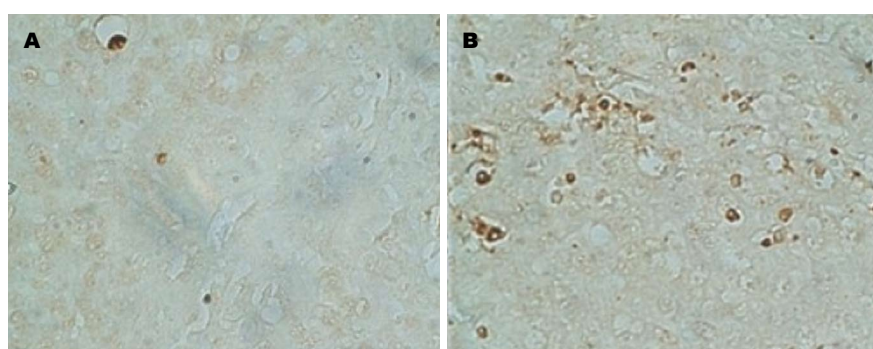


图 2 TUNEL法细胞凋亡图。A: 对照组凋亡细胞稀少; B: D+G组凋亡细胞明显增多。

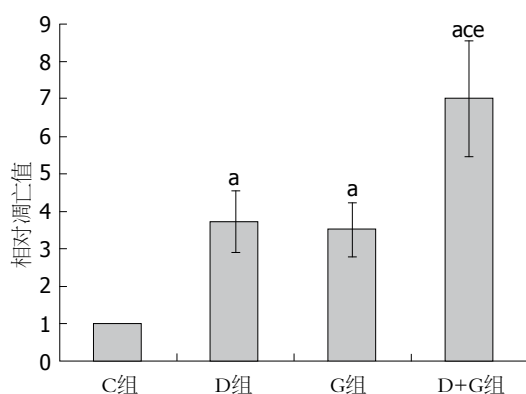


图 3 不同治疗组诱导胰腺癌细胞凋亡比较。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs C组; <sup>b</sup> $P<0.05$  vs D组; <sup>c</sup> $P<0.05$  vs G组。C组: 对照组; D组: 双氢青蒿素组; G组: 吉西他滨组; D+G组: 联合组。

C-myc和Bcl-2的表达( $P<0.05$ ), 与其他三组相比, 双氢青蒿素联合吉西他滨组(D+G)明显地下调C-myc和Bcl-2蛋白的表达( $P<0.05$ )(图4)。

## 3 讨论

手术治疗是胰腺癌治疗的首选方法, 但多数患者在确诊时已达局部晚期或有远处转移而失去手术机会。大多数胰腺癌主要治疗手段是化疗。吉西他滨是一种脱氧胞苷的水溶性类似物, 是

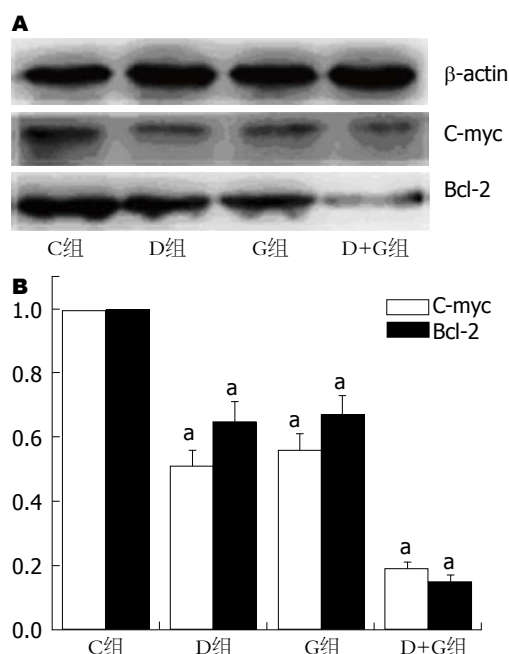


图 4 各组Bcl-2和C-myc蛋白表达水平。A: Bcl-2和C-myc蛋白Western blot表达图; B: Bcl-2和C-myc蛋白相对表达量。<sup>a</sup> $P<0.05$  vs 对照组。C组: 对照组; D组: 双氢青蒿素组; G组: 吉西他滨组; D+G组: 联合组。

细胞周期特异性的抗代谢类药物, 主要作用于DNA合成期的肿瘤细胞, 即S期细胞, 在一定条

### ■应用要点

本研究为青蒿素类中药用于胰腺癌的治疗提供实验基础,青蒿素逆转肿瘤耐药的机制需要进一步研究,将来青蒿素可能作为逆转肿瘤耐药的辅助用药进入临床使用。

件下,可阻止肿瘤细胞从G<sub>1</sub>期向S期的进展。吉西他滨治疗胰腺癌患者在减轻疼痛和改善生活质量方面具有一定的作用,已被广泛接受作为晚期胰腺癌化疗的标准用药<sup>[8]</sup>,但吉西他滨在临床应用中也存在许多不足:(1)只能起到有限的姑息治疗作用,对胰腺癌的缓解率低,只有10%左右<sup>[9,10]</sup>,即便作为根治术后辅助化疗药,其中位生存时间也只有22.1 mo<sup>[11]</sup>;(2)多数胰腺癌会逐渐对吉西他滨产生耐药性;(3)作为一种化疗药物,存在一些较强的不良反应,长期用药对人体会造成一定的伤害;(4)价格昂贵,长期使用困难。由于上述原因,吉西他滨对胰腺癌化疗的临床应用受到了极大的限制。青蒿素是我国药学工作者于20世纪70年代初从植物黄花蒿中分离得到的有效抗疟疾药物,主要分布在植物的叶中。双氢青蒿素是青蒿素类药物在体内的主要活性代谢产物,也是青蒿素的一个重要衍生物。双氢青蒿素在抗肿瘤方面的作用逐渐成为研究的热点。先前研究表明双氢青蒿素能够明显抑制胰腺癌细胞的增殖<sup>[12]</sup>。但青蒿素抗胰腺癌作用的体内研究较少。本研究在裸鼠移植瘤动物模型基础上发现双氢青蒿素和吉西他滨联合用药组的瘤体体积明显小于对照组及单用双氢青蒿素组和吉西他滨组,而且联合用药组吉西他滨使用剂量减少,表明双氢青蒿素联合吉西他滨具有显著抗胰腺癌作用,并且两者具有协同作用。

青蒿素的抗肿瘤作用主要包括促进肿瘤细胞凋亡、抑制肿瘤细胞增殖、抑制肿瘤血管形成及逆转肿瘤多药耐药等机制<sup>[13]</sup>。诱导肿瘤细胞凋亡是青蒿素抗肿瘤效应的重要机制之一。我们采用Tunel方法检测双氢青蒿素和吉西他滨单用或联合使用对胰腺癌裸鼠移植瘤组织SW1990细胞凋亡的影响,结果显示,双氢青蒿素组、吉西他滨组与对照组相比,凋亡细胞明显增多,而双氢青蒿素联合吉西他滨组的凋亡细胞比其他三组均明显增多,提示双氢青蒿素和吉西他滨均可通过诱导肿瘤细胞凋亡抑制胰腺癌裸鼠移植瘤的生长,两者联合使用不仅效应增强,而且吉西他滨使用剂量明显减少,说明二氢青蒿素除了具有诱导肿瘤细胞凋亡作用,还具有吉西他滨化疗增敏作用。

细胞凋亡是一种多基因和细胞因子调控的过程,具有代表性的是*Bcl-2*基因家族和*c-myc*基因家族,已经证明原癌基因,如*Bcl-2*基因家族和*c-myc*基因家族等,均参与细胞凋亡的精确调控。现已发现,*Bcl-2*蛋白是典型的抑制细胞细胞凋

亡的蛋白,而且*Bcl-2*基因家族调节多种化疗药物的促凋亡作用,*Bcl-2*的过表达跟多种肿瘤对化疗药物的耐药性有关。高表达*Bcl-2*蛋白的患者预示着胰腺癌预后不良<sup>[14]</sup>。*c-myc*基因是凋亡调控的重要基因,高表达*c-myc*基因的肿瘤细胞凋亡受阻<sup>[15]</sup>,在某些情况下如与致癌基因同时存在时*C-myc*则可协同*Bcl-2*导致肿瘤的发生。*NF-κB*信号通路活化后能使其下游基因*c-myc*、*cyclin D1*、*bcl-2*、*bcl-xL*表达增加,细胞凋亡受到抑制,从而产生耐药,二氢青蒿素能逆转吉西他滨诱导*NF-κB*信号通路的活化,从而改善吉西他滨化疗效应<sup>[7]</sup>。本实验结果显示,双氢青蒿素和吉西他滨联合治疗可使胰腺癌移植瘤组织*Bcl-2*和*C-myc*蛋白表达明显下调,说明二氢青蒿素与吉西他滨具有协同治疗作用,与文献报道相符。

总之,双氢青蒿素联合吉西他滨能显著抑制裸鼠胰腺癌移植瘤的生长,其机制可能是下调胰腺癌移植瘤组织中*Bcl-2*和*C-myc*蛋白的表达,从而促进胰腺癌的凋亡有关。

### 4 参考文献

- 1 黄鹏,钟翔宇,徐艺,崔云甫.辅助治疗与新辅助治疗在胰腺癌治疗中的作用.世界华人消化杂志 2013; 21: 1292-1296
- 2 Tada M, Arizumi T, Nakai Y, Sasaki T, Kogure H, Togawa O, Matsubara S, Tsujino T, Hirano K, Sasahira N, Isayama H, Kawabe T, Omata M. Efficacy of gemcitabine for locally advanced pancreatic cancer: comparison with 5-fluorouracil-based chemoradiotherapy. *Chemotherapy* 2008; 54: 302-308 [PMID: 18689983 DOI: 10.1159/000151226]
- 3 Zhao C, Gao W, Chen T. Synergistic induction of apoptosis in A549 cells by dihydroartemisinin and gemcitabine. *Apoptosis* 2013 Dec 13. [Epub ahead of print] [PMID: 24337869]
- 4 Hu CJ, Zhou L, Cai Y. Dihydroartemisinin induces apoptosis of cervical cancer cells via upregulation of RKIP and downregulation of bcl-2. *Cancer Biol Ther* 2013 Dec 11. [Epub ahead of print] [PMID: 24335512]
- 5 Wang SJ, Sun B, Pan SH, Chen H, Kong R, Li J, Xue DB, Bai XW, Jiang HC. [Experimental study of the function and mechanism combining dihydroartemisinin and gemcitabine in treating pancreatic cancer]. *Zhonghua Waike Zazhi* 2010; 48: 530-534 [PMID: 20646665]
- 6 Kong R, Jia G, Cheng ZX, Wang YW, Mu M, Wang SJ, Pan SH, Gao Y, Jiang HC, Dong DL, Sun B. Dihydroartemisinin enhances Apo2L/TRAIL-mediated apoptosis in pancreatic cancer cells via ROS-mediated up-regulation of death receptor 5. *PLoS One* 2012; 7: e37222 [PMID: 22666346 DOI: 10.1371/journal.pone.0037222]
- 7 Wang SJ, Gao Y, Chen H, Kong R, Jiang HC, Pan SH, Xue DB, Bai XW, Sun B. Dihydroartemisinin inactivates NF-kappaB and potentiates the anti-tumor effect of gemcitabine on pancreatic cancer both

- in vitro and in vivo. *Cancer Lett* 2010; 293: 99-108 [PMID: 20137856 DOI: 10.1016/j.canlet.2010.01.001]
- 8 Tempero MA, Behrman S, Ben-Josef E, Benson AB, Cameron JL, Casper ES, Hoffman JP, Karl RC, Kim P, Koh WJ, Kuvshinov BW, Melvin WS, Muscarella P, Sasson AR, Shibata S, Shrieve DC, Talamonti MS, Tyler DS, Vickers SM, Warren RS, Willett C, Wolff RA. Pancreatic adenocarcinoma: Clinical Practice Guidelines in Oncology. *J Natl Compr Canc Netw* 2005; 3: 598-626 [PMID: 16194453]
- 9 Burris HA, Moore MJ, Andersen J, Green MR, Rothenberg ML, Modiano MR, Cripps MC, Portenoy RK, Storniolo AM, Tarassoff P, Nelson R, Dorr FA, Stephens CD, Von Hoff DD. Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer: a randomized trial. *J Clin Oncol* 1997; 15: 2403-2413 [PMID: 9196156]
- 10 Burris H, Storniolo AM. Assessing clinical benefit in the treatment of pancreas cancer: gemcitabine compared to 5-fluorouracil. *Eur J Cancer* 1997; 33 Suppl 1: S18-S22 [PMID: 9166095]
- 11 Oettle H, Post S, Neuhaus P, Gellert K, Langrehr J, Ridwelski K, Schramm H, Fahlke J, Zuelke C, Burkart C, Gutberlet K, Kettner E, Schmalenberg H, Weigang-Koehler K, Bechstein WO, Niedergethmann M, Schmidt-Wolf I, Roll L, Doerken B, Riess H. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 297: 267-277 [PMID: 17227978]
- 12 吴伟林, 杜章, 鲍贤俊, 陈玲玲, 蔡振寨. 双氢青蒿素抑制人胰腺癌细胞SW-1990的实验研究. *中华中医药学刊* 2012; 30: 1595-1598, 1708
- 13 陆金健, 黄鸣清, 陈修平, 王一涛. 二氢青蒿素抗肿瘤作用及其机制研究进展. *中国药理学与毒理学杂志* 2012; 26: 397-401
- 14 Sinicrope FA, Evans DB, Leach SD, Cleary KR, Fenoglio CJ, Lee JJ, Abbruzzese JL. bcl-2 and p53 expression in resectable pancreatic adenocarcinomas: association with clinical outcome. *Clin Cancer Res* 1996; 2: 2015-2022 [PMID: 9816161]
- 15 Lu JJ, Meng LH, Shankavaram UT, Zhu CH, Tong LJ, Chen G, Lin LP, Weinstein JN, Ding J. Dihydroartemisinin accelerates c-MYC oncoprotein degradation and induces apoptosis in c-MYC-overexpressing tumor cells. *Biochem Pharmacol* 2010; 80: 22-30 [PMID: 20206143 DOI: 10.1016/j.bcp.2010.02.016]

#### 同行评价

本文显示双氢青蒿素联合吉西他滨能明显抑制裸鼠胰腺癌移植瘤的生长, 有可能为临床治疗带来新的希望。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 大黄酸与大黄建立大鼠“泻剂结肠”模型的比较

刘兴, 王文革, 次苗苗

## ■背景资料

应用刺激性泻剂所建立的“泻剂结肠”动物模型, 是目前研究慢传输便秘最常用的动物模型之一。大黄是目前最常用的造模药物, 但因其造模过程中存在诸多问题, 影响了所建模型的稳定性及可靠性, 因此寻找一种稳定、可控性好的药物是建立“泻剂结肠”动物模型的首要任务。

刘兴, 次苗苗, 河北北方学院 河北省张家口市 075000  
王文革, 中国人民解放军空军总医院儿科 北京市 100142  
刘兴, 在读硕士, 主要从事儿童消化系统疾病的研究。  
北京市自然科学基金资助项目, No. 7122180  
作者贡献分布: 此课题由王文革与刘兴设计; 研究过程由刘兴与次苗苗操作完成; 研究所用试剂由王文革提供; 数据收集与分析由刘兴与次苗苗完成; 本论文写作由刘兴与王文革共同完成。  
通讯作者: 王文革, 副主任医师, 硕士研究生导师, 100142, 北京市海淀区阜成路30号, 中国人民解放军空军总医院儿科。  
1264516006@qq.com  
电话: 010-68410099  
收稿日期: 2013-12-27 修回日期: 2014-01-20  
接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Comparison of rat models of cathartic colon established with rhein and rhubarb

Xing Liu, Wen-Ge Wang, Miao-Miao Ci

Xing Liu, Miao-Miao Ci, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China  
Wen-Ge Wang, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of People's Liberation Army, Beijing 100142, China  
Supported by: Beijing Natural Science Foundation, No. 7122180  
Correspondence to: Wen-Ge Wang, Associate Chief Physician, Department of Pediatrics, Air Force General Hospital of People's Liberation Army, 30 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100142, China. 1264516006@qq.com  
Received: 2013-12-27 Revised: 2014-01-20  
Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To find a simple and stable drug for the induction of cathartic colon by comparing two rat models which were established with rhein and rhubarb, respectively.

**METHODS:** Thirty-three healthy 3-4-week-old Wistar rats were divided into three groups, namely, a control group, a rhubarb group and a rhein group. Normal saline was given by intragastric administration in the control group. Rhubarb suspension was given in the rhubarb group, and rhein suspension was given in the rhein group. The intestinal transit function was assessed using the activated carbon suspension transit method.

**RESULTS:** Modeling time was 136 and 114 days for the rhubarb group and rhein group, respectively. Activated carbon transit length in the rhubarb and rhein group was significantly shorter than that in the control group. The symptom of loose stools in the rhein group was stable in the modeling process, and the dose and modeling cycle were consistent with the reference literature.

**CONCLUSION:** A rat model of cathartic colon could be successfully established with both rhubarb and rhein. As a monomer, the efficacy of rhein is more stable than rhubarb. Concentration of rhein is easy to control and it is associated with a relatively short period of time in establishing the animal model. Rhein is better than rhubarb in establishing the rat model of cathartic colon.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Cathartic colon; Animal model; Rhubarb; Rhein; Monomer

Liu X, Wang WG, Ci MM. Comparison of rat models of cathartic colon established with rhein and rhubarb. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1262-1265 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1262.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1262>

## 摘要

**目的:** 应用大黄酸及大黄建立大鼠泻剂结肠模型, 二者进行比较, 寻找一种简单、稳定的建立泻剂结肠动物模型的药物。

**方法:** 健康3-4周龄Wistar大鼠33只, 均分为对照组、大黄组、大黄酸。对照组给予生理盐水灌胃; 大黄组给予大黄粉悬液灌胃; 大黄酸组给予大黄酸粉悬液灌胃。造模完成后采用活性炭悬液推进法测定大鼠肠道传输功能。

**结果:** 大黄组、大黄酸组造模时间分别为136 d和114 d; 大黄组及大黄酸组大鼠活性炭末推进长度及推进率较对照组明显缩短。大黄酸组

■同行评议者  
甘华田, 教授, 四川大学华西医院老年消化内科

造模过程中大鼠稀便稳定,且给药剂量及造模周期同参考文献报道一致。

**结论:** 大黄及大黄酸均可成功建立大鼠泻剂结肠模型,但作为单体大黄酸药效更稳定,浓度易于控制,且造模时间相对较短,故作为造模药物,效果优于大黄。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 泻剂结肠; 动物模型; 大黄; 大黄酸; 单体

**核心提示:** 本研究通过比较大黄酸及大黄建立的“泻剂结肠”模型的优劣,进一步证实了单体大黄酸药效更稳定,浓度易于控制,造模时间相对较短,作为造模药物效果优于大黄。为以后慢传输型便秘的研究提供了一种更稳定、可靠的动物模型。

刘兴, 王文革, 次苗苗. 大黄酸与 大黄建立大鼠“泻剂结肠”模型的比较. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1262-1265 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1262.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1262>

## 0 引言

慢传输型便秘(slow transit constipation, STC)是一种涉及全胃肠道动力紊乱,尤其是结肠传输减慢导致的便秘<sup>[1]</sup>。目前国内外建立STC动物模型方法主要有泻剂结肠、复方苯乙哌啶法、吗啡法。泻剂结肠(cathartic colon)是指便秘患者长期应用刺激性泻剂使结肠神经系统紊乱和相应的功能失调,导致结肠动力障碍,对泻剂反应性下降,对泻剂产生依赖的一种状况<sup>[2]</sup>,是STC的一种重要临床类型。目前建立“泻剂结肠”动物模型的泻剂主要有大黄和酚酞,大黄因有价廉、来源广等优点成为最常用的建立该模型的药物。但因大黄建立“泻剂结肠”动物模型存在用药量、造模周期与以往研究<sup>[3-5]</sup>报道出入较大等问题,在实验研究中模型的复制性较差,导致后续实验难以进行。因此寻找一种成分单一、药效稳定的造模药物对该模型的建立有重要意义。随着大黄提取工艺的改进,发现大黄的提取物大黄酸泻下作用明显,故近来有用大黄酸建立大鼠“泻剂结肠”模型的相关报道。本实验采用单体大黄酸建立大鼠“泻剂结肠”模型,并与大黄建立的该动物模型进行比较,从而找到一种稳定、可控性好的建立“泻剂结肠”动物模型的药物。

## 1 材料和方法

1.1 材料 健康♂ Wistar大鼠33只,清洁级,3-4周

龄,体质量50-80 g,由斯贝福(北京)实验动物科技有限公司提供[许可证号SCXK(京)2011-0004]。饲养条件:分笼饲养,实验室清洁安静,室温20℃-25℃,相对湿度50%-70%。大黄粉(北京同仁堂连锁药店有限责任公司,产地:甘肃);大黄酸粉(南京泽朗医药技术有限公司,批号ZL20130310A);活性炭粉末(分析纯)(国药集团化学试剂有限公司)。

### 1.2 方法

1.2.1 模型制备:按照随机化分组原则,将实验大鼠均分为对照组、大黄组、大黄酸组,每组11只。3组大鼠在普通干饲料饲养的基础上,分别再给予生理盐水、大黄粉悬液、大黄酸粉悬液灌胃,给药量按照每只大鼠的体质量计算得出。整个实验过程分3个循环完成。对照组给予10 mL/(kg·d)生理盐水灌胃。大黄组参照张连阳等<sup>[3]</sup>和童卫东等<sup>[6]</sup>的方法给予大黄粉悬液灌胃,第1循环约50 d,起始剂量为300 mg/(kg·d),以后按300 mg/(kg·d)递增,增长至3300 mg/(kg·d)时,约半数大鼠出现稀便,维持此剂量灌胃,直至80%大鼠稀便消失后开始下一循环;第2循环约38 d,在3300 mg/(kg·d)的基础上再按300 mg/(kg·d)递增,增至4200 mg/(kg·d)时,半数大鼠出现稀便,维持此剂量直至80%大鼠稀便消失;第3循环约48 d,在4200 mg/(kg·d)的基础上增至5400 mg/(kg·d)时,半数大鼠出现稀便,维持此剂量直至80%大鼠稀便消失;3个循环结束共用136 d,整个过程结束1 wk后停止灌胃,普通干饲料饲养待处理。大黄酸组参照张波等<sup>[7]</sup>的方法给予大黄酸粉悬液灌胃,第1循环约33 d,给药剂量为240 mg/(kg·d),灌2 d停1 d,直至半数大鼠出现稀便,维持此剂量至80%大鼠稀便消失后开始下一循环;第2循环约36 d,给药剂量同上,灌5 d停2 d,直至80%大鼠稀便消失;第3循环约45 d,给药剂量为320 mg/(kg·d),灌5 d停2 d,直至80%大鼠稀便消失;3个循环共约114 d,整个过程结束1 wk后停止灌胃,普通干饲料饲养待处理。

1.2.2 肠道传输功能测定:采用活性炭悬液推进法检测肠道传输功能。停药1 wk后的大鼠禁食,不禁水24 h,经口灌入100 g/L活性炭悬液2 mL,30 min后颈椎脱臼法处死,立即剖腹,取出幽门至直肠末段的全部肠管,在无张力的条件下测量肠道全长及活性炭悬液推进长度。炭末推进率(%)=(炭末前端与幽门的距离/肠道总长度)×100。

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件包进行统计

### ■ 研发前沿

随着对大黄酸药理机制的深入研究,发现其泻下作用明显,故有学者尝试用大黄酸建立“泻剂结肠”动物模型,并取得了初步成功,但使用该药物所建立模型的稳定性、可靠性及引发便秘的机制需要进一步探讨。

### ■ 相关报道

国内已有报道长期大剂量使用大黄酸可致大鼠肠道传输功能减慢,推测大黄酸可损伤肠道神经系统引起,Cajal间质细胞改变,导致胃肠道动力障碍,最终形成“泻剂结肠”。

## ■创新盘点

本实验通过对大黄酸及大黄建立的“泻剂结肠”动物模型比较,以进一步证实大黄酸建立“泻剂结肠”动物模型的稳定性及可靠性。

表 1 3组大鼠造模前后体质量变化表(mean ± SD)

分组	造模前		造模后	
	n	体质量(g)	n	体质量(g)
对照组	11	117.73 ± 4.52	11	485.73 ± 11.96
大黄组	11	114.00 ± 4.79	10	384.27 ± 35.31 <sup>b</sup>
大黄酸组	11	117.00 ± 4.65	9	402.45 ± 10.73 <sup>b</sup>

<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 对照组。

分析,计量资料均以mean ± SD表示,组间比较采用 $t$ 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 造模过程中3组大鼠一般情况记录** 大黄组造模时间为136 d,造模过程中死亡1只,死亡原因不明。大黄酸组造模时间为114 d,死亡2只,1只为误灌入气管致死,另1只死亡原因不明。两组大鼠均形体消瘦,体质量约平均下降20%,虽大黄组大鼠体质量下降更为明显,但两组大鼠体重变化比较无统计学差异( $P = 0.067$ )(表1)。两组大鼠饮水量较对照组明显增多,皮毛色泽发红,大部分大鼠在饲喂过程中出现血便,约50%大鼠出现血尿。4只大鼠在饲养过程中出现脱肛,其中大黄酸组3只,大黄组1只。

**2.2 肠道传输功能测定** 腹部正中剖开后可见大黄组及大黄酸组大鼠结肠较对照组粗大、迂曲,肠腔内可见大块粪便存留。3组大鼠肠道总长度无明显差异;大黄组和大黄酸组炭末推进长度分别为58.20 cm ± 6.66 cm、55.11 cm ± 6.78 cm,而对照组则为82.64 cm ± 7.33 cm;大黄组和大黄酸组炭末推进长度明显短于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。大黄酸组炭末推进长度略短于大黄组,但两组之间比较无统计学差异( $P > 0.05$ )(表2)。

## 3 讨论

STC是慢性便秘中的一种常见临床类型<sup>[8]</sup>,发病率呈逐年升高趋势。由于临床上难以对STC患者进行前瞻性研究,因此建立稳定、可靠的实验动物模型对慢传输型便秘的研究意义重大。近年来,国内外学者尝试着建立了多种STC的动物模型,经各种模型制作方法的比较,发现仅刺激性泻剂对肠神经系统损伤明显,并且经一系列研究发现“泻剂结肠”建立的模型与STC有相似的肠道病理生理改变<sup>[9-11]</sup>,是目前研究STC的常用模型。同时“泻剂结肠”大鼠模型复制了便秘患

者长期服用泻剂后由腹泻到加重便秘的疾病过程,最接近临床上STC患者的疾病形成过程,作为研究STC的动物模型具有代表性。目前常用于建立“泻剂结肠”动物模型的刺激性泻剂大黄造模时存在以下问题:(1)不同文献报道大黄导致腹泻时用药量差距较大,目前报道大鼠首次出现稀便时大黄用量从800-2700 mg/kg不等;(2)大鼠在饲喂大黄造模过程中可出现粥样便、泥状便、水样便等不同程度稀便,而目前对造模过程中大鼠稀便程度尚无统一判断标准;(3)大黄是一味成分复杂的中药,除对胃肠道有影响外,对全身如肾脏、肝脏等多个系统具有不同功效,长期大剂量应用后对其他系统的作用与“泻剂结肠”形成有无相互影响,需进一步研究;(4)有文献报道大黄使便秘大鼠肌间神经丛中的胆碱能神经分布趋于正常,这可能是调节结肠功能、治疗慢传输型便秘的机制之一<sup>[12]</sup>。此结论与多数文献报道的大黄致使STC大鼠胆碱能神经减少的报道不一致,需进一步探讨大黄对肠道胆碱能神经的影响。虽然本实验用大黄粉最终成功复制了“泻剂结肠”大鼠模型,但在造模过程中也遇到了用药量同文献报道相差较大、稀便情况不稳定及造模周期与大多数报道不一致等问题,导致模型的可复制性较差。因此,近年来国内外学者尝试寻找更稳定的建立“泻剂结肠”的药物,有学者尝试用大黄的提取物大黄酸建立该模型,并取得初步成果。本实验旨在对大黄酸及大黄二者建立大鼠“泻剂结肠”模型优劣进行比较,寻找一种更稳定、可靠的造模药物。

大黄酸是大黄的提取物,为单体,化学名为1,8-二羟基蒽醌衍生物,在抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗氧化、降糖调脂、保肝抗纤维化等多方面具有活性<sup>[13]</sup>。大黄酸本身无泻下作用,但其经肠内菌转化产物大黄酸蒽醌具有泻下活性。泻剂结肠是全胃肠动力障碍性疾病,以肠道传输功能减慢为主要特点,故造模完成后采用活性炭悬液推进长度(肠管黑染长度)初步鉴定模型是否成功。3个循环结束后大黄酸组肠道传输功能较对照组明显减慢;与大黄组相比炭末推进长度略短,但二者之间无统计学差异。大黄酸组在给予大黄酸粉悬液灌胃第2 d开始,约80%大鼠出现水样便,易于观察,稀便稳定。给药量及造模周期与参考文献报道差异不大,说明大黄酸药效稳定,给药量容易掌握,用于建立“泻剂结肠”模型时重复性及可控性好。近期研究表明STC患者结肠黏膜水通道蛋白4(aquaporin,

## ■应用要点

大黄酸及大黄均可成功复制大鼠“泻剂结肠”模型,但作为单体,大黄酸药效更稳定,浓度易于控制,造模时间相对较短,稳定性及可控性优于大黄,为研究慢传输型便秘提供了一种简单模型。



表 2 3组大鼠肠道传输功能比较(mean ± SD)

分组	n	肠道总长度(cm)	炭末推进长度(cm)	百分比(%)
对照组	11	133.36 ± 8.02	82.64 ± 7.33	61.94 ± 3.86
大黄组	10	130.50 ± 5.54	58.20 ± 6.66 <sup>b</sup>	44.56 ± 4.32
大黄酸组	9	132.44 ± 3.91	55.11 ± 6.78 <sup>b</sup>	41.65 ± 4.04

<sup>b</sup>P<0.01 vs 对照组.

AQP4)高表达<sup>[14]</sup>,而在大黄酸药理机制的研究中发现其能抑制LoVo细胞AQP4基因的转录与翻译<sup>[15]</sup>,推测大黄酸的长期大剂量服用使得这种抑制作用减弱,AQP4基因表达增高,导致肠道水分吸收增加,引起大便干燥,加重便秘.而目前关于STC大鼠近端结肠中水通道蛋白的研究却显示AQP3表达下调<sup>[16]</sup>,推测此改变对便秘的加重有一定的延缓作用.以上研究提示结肠黏膜中AQP4、AQP3的表达异常在“泻剂结肠”形成与发展中起重要作用.

本实验造模药物大黄酸及大黄均成功复制了“泻剂结肠”大鼠模型,但大黄酸为单体泻剂,药效稳定,避免了大黄成分复杂所致的用药剂量相差较大,排除了品种、产地、采收时间等因素对大黄泻下作用的影响;同时大黄酸粉悬液灌胃后稀便明确,大便性状容易判断,造模周期稳定,解决了大黄造模过程中用药剂量和造模周期与文献报道不一这两个主要问题.大黄酸质量稳定,浓度易于控制,给药方法简单,可重复及可控制性强,适用于慢传输型便秘动物模型的建立.

#### 4 参考文献

- Bharucha AE, Phillips SF. Slow transit constipation. *Gastroenterol Clin North Am* 2001; 30: 77-95 [PMID: 11394038]
- 童卫东, 张胜本, 刘宝华, 张连阳, 黄显凯. 酚酞对大鼠结肠动力及肠神经系统的影响研究. *中华消化杂志* 2003; 23: 723-726
- 张连阳, 高峰, 童卫东, 张胜本, 黄显凯. 大鼠泻剂结肠模型的建立. *世界华人消化杂志* 1998; 6: 864-866
- 郑晨果, 金纯, 金定国. 大鼠泻剂结肠模型的再探讨. *浙江中西医结合杂志* 2006; 16: 687-688
- 张兴, 范一宏, 李延玲, 吕宾, 张璐. 外源性胶质细胞源性神经营养因子对慢传输型便秘大鼠肠道传输功能的影响. *胃肠病学* 2013; 18: 16-19
- 童卫东, 张胜本, 刘宝华, 张连阳, 黄显凯, 高峰. 大黄对大鼠结肠动力及肠神经系统的影响. *世界华人消化杂志* 2003; 11: 665-667
- 张波, 丁义江. 大黄酸建立“泻剂结肠”大鼠模型的研究. *时珍国医国药* 2012; 23: 1815-1816
- Shahid S, Ramzan Z, Maurer AH, Parkman HP, Fisher RS. Chronic idiopathic constipation: more than a simple colonic transit disorder. *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: 150-154 [PMID: 22011587 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318231fc64]
- He CL, Burgart L, Wang L, Pemberton J, Young-Fadok T, Szurszewski J, Farrugia G. Decreased interstitial cell of cajal volume in patients with slow-transit constipation. *Gastroenterology* 2000; 118: 14-21 [PMID: 10611149 DOI: 10.1016/S0016-5085(00)70409-4]
- Lee JI, Park H, Kamm MA, Talbot IC. Decreased density of interstitial cells of Cajal and neuronal cells in patients with slow-transit constipation and acquired megacolon. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 1292-1298 [PMID: 16048580 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2005.03809.x]
- Wedel T, Roblick UJ, Ott V, Eggers R, Schiedeck TH, Krammer HJ, Bruch HP. Oligoneuronal hypoganglionosis in patients with idiopathic slow-transit constipation. *Dis Colon Rectum* 2002; 45: 54-62 [PMID: 11786765 DOI: 10.1007/s10350-004-6114-3]
- 汪兴伟, 刘海峰, 徐梅, 王国安, 孙永刚, 房殿春. 大黄对慢传输型便秘大鼠结肠肌间神经丛胆碱能神经的影响. *重庆医学* 2008; 37: 1685-1689
- 冯素香, 谢新年, 李建生, 屈凌波, 梁生旺, 王淑美. 固相萃取-高效液相色谱法测定大黄酸血药浓度及在大鼠体内的药动学规律. *中国实验方剂学杂志* 2011; 17: 140-143
- 王笑军, 袁维棠, 宋军民, 张志永. 水通道蛋白4在慢传输型便秘患者结肠黏膜的表达和意义. *中华胃肠外科杂志* 2010; 13: 445-447
- 张文生, 李锋, 鲍军强, 王胜春, 尚刚伟, 李军昌, 王长海. 大黄酸对LoVo细胞水通道蛋白4表达的调节效应. *中药材* 2008; 31: 702-706
- 智会, 袁维棠. 水通道蛋白3、4、8在大鼠慢传输型便秘模型结肠黏膜中的表达. *中华胃肠外科* 2011; 14: 459-461

编辑 田滢 电编 鲁亚静



#### ■同行评价

本文设计合理,有一定的实用价值,为研究便秘提供了一种简单模型.

# HIPK2调控COX-2及 $\beta$ -catenin表达对人结直肠癌细胞VEGF表达的影响

胡强, 周利红, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 颜琳琳, 任建琳, 李琦

## ■背景资料

血管新生是结直肠癌发生的重要促进因素, 结直肠癌的生长、浸润、复发和转移均有赖于肿瘤血管的生成。 $\beta$ -catenin信号途径在肿瘤的发生、发展中占据着重要的地位, 该通路的过度激活与多种人类肿瘤的发生有密切的联系, 尤其在结直肠癌的发生发展上, 约90%与该通路过度激活有关。

胡强, 上海市徐汇区大华医院普外科 上海市 200237  
周利红, 刘宣, 隋华, 付晓伶, 颜琳琳, 李琦, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科 上海市 201203  
任建琳, 上海市中医医院肿瘤科 上海市 200071  
胡强, 硕士, 副主任医师, 主要从事胃肠外科的临床与基础研究。  
国家自然科学基金资助项目, Nos. 81303103, 81303106  
上海市科委基金资助项目, Nos. 13140902500, 13ZR1462200  
上海市教委创新基金资助项目, Nos. 12ZZ118, 12YZ058  
上海市卫生局基金资助项目, Nos. 2010161, 2011ZJ030, 20124048  
上海市徐汇区医学科研基金资助项目, No. SHXH201004  
作者贡献分布: 本课题由李琦设计; 研究过程由胡强、周利红、刘宣、隋华、付晓伶及颜琳琳共同完成; 研究所用新试剂与分析工具由胡强与李琦提供; 数据分析由任建琳与周利红共同完成; 本论文写作由胡强与周利红完成。  
通讯作者: 李琦, 主任医师, 博士生导师, 201203, 上海市张衡路528号, 上海中医药大学附属曙光医院肿瘤科。lzwf@hotmail.com  
电话: 021-20256533  
收稿日期: 2013-12-04 修回日期: 2014-01-13  
接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-28

## HIPK2 reduces VEGF expression by regulating expression of COX-2 and $\beta$ -catenin in human colorectal cancer cells

Qiang Hu, Li-Hong Zhou, Xuan Liu, Hua Sui, Xiao-Ling Fu, Lin-Lin Yan, Jian-Lin Ren, Qi Li

Qiang Hu, Dahua Hospital of Xuhui District, Shanghai 200237, China  
Li-Hong Zhou, Xuan Liu, Hua Sui, Xiao-Ling Fu, Lin-Lin Yan, Qi Li, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 201203, China  
Jian-Lin Ren, Shanghai Municipal Hospital of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200071, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, Nos. 81303103 and 81303106; Program of Science and Technology Commission of Shanghai China, Nos. 13140902500 and 13ZR1462200; the Foundation of Shanghai Municipal Education Commission, Nos. 12ZZ118 and 12YZ058; Program of Shanghai Municipal Health Bureau, Nos. 2010161, 2011ZJ030 and 20124048; Medical Research Program of Shanghai Xuhui District Health Bureau, No. SHXH201004  
Correspondence to: Qi Li, Chief Physician, Department of Clinical Oncology, Shuguang Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 528 Zhangheng Road, Shanghai 201203, China. lzwf@hotmail.com  
Received: 2013-12-04 Revised: 2014-01-13  
Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-28

## ■同行评议者

刘海峰, 主任医师, 北京市武警总医院消化科

## Abstract

**AIM:** To study the effects of overexpression

of homeodomain-interacting protein kinase 2 (HIPK2) on the expression of cyclooxygenase 2 (COX-2) and  $\beta$ -catenin in HCT-116 cells, and to explore the regulatory effect of the HIPK2 gene on angiogenic factor expression in human colorectal cancer cells.

**METHODS:** The pEGFP-N3 vector or pEGFP-N3-HIPK2 plasmid was transfected into human colorectal cancer HCT-116 cells using Lipofectamine 2000, and untransfected cells were used as normal controls. The expression of VEGF (vascular endothelial growth factor) in cell culture medium was detected by ELISA assay, and the protein expression of  $\beta$ -catenin was tested by Western blot. The COX-2 promoter containing plasmid pGL3-basic-COX-2 was co-transfected with pRL-SV40 in the three groups above. COX-2 promoter activity was detected by dual luciferase activity assay, and COX-2 mRNA level was determined by real-time PCR.

**RESULTS:** The pEGFP-N3-HIPK2 group and pEGFP-N3 group had the same fluorescent level, and there was no statistically significant difference in HCT-116 cells. The VEGF expression was significantly inhibited ( $857.54 \text{ pg/mL} \pm 65.04 \text{ pg/mL}$  vs  $368.32 \text{ pg/mL} \pm 98.82 \text{ pg/mL}$ ,  $P < 0.05$ ) after pEGFP-N3-HIPK2 plasmid transfection. COX-2 promoter activity and mRNA expression were significantly lower in the pEGFP-N3-HIPK2 group than in the pEGFP-N3 group ( $75.467 \times 10^{-5} \pm 18.666 \times 10^{-5}$  vs  $266.407 \times 10^{-5} \pm 40.902 \times 10^{-5}$ ,  $1.07 \times 10^{-4} \pm 0.32 \times 10^{-4}$  vs  $3.48 \times 10^{-4} \pm 0.64 \times 10^{-4}$ ,  $P < 0.05$  for both). HIPK2 could inhibit the protein expression of  $\beta$ -catenin but up-regulate p- $\beta$ -catenin expression.

**CONCLUSION:** pEGFP-N3-HIPK2 transfection significantly increased the expression of HIPK2, and reduced the transcription of the COX2 gene and VEGF level in human colorectal cancer HCT-116 cells. The mechanisms may be related to the inhibition of COX-2 and  $\beta$ -catenin expression in cells, and regulation of  $\beta$ -catenin-COX-2 signal transduction.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Homeodomain-interacting protein kinases 2; Vascular endothelial growth factor; Colorectal cancer; Angiogenesis; Cyclooxygenase-2

Hu Q, Zhou LH, Liu X, Sui H, Fu XL, Yan LL, Ren JL, Li Q. HIPK2 reduces VEGF expression by regulating expression of COX-2 and  $\beta$ -catenin in human colorectal cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1266-1274 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1266.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1266>

## 摘要

**目的:** 研究同源结构域相互作用蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinases 2, *HIPK2*)基因重组质粒对HCT-116细胞环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)及 $\beta$ -catenin表达的影响, 探讨*HIPK2*基因对人结直肠癌细胞血管新生因子表达的调节作用。

**方法:** 采用脂质体将pEGFP-N3和pEGFP-N3-*HIPK2*质粒转染人结直肠癌细胞, 分为正常组、载体质粒组和*HIPK2*质粒组, ELISA法检测细胞培养液中血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达, Western blot检测 $\beta$ -catenin蛋白表达情况。在上述3组细胞中同时转染含*COX-2*基因启动子质粒pGL3-basic-COX-2后, 双荧光素酶活性检测*COX-2*启动子的表达, Real-time PCR检测COX-2 mRNA的表达水平。

**结果:** HCT-116细胞中pEGFP-N3-*HIPK2*质粒组的荧光表达量与载体质粒pEGFP-N3组的表达量基本一致, 两组相比无明显差异。转染pEGFP-N3-*HIPK2*质粒后, HCT-116细胞内VEGF的表达量由对照组的 $857.54 \text{ pg/mL} \pm 65.04 \text{ pg/mL}$ 降低至 $368.32 \text{ pg/mL} \pm 98.82 \text{ pg/mL}$ , 两组相比具有统计学意义( $P < 0.05$ ); *COX-2*启动子活性由空载体组的 $266.407 \times 10^{-5} \pm 40.902 \times 10^{-5}$ 下降至 $75.467 \times 10^{-5} \pm 18.666 \times 10^{-5}$ , 两组相比具有统计学意义( $P < 0.05$ ); COX-2 mRNA的相对表达量由空载体组的 $3.48 \times 10^{-4} \pm 0.64 \times 10^{-4}$ 下调至 $1.07 \times 10^{-4} \pm 0.32 \times 10^{-4}$ , 两组相比具有统计学意义( $P < 0.05$ )。同时, Western blot结果显示, *HIPK2*可明显降低细胞 $\beta$ -catenin的蛋白表达, 上调细胞内p- $\beta$ -catenin蛋白的表达量。

**结论:** pEGFP-N3-*HIPK2*可明显上调HCT-116细胞*HIPK2*的表达, 显著下调人结直肠癌细胞COX-2的转录表达及VEGF的表达水平, 其作

用机制可能与其抑制细胞COX-2及 $\beta$ -catenin表达, 调节 $\beta$ -catenin-COX-2信号转导有关。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 同源结构域相互作用蛋白激酶2; 血管内皮生长因子; 结直肠癌; 血管新生; 环氧合酶2

**核心提示:** 目前研究认为, 同源结构域相互作用的蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinases 2)基因是一种在大肠癌细胞中低表达的抑癌基因, 我们研究发现其抑制结直肠癌细胞血管内皮生长因子表达可能与其下调细胞内环氧合酶2(cyclooxygenase 2)及 $\beta$ -catenin表达有关, 其详细的作用机制尚有待于进一步的研究及探讨。

胡强, 周利红, 刘宣, 隋华, 付晓玲, 颜琳琳, 任建琳, 李琦. *HIPK2*调控COX-2及 $\beta$ -catenin表达对人结直肠癌细胞VEGF表达的影响. *世界华人消化杂志* 2014; 22(9): 1266-1274 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1266.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1266>

## 0 引言

血管新生是结直肠癌发生的重要促进因素, 结直肠癌的生长、浸润、复发和转移均有赖于肿瘤血管的生成。 $\beta$ -catenin信号途径在肿瘤的发生、发展中占据着重要的地位, 该通路的过度激活与多种人类肿瘤的发生有密切的联系, 尤其在结直肠癌的发生、发展上, 约90%与该通路过度激活有关。同源结构域相互作用的蛋白激酶2(homeodomain-interacting protein kinases 2, *HIPK2*)与肿瘤的发生发展关系密切, *HIPK2*能调节转录、凋亡、细胞生长和进展, 既作为转录共阻遏物又作为激酶, 而对一些功能蛋白产生影响。环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)是花生四烯酶转化为前列腺素的限速酶, 是 $\beta$ -catenin信号途径的下游靶基因, 在恶性肿瘤中特别是大肠癌细胞中过表达, 促进大肠癌的发生。肿瘤细胞中*HIPK2*过表达可能通过调节细胞内 $\beta$ -catenin及COX-2的活性而下调血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)的表达, 从而对结直肠癌血管新生产生抑制作用。本研究利用成功构建的人*HIPK2*基因重组质粒pEGFP-N3-*HIPK2*, 将重组质粒转染人结直肠癌HCT-116细胞, 观察*HIPK2*基因在HCT-116细胞中的表达情况及其对HCT-116细胞 $\beta$ -catenin-COX-2信号通路的调控作用, 以期探讨*HIPK2*基因对人结直肠癌细胞血管新生因子表达的调节

## ■研究前沿

Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路是细胞内常见的信号通路, 在肿瘤的发生、发展中占据着重要的地位, 该通路的过度激活与多种人类肿瘤的发生有密切的联系, 尤其在大肠癌的发生、发展上, 约90%大肠癌发生与该通路过度激活有关。癌基因 $\beta$ -catenin在细胞质的积累牵涉到多种人类肿瘤及其血管新生的进程,  $\beta$ -catenin可被多种生化机制调节, 但具体的机制尚不明确。



## ■ 相关报道

Kim研究小组最先发现与同源结构域转录因子相互作用的保守丝氨酸/苏氨酸激酶-同源结构域相互作用的蛋白激酶(homeodomain-interacting protein kinases, HIPKs)。目前已知该激酶有3个亚型,分别为HIPK1、HIPK2、HIPK3,其中HIPK2与肿瘤的发生发展关系密切, HIPK2既作为转录共阻遏物又作为激酶,能调节肿瘤细胞转录、凋亡、生长和进展。

作用,为临床上抗结直肠癌的作用靶点研究提供思路及途径。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人结直肠癌HCT-116细胞(购自中国科学院上海细胞库),细胞培养于含10%胎牛血清的R/MINI 1640培养基,置于5%CO<sub>2</sub>、37℃及饱和湿度的培养箱中培养。pGL3-Basic-COX-2重组质粒、pRL-SV40内参质粒、pEGFP-N3载体质粒及人HIPK2基因重组质粒pEGFP-N3-HIPK2均由上海中医药大学附属曙光医院肿瘤实验室提供。HilyMax转染脂质体(购自日本同仁化学研究所);人VEGF ELISA试剂盒(美国Bio Sources公司);Dual-Luciferase Assay System试剂盒(美国Promega公司);Rnaiso试剂、RNA的反转录试剂盒、Real-time PCR试剂盒(日本TaKaRa公司);BCA Protein Assay Kit(HyClone-Pierce,货号:23225);Prestained protein marker(中晶公司,货号:SM0441);ECL-PLUS/Kit(Amersham公司货号:RPN2132);医用X射线光片(Kodak公司);X线胶片显影粉(上海冠龙照相材料厂);X线胶片定影粉(上海冠龙照相材料厂)。双人垂直流超净工作台(新加坡ESCO公司, SVE-6A1),台式个人型高速离心机(德国Eppendorf公司, Minispan),台式高速冷冻离心机(德国Eppendorf公司, 5804R),银质梯度PCR仪(德国Eppendorf公司, Mastercycler Ep),荧光定量PCR仪(美国ABI公司, Prism® 7300型),生物分光光度计(德国Eppendorf公司, RS-232-C),高精度电子天平(德国Sartorius Stedim Biotech公司, CP225D),酶标仪(美国BioRad公司, 680),化学发光仪(美国Promega公司, GloMix 20/20),荧光倒置显微镜(日本OLYMPUS公司, CKX41/U-RFLT50), CO<sub>2</sub>培养箱(英国RSBiotech公司, GALAXYS)。

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:**人结直肠癌HCT-116细胞,用含10%小牛血清的Mycos's 5A培养基于置于体积分数5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度、37℃孵箱中常规培养,每1-2天传代一次。传代时,吸除瓶中培养液,加细胞消化液1 mL,消化贴壁细胞,吸取培养液轻轻吹打瓶壁,使其脱离瓶壁形成单个细胞悬液,取对数生长期的细胞用于实验。

**1.2.2 pEGFP-N3-HIPK2质粒转染细胞:**将上述常规培养的人结直肠癌HCT-116细胞随机分为空白组、载体质粒组、重组质粒组,分别按如下剂量加入不同的质粒进行瞬时转染:(1)空白

组:正常HCT-116细胞( $n = 3$ );(2)载体质粒组:pEGFP-N3( $n = 3$ );(3)重组质粒组:pEGFP-N3-HIPK2 ( $n = 3$ )。在1.5 mL的离心管中配制待转染质粒(1.0 μg/孔)、转染脂质体Hily-Max(4.5 μL/孔)复合物,将待转染质粒稀释至不含血清和抗菌素的Mycos's 5A培养基中,混合均匀,然后将转染脂质体悬液,室温温育5 min。最后将两者混合在一起,充分混匀静置20 min,使质粒与脂质体充分结合。然后直接加入到细胞培养中,在37℃ 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养24-72 h,荧光倒置显微镜下观察绿色荧光蛋白的表达情况。

**1.2.3 pGL3-Basic-COX-2启动子质粒共转染HCT-116细胞:**将培养于含有10%新生牛血清、100 U/mL青霉素、100 μg/mL链霉素Mycos's 5A完全培养基(37℃ 5%CO<sub>2</sub>、饱和湿度)的人结直肠癌HCT-116细胞株,按 $1 \times 10^6$ 个细胞/孔的量在24孔板中接种指数生长期的细胞,在37℃ 5%CO<sub>2</sub>培养箱中过夜培养,直到细胞密度达到60%-80%。将上述常规培养的人结直肠癌HCT-116细胞随机分为对照组、载体质粒处理组、重组质粒处理组,分别按如下剂量加入不同的质粒进行瞬时转染:(1)对照组:转染pGL3-Basic-COX-2质粒和PRL-SV40内参质粒( $n = 3$ );(2)载体质粒处理组:转染pGL3-Basic-COX-2质粒、PRL-SV40内参质粒和pEGFP-N3质粒( $n = 3$ );(3)重组质粒处理组:转染pGL3-Basic-COX-2质粒、PRL-SV40内参质粒和pEGFP-N3-HIPK2重组质粒( $n = 3$ )。按上述分组将每一组细胞均转染含人COX-2基因启动子重组质粒和pRL-SV40内参质粒,不同处理组分别加转染pEGFP-N3载体质粒和pEGFP-N3-HIPK2重组质粒,转染48 h后使用化学发光法检测各组细胞的双荧光素酶活性。

**1.2.4 化学发光法检测双荧光素酶活性:**将上述24孔板中转染pGL3-Basic-COX-2重组质粒和pRL-SV40内参质粒的HCT-116细胞于转染3-5 h后吸除质粒/脂质体/Mycos's 5A复合物,以完全培养基为空白对照,分别在各组细胞中加入含TanIIA 4、8、12、16、20 μmol/L的Mycos's 5A培养基,每组设4复孔,继续于5%CO<sub>2</sub>、37℃的培养箱中培养24-48 h,一般于培养48 h后进行双荧光素酶活性。细胞内双荧光素酶活性检测采用美国Promega公司提供的Dual-Luciferase Assay System试剂盒检测,分别用萤火虫荧光素酶的值除以海肾荧光素酶的值,所得到的比值(RLU1/RLU2)即可反映COX-2基因启动子的转

录活性。

**1.2.5 ELISA法检测细胞培养液中VEGF的表达:**取常规培养对数生长期的人结直肠癌HCT-116细胞, 0.25%的胰蛋白酶将培养瓶中的细胞消化, 用含10%小牛血清的Mycoy's 5A培养液稀释细胞, 配制成单个细胞悬液, 充分混匀后调整细胞浓度至 $1 \times 10^5/\text{mL}$ , 以每孔500  $\mu\text{L}$ 的量接种于3个24孔细胞培养板中, 置于5% $\text{CO}_2$ 、饱和湿度、37  $^\circ\text{C}$ 培养箱中培养。将24孔板中的人结直肠癌HCT-116细胞共分为3组, 每组4个复孔: (1)空白对照组: 加入空白培养液; (2)pEGFP-N3组: 转染pEGFP-N3质粒; (3)pEGFP-N3-HIPK2组: 转染pEGFP-N3-HIPK2质粒。按上述分组及要求对细胞进行pEGFP-N3、pEGFP-N3-HIPK2质粒转染处理24、48 h。作用不同时间点后, 将每孔中的细胞培养液分别收集到1.5 mL的离心管中, 5000 r/min离心5 min, 每孔各取100  $\mu\text{L}$ 培养液上清, 按试剂盒提供的操作步骤进行ELISA法检测细胞培养液中VEGF的表达情况。

**1.2.6 Western blot检测蛋白表达:**细胞总蛋白抽提: 从培养箱中取出细胞, 弃去细胞培养液, PBS洗涤2次, 弃去PBS, 加入适量预冷的2 $\times$ Lysis Buffer, 细胞刮刮下细胞, 将样品转移入Ep管中, 冰上裂解细胞10-15 min, 超声破碎仪破碎细胞(200 W共4次, 每次5 s, 间隔2 s), 4  $^\circ\text{C}$ , 12000  $g$ , 离心15 min, 取上清, 测蛋白浓度后, 每个样品蛋白终浓度均调整为2  $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ , -80  $^\circ\text{C}$ 保存备用。上样样品准备: 每个样品取相同总蛋白量, 加入相同体积的2 $\times$ loading buffer上样缓冲液, 混匀后, 沸水浴煮5-10 min, 4  $^\circ\text{C}$ 存放备用。SDS-PAGE: 制胶: 根据目的蛋白分子量大小配制不同浓度的胶; 上样: 等胶凝固好后, 拔去梳子, 电泳缓冲液清洗上样孔, 将准备好的样品上样; 电泳: 30 mA电泳2 h。免疫印迹(湿转): 电泳结束后, 使用转移电泳装置, 在4  $^\circ\text{C}$ 、400 mA恒流条件下电转120 min, 将蛋白转移到PVDF膜上。免疫显色: (1)封闭: 用封闭液(含5%脱脂牛奶的TBST溶液)室温封闭PVDF膜1 h或4  $^\circ\text{C}$ 过夜; (2)一抗孵育: 封闭液稀释抗体, 然后与封闭好的PVDF膜室温孵育2 h或4  $^\circ\text{C}$ 过夜; (3)洗膜: TBST洗膜3次, 每次10 min; (4)二抗孵育: 用封闭液稀释相应的二抗, 室温下孵育PVDF膜2 h; (5)洗膜: TBST洗膜3次, 每次10 min; (6)采用Amersham公司ECL+plus<sup>TM</sup> Western blotting system试剂盒进行显色; (7)X光显影: 在暗房中进行, 获得显示条带的胶片。

**1.2.7 Real-time PCR检测mRNA表达:**用RNAiso试剂提取细胞总RNA, 溶解于40-60  $\mu\text{L}$ 的DEPC水中, 于55  $^\circ\text{C}$ -60  $^\circ\text{C}$ 放置10 min助溶; 紫外分光光度计测定 $A_{260/280}$ 值, 推算RNA纯度(1.8-2.0即可); 将各试剂按以下剂量加入到200  $\mu\text{L}$  EP管中, 混合均匀: 5 $\times$ PrimeScript Buffer 4  $\mu\text{L}$ , PrimeScript RT Enzyme Mix I 1  $\mu\text{L}$ , Oligo dT Primer (50  $\mu\text{mol/L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , Random 6 mers (100  $\mu\text{mol/L}$ ) 1  $\mu\text{L}$ , Total RNA 4  $\mu\text{L}$ , Rnase free water up to 20  $\mu\text{L}$ , 反应条件: 37  $^\circ\text{C}$  15 min, 85  $^\circ\text{C}$  5 s, 反应结束所得cDNA保存于-20  $^\circ\text{C}$ 。荧光定量PCR: 采用已合成的GAPDH和COX-2基因上下游引物和探针, 将上述cDNA分别按以下剂量加入到8联管中, 每个基因做12个复孔: Forward Primer 0.4  $\mu\text{L}$ , Reverse Primer 0.4  $\mu\text{L}$ , Probe 0.8  $\mu\text{L}$ , cDNA 2  $\mu\text{L}$ , Rox Reference Dye 0.4  $\mu\text{L}$ , Premix EX Taq 10  $\mu\text{L}$ , ddH<sub>2</sub>O up to 20  $\mu\text{L}$ , 反应条件: 预变性: 95  $^\circ\text{C}$ , 10 s; 变性: 95  $^\circ\text{C}$ , 5 s; 退火、延伸: 60  $^\circ\text{C}$ , 31 s, 40个循环, 所得到的数据采用ABI 7300 SDS软件分析。相对mRNA表达水平的计算: 每个样本的相对mRNA表达, 能直接用样品各自的内源控制物GAPDH表达来标准化加入的初始RNA的量。即每个样品的靶基因的相对mRNA表达水平可以用以下公式计算: 相对mRNA表达 =  $2^{-\Delta\text{Ct}}$ , ( $\Delta\text{Ct}$  = 靶基因Ct值-GAPDH Ct值)。以GAPDH作为内参, 同时以正常HCT-116细胞作用为基准, 各组mRNA的表达量表示成正常HCT-116细胞的N倍( $N = 2^{-\text{样品}\Delta\text{Ct}}/2^{-\text{基准}\Delta\text{Ct}}$ )。

**统计学处理** 采用SPSS18.0专用统计软件包对数据进行统计分析, 所得到的数据以mean $\pm$ SD表示, 多样本均数比较用单因素方差分析; 各组两两比较采用Student-Newman-Keuls检验, 组间比较用 $t$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 重组质粒对人结直肠癌细胞HIPK2表达的影响** 按照阳离子脂质体质粒转染技术, 将pEGFP-N3载体质粒与pEGFP-N3-HIPK2重组质粒转染人结直肠癌HCT-116细胞24 h后, 用荧光倒置显微镜观察细胞绿色荧光表达情况。结果显示如图1所示, HIPK2基因重组质粒转染细胞12 h就可以观察到细胞表达绿色荧光, 与转染pEGFP-N3载体质粒组相比, 其表达效果无明显统计学意义( $P > 0.05$ )。

**2.2 HIPK2对人结直肠癌细胞VEGF表达的抑制作用** 正常培养对数生长期的人结直肠癌

### ■创新盘点

本研究通过构建HIPK2基因CDS序列质粒转染人结直肠癌细胞, 发现HIPK2基因重组质粒能在人结直肠癌细胞中稳定表达, 可抑制HCT-116细胞VEGF的表达水平, 及环氧合酶2(cyclooxygenase 2, COX-2)启动子和mRNA的活性, 并下调细胞内 $\beta$ -catenin的蛋白表达, 促进 $\beta$ -catenin蛋白的表达水平。

### ■应用要点

将利用人HIPK2基因重组质粒pEGFP-N3-HIPK2转染人结直肠癌细胞,观察其对肠癌细胞 $\beta$ -catenin-COX-2信号通路的调控作用,探讨HIPK2基因对人结直肠癌细胞血管新生因子表达的调节作用,为临床上抗结直肠癌的作用靶点研究提供思路及途径。

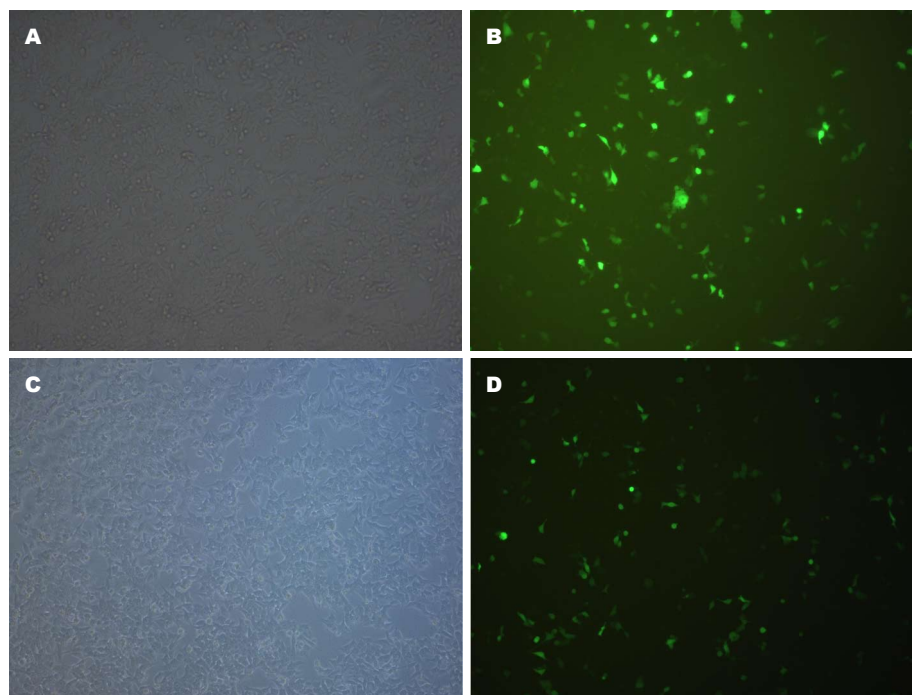


图1 pEGFP-N3-HIPK2重组质粒在人结直肠癌中的表达。A: pEGFP-N3正常光; B: pEGFP-N3荧光; C: pEGFP-N3-HIPK2正常光; D: pEGFP-N3-HIPK2荧光。

HCT-116细胞,分为正常组、pEGFP-N3载体质粒转染组、pEGFP-N3-HIPK2重组质粒转染组,采用阳离子脂质体法分别进行培养液处理、转染pEGFP-N3载体质粒和转染pEGFP-N3-HIPK2重组质粒。转染后正常培养24 h,收集细胞上清,采用ELISA试剂盒法检测细胞培养液中VEGF的浓度。结果如图2所示,空白培养液处理组和载体质粒处理组的细胞培养液中,VEGF的浓度较高,分别为 $886.63 \text{ pg/mL} \pm 34.86 \text{ pg/mL}$ 和 $857.54 \text{ pg/mL} \pm 24.04 \text{ pg/mL}$ ,而HIPK2重组质粒转染后,VEGF的浓度显著下调为 $368.32 \text{ pg/mL} \pm 27.82 \text{ pg/mL}$ ,具有统计学意义。

2.3 HIPK2对人结直肠癌细胞COX-2活性的影响 正常HCT-116细胞、转染pEGFP-N3载体质粒的HCT-116细胞和转染pEGFP-N3-HIPK2重组质粒的HCT-116细胞,分别共转染含COX-2启动子重组质粒的pGL3-Basic-COX-2启动子,转染48 h后使用化学发光法检测各组细胞的双荧光素酶活性、Real-time PCR法检测细胞内COX-2 mRNA的表达。结果如图3所示, HIPK2基因能明显抑制人结直肠癌细胞萤火虫荧光素酶活性,说明HIPK2基因抑制了细胞内COX-2启动子的转录活性,两者相比具有明显的统计学意义。同时, HIPK2基因对COX-2 mRNA和蛋白表达均具有抑制作用,结果如表1所示。

2.4 HIPK2基因对 $\beta$ -catenin蛋白表达的影响 将指数生长期的HCT-116细胞接种于10 cm培养皿中,接种密度为60%-80%,接种6 h后,分别进行培养液处理、转染pEGFP-N3载体质粒和转染pEGFP-N3-HIPK2重组质粒,处理12、24、36 h后,分别提取细胞总蛋白,采用Western blot法检测细胞内 $\beta$ -catenin蛋白的表达情况,结果如图4所示, HIPK2可以明显抑制 $\beta$ -catenin蛋白的表达,上调细胞内磷酸化 $\beta$ -catenin蛋白p- $\beta$ -catenin的表达。

### 3 讨论

肿瘤血管新生(tumor angiogenesis)或血管生成(vascularization)是实体瘤生长非常关键的因素,恶性肿瘤的生长、浸润和转移有赖于肿瘤血管的生成。如果没有血管新生,原发瘤生长不会超过1-2 mm,其继续生长必须依赖新血管的形成,以提供足够的营养和氧,带走代谢产物<sup>[1]</sup>,同时,新生血管管壁不完整,呈高通透状态,有利于肿瘤细胞的转移。肿瘤血管生成受两者有机调控,一旦血管生成因子上调或血管生成抑制因子功能障碍,二者平衡被打破即发生肿瘤血管新生<sup>[2,3]</sup>。肿瘤细胞分泌的血管生成因子能将增强新血管生成和增殖的特殊基因激活和蛋白表达的信号传递到正常组织周围,从而使血管内皮细胞加速分化,产生微血管包绕到肿瘤组织周围,从而促进肿瘤



表1 HIPK2对HCT-116细胞环氧合酶2基因mRNA表达的影响( $n=3$ , mean  $\pm$  SD)

分组	环氧合酶2 mRNA( $\times 10^{-4}$ )
空白组	3.72 $\pm$ 0.46
pEGFP-N3组	3.48 $\pm$ 0.64
pEGFP-N3-HIPK2组	1.07 $\pm$ 0.32 <sup>a</sup>

<sup>a</sup> $P<0.05$  vs pEGFP-N3组. HIPK2: 同源结构域相互作用蛋白激酶2.

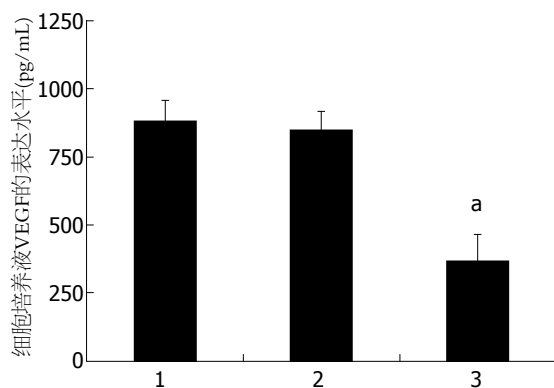


图2 HIPK2对人结直肠癌细胞VEGF表达的抑制作用. 1: 对照组; 2: pEGFP-N3组; 3: pEGFP-N3-HIPK2组. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs pEGFP-N3组. VEGF: 血管内皮生长因子; HIPK2: 同源结构域相互作用蛋白激酶2.

侵袭和转移. 因此, 有效调控血管生成和抑制因子间的动态平衡, 是抗肿瘤血管生成的治疗关键和作用靶点<sup>[4]</sup>.

影响血管新生的因素较多, 机制极其复杂, 目前认为, 以VEGF家族和血管生成素(angio-genin, Ang)家族为代表的血管生成因子在肿瘤血管新生中扮演了重要的角色. VEGF是一种糖基化分泌性多肽因子, 分子量约4.3 kDa, 是作用最强的促血管生长因子, 能特异性刺激血管内皮细胞增殖与血管生成<sup>[5]</sup>. 可直接作用于血管内皮细胞, 刺激其有丝分裂的发生, 从而促进新血管的生成, 也可通过增加血管通透性, 使包括许多基质形成重要因子的血浆蛋白外渗, 为血管内皮细胞的迁移及肿瘤细胞的转移提供基质<sup>[6]</sup>. 已发现多种恶性肿瘤中VEGF表达增高, 并认为其与其与肿瘤的生长, 血管的新生有关<sup>[7]</sup>. VEGF与大肠癌的发生、发展、浸润程度及淋巴结转移关系密切, 干预VEGF的生成及其产生的作用途径或破坏其受体可抑制大肠癌肿瘤血管生成, 从而抑制大肠癌的生长、转移, 为临床治疗本病提供了新思路. Ang是与血管新生密切相关的一类血管生长调节因子, Ang-2是该家族目前已发现

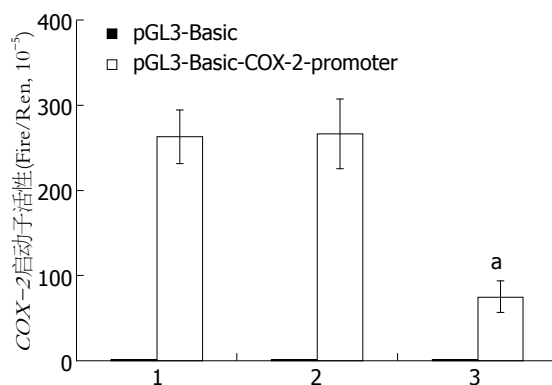


图3 HIPK2对人结直肠癌细胞COX-2启动子活性的影响. 1: 对照组; 2: pEGFP-N3组; 3: pEGFP-N3-HIPK2组. <sup>a</sup> $P<0.05$  vs pEGFP-N3组. COX-2: 环氧合酶2; HIPK2: 同源结构域相互作用蛋白激酶2.

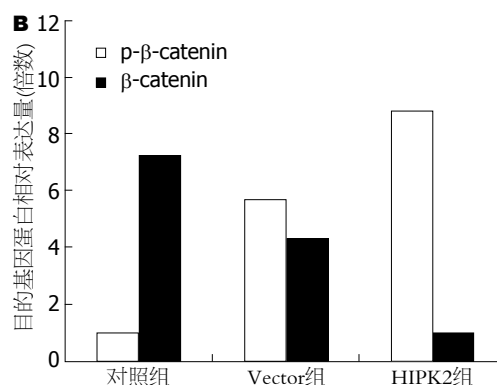
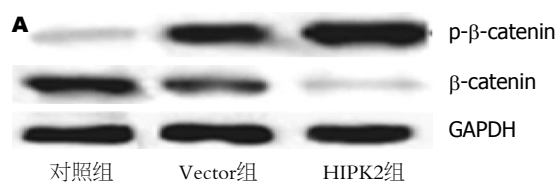


图4 HIPK2对人肠癌细胞 $\beta$ -catenin蛋白表达的影响. A: Western blot结果; B: 目的蛋白相对表达量. HIPK2: 同源结构域相互作用蛋白激酶2.

的4个成员(Ang-1、2、3、4)之一. Ang-2是Ang家族成员参与血管形成的早期启动、激活阶段, 通过拮抗Ang-1离断内皮细胞与血管周细胞的作用, 在VEGF协同下促进血管出芽、生长, 与肿瘤血管生成密切相关<sup>[8,9]</sup>. 临床病例分析表明, Ang-2在人大肠癌组织呈现过度表达, 与癌旁正常组织相比具有显著差异性( $P<0.01$ ), 证实Ang-2可能在直肠癌的发生发展中起着重要作用<sup>[10]</sup>.

研究证实, VEGF和Ang-2的产生受到其上游诸多信号通路的调控和基因的介导, 特别是许多致癌基因蛋白的激活(如 $\beta$ -catenin、COX-2、HIF-1 $\alpha$ 等), 促进了肿瘤形成过程中VEGF和Ang-2的过表达和释放. 我们前期研究发现, 作为多数肿瘤细胞中重要的肿瘤标志基

#### ■名词解释

血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF), 是一种糖基化分泌性多肽因子, 分子量约4.3 kDa, 是作用最强的促血管生长因子, 能特异性刺激血管内皮细胞增殖与血管生成. 可直接作用于血管内皮细胞, 刺激其有丝分裂的发生, 从而促进新血管的生成, 也可通过增加血管通透性, 使包括许多基质形成重要因子的血浆蛋白外渗, 为血管内皮细胞的迁移及肿瘤细胞的转移提供基质.

## ■同行评价

作者研究了 *HIPK2* 基因对人结直肠癌细胞血管新生因子表达的调节作用, 发现 *HIPK2* 基因抑制结直肠癌细胞血管内皮生长因子表达可能与其下调细胞 *COX-2* 及  $\beta$ -catenin 表达有关, 为临床上抗结直肠癌的作用靶点研究提供思路及途径。研究设计合理、科学性较强, 有一定的创新性, 文笔流畅, 可读性好, 是一篇不错的基础研究论文。

因, *COX-2* 的过度表达能明显上调人结直肠癌 HCT-116 细胞 VEGF 的表达水平, 在促进肿瘤血管新生和侵袭转移过程中发挥着重要的作用。Kawasaki 等<sup>[11]</sup> 研究显示, 结直肠癌细胞中 *COX-2* 过表达与细胞质  $\beta$ -catenin 蛋白的大量积累有关,  $\beta$ -catenin 对于稳定细胞内 *COX-2* mRNA 表达具有重要的作用, 并且 Wnt/ $\beta$ -catenin 通路的激活伴随着 *COX-2* 表达的大量增加。结合本课题组的前期研究基础, 我们有理由推断 Wnt/ $\beta$ -catenin-*COX-2* 通路的激活是结直肠癌血管新生的重要环节, 如何对其进行调控是防治结直肠癌血管新生新的治疗靶点。

大量研究显示, Wnt/ $\beta$ -catenin 信号途径在肿瘤的发生、发展中占据着重要的地位<sup>[12]</sup>, 该通路的过度激活与多种人类肿瘤的发生有密切的联系, 尤其在大肠癌的发生、发展上, 约 90% 的大肠癌发生与该通路过度激活有关<sup>[13,14]</sup>。Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路主要由胞膜上的 Wnt 受体在外界信号的刺激下, 活化胞质内散乱蛋白 Dsh, Dsh 被磷酸化后抑制  $\beta$ -catenin 降解复合体, 包括结直肠腺瘤性息肉肉基因 (adenomatous polyposis coli, APC)、Axin、糖原合成酶激酶 3 $\beta$  (glycogen synthase kinase 3 $\beta$ , GSK3 $\beta$ ) 和 CK1 $\alpha$ 。降解  $\beta$ -catenin,  $\beta$ -catenin 降解复合体异常 (如 APC 或 axin 突变等) 和  $\beta$ -catenin 基因本身突变均可致  $\beta$ -catenin 降解障碍, 在胞质内积累继而进入细胞核, 激活转录因子 Tcf-4/LEF<sup>[15]</sup>, 启动靶基因 (如 *cyclinD1*、*TGF-1*、*MMP-7*、*VEGF*、*EGFR*<sup>[16]</sup> 等) 的转录。

作为 Wnt/ $\beta$ -catenin 信号通路一个最基本的组成部分, 癌基因  $\beta$ -catenin 在细胞质的积累牵涉到多种人类肿瘤及其血管新生的进程。 $\beta$ -catenin 可被多种生化机制调节, 但具体机制尚不明确。大多数研究认为,  $\beta$ -catenin 信号通路可被肿瘤抑制基因 APC 的突变所激活, 也有部分研究认为,  $\beta$ -catenin 本身在 GSK3 $\beta$  磷酸化位点的突变可导致  $\beta$ -catenin 在细胞质内的积聚, 并作为转录激活因子诱导包含于细胞生长中一些靶基因的表达。作为  $\beta$ -catenin 激活转录重要的靶基因, VEGF 对体内外肿瘤血管新生均能产生有效的诱导作用, 肿瘤发展通常由细胞 VEGF 表达上调后增加对周围微血管供应所控制, 而 VEGF 表达的抑制作用则可以减少裸鼠体内肿瘤体积和抑制肿瘤血管新生。因此, 探讨减少胞质  $\beta$ -catenin 积累, 靶向调节 VEGF 的作用机制, 对于抑制结直肠癌血管新生具有重要意义。

1998 年, Kim 研究小组<sup>[17]</sup> 发现了一种新

的核蛋白激酶家族, 是一个与同源结构域转录因子相互作用的保守丝氨酸/苏氨酸核激酶, 因能够增强同源蛋白转录活性, 故命名为 HIPKs。目前已知该激酶有 3 个亚型, 分别为 HIPK1、HIPK2、HIPK3, 其中 HIPK2 与肿瘤的发生发展关系密切, HIPK2 能调节转录、凋亡、细胞生长和进展, 既作为转录共阻遏物又作为激酶, 而对一些功能蛋白产生影响<sup>[18]</sup>。D'Orazi 课题组经过近十年的研究发现, *HIPK2* 在细胞内作为一个肿瘤抑制基因, 通过多种方式影响肿瘤的生长, 如: 促进 p53 的凋亡功能、抑制 MDM2 或 CtBP 抗凋亡活性、抑制 HIF-1 $\alpha$  的转录表达等<sup>[19-21]</sup>。

大量研究证实<sup>[22-24]</sup>,  $\beta$ -catenin 信号转导通路中的 Axin 与 HIPK2、p53 形成一个三联复合物, 激活 p53 依赖的转录和凋亡。在 Wnt 信号通路中, Axin 和通路中的许多组份相互影响, 包括肿瘤抑制因子 APC、CK1 $\alpha$ 、GSK3 $\beta$  和  $\beta$ -catenin。因为  $\beta$ -catenin 在 Ser-37、Ser-33 位点可被 GSK3 $\beta$  磷酸化, 所以该复合物通过多重、多层次的磷酸化事件 (如  $\beta$ -Trcp 和靶向蛋白酶体降解等) 促进  $\beta$ -catenin 的降解。HIPK2 能够下调 cPLA2 诱导的前列腺素 E2 产物, 而沉默 HIPK2 表达可以增加体内肿瘤生长和肿瘤血管生成。同时, 最新研究显示<sup>[25-27]</sup>, 肿瘤细胞中 HIPK2 过表达通过调控  $\beta$ -catenin 的活性而调节 VEGF、EGFR、转化生长因子- $\beta$  等因子的活性, 影响肿瘤的进展。

本项目组前期对  $\beta$ -catenin 蛋白调节 VEGF 对大肠癌血管新生及侵袭转移进行了大量的研究<sup>[28-30]</sup>, 发现其调节受到诸多因素的影响, 但是机制尚不清楚。研究通过前期构建的 pEGFP-N3-HIPK2 重组质粒转染人结直肠癌细胞, 上调 HCT-116 细胞内 *HIPK2* 基因的表达水平, 检测 HIPK2 对人结直肠癌细胞  $\beta$ -catenin 及 *COX-2* 表达的调控作用。研究结果显示, *HIPK2* 基因重组质粒能在人结直肠癌细胞中稳定表达, 其表达效果与对照组相比无明显统计学意义。HIPK2 可明显抑制 HCT-116 细胞 VEGF 的表达水平, 及 *COX-2* 启动子和 mRNA 的活性, 并下调细胞内  $\beta$ -catenin 的蛋白表达, 促进 p- $\beta$ -catenin 蛋白的表达水平。根据结果, 我们可以推断, HIPK2 抑制结直肠癌细胞血管内皮生长因子表达可能与其下调细胞内 *COX-2* 及  $\beta$ -catenin 表达有关, 其详细的作用机制尚有待于进一步的研究及探讨。

## 4 参考文献

- 1 Ferrara N. VEGF and the quest for tumour angio-

- genesis factors. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 795-803 [PMID: 12360282 DOI: 10.1038/nrc909]
- 2 Folkman J. Seminars in Medicine of the Beth Israel Hospital, Boston. Clinical applications of research on angiogenesis. *N Engl J Med* 1995; 333: 1757-1763 [PMID: 7491141 DOI: 10.1056/NEJM199512283332608]
- 3 Thompson WD, Li WW, Maragoudakis M. The clinical manipulation of angiogenesis: pathology, side-effects, surprises, and opportunities with novel human therapies. *J Pathol* 2000; 190: 330-337 [PMID: 10685066]
- 4 Cherrington JM, Strawn LM, Shawver LK. New paradigms for the treatment of cancer: the role of anti-angiogenesis agents. *Adv Cancer Res* 2000; 79: 1-38 [PMID: 10818676 DOI: 10.1016/S0065-230X(00)79001-4]
- 5 Senger DR, Galli SJ, Dvorak AM, Perruzzi CA, Harvey VS, Dvorak HF. Tumor cells secrete a vascular permeability factor that promotes accumulation of ascites fluid. *Science* 1983; 219: 983-985 [PMID: 6823562 DOI: 10.1126/science.6823562]
- 6 Guo WJ, Li J, Chen Z, Zhuang JY, Gu WH, Zhang L, Pang J, Lu CH, Zhang WZ, Cheng YF. Transient increased expression of VEGF and MMP-1 in a rat liver tumor model after hepatic arterial occlusion. *Hepato-gastroenterology* 2004; 51: 381-386 [PMID: 15086165]
- 7 Bates DO, Harper SJ. Regulation of vascular permeability by vascular endothelial growth factors. *Vascul Pharmacol* 2002; 39: 225-237 [PMID: 12747962 DOI: 10.1016/S1537-1891(03)00011-9]
- 8 Holash J, Wiegand SJ, Yancopoulos GD. New model of tumor angiogenesis: dynamic balance between vessel regression and growth mediated by angiopoietins and VEGF. *Oncogene* 1999; 18: 5356-5362 [PMID: 10498889 DOI: 10.1038/sj.onc.1203035]
- 9 Goede V, Schmidt T, Kimmina S, Kozian D, Augustin HG. Analysis of blood vessel maturation processes during cyclic ovarian angiogenesis. *Lab Invest* 1998; 78: 1385-1394 [PMID: 9840613]
- 10 李霞, 朱尤庆, 罗峻, 陶文惠, 黄超, 张金梅. 血管生成素-2与基质金属蛋白酶-7在大肠癌中的表达及意义. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 434-437
- 11 Kawasaki T, Nosho K, Ohnishi M, Suemoto Y, Kirkner GJ, Dehari R, Meyerhardt JA, Fuchs CS, Ogino S. Correlation of beta-catenin localization with cyclooxygenase-2 expression and CpG island methylator phenotype (CIMP) in colorectal cancer. *Neoplasia* 2007; 9: 569-577 [PMID: 17710160 DOI: 10.1593/neo.07334]
- 12 Reya T, Clevers H. Wnt signalling in stem cells and cancer. *Nature* 2005; 434: 843-850 [PMID: 15829953 DOI: 10.1038/nature03319]
- 13 Thorstensen L, Lind GE, Løvig T, Diep CB, Meling GL, Rognum TO, Lothe RA. Genetic and epigenetic changes of components affecting the WNT pathway in colorectal carcinomas stratified by microsatellite instability. *Neoplasia* 2005; 7: 99-108 [PMID: 15802015 DOI: 10.1593/neo.04448]
- 14 Tetsu O, McCormick F. Beta-catenin regulates expression of cyclin D1 in colon carcinoma cells. *Nature* 1999; 398: 422-426 [PMID: 10201372 DOI: 10.1038/nature18884]
- 15 Shimokawa T, Furukawa Y, Sakai M, Li M, Miwa N, Lin YM, Nakamura Y. Involvement of the FGF18 gene in colorectal carcinogenesis, as a novel downstream target of the beta-catenin/T-cell factor complex. *Cancer Res* 2003; 63: 6116-6120 [PMID: 14559787]
- 16 Tan X, Apte U, Micsenyi A, Kotsagrellos E, Luo JH, Ranganathan S, Monga DK, Bell A, Michalopoulos GK, Monga SP. Epidermal growth factor receptor: a novel target of the Wnt/beta-catenin pathway in liver. *Gastroenterology* 2005; 129: 285-302 [PMID: 16012954 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.04.013]
- 17 Kim YH, Choi CY, Lee SJ, Conti MA, Kim Y. Homeodomain-interacting protein kinases, a novel family of co-repressors for homeodomain transcription factors. *J Biol Chem* 1998; 273: 25875-25879 [PMID: 9748262 DOI: 10.1074/jbc.273.40.25875]
- 18 Pierantoni GM, Bulfone A, Pentimalli F, Fedele M, Iuliano R, Santoro M, Chiariotti L, Ballabio A, Fusco A. The homeodomain-interacting protein kinase 2 gene is expressed late in embryogenesis and preferentially in retina, muscle, and neural tissues. *Biochem Biophys Res Commun* 2002; 290: 942-947 [PMID: 11798164 DOI: 10.1006/bbrc.2001.6310]
- 19 D'Orazi G, Cecchinelli B, Bruno T, Manni I, Higashimoto Y, Saito S, Gostissa M, Coen S, Marchetti A, Del Sal G, Piaggio G, Fanciulli M, Appella E, Soddu S. Homeodomain-interacting protein kinase-2 phosphorylates p53 at Ser 46 and mediates apoptosis. *Nat Cell Biol* 2002; 4: 11-19 [PMID: 11780126 DOI: 10.1038/ncb714]
- 20 Di Stefano V, Blandino G, Sacchi A, Soddu S, D'Orazi G. HIPK2 neutralizes MDM2 inhibition rescuing p53 transcriptional activity and apoptotic function. *Oncogene* 2004; 23: 5185-5192 [PMID: 15122315 DOI: 10.1038/sj.onc.1207656]
- 21 Nardinocchi L, Puca R, Guidolin D, Belloni AS, Bossi G, Michiels C, Sacchi A, Onisto M, D'Orazi G. Transcriptional regulation of hypoxia-inducible factor 1alpha by HIPK2 suggests a novel mechanism to restrain tumor growth. *Biochim Biophys Acta* 2009; 1793: 368-377 [PMID: 19046997 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2008.10.013]
- 22 Rubinfeld B, Albert I, Porfiri E, Fiol C, Munemitsu S, Polakis P. Binding of GSK3beta to the APC-beta-catenin complex and regulation of complex assembly. *Science* 1996; 272: 1023-1026 [PMID: 8638126 DOI: 10.1126/science.272.5264.1023]
- 23 Ikeda S, Kishida S, Yamamoto H, Murai H, Koyama S, Kikuchi A. Axin, a negative regulator of the Wnt signaling pathway, forms a complex with GSK-3beta and beta-catenin and promotes GSK-3beta-dependent phosphorylation of beta-catenin. *EMBO J* 1998; 17: 1371-1384 [PMID: 9482734 DOI: 10.1093/emboj/17.5.1371]
- 24 Liu C, Li Y, Semenov M, Han C, Baeg GH, Tan Y, Zhang Z, Lin X, He X. Control of beta-catenin phosphorylation/degradation by a dual-kinase mechanism. *Cell* 2002; 108: 837-847 [PMID: 11955436 DOI: 10.1016/S0092-8674(02)00685-2]
- 25 Puca R, Nardinocchi L, D'Orazi G. Regulation of vascular endothelial growth factor expression by homeodomain-interacting protein kinase-2. *J Exp Clin Cancer Res* 2008; 27: 22 [PMID: 18644116 DOI: 10.1186/1756-9966-27-22]
- 26 Shang Y, Doan CN, Arnold TD, Lee S, Tang AA, Reichardt LF, Huang EJ. Transcriptional corepressors HIPK1 and HIPK2 control angiogenesis via TGF- $\beta$ -TAK1-dependent mechanism. *PLoS Biol* 2013; 11: e1001527 [PMID: 23565059 DOI: 10.1371/journal.pbio.1001527]
- 27 Hofmann TG, Stollberg N, Schmitz ML, Will H. HIPK2 regulates transforming growth factor-beta-induced c-Jun NH(2)-terminal kinase activation and apoptosis in human hepatoma cells. *Cancer Res*



- 2003; 63: 8271-8277 [PMID: 14678985]
- 28 刘宣, 王炎, 李丹光, 周利红, 殷佩浩, 隋华, 范忠泽, 李琦. 丹参酮IIA对COX-2激活Wnt  $\beta$ -catenin信号通路介导的人肠癌细胞VEGF表达的调控作用. 中华中医药杂志 2013; 28: 108-112
- 29 刘宣, 李丹光, 周利红, 王炎, 殷佩浩, 季青, 范忠泽, 李琦. COX-2/PGE2激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路调控人肠癌细胞VEGF表达. 第二军医大学学报 2012; 33: 1178-1181
- 30 刘宣, 王炎, 殷佩浩, 周利红, 范忠泽, 李琦. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对人肠癌细胞VEGF表达的调控作用. 中国癌症杂志 2012; 22: 567-571

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 胃泌素与骨桥蛋白在胃癌及癌前病变组织中表达的相关性

苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛

苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛, 贵州省遵义医学院附属医院  
消化内科 贵州省遵义市 563003

苏薇, 住院医师, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

贵州省科技厅基金资助项目, No. 黔科专合字[2010]3085

作者贡献分布: 苏薇与吴会超对此文所作贡献均等; 此课题由苏薇与吴会超设计; 研究过程由苏薇操作完成; 研究所用新试剂与分析工具由吴会超提供; 数据分析由苏薇完成; 本论文写作由苏薇完成, 由所有作者共同完成本文。

通讯作者: 吴会超, 主任医师, 563003, 贵州省遵义市大连路遵义医学院附属医院消化内科。 wuhuichao985@163.com

收稿日期: 2013-12-17 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Correlation between expression of gastrin and osteopontin in gastric carcinoma

Wei Su, Hui-Chao Wu, Ying-Ying Yang, Yuan-Yuan Mu

Wei Su, Hui-Chao Wu, Ying-Ying Yang, Yuan-Yuan Mu,  
Department of Gastroenterology, Affiliated Hospital of  
Zunyi Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province,  
China

Supported by: the Foundation of Science and Technology  
Department of Guizhou Province, No. [2010]3085

Correspondence to: Hui-Chao Wu, Chief Physician, De-  
partment of Gastroenterology, Affiliated Hospital of Zunyi  
Medical College, Zunyi 563003, Guizhou Province,  
China. wuhuichao985@163.com

Received: 2013-12-17 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To explore the correlation between the expression of gastrin and osteopontin (OPN) in gastric cancer.

**METHODS:** The expression of gastrin and OPN was determined by immunohistochemistry in 60 gastric specimens including 20 cases of normal gastric mucosa, 20 cases of dysplasia and 20 cases of gastric carcinoma.

**RESULTS:** The expression levels of OPN and gastrin had an increasing tendency from normal gastric mucosa to precancerous lesions and gastric carcinoma ( $P < 0.05$ ). Correlation analysis showed that there was a positive correlation between the expression of gastrin and OPN. The expression of OPN was significantly related to

tumor differentiation and stage ( $P < 0.05$  for both), but not to age or sex.

**CONCLUSION:** OPN and gastrin expression is increased in gastric cancer. There was a positive relationship between the expression of gastrin and OPN. Up-regulated expression of OPN may be the reason why gastrin plays a key role in the development of gastric cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Gastrin; Osteopontin; Gastric cancer

Su W, Wu HC, Yang YY, Mu YY. Correlation between expression of gastrin and osteopontin in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1275-1279 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1275>

## 摘要

**目的:** 探讨胃泌素(gastrin, Gas)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在胃癌组织中表达的相互关系。

**方法:** 取正常胃黏膜(normal gastric mucosa, NGM)、不典型增生(dimethyl sulfoxide, Dys)及胃癌组织(gastric cancer, GC)各20例, 采用SP免疫组织化学法检测各组织中Gas、OPN蛋白的表达变化。

**结果:** 免疫组织化学结果显示: Gas的表达在胃癌组和不典型增生组均高于正常组, 差异存在统计学意义( $P < 0.05$ ), 胃癌组高于不典型增生组( $P < 0.05$ ); OPN的表达在胃癌组和不典型增生组均高于正常组( $P < 0.05$ ), 胃癌组高于不典型增生组( $P < 0.05$ )。经Spearman等级相关分析结果显示: 胃泌素与OPN表达呈正相关( $r = 0.483, P < 0.05$ )。OPN表达与胃癌分期、浸润深度及有无远处转移有关( $P < 0.05$ ), 随胃癌的进展和浸润深度表达增多( $P < 0.05$ ), 与分化程度、性别、年龄无关。

**结论:** OPN与Gas在胃癌组织中均表达增加, OPN表达与Gas表达呈正相关关系。胃泌素诱

## ■背景资料

胃癌是危害人类健康的主要恶性肿瘤之一, 胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第2位。据流行病学资料显示, 大多数胃癌患者因治疗后复发和远处转移, 最终导致机体多器官功能衰竭而引发死亡。胃癌的发生、发展和转移是一个比较复杂的生物学过程, 常伴随着某些细胞因子及信号通路的改变, 近年来随着研究的不断深入, 对胃泌素(gastrin, Gas)、血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor)、基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases)及表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor)等细胞因子的研究逐渐成为探索胃癌转移机制的热点, 并且发现他们在胃癌转移过程中发挥着重要作用。与胃癌的发生、发展、浸润及转移密切相关。

## ■同行评议者

蒋敬庭, 教授, 常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

## ■研究前沿

较多的研究发现Gas可以促进MMP的分泌,从而促进胃癌细胞的侵袭转移潜能。同样,OPN促进肿瘤细胞侵袭转移也与其促进MMP表达密切相关。迄今,调控Gas和OPN分泌的机制尚不完全清楚。Gas与OPN之间是否具有相关性,尚需进一步探索。随着研究的进一步深入, Gas与OPN有望成为肿瘤治疗中的新靶点。

导OPN表达增强,可能是胃泌素促进胃癌发生发展的机制之一。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃泌素; 骨桥蛋白; 胃癌

**核心提示:** 胃泌素(gastrin)和骨桥蛋白(osteopontin, OPN)在肿瘤的发生、发展及转移中发挥着重要作用,由于其可以释放入患者的血液循环中,可作为一种无创性的肿瘤诊断及治疗标志应用于临床中,现已有很多研究发现多种肿瘤血浆胃泌素和OPN表达水平与肿瘤进展及预后相关。

苏薇, 吴会超, 杨莹莹, 穆媛媛. 胃泌素与骨桥蛋白在胃癌及癌前病变组织中表达的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1275-1279 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1275.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1275>

## 0 引言

胃癌是一种消化系统最常见的恶性肿瘤。研究发现胃泌素(gastrin, Gas)可通过多种途径促进胃癌的发生发展<sup>[1]</sup>,但其具体作用机制目前还不清楚,是否还有其他因子与其促癌作用有关尚待实验证明。近年来骨桥蛋白(osteopontin, OPN)与胃肠道肿瘤密切相关的报道日渐增多。研究显示OPN与各种癌症的致癌潜能相关,他能作用于肿瘤转移的多个环节,促进细胞黏附、浸润,促进血管生成和抑制凋亡<sup>[2-5]</sup>。Junnila等<sup>[4]</sup>研究发现,OPN在胃癌组织中过表达,提示OPN在胃癌的发生、发展中具有重要的作用。胃癌组织中OPN mRNA表达增高的患者的复发率明显高于低表达患者,提示OPN mRNA的表达与胃癌的预后具有密切的关系。较多的研究发现胃泌素可以促进基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinases, MMPs)的分泌,从而促进胃癌细胞的侵袭转移潜能<sup>[6,7]</sup>。同样,OPN促进肿瘤细胞侵袭转移也与其促进MMP表达密切相关<sup>[8-10]</sup>。迄今,调控Gas和OPN分泌的机制尚不完全清楚。Gas与OPN之间是否具有相关性,尚需进一步探索。随着研究的进一步深入, Gas与OPN有望成为肿瘤治疗中的新靶点。本文采用免疫组织化学法测定胃癌及癌前病变组织中Gas和OPN表达的相关情况,据此探讨骨桥蛋白在胃癌变过程中的作用及分析Gas和骨桥蛋白两者之间表达的相互关系和生物学意义,深入了解胃癌发生的具体机制,并为以Gas受体拮抗剂及OPN为靶点防治胃癌开辟新的途径提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2011-01/2011-03我院内镜中心,内镜钳取及手术切除的正常胃黏膜、不典型增生及胃癌组织各20例,其中男32例,女28例,中位年龄56岁。胃癌组织中:早期胃癌6例,中晚期胃癌(进展期)14例;高分化胃癌(分化好)8例,中分化及低分化胃癌(分化较差及分化差)12例。入选标准:(1)有明确的病理资料,诊断清楚;(2)未接受过放、化疗等抗肿瘤治疗及非甾体抗炎药(nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs)、质子泵抑制剂(proton pump inhibitors, PPIs)、糖皮质激素治疗的患者。排除标准:入选标准外的均排除。兔抗人OPN单克隆抗体(即用型)购自Abcam公司,兔抗人Gas多克隆抗体(即用型)购自北京博奥森生物技术公司。

**1.2 方法** 采用SP免疫组织化学法测定不同胃黏膜组织中Gas和OPN蛋白的表达,应用IPP6.0(image proplus6.0)软件,对染色阳性区域的染色累积光密度(sum IA)及平均光密度(density mean)进行测定。固定采图的光源强度、曝光时间、增益、伽玛值及IPP选取阳性区域时的条件,且采图前均进行白平衡设定。累积光密度反映整张切片上阳性目标的总量,即目标抗原蛋白的总量,因累积光密度太大,以平均光密度(density mean)表示并进行统计分析。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件对数据进行分析。组间比较采用单因素方差分析,实验结果用mean±SD表示; Gas与OPN在胃癌病变过程中表达的相关性采用Spearman相关分析。检验水准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 OPN在不同胃黏膜组织中的表达情况** OPN蛋白表达主要在细胞质,阳性颗粒呈棕黄色或棕褐色,OPN在正常胃黏膜鲜见表达;在胃癌组织中和不典型增生胃黏膜中均有表达,不典型增生胃黏膜中OPN多数为浅着色;在胃癌组织中OPN主要在胃癌细胞表达,颜色较深,呈弥漫分布(图1)。从正常胃黏膜组织→不典型增生组织→胃癌组织,OPN的表达强度呈逐渐递增趋势(表1),差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中胃癌组的染色强度明显高于正常胃黏膜,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

在胃癌组织中,OPN表达无性别差异,无年龄差异(患者分为<60岁及>60岁两个年龄组);高分化组与低分化组中OPN表达无统计学差异。



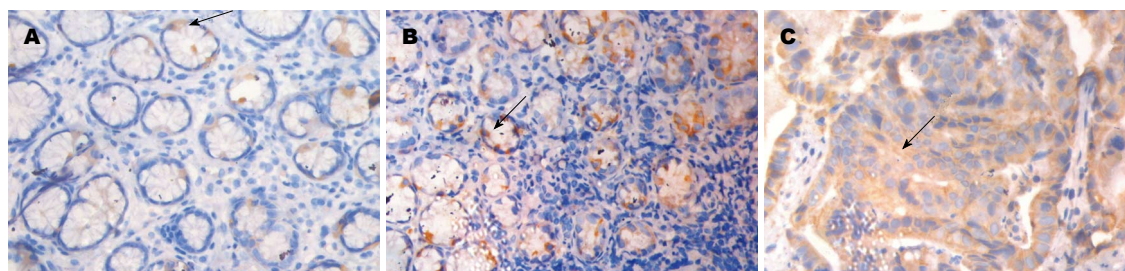


图 1 OPN的表达(SP × 100). A: 正常胃黏膜; B: 不典型增生中; C: 胃癌组织. OPN: 骨桥蛋白.

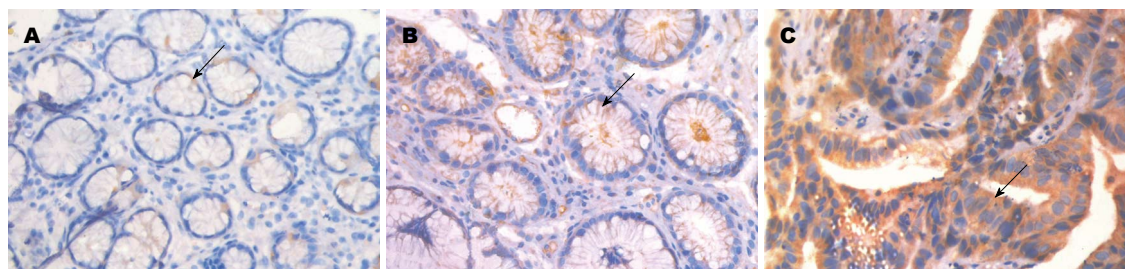


图 2 Gas的表达(SP × 100). A: 正常胃黏膜; B: 不典型增生中; C: 胃癌组织. Gas: 胃泌素.

#### ■创新盘点

迄今, 调控Gas和OPN分泌的机制尚不完全清楚. Gas与OPN之间是否具有相关性, 尚需进一步探索. 随着研究的深入, Gas与OPN有望成为肿瘤治疗中的新靶点.

表 1 Gas、OPN在不同病变胃黏膜中表达的情况( $n = 20$ , mean ± SD)

分组	Gas表达水平	OPN表达水平
NGM组	0.0784 ± 0.0234	0.0543 ± 0.0175
DYS组	0.1091 ± 0.0286 <sup>a</sup>	0.0768 ± 0.0254 <sup>a</sup>
GC组	0.1486 ± 0.0314 <sup>a,c</sup>	0.1168 ± 0.0334 <sup>a,c</sup>

<sup>a</sup> $P < 0.05$  vs NGM组; <sup>c</sup> $P < 0.05$  vs DYS组. Gas: 胃泌素; OPN: 骨桥蛋白. NGM: 正常胃黏膜; DYS: 不典型增生; GC: 胃癌.

早期胃癌组与进展期胃癌组的OPN表达存在统计学差异( $P < 0.05$ )(表2).

**2.2 Gas在不同胃黏膜组织中的表达情况** Gas蛋白主要表达于细胞质或细胞膜, 阳性颗粒呈棕黄色或棕褐色. 在正常胃黏膜组织中, Gas阳性细胞散在点状分布; 在不典型增生组织中可见Gas阳性细胞呈片状分布、着色较强; 在胃癌组织中Gas阳性细胞着色强、呈弥漫性分布(图2). 从正常胃黏膜组织→不典型增生组织→胃癌组织, Gas的表达强度呈逐渐递增趋势(表1). Gas表达在胃癌组和不典型增生组均高于正常组( $P < 0.05$ ), 胃癌组高于不典型增生组( $P < 0.05$ ).

**2.3 胃黏膜组织中Gas表达与OPN表达的相关性** 经Spearman等级相关分析结果显示: 从NGM→GC, 胃黏膜组织中Gas与OPN表达呈正相关( $r = 0.483$ ,  $P < 0.05$ ).

### 3 讨论

胃癌是危害人类健康的主要恶性肿瘤之一, 胃癌的致死率位居所有肿瘤致死率的第2位<sup>[1]</sup>. 胃癌的发生、发展和转移是一个比较复杂的生物学过程, 常伴随着某些细胞因子及信号通路的改变, 近年来随着研究的不断深入, 对Gas、VEGF、MMPs及EGFR等细胞因子的研究逐渐成为探索胃癌转移机制的热点, 并且发现他们在胃癌转移过程中发挥着重要作用, 与胃癌的发生、发展、浸润及转移密切相关. 随着分子生物学技术的发展, 进一步研究肿瘤侵袭和转移的分子基础, 寻找与胃癌侵袭转移相关的分子生物学标志物, 对胃癌侵袭转移的预测、预后评估及合理的综合治疗等均有十分重要的意义.

**3.1 Gas、OPN与胃癌的相关性** 人们研究最早、最多的胃肠肽类激素就是Gas, 其促癌作用已得到充分肯定. 目前有大量研究证实Gas能够促进胃癌的发生发展, 但具体机制还不明确. Goetze等<sup>[11]</sup>研究表明胃癌组织内可检出Gas表达, 阳性率为80%. Mishra等<sup>[10,12]</sup>和Ito等<sup>[13]</sup>研究表明Gas参与胃癌的生长及转移过程, 本实验结果显示: 在胃癌组织中存在Gas的高表达, 此结果与上述文献报道的一致.

OPN是一种分泌性非胶原型、富含唾液的磷酸化糖蛋白, 是SIBLING家族中的一员. Coppola等<sup>[14]</sup>应用免疫组织化学方法对11例胃

## ■同行评价

本文有一定新颖性,具有一定指导意义。

表 2 胃癌组织中OPN的表达 (mean ± SD)

临床病理特征	OPN表达水平
性别	
男	0.0861 ± 0.0343
女	0.0897 ± 0.0365
年龄(岁)	
>60	0.1043 ± 0.0513
<60	0.0932 ± 0.0411
分化程度	
高分化	0.0663 ± 0.0427
低分化	0.0667 ± 0.0361
时期	
早期	0.0729 ± 0.0272
进展期	0.1428 ± 0.0314

OPN: 骨桥蛋白。

癌组织的OPN表达状况进行了检测, 结果发现, OPN蛋白的表达率为100%。Imano等<sup>[15]</sup>研究结果提示: OPN在胃癌的侵袭和远处转移过程中可能起着重要的作用。本实验结果表明: 与正常胃黏膜相比较, 胃癌组织中存在OPN蛋白的过表达。另外, 我们研究还发现OPN在早期胃癌组与进展期组中表达存在差异性( $P<0.05$ ), 随胃癌的进展OPN表达增多, OPN蛋白的过表达可能与胃癌的侵袭转移有密切关系; 该结果与以上文献报道结果一致。

**3.2 Gas、OPN在不同胃组织中的差异表达** 王丽等<sup>[2]</sup>研究发现Gas在浅表性胃炎中表达很低, 在不典型增生及胃癌中表达增高, 且呈逐渐增高的趋势; 郝波等<sup>[16]</sup>的研究中, 80.4%(37/46)的胃癌标本呈OPN阳性表达, 而12例正常胃黏膜组织均未见OPN阳性表达, 本实验结果表明: 在正常黏膜、不典型增生胃黏膜、胃癌3种病变组织中, OPN和Gas的阳性表达率随病变程度加重呈逐渐上升趋势, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ), 该结果与文献报道一致。

**3.3 Gas与OPN表达的相互关系** 本实验结果表明人胃癌及癌前病变组织中均有Gas及OPN表达, 胃癌组织中存在OPN蛋白的过表达, OPN蛋白的过表达可能与胃癌的侵袭转移有密切关系, 且Gas与OPN的蛋白表达呈正相关; 由此推断: Gas可能通过诱导OPN表达的升高促进胃癌的发生发展。另外, 我们研究还发现OPN在早期胃癌组与进展期组中表达存在差异性( $P<0.05$ ), 随胃癌的进展OPN表达增多, 提示OPN可能是胃癌预后不良的预测因子之一, 这可能与促进新生

血管形成, 从而促进肿瘤生长、转移有关。随着对Gas促癌作用机制的深入研究, 相信在不久的将来会出现愈来愈多的相关分子靶向药物, 从而为胃肠肿瘤的综合防治开辟新的途径。

## 4 参考文献

- Hotta K, Oyama T, Akamatsu T, Tomori A, Hasebe O, Nakamura N, Kojima E, Suga T, Miyabayashi H, Ohta H. A comparison of outcomes of endoscopic submucosal dissection (ESD) For early gastric neoplasms between high-volume and low-volume centers: multi-center retrospective questionnaire study conducted by the Nagano ESD Study Group. *Intern Med* 2010; 49: 253-259 [PMID: 20154428]
- 王丽, 周丽雅, 李渊, 金珠, 韩亚京. 胃泌素在胃炎与胃癌中表达的差异及意义. *中国微创外科杂志* 2011; 11: 435-438
- Higashiyama M, Ito T, Tanaka E, Shimada Y. Prognostic significance of osteopontin expression in human gastric carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 3419-3427 [PMID: 17896150]
- Junnla S, Kokkola A, Mizuguchi T, Hirata K, Karjalainen-Lindsberg ML, Puolakkainen P, Monni O. Gene expression analysis identifies over-expression of CXCL1, SPARC, SPP1, and SULF1 in gastric cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; 49: 28-39 [PMID: 19780053 DOI: 10.1002/gcc.20715]
- 商冠宁, 赵岩, 王玉名, 孙平. 骨桥蛋白与肿瘤侵袭转移关系的研究进展. *现代肿瘤医学* 2012; 20: 0419-0422
- 陈军, 陈发龙, 曾丽霞. 骨桥蛋白与MMP-9在胃癌中的表达及其临床意义. *现代肿瘤医学* 2008; 16: 0592-0594
- Weber GF. The metastasis gene osteopontin: a candidate target for cancer therapy. *Biochim Biophys Acta* 2001; 1552: 61-85 [PMID: 11825687]
- Rittling SR, Chambers AF. Role of osteopontin in tumour progression. *Br J Cancer* 2004; 90: 1877-1881 [PMID: 15138464]
- Kermorgant S, Lehy T. Glycine-extended gastrin promotes the invasiveness of human colon cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 285: 136-141 [PMID: 11437383]
- Mishra P, Senthivayagam S, Rangasamy V, Sondarva G, Rana B. Mixed lineage kinase-3/JNK1 axis promotes migration of human gastric cancer cells following gastrin stimulation. *Mol Endocrinol* 2010; 24: 598-607 [PMID: 20150185]
- Goetze JP, Eiland S, Svendsen LB, Vainer B, Hannibal J, Rehfeld JF. Characterization of gastrins and their receptor in solid human gastric adenocarcinomas. *Scand J Gastroenterol* 2013; 48: 688-695 [PMID: 23544442 DOI: 10.3109/00365521.2013.783101]
- Mishra P, Senthivayagam S, Rana A, Rana B. Glycogen Synthase Kinase-3beta regulates Snail and beta-catenin during gastrin-induced migration of gastric cancer cells. *J Mol Signal* 2010; 5: 9 [PMID: 20637111 DOI: 10.1186/1750-2187-5-9]
- Ito M, Tanaka S, Maeda M, Takamura A, Tatsugami M, Wada Y, Matsumoto Y, Yoshihara M, Haruma K, Chayama K. Role of the gastrin-gastrin receptor system in the expansive growth of human gastric neoplasms. *Digestion* 2008; 78: 163-170 [PMID: 19065055 DOI: 10.1159/000181146]
- Coppola D, Szabo M, Boulware D, Muraca P, Alsarraj M, Chambers AF, Yeatman TJ. Correlation of

- osteopontin protein expression and pathological stage across a wide variety of tumor histologies. *Clin Cancer Res* 2004; 10: 184-190 [PMID: 14734468]
- 15 Imano M, Satou T, Itoh T, Sakai K, Ishimaru E, Yasuda A, Peng YF, Shinkai M, Akai F, Yasuda T, Imamoto H, Okuno K, Ito H, Shiozaki H, Ohyanagi H. Immunohistochemical expression of osteopontin in gastric cancer. *J Gastrointest Surg* 2009; 13: 1577-1582 [PMID: 19582521 DOI: 10.1007/s11605-009-0955-y]
- 16 郝波, 张国新, 张伟明, 施瑞华, 王宏娣, 赵志泉. 骨桥蛋白在人胃癌中的表达及其临床意义. *中华消化内镜杂志* 2005; 22: 111-112

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 肝肠钙黏蛋白在新疆哈萨克族、汉族胃腺癌中的表达及意义

谷翠华, 尚国臣, 李睿, 田书信, 陈卫刚, 郑勇

## ■背景资料

研究报道, 在新疆, 胃癌的分布特征具有一定的民族差异, 其中哈萨克族胃癌的死亡率最高, 为41.3/10万, 高于同地区居住的汉族和维吾尔族人群, 而且发病率也较高, 因此寻找哈萨克族胃癌发生或高发的因子对哈萨克族胃癌的诊断和治疗具有重要意义。

谷翠华, 尚国臣, 李睿, 田书信, 陈卫刚, 郑勇, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科 新疆维吾尔自治区石河子市832000

谷翠华, 主要从事消化系统肿瘤的研究。

作者贡献分布: 本文研究设计由郑勇、陈卫刚、李睿及尚国臣完成; 研究过程由谷翠华操作完成; 研究用部分标本由田书信与尚国臣提供; 数据分析由谷翠华完成; 本论文写作由谷翠华与郑勇完成。

通讯作者: 郑勇, 教授, 主任医师, 博士生导师, 国务院“政府特殊津贴”专家, 国家科技支撑计划项目首席科学家, 832002, 新疆维吾尔自治区石河子市北2路, 石河子大学医学院第一附属医院消化内科。zy2850@126.com

收稿日期: 2013-12-24 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Significance of expression of Li-cadherin in gastric adenocarcinoma in Xinjiang Kazakh and Han patients

Cui-Hua Gu, Guo-Chen Shang, Rui Li, Shu-Xin Tian, Wei-Gang Chen, Yong Zheng

Cui-Hua Gu, Guo-Chen Shang, Rui Li, Shu-Xin Tian, Wei-Gang Chen, Yong Zheng, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China

Correspondence to: Yong Zheng, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Shihezi University Medical School, 32 Xiaoqu Beier Road, Shihezi 832000, Xinjiang Uygur Autonomous Region, China. zy2850@126.com

Received: 2013-12-24 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the significance of expression of Li-cadherin in gastric adenocarcinoma in Xinjiang Kazakh and Han patients.

**METHODS:** The mRNA and protein expression of CDH17 was detected by RT-qPCR and immunohistochemistry in 30 gastric adenocarcinoma tissues and 20 normal gastric mucosal tissues from Kazakh patients, as well as 30 gastric adenocarcinoma tissues and 20 normal gastric mucosal tissues from Han patients.

**RESULTS:** The expression level of CDH17

mRNA was significantly higher in gastric adenocarcinoma than in normal gastric mucosal tissue in Kazakh patients ( $1.22 \pm 0.22$  vs  $2.37 \pm 0.30$ ,  $P < 0.001$ ). In Kazakh patients, the positive expression rate of CDH17 protein was 70.0% in gastric adenocarcinoma, and 0 in the normal gastric mucosal tissue. No correlation was found between expression of CDH17 protein and sex, age, or tumor differentiation in gastric adenocarcinoma in Kazakh patients. There was no significant difference in the expression of CDH17 in tumor or normal tissues between Kazakh and Han patients.

**CONCLUSION:** The expression of CDH17 in gastric adenocarcinoma was significantly higher than that in normal gastric mucosal tissues in Kazakh patients, suggesting that CDH17 may play an important role in the occurrence and development of gastric adenocarcinoma in Xinjiang Kazakh patients. There was no significant difference in the expression of CDH17 between Kazakh and Han patients.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Gastric adenocarcinoma; CDH17; Kazakh; Han

Gu CH, Shang GC, Li R, Tian SX, Chen WG, Zheng Y. Significance of expression of Li-cadherin in gastric adenocarcinoma in Xinjiang Kazakh and Han patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1280-1284 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1280.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1280>

## 摘要

**目的:** 探讨肝肠钙黏蛋白(Li-cadherin, CDH17)在新疆哈萨克族、汉族胃腺癌中的表达及意义。

**方法:** 采用RT-qPCR和免疫组织化学的方法分别检测30例哈萨克族胃腺癌、20例哈萨克族正常胃黏膜组织, 以及相应的30例汉族胃

## ■同行评议者

刘颖斌, 主任医师, 上海交通大学医学院附属新华医院

腺癌、20例汉族正常胃黏膜组织中CDH17 mRNA和蛋白的表达情况。

**结果:** (1)RT-qPCR结果显示哈萨克族正常胃黏膜及哈萨克族胃腺癌组织中CDH17 mRNA的表达量分别为 $1.22 \pm 0.22$ 、 $2.37 \pm 0.30$ , 后者较前者明显升高( $P < 0.001$ ); (2)免疫组织化学结果显示CDH17蛋白在哈萨克族胃腺癌中的阳性表达率为70.0%, 而在哈萨克族正常胃黏膜组织中无表达。CDH17蛋白在哈萨克族胃腺癌中的表达与性别、年龄、肿瘤的分化程度无关; (3)CDH17(包括CDH17 mRNA及蛋白)在哈萨克族及汉族胃癌组织中的表达无差异, 在2个民族正常胃黏膜组织中亦如此。

**结论:** (1)CDH17在哈萨克族胃腺癌中的表达显著高于哈萨克族正常胃黏膜组织, 在哈萨克族胃腺癌的发生及发展中可能起重要作用; (2)CDH17在两个民族间的表达无差异。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胃腺癌; CDH17; 哈萨克族; 汉族

**核心提示:** 本研究应用实时荧光定量PCR和免疫组织化学的方法检测了肝肠钙黏蛋白(Li-cadherin, CDH17)在哈萨克族胃腺癌中的表达, 并设置了哈萨克族正常胃黏膜组织为对照, 结果CDH17在哈萨克族胃腺癌中的表达明显高于哈萨克族正常胃黏膜组织, 提示CDH17的高表达参与了哈萨克族胃腺癌的发生, 可作为诊断哈萨克族胃癌的分子标志物; CDH17在哈萨克族及汉族之间的表达无差异, 提示CDH17可能不是哈萨克族胃癌高发的相关因素。

谷翠华, 尚国臣, 李睿, 田书信, 陈卫刚, 郑勇. 肝肠钙黏蛋白在新疆哈萨克族、汉族胃腺癌中的表达及意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1280-1284 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1280.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1280>

## 0 引言

胃癌是世界范围内的第4大常见肿瘤, 其死亡率居癌症死亡率的第2位<sup>[1]</sup>。据报道, 在新疆胃癌的分布特征具有一定的民族差异, 其中哈萨克族胃癌的死亡率为41.3/10万, 高于同地区的汉族和维吾尔族人群(18.5/10万, 14.2/10万), 而且发病率也较高<sup>[2]</sup>, 但是具体原因与机制尚不清楚, 因此探索哈萨克族胃癌发生及高发的因素成为本课题组研究的重点。肝肠钙黏蛋白(Li-cadherin, CDH17)属于黏附分子成员之一, 他依

赖 $Ca^{2+}$ 具有介导细胞间黏附的功能<sup>[3,4]</sup>。研究证实, CDH17的异常表达参与了多种肿瘤的发生发展, 如肝癌、结直肠癌、胆管癌、胰腺癌、胃癌等<sup>[5-8]</sup>。目前CDH17与新疆哈萨克族胃癌的关系尚未见报道, 本实验采用RT-qPCR和免疫组织化学的方法检测了CDH17在哈萨克族胃癌中的表达, 探讨其在哈萨克族胃癌发生中的作用, 并与同地区汉族胃癌的表达情况进行了比较, 旨在为哈萨克族胃癌的诊断、治疗以及高发原因提供一定的理论基础。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集石河子大学医学院第一附属医院2012-09/2013-08胃癌患者手术切除标本及胃镜活检癌组织标本共60例(其中哈萨克族及汉族胃癌各30例), (胃镜活检)正常胃黏膜组织标本40例(其中哈萨克族及汉族各20例)。所有的诊断经两名病理科医师确诊。胃癌为胃腺癌, 原发性。哈萨克族胃癌患者年龄30-70岁, 中位年龄60岁, 其中男性23例, 女性7例。汉族胃癌患者年龄34-81岁, 中位年龄58.5岁, 其中男性18例, 女性12例。所有病例均未行放疗及其他针对肿瘤的治疗。每个标本采集2份, 其中一份在采集后立即放入液氮冷冻, 再放入-80℃保存备用, 一份置于40 g/L甲醛溶液中以制作石蜡标本。兔抗人CDH17单克隆抗体购自Abcam公司; 二抗由石河子大学免疫组织化学实验室提供; 总RNA提取试剂TRIzol购自Invitrogen公司; 逆转录试剂盒购自Takara公司; SYBR Green 1荧光染料购自Roche(罗氏)公司。

### 1.2 方法

**1.2.1 CDH17 mRNA的检测:** 采用RT-qPCR法: 首先用TRIzol法提取新鲜组织总的RNA, 采用紫外分光光度法检测RNA浓度和纯度。之后立即按照反转录试剂盒说明书将RNA反转录为cDNA, 进行PCR扩增。引物序列利用Prime5软件设计并由北京华大基因科技公司合成。CDH17上游序列5'-TATCGGGTACAAGTACAAGTGGTG-3', 下游5'-GATGGCAGAAGAACAAGC-3'(139 bp)。内参为 $\beta$ -actin, 上游5'-ACACTGTGCCCATCTACG-3', 下游5'-TGTCACGCACGATTTC-3'(149 bp)。PCR反应条件为: 95℃预变性30 s、95℃ 10 s、58℃ 30 s、72℃ 30 s共40个循环, 每个样本重复3次。

**1.2.2 RT-qPCR结果判定:** 以汉族正常胃黏膜组为对照组, 以 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示CDH17 mRNA的相对表

### ■研究前沿

肝肠钙黏蛋白(Li-cadherin, CDH17)的异常表达参与了多种肿瘤的发生、发展, 如肝癌、胰腺癌、结直肠癌、胃癌等, CDH17在这些恶性肿瘤中具体的作用及机制已经成为目前的研究热点及重点。

## ■ 相关报道

研究显示, CDH17在胃癌中高表达, 参与了胃癌的发生, 并与胃癌的淋巴结转移和预后密切相关。有学者利用RNA干扰技术抑制CDH17在胃癌中的表达, 结果发现, 胃癌的增殖、黏附、转移能力均明显降低。推测CDH17在胃癌的发生、发展中起促癌因子的作用。但是其在胃癌中具体的作用机制还有待进一步研究。

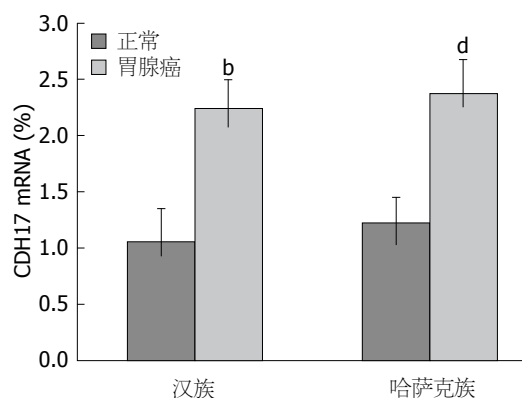


图1 CDH17 mRNA在4组组织中的表达。<sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 汉族正常胃黏膜组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs 哈萨克族正常胃黏膜组; CDH17 mRNA在两个民族的正常胃黏膜组织和胃癌组织之间均无统计学差异。CDH17: 肝肠钙黏蛋白。

定量。

1.2.3 CDH17蛋白的检测: 采用免疫组织化学的方法。将固定好的组织石蜡包埋, 后按4  $\mu$ m厚连续切片, 烤片, 切片脱蜡至水, 抗原修复(高压法), 3%的 $H_2O_2$ 中阻断内源性过氧化物酶(PBS洗2次), 滴加一抗(1:100)4  $^{\circ}C$ 过夜(PBS洗2次), 滴加二抗(北京中杉)室温孵育(PBS洗2次), DAB显色, 水洗终止显色, 复染细胞核, 分化, 脱水透明, 封固(用PBS替代一抗作为空白对照, 人的正常结肠组织作为阳性对照)。

1.2.4 免疫组织化学结果判定: 细胞膜中出现棕黄色颗粒为阳性细胞。每张切片随机选取10个高倍视野(400倍), 按照显色强度及阳性细胞范围采用半定量积分法评分。评分标准如下: (1) 显色深浅: 深棕色为3分, 棕黄色为2分, 浅黄色为1分, 无着色为0分; (2) 阳性细胞百分率: 未见阳性细胞者计0分, <25%计1分, 25%-75%计2分, >75%计3分。以上2项计分相加为最终评定结果, 0分为阴性(-), 1-2分为弱阳性(+), 3-4分为阳性(++), 5-6分则为强阳性(+++)。

**统计学处理** 应用SPSS13.0统计软件进行统计学分析, 多个样本均数的比较采用方差分析; 率的比较采用 $\chi^2$ 检验和Fisher确切概率法( $n < 40$ )。  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 RT-qPCR检测 CDH17 mRNA在汉族正常胃黏膜组织、汉族胃腺癌中的表达量分别为 $1.05 \pm 0.30$ ,  $2.24 \pm 0.25$ , 两者比较差异具有统计学意义( $P = 0.000$ )。CDH17 mRNA在哈萨克族胃腺癌中的表达量显著高于哈萨克族正常胃黏膜组

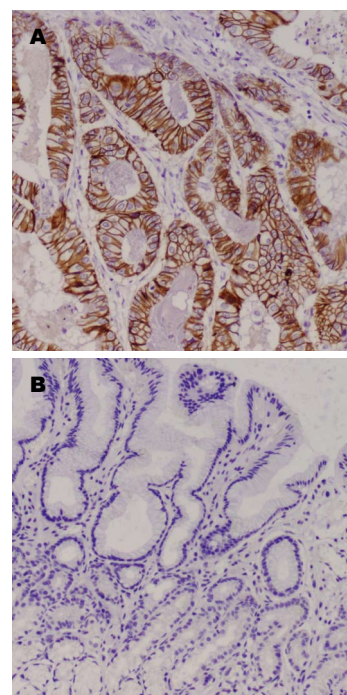


图2 CDH17蛋白的表达(SP  $\times 200$ )。A: 胃腺癌组织CDH17阳性表达; B: 正常胃黏膜组织CDH17阴性表达。

织( $2.37 \pm 0.30$  vs  $1.22 \pm 0.22$ ,  $P = 0.000$ )。对两个民族的表达情况进行比较, 结果CDH17 mRNA在哈萨克族及汉族正常胃黏膜组织及胃癌组织中的表达均无差异( $P = 0.091$ ,  $P = 0.062$ , 均  $P > 0.05$ )(图1)。

2.2 免疫组织化学检测 CDH17蛋白表达于细胞膜(图2)。CDH17蛋白在哈萨克族及汉族胃腺癌组织中的阳性表达率分别为70.0%(21/30)和63.3%(19/30), 两者比较差异无统计学意义( $P = 0.584 > 0.05$ )(表1); 而CDH17蛋白在哈萨克族及汉族正常胃黏膜组织中均无表达。

2.3 CDH17蛋白的表达与临床病理特征的关系 CDH17蛋白在哈萨克族胃腺癌中的表达与患者的性别、年龄及肿瘤的分化程度无关(表2)。

## 3 讨论

CDH17是最近新发现的一种钙黏蛋白, 与以往发现的钙黏蛋白相比, 他最大的不同是其胞外域含有7个钙黏蛋白重复, 而非经典钙黏蛋白的5个, 而且他的胞质区较短少, 仅由约20个氨基酸组成。因此被认为是钙黏蛋白超家族中独特的成员。但是他仍然具有介导细胞间黏附的功能<sup>[9]</sup>, 对生理情况下胚胎发育的细胞识别、组织分化以及病理状况下肿瘤细胞的迁徙、转移等具有重要的作用。



表 1 肝肠钙黏蛋白在新疆哈萨克族、汉族胃癌中的表达 ( $n = 30$ )

分组	+	++	+++	阳性率(%)	$\chi^2$ 值	$P$ 值
哈萨克族	6	10	5	70.0	0.300	0.584
汉族	10	7	2	63.3		

正常情况下, CDH17仅在人的肠道和胰腺导管上皮细胞表达, 而在正常的胃黏膜组织中表达静止或低表达<sup>[10]</sup>. 近年来的研究发现, CDH17在胃腺癌中表达上调, 并与胃腺癌的发展、转移密切相关<sup>[11-15]</sup>. 目前CDH17在胃癌的发生、发展过程中起促癌因子的作用已得到初步的证实, 其可能涉及的分子机制如下: (1) CDH17的上调表达可以激活Wnt信号转导通路, 使 $\beta$ -catenin在胞质中累积, 并进入细胞核, 与转录因子Tcf形成复合物, 最终上调下游靶基因如*cyclin D1*、*c-myc*的表达, 从而促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡<sup>[16]</sup>; (2) CDH17的表达抑制*Rb*基因, 从而使细胞周期调节失控, 导致细胞无限增殖、肿瘤化<sup>[17]</sup>; (3) CDH17的表达可以显著增强MMP-2和MMP-9的活性, 使基底膜和细胞外基质降解, 利于肿瘤细胞的浸润、转移<sup>[16]</sup>. 但是CDH17的结构复杂, 功能多样, 关于他在胃癌发生、进展中具体的作用及可能的机制还需要进一步的研究和证实.

目前国内关于CDH17与胃癌关系的研究主要集中在汉族人群, 而对CDH17与哈萨克族胃癌的关系知之甚少. 本研究检测了CDH17在哈萨克族胃癌中的表达, 结果显示在mRNA和蛋白两个水平上, CDH17在哈萨克族胃腺癌组织中的表达均明显高于哈萨克族正常胃黏膜组织, 提示哈萨克族胃腺癌的发生与CDH17的过表达有关. 免疫组织化学结果显示CDH17在哈萨克族胃腺癌中的表达与肿瘤的分化程度无关, 与王宾等<sup>[18]</sup>和牛建华等<sup>[19]</sup>的研究结果一致. 而Park等<sup>[20]</sup>的研究证实CDH17是高分化胃腺癌的标志物, CDH17在高分化胃腺癌中的表达明显高于低分化腺癌, 分析造成不同结论的原因可能与实验样本个体差异及数量有关.

作为新疆地区胃癌死亡率最高的民族, 哈萨克族胃癌的发病率也较高, 提示除环境、特殊的饮食因素(哈萨克族的饮食缺乏蔬菜和水果, 而具有民族特色的烤肉、奶渣等食物均为高盐食品)外, 哈萨克族与汉族之间可能存在遗传易感性的差异. 本实验对CDH17在2个民族胃癌

表 2 哈萨克族胃癌中肝肠钙黏蛋白的表达与临床病理参数间的关系

临床病理特征	$n$	CDH17的表达		阳性率 (%)	$P$ 值
		阳性	阴性		
性别					1.000
女	7	5	2	71.4	
男	23	16	7	69.6	
年龄(岁)					1.000
≤60	14	10	4	71.4	
>60	16	11	5	68.8	
分化程度					1.000
高-中分化	8	6	2	75.0	
低分化	22	15	7	68.2	

中的表达进行了比较, 结果哈萨克族胃腺癌中CDH17 mRNA及蛋白的表达高于汉族胃癌人群, 但无统计学差异, 在正常胃黏膜组织中亦如此. 因此我们推测CDH17可能不是哈萨克族胃癌高发的相关因素.

尽管如此, 值得肯定的是CDH17的高表达与哈萨克族胃腺癌的发生密切相关, 可作为哈萨克族胃癌诊断的一个分子标志物. 而且目前针对CDH17靶向治疗胃癌的研究已取得了一定的效果, 因此对CDH17的深入研究将为哈萨克族胃癌的诊断和治疗提供新的方向和基础.

#### 4 参考文献

- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108 [PMID: 15761078 DOI: 10.3322/canjclin.55.2.74]
- 刘玺, 陈卫刚, 李睿, 刘芳, 刘晓燕, 康雪, 马聪, 窦玉琴, 郑勇. 新疆哈萨克族胃癌中Smad4基因启动子的甲基化状态. *世界华人消化杂志* 2013; 21: 1907-1913
- Berndorff D, Gessner R, Kreft B, Schnoy N, Lajous-Petter AM, Loch N, Reutter W, Hortsch M, Tauber R. Liver-intestine cadherin: molecular cloning and characterization of a novel Ca(2+)-dependent cell adhesion molecule expressed in liver and intestine. *J Cell Biol* 1994; 125: 1353-1369 [PMID: 8207063 DOI: 10.1083/jcb.125.6.1353]
- Bartolmäs T, Hirschfeld-Ihlow C, Jonas S, Schaefer M, Geßner R. LI-cadherin cis-dimerizes in the plasma membrane Ca(2+) independently and forms highly dynamic trans-contacts. *Cell Mol Life Sci* 2012; 69: 3851-3862 [PMID: 22842778 DOI: 10.1007/s00018-012-1053-y]
- Liu LX, Lee NP, Chan VW, Xue W, Zender L, Zhang C, Mao M, Dai H, Wang XL, Xu MZ, Lee TK, Ng IO, Chen Y, Kung HF, Lowe SW, Poon RT, Wang JH, Luk JM. Targeting cadherin-17 inactivates Wnt signaling and inhibits tumor growth in liver carcinoma. *Hepatology* 2009; 50: 1453-1463 [PMID: 19676131 DOI: 10.1002/hep.23143]
- Lee HJ, Nam KT, Park HS, Kim MA, Lafleur BJ, Aburatani H, Yang HK, Kim WH, Goldenring

#### ■创新盘点

哈萨克族是新疆长期居住的少数民族, 其在居住环境、饮食习惯、遗传学背景等方面与同地区的汉族人群尚存在差异. 目前尚无CDH17与哈萨克族胃癌发生、发展关系的报道, CDH17在哈萨克族及汉族胃癌中的表达差异也未见报道.

## ■同行评议

本文设计合理, 逻辑清晰, 数据可信, 对我国少数民族的胃癌研究有一定指导意义.

- JR. Gene expression profiling of metaplastic lineages identifies CDH17 as a prognostic marker in early stage gastric cancer. *Gastroenterology* 2010; 139: 213-225.e3 [PMID: 20398667 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.04.008]
- 7 Su MC, Yuan RH, Lin CY, Jeng YM. Cadherin-17 is a useful diagnostic marker for adenocarcinomas of the digestive system. *Mod Pathol* 2008; 21: 1379-1386 [PMID: 18552820 DOI: 10.1038/modpathol.2008.107]
- 8 Zhang J, Liu QS, Dong WG. Blockade of proliferation and migration of gastric cancer via targeting CDH17 with an artificial microRNA. *Med Oncol* 2011; 28: 494-501 [PMID: 20393816 DOI: 10.1007/s12032-010-9489-0]
- 9 Kreft B, Berndorff D, Böttinger A, Finnemann S, Wedlich D, Hortsch M, Tauber R, Gessner R. LI-cadherin-mediated cell-cell adhesion does not require cytoplasmic interactions. *J Cell Biol* 1997; 136: 1109-1121 [PMID: 9060475 DOI: 10.1083/jcb.136.5.1109]
- 10 Boo YJ, Park JM, Kim J, Chae YS, Min BW, Um JW, Moon HY. L1 expression as a marker for poor prognosis, tumor progression, and short survival in patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 1703-1711 [PMID: 17211730 DOI: 10.1245/s10434-006-9281-8]
- 11 李曼. 利用基因表达谱芯片筛选胃癌及转移相关差异表达基因的研究. 沈阳: 中国医科大学, 2007
- 12 Wang J, Yu JC, Kang WM, Wang WZ, Liu YQ, Gu P. The predictive effect of cadherin-17 on lymph node micrometastasis in pN0 gastric cancer. *Ann Surg Oncol* 2012; 19: 1529-1534 [PMID: 22009269 DOI: 10.1245/10434-011-2115-3]
- 13 Ito R, Oue N, Yoshida K, Kunimitsu K, Nakayama H, Nakachi K, Yasui W. Clinicopathological significant and prognostic influence of cadherin-17 expression in gastric cancer. *Virchows Arch* 2005; 447: 717-722 [PMID: 16044349 DOI: 10.1007/s00428-005-0015-2]
- 14 Xu Y, Zhang J, Liu QS, Dong WG. Knockdown of liver-intestine cadherin decreases BGC823 cell invasiveness and metastasis in vivo. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 3129-3137 [PMID: 22791949]
- 15 Dong W, Yu Q, Xu Y. Altered expression of a Li-cadherin in gastric cancer and intestinal metaplasia. *Dig Dis Sci* 2007; 52: 536-542 [PMID: 17226075 DOI: 10.1007/s10620-006-9316-9]
- 16 Liu QS, Zhang J, Liu M, Dong WG. Lentiviral-mediated miRNA against liver-intestine cadherin suppresses tumor growth and invasiveness of human gastric cancer. *Cancer Sci* 2010; 101: 1807-1812 [PMID: 20500517 DOI: 10.1111/j.1349-7006.2010.01600.x]
- 17 Qiu HB, Zhang LY, Ren C, Zeng ZL, Wu WJ, Luo HY, Zhou ZW, Xu RH. Targeting CDH17 suppresses tumor progression in gastric cancer by down-regulating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *PLoS One* 2013; 8: e56959 [PMID: 23554857 DOI: 10.1371/journal.pone.0056959]
- 18 王宾, 周崇治, 唐华美, 王权, 温玉刚, 于振海. 肝肠钙粘蛋白在胃癌中的表达及其与患者预后的关系. *中华实验外科杂志* 2011; 28: 714-716
- 19 牛建华, 刘仕琪, 彭心宇, 木拉提, 秦江梅, 曹祝萍. 胃癌及癌前病变中肝肠钙粘蛋白的表达及其意义. *中华普通外科杂志* 2008; 23: 444-446
- 20 Park SS, Kang SH, Park JM, Kim JH, Oh SC, Lee JH, Chae YS, Kim SJ, Kim CS, Mok YJ. Expression of liver-intestine cadherin and its correlation with lymph node metastasis in gastric cancer: can it predict N stage preoperatively? *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 94-99 [PMID: 17063305 DOI: 10.1245/s10434-006-9114-9]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 肝包虫内囊摘除术后胆漏再手术治疗9例

陈长义, 陈耀堂, 李慧明, 田希兰, 张志红, 时煜山

陈长义, 陈耀堂, 李慧明, 田希兰, 张志红, 时煜山, 宁夏回族自治区固原市人民医院普外科 宁夏回族自治区固原市 756000

陈长义, 副主任医师, 主要从事普外科方面的临床工作与研究.

宁夏固原市科技发展计划基金资助项目, No. 2012-06

作者贡献分布: 本研究设计与写作由陈长义完成; 陈耀堂、李慧明、田希兰、张志红及时煜山参与临床诊治.

通讯作者: 陈长义, 副主任医师, 756000, 宁夏回族自治区固原市原州区文化街38号, 宁夏回族自治区固原市人民医院普外科.

ccyi19720501@163.com

收稿日期: 2014-01-06 修回日期: 2014-01-17

接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-28

## Reoperation for biliary leakage after hepatic hydatid cyst removal

Chang-Yi Chen, Yao-Tang Chen, Hui-Ming Li, Xi-Lan Tian, Zhi-Hong Zhang, Yu-Shan Shi

Chang-Yi Chen, Yao-Tang Chen, Hui-Ming Li, Xi-Lan Tian, Zhi-Hong Zhang, Yu-Shan Shi, Department of General Surgery, the People's Hospital of Guyuan, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Supported by: the Science and Technology Development Program of Guyuan City, No. 2012-06

Correspondence to: Chang-Yi Chen, Associate Chief Physician, Department of General Surgery, the People's Hospital of Guyuan, 38 Wenhua Street, Yuanzhou Region, Guyuan 756000, Ningxia Hui Autonomous Region, China. ccyi19720501@163.com

Received: 2014-01-06 Revised: 2014-01-17

Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To summarize the efficacy of reoperation for biliary leakage after hepatic hydatid cyst removal.

**METHODS:** A total of 9 patients with hepatic echinococcosis who underwent hepatic hydatid cyst removal, required long term tube drainage and had recurrent infections at Guyuan City People's Hospital from January 2011 to October 2013 were included in this study. These patients were in good general condition and had no serious heart or lung diseases. Nine patients underwent elective surgery, of whom three had evident residual cavity wall calcification in the right lobe and left lateral lobe and underwent total external cystectomy and hepatic drainage,

and the remaining 6 underwent suturing for bile leak, residual cavity omentum filling and common bile duct T tube drainage because of a potential risk of total external cystectomy due to the fact that the residual cyst cavity was too close to the first and second porta hepatis.

**RESULTS:** In 2 of the 9 patients who underwent reoperation, the daily volume of drainage was about 10-50 mL in the first 3 days after reoperation, and decreased to 5-10 mL on day 5, and the drainage tube was removed on day 7. In the remaining 7 cases, the daily volume of drainage was about 5-10 mL in the first 3 days and diminished gradually, and the drainage tube was removed on day 5. After discharge, all patients underwent follow-up ultrasound each month, and no abnormal changes in the surgical area or effusion were observed. During a telephone follow-up period of 6 mo to 3 years, 2 patients died of other diseases, and the remaining 7 cases recovered well.

**CONCLUSION:** Reoperation is effective in the management of biliary leakage after hepatic hydatid cyst removal.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Hepatic echinococcosis; Biliary leakage; Operation

Chen CY, Chen YT, Li HM, Tian XL, Zhang ZH, Shi YS. Reoperation for biliary leakage after hepatic hydatid cyst removal. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1285-1288 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1285.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1285>

## 摘要

**目的:** 总结肝包虫内囊摘除术后长期带管患者再行手术治疗的效果.

**方法:** 固原市人民医院2011-01/2013-10收治肝包虫内囊摘除术后长期带肝包残腔引流管且引流管口反复感染患者9例, 患者一般情况良

## ■背景资料

肝包虫病为牧区及西北偏远山区常见的人畜共患疾病, 手术是治疗肝包虫病的主要手段. 传统的肝包虫内囊摘除术后, 如发现残腔有胆漏, 一般行残腔置管引流. 但部分患者后残腔胆漏量大, 带管时间长, 给患者带来诸多不便, 且引流管容易逆行性感染, 严重影响生活质量. 如何再治疗是外科医生面临的一个难题.

## ■同行评议者

于则利, 教授, 首都医科大学附属北京同仁医院外科



## ■ 研发前沿

宁夏南部山区因经济落后, 干旱少雨, 农村大多饮用窖水, 故肝包虫的发病率较高, 手术是治疗肝包虫主要手段。

好, 无严重心肺疾病者, 均可再次手术。9例患者均行择期手术, 其中3例残腔壁钙化明显, 位于肝右叶及左外叶, 行肝包残腔外囊完整剥除+肝下引流术。另外6例因囊肿残腔靠近第一、二肝门, 行残腔囊外完整剥除风险大, 采用直视下残腔内胆漏口缝闭+残腔大网膜填塞+残腔引流+胆总管T管引流术。

**结果:** 本组9例患者再手术后有2例前3 d每日残腔引流管引流量约10-50 mL, 到第5天降至每日5-10 mL, 至第7天无引流物拔除。其余7例术后1-3 d引流量每日约5-10 mL, 呈每日递减, 一般均在5 d内拔除。9例患者出院后月均行彩超复查, 肝包术区术后改变, 无积液。电话随访6 mo-3年, 除2例死于其他疾病外, 其余7例工作生活正常, 恢复良好。

**结论:** 肝包虫术后残腔胆漏长期带管患者, 再次手术解决胆漏并去除引流管效果较好。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 肝包虫; 胆漏; 手术

**核心提示:** 本研究通过对肝包术后胆漏再手术治疗, 总结出以下几点经验: (1)肝包虫患者首次手术尽可能行根治性囊外切除术; (2)如肝包残腔靠近第一、二肝门, 行根治性囊外切除术困难者, 应仔细探查残腔寻找胆漏口, 尽可能缝闭胆漏口, 并用带蒂大网膜填塞残腔; (3)一旦术后残腔带管时间超过3 mo, 且胆漏量每日>100 mL, 应考虑再手术治疗。

陈长义, 陈耀堂, 李慧明, 田希兰, 张志红, 时煜山. 肝包虫内囊摘除术后胆漏再手术治疗9例. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1285-1288 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1285.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1285>

## 0 引言

肝包虫病为牧区及西北偏远山区常见的人畜共患疾病, 手术是治疗肝包虫病的主要手段<sup>[1-4]</sup>。目前常用的手术方法有: (1)肝包内囊摘除, 残腔引流术; (2)根治性肝包虫囊外剥除术; (3)肝包内囊摘除、残腔大网膜填塞+残腔引流术。传统的肝包虫内囊摘除术后, 如发现残腔有胆漏, 一般行残腔置管引流。但部分患者后残腔胆漏量大, 带管时间长, 给患者带来诸多不便, 且引流管容易逆行性感染, 严重影响生活质量。如何再治疗是外科医生面临的一个难题<sup>[5,6]</sup>。2011-01/2013-10

固原市人民医院收治肝包虫内囊摘除术后长期带肝包残腔引流管且引流管口反复感染患者9例, 为尽早拔除引流管患者进行住院手术治疗。本文总结肝包虫内囊摘除术后长期带管患者行再次手术治疗效果, 具体分析如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 本组肝包虫内囊摘除术后长期带管患者9例, 其中男性5例, 女性4例, 年龄18-72岁, 平均45岁。既往均行肝包内囊摘除+残腔引流术。残腔引流管带管时间最短6 mo, 最长38 mo, 平均22 mo。每日胆汁引流量60-300 mL, 平均180 mL。其中6例为县级医院手术, 2例为中心卫生院手术, 1例为本院手术。

**1.2 方法** 患者一般情况良好, 无严重心肺疾病者, 均可再次手术。本组9例患者均行择期手术, 其中3例残腔壁钙化明显, 位于肝右叶及左外叶, 行肝包残腔外囊完整剥除+肝下引流术。另外6例因囊肿残腔靠近第一、二肝门, 行残腔囊外完整剥除风险大, 采用直视下残腔内胆漏口缝闭+残腔大网膜填塞+残腔引流+胆总管T管引流术。

## 2 结果

**2.1 术后带管时间** 本组9例患者再手术后有2例前3 d每日残腔引流管引流量约10-50 mL, 到第5天降至每日5-10 mL, 至第7天无引流物拔除。其余7例术后1-3 d引流量每日约5-10 mL, 呈每日递减, 一般均在5 d内拔除。

**2.2 随访** 9例患者出院后每月均行彩色多普勒超声复查, 肝包术区术后改变, 无积液。电话随访6-36 mo, 除2例死于其他疾病外, 其余7例工作生活正常, 恢复良好。

## 3 讨论

宁夏南部山区因经济落后, 干旱少雨, 农村大多饮用窖水, 故肝包虫的发病率较高。手术是治疗肝包虫的主要手段。目前常用的手术方法有: (1)肝包内囊摘除, 残腔引流术。肝包虫内囊摘除术一直被公认为治疗肝包虫病的理想方案, 目前仍在临床广泛应用, 具有操作简单, 疗效可靠的优点。对内囊摘除术后残腔的处理应根据残腔大小、部位、外囊厚度、钙化程度、感染、渗液等区别处理。其原则是彻底清除残留内囊, 尽可能缩小残腔, 防止胆漏、渗血、渗液、感染的发生。但上述方法复发率高, 文献报道<sup>[1]</sup>复发

率在4.5%-20.2%,加之伴有胆漏,必然导致残腔很高的并发症,发生率在10.8%-65.8%,极大地影响了手术疗效及术后生活质量;(2)根治性肝包虫囊外剥除术.彭心宇<sup>[2]</sup>提出外膜下肝包虫切除术,实践工作中证明其手术操作较肝不规则切除术容易,出血少,尤其距肝门较远者手术更易操作,有条件的医院可以推广;(3)肝包虫内囊摘除、残腔大网膜填塞+残腔引流术.对不能完全切除的外囊残腔,大网膜填塞是防止术后并发症的较好方法.我们曾使用上述3种手术方法治疗肝包虫,并进行效果比较<sup>[3]</sup>,总结出直视下残腔内胆漏口缝闭+残腔大网膜填塞+残腔引流+胆总管T管引流术方法简单易行,比较适合基层医院实施.

肝包虫术后残腔胆漏量大,引流管长期不能拔除,就其原因有以下几点<sup>[7-10]</sup>:(1)基层医院限于条件和技术,一般均行肝包虫内囊摘除+残腔引流术,很少行根治性肝包虫囊外剥除术.如术中发现肝包虫残腔有胆漏,很少仔细找寻胆漏口并缝扎.仅放置残腔引流管,导致大的胆漏口无法自闭,引流管放置时间长;(2)部分大的肝包虫内囊摘除前因残腔压力大于肝内胆管压力,故与肝包虫之间相通的毛细胆管处于闭锁状态.当内囊摘除,残腔压力消失,与肝内胆道相通的小毛细胆管大量开放,导致胆漏.这种患者术中残腔内可能未发现有明显胆漏,术后3-4 d开始残腔引流处出大量胆汁,但大多数残腔塌陷闭锁后胆漏逐渐减少直至消失,仅有部分患者残腔胆漏经久不愈长期带管;(3)术中处理肝包虫残腔简单,未用带蒂大网膜填塞残腔,加上残腔壁钙化不易塌陷闭锁,一旦有胆漏形成,很难自愈.对于肝包虫术后残腔胆漏长期带管患者,再次手术解决胆漏并去除引流管无疑是正确的选择.再手术方式有如下几种<sup>[11-13]</sup>:(1)根治性肝包虫囊外手术:由于将外囊完整从肝组织剥除,从根本上杜绝了复发和胆漏原因,可达到消灭残腔,避免感染及胆漏并发症.本组3例行此手术效果好;(2)残腔胆漏口缝闭+大网膜填塞+T管引流术.部分换患者再次术中发现,残腔较原来明显缩小,但未完全塌陷闭锁,并且靠近第一、二肝门,探查残腔能发现有明显的胆漏口与肝内胆管相通,但行残腔囊外剥除术困难的,可直视下缝闭胆漏口,将残腔两侧壁对拢缝合,尽量缩小残腔,并用带蒂大网膜填塞残腔,预防性于残腔

置引流管,关闭残腔.另外行T管引流,以降低胆道压力,促进胆漏口毛细胆管闭锁愈合.罗超英等<sup>[4]</sup>对于包虫位于肝门部合并胆漏时,行胆总管内置“T”管引流,术中注水对明确的胆漏给予缝扎,明显缩短了术后胆漏带管时间,手术操作相对简单,风险小,疗效较好,术后残腔并发症少,便于肝包虫高发区的基层医院开展,对于肝包虫合并胆漏再手术治疗是一个有效的尝试.本组6例均以此方法处理,术后残腔引流管最长7 d拔出,效果良好.

本研究通过对肝包虫术后胆漏再手术治疗,总结出以下几点经验:(1)肝包虫患者首次手术尽可能行根治性囊外切除术.因为在外膜下包虫切除术中发现外囊均有多个管道相通,多为胆管系统,亦有滋养血管,外囊切除术解决了残腔原位复发及囊液外溢及种植原因,避免术后长期带引流管,应首选此术式;(2)如肝包虫靠近第一、二肝门,行根治性囊外切除术困难者,应仔细探查残腔寻找胆漏口,尽可能缝闭胆漏口,并用带蒂大网膜填塞残腔.因为大网膜具有强大的吸收修复及抗感染能力,填充残腔后可使残腔积液尽快消失,胆漏封闭、残腔缩小,明显减少带管时间;(3)一旦术后残腔带管时间超过3 mo,且胆漏量每日>100 mL,应考虑再手术治疗.

#### 4 参考文献

- 1 张启瑜, 钱礼. 腹部外科学. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 552-553
- 2 彭心宇. 肝包虫病的外科治疗新观点. 中国实用外科杂志 2003; 23: 651-653
- 3 陈长义, 冶固卫. 肝包虫三种术式比较及临床应用评价. 中华普通外科杂志 2009; 24: 246-247
- 4 罗超英, 刁红亮, 乌尔班, 张德华, 夫尔多斯, 马尔丹, 陈萍. 不同方式治疗肝包虫合并胆瘘临床研究. 中华肝胆外科杂志 2010; 16: 148-149
- 5 彭心宇, 张示杰, 牛建华. 肝包虫外膜内完整摘除术30例报告. 中华普通外科杂志 2002; 17: 529-530
- 6 何登瀛, 张天龄, 李玉民, 王世栋. 肝包虫病的外科治疗. 中国普通外科杂志 2000; 9: 155-157
- 7 罗超英, 刁红亮, 马尔丹, 杜明红. 小儿肝包虫病110例特点及诊治分析. 新疆医科大学学报 2008; 31: 1303-1303
- 8 李新丰, 刘恒山, 依敏江. 肝塌陷术配合高渗盐水治疗小儿肝包虫病. 中华肝胆外科杂志 2004; 10: 199-200
- 9 阿力木江·托合提, 阿布都加帕, 阿布都外力. 肝包虫病的外科治疗讨论. 中外健康文摘 2012; 9: 170-171
- 10 夏亮, 彭心宇. 肝包虫病外科治疗的现状. 现代生物医学进展 2010; 10: 1994-1996
- 11 李晓东, 李波, 严律南, 文天夫. 肝包虫病的外科治疗和并发症的处理. 华西医学 2005; 20: 229-230

#### ■同行评价

本研究选题实用, 总结具体, 讨论丰富, 对临床医师尤其是基层临床医师有参考价值.

- 12 何涛. 肝包虫病的并发症及外科治疗对策. 内蒙古医学杂志 2003; 35: 351-352
- 13 段振坤, 何凤国, 张兴武. 408例肝包虫病外科治疗的体会. 宁夏医学杂志 1999; 21: 355-356

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

**本刊讯** 本刊采用“顺序编码制”的著录方法,即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序.提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映,并在文内引用处右上角加方括号注明角码.文中如列作者姓名,则需在“Pang等”的右上角注角码号;若正文中仅引用某文献中的论述,则在该论述的句末右上角注码号.如马连生<sup>[1]</sup>报告……,潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……;PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>.文献序号作正文叙述时,用与正文同号的数字并排,如本实验方法见文献[8].所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed,《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准,通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献,包括世界华人消化杂志(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>)和 *World Journal of Gastroenterology* (<http://www.wjgnet.com/1007-9327/index.jsp>).期刊:序号,作者(列出全体作者).文题,刊名,年,卷,起页-止页, PMID编号;书籍:序号,作者(列出全部),书名,卷次,版次,出版地,出版社,年,起页-止页.



# 肝病患者肝病严重程度与心功能的相关性

朱飞飞, 何庆荣, 李兆一, 党立群, 夏庆

朱飞飞, 何庆荣, 李兆一, 党立群, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科心电图室 黑龙江省大庆市 163453

夏庆, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院消化科 黑龙江省大庆市 163453

朱飞飞, 主治医师, 主要从事高血压性心脏病的研究

作者贡献分布: 课题设计, 论文写作由朱飞飞完成; 研究过程由何庆荣与夏庆完成; 数据分析由李兆一与党立群完成。

通讯作者: 朱飞飞, 主治医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科心电图室, 671491568@qq.com

电话: 0459-5910356

收稿日期: 2013-12-27 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Correlation between severity of liver diseases and left ventricular function in patients with liver diseases

Fei-Fei Zhu, Qing-Rong He, Zhao-Yi Li, Li-Qun Dang, Qing Xia

Fei-Fei Zhu, Qing-Rong He, Zhao-Yi Li, Li-Qun Dang, Department of Physical Diagnosis, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China

Qing Xia, Department of Gastroenterology, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Fei-Fei Zhu, Attending Physician, Department of Physical Diagnosis, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, 35 Aiguo Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. 671491568@qq.com

Received: 2013-12-27 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To evaluate the correlation between the severity of liver diseases and left ventricular function in patients with liver diseases.

**METHODS:** Ninety-four patients who would undergo orthotopic liver transplantation were enrolled in this study. According to the MELD (model for end-stage liver disease) scoring system, these subjects were categorized into three groups by the severity of liver diseases: mild ( $n = 34$ , MELD score  $\leq 9$  points), moderate ( $n = 44$ ,  $10 \leq$  MELD score  $\leq 19$  points) and severe ( $n = 16$ , MELD score  $\geq 20$  points). The relationship

between the severity of liver disease and cardiac function was determined by analysis of variance and correlation analysis.

**RESULTS:** Serum creatinin, total bilirubin and international normalized ratio (INR) were significantly different among the three groups ( $P < 0.05$ ), and the severity of liver disease was significantly correlated with serum creatinin, total bilirubin and INR ( $r = 0.594, 0.763, 0.653$ ;  $P = 0.000, 0.000, 0.000$ , respectively). With the increase in the severity of liver diseases, left atrial diameter (LAD), interventricular septum thickness (IVST), left ventricular end-diastolic diameter (LVEDD), aortic valve flow (AF), corrected QT interval (QTc) and cardiac output (CO) were gradually increased, and the differences were statistically significant between groups.

**CONCLUSION:** The MELD scoring system can effectively reflect the severity of liver diseases, and with the progression of end-stage liver diseases, the structure, function and electrical activity of the heart gradually subside.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Liver cirrhosis; Left ventricular function; Evaluation study

Zhu FF, He QR, Li ZY, Dang LQ, Xia Q. Correlation between severity of liver diseases and left ventricular function in patients with liver diseases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1289-1293 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1289.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1289>

## 摘要

**目的:** 评价肝病患者肝病严重程度与左心功能的关系。

**方法:** 研究对象来自我院行原位肝移植的94例肝硬化患者。回顾性分析所有患者的生化指标、心脏超声、心电图和凝血指标等资料。根据终末期肝病模型(the model for end-stage liver disease, MELD)评分系统评价患

## ■背景资料

肝硬化早期尚不会出现心脏形态上改变,最近研究报道,肝硬化患者尸检发现心脏有明显的扩大,提示肝硬化的病情进展可能会引起心脏结构功能的改变,最终导致严重的心血管疾病。因而明确终末期肝病患者肝病严重程度与左心功能的关系对于预防患者发生心功能衰竭等心血管疾病有重要意义。而关于终末期肝病患者的心脏功能评估的研究仍比较缺乏。

## ■同行评议者

吴君, 主任医师, 贵阳医学院附属医院感染科

## ■ 研发前沿

目前关于终末期肝病患者的肝功能评估以及两者的相关性尚不确定,本研究旨在评价终末期肝病患者的肝病严重程度与左心功能的关系。

者的肝病严重程度,将其分为3组:轻度组(34例, MELD评分 $\leq 9$ 分)、中度组(44例, 10分 $\leq$  MELD评分 $\leq 19$ 分)、重度组(16例, MELD评分 $\geq 20$ 分)。采用单因素方差分析、相关性分析等评价肝病严重程度与心功能之间的关系。

**结果:**三组患者的肌酐、总胆红素以及国际标准化比值比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),且肝病严重程度与肌酐、总胆红素以及国际标准化比值均呈正相关(分别为 $r = 0.594, P = 0.000; r = 0.763, P = 0.000; r = 0.653, P = 0.000$ )。随着肝病严重程度的增加,左房内径(left atrial diameter, LAD)、室间隔厚度(interventricular septum thickness, IVST)、左室舒张末期内径(left ventricular end-diastolic diameter, LVEDD)、主动脉瓣流速(aortic valve flow, AF)、QT间期(corrected QT interval, QTc)和心输出量(cardiac output, CO)的均数都逐渐增加,并且组间差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

**结论:**MELD评分系统可以有效地反应肝病严重程度,且随着终末期肝病的进展,心脏的结构、功能及电生理活动逐渐减退。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:**肝硬化;左心室功能;评价研究

**核心提示:**本研究结果显示,所有肝硬化的病因中,慢性乙型肝炎肝硬化比例最高(67/94),提示乙型肝炎仍是我国引起肝硬化最主要的原因,这与以往的研究报道相符。而国外的肝硬化主要为酒精性肝炎引起,这可能与国内外的医疗卫生水平相关,也与不同人群的饮食习惯有一定的关系。

朱飞飞,何庆荣,李兆一,党立群,夏庆. 肝病患者肝病严重程度与心功能的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1289-1293  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1289.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1289>

## 0 引言

肝硬化是一种以肝功能损害及门脉高压症为主要临床表现的综合症<sup>[1]</sup>,其中门脉高压症主要特点是高动力循环,会引起心动过速、脉压下降等反应,同时又会增加心输出量,降低血管收缩反应,引起左心室收缩和舒张功能下降<sup>[2]</sup>。肝硬化早期尚不会出现心脏形态上改变<sup>[3,4]</sup>,最近研究报道,肝硬化患者尸检发现心脏有明显的扩大<sup>[5]</sup>,提示肝硬化的病情进展可能会引起心脏结构功能的改变,最终导致严重的心血管疾病。因而明确终末期肝病患者肝病严重程度与左心功

能的关系对于预防患者发生心功能衰竭等心血管疾病有重要意义,而关于终末期肝病患者的肝功能评估的研究仍比较缺乏。本研究旨在评价终末期肝病患者肝病严重程度与左心功能的关系,为预防终末期肝病患者发生严重心血管并发症提供科学依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2012-06/2013-01于我院行原位肝移植患者。纳入标准:临床资料完整;无严重感染及外伤;无其他系统恶性肿瘤。最终纳入94例研究对象,其中男性73例,女性21例,平均年龄 $48.6 \pm 7.8$ 岁。其中,按病因分类,慢性乙型肝炎肝硬化患者共67例,慢性丙型肝炎肝硬化患者共10例,原发性肝癌患者共6例,酒精性肝硬化患者共5例,胆汁淤积性肝硬化患者共6例。

**1.2 方法** 所有研究对象于空腹8 h后抽血检测血液生化指标,包括肝肾功能及凝血功能等。主要分析并记录肌酐、总胆红素、国际标准化比值、谷丙转氨酶(alanine transaminase, ALT)和谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)等指标。使用公式计算终末期肝病模型(the model for end-stage liver disease, MELD)评分, MELD评分 =  $3.8 \times \ln$ 胆红素(mg/dL) +  $11.2 \times \ln$ (INR) +  $9.6 \times \ln$ 肌酐(mg/dL) +  $6.4 \times$ 病因(胆汁性或酒精性肝硬化为0分,其他为1分)。所有研究对象采用心脏二维超声测量心脏的结构和功能,包括左房内径(left atrium diameter, LAD)、室间隔厚度(interventricular septal thickness, IVST)、左室舒张末期内径(left ventricle end-diastolic diameter, LVEDD)、左室后壁厚度(left ventricular posterior wall thickness, LVPWT)、左室射血分数(left ventricular ejection fraction, LVEF)、每搏量(stroke volume, SV)、二尖瓣流速E及A和主动脉瓣流速(AF)。计算二尖瓣流速E/A比值和心输出量(CO)。通过心电图分析心率(heart rate, HR)、QRS间期(QRs interval, QRSI)、校正的QT间期(QTc)和PR间期(PR interval, PRI)。

**统计学处理** 采用SPSS18.0软件进行统计学分析,计量资料使用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示。采用单因素方差分析比较组间血液生化指标、左心结构功能和心脏电生理各指标的差异。采用Pearson相关分析观察肝病严重程度与血液生化指标、左心结构功能和心脏电生理各指标的相关性。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 不同病种终末期肝病模型评分结果 (*n*)

病因	<i>n</i>	轻度(MELD评分≤9)	中度(10≤MELD评分≤19)	重度(MELD评分≥20)
慢性乙型肝炎肝硬化	67	20	35	12
慢性丙型肝炎肝硬化	10	3	4	3
酒精性肝硬化	5	5	0	0
胆汁淤积性肝硬化	6	3	2	1
原发性肝癌	6	3	3	0
总数	94	34	44	16

## ■相关报道

以往研究显示, 中晚期肝病患者心脏表现不明显, 可能是由于机体的自我调节功能使外周血管舒张从而降低了左心室后负荷。

表 2 终末期肝病模型评分与血液生化指标的关系 (mean ± SD)

MELD评分	肌酐(mg/dL)	总胆红素(mg/dL)	国际标准化比值	ALT(U/L)	AST(U/L)	AST/ALT
轻度组	0.67 ± 1.27	1.33 ± 2.47	1.22 ± 0.31	52.3 ± 2.1	60.2 ± 1.7	1.13 ± 1.68
轻度组	0.76 ± 1.31	3.72 ± 2.65	1.67 ± 0.42	64.2 ± 2.0	80.3 ± 1.6	1.26 ± 1.83
重度组	1.37 ± 1.82	9.27 ± 2.37	2.62 ± 0.78	57.8 ± 1.6	84.2 ± 2.0	1.44 ± 1.62
<i>F</i> 值	15.122	24.372	41.281	0.582	2.314	0.781
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.532	0.106	0.445
<i>r</i> 值	0.594	0.763	0.653	0.174	0.364	0.208
<i>P</i> 值	0.000	0.000	0.000	0.126	0.002	0.067

ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶。

表 3 各组的左心结构功能和心脏电生理各指标的比较

项目	轻度组	轻度组	重度组	<i>F</i> 值	<i>P</i> 值
左房内径(mm)	33.28 ± 3.56	36.92 ± 4.12	39.61 ± 4.22	8.660	0.000
室间隔厚度(mm)	8.09 ± 1.22	8.46 ± 1.03	9.48 ± 2.17	5.781	0.001
左室舒张末期内径(mm)	47.68 ± 3.27	50.22 ± 4.16	52.31 ± 4.81	5.689	0.004
左室后壁厚度(mm)	7.96 ± 1.12	8.03 ± 1.21	8.71 ± 0.59	2.768	0.087
左室射血分数(%)	62.91 ± 4.37	63.25 ± 6.15	61.39 ± 4.18	0.425	0.678
二尖瓣流速E/A	1.11 ± 0.42	1.17 ± 0.32	0.95 ± 0.23	2.234	0.153
主动脉瓣流速(m/s)	1.23 ± 0.17	1.35 ± 0.28	1.65 ± 0.37	9.402	0.000
PR间期(ms)	162.04 ± 23.80	156.78 ± 16.35	156.04 ± 18.36	0.825	0.443
QRS间期(ms)	86.92 ± 11.70	86.34 ± 12.63	94.36 ± 16.24	2.397	0.087
校正的QT间期(ms)	432.02 ± 28.01	439.26 ± 47.12	460.12 ± 35.26	4.651	0.010
左房内径(mm)	76.12 ± 13.05	78.23 ± 12.05	83.12 ± 18.14	0.892	0.512
室间隔厚度(mm)	4.36 ± 1.20	6.12 ± 2.38	6.65 ± 2.18	6.225	0.002

## 2 结果

2.1 不同病种终末期肝病模型评分 所有研究对象中, 轻度组有34例(36.2%), 中度组有44例(46.8%), 重度组有16例(17.0%)。病种包括慢性乙型肝炎肝硬化、慢性丙型肝炎肝硬化、酒精性肝硬化、胆汁淤积性肝硬化和原发性肝癌, 其中慢性乙型肝炎肝硬化仍然是肝移植的主要原因, 不同病种MELD评分结果如表1。

2.2 患者肝病严重程度与血液生化指标的关系 三组患者的肌酐、总胆红素以及国际标准化比

值比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ), 且肝病严重程度与肌酐、总胆红素以及国际标准化比值均呈正相关( $P<0.05$ )。三组患者的ALT、AST以及AST/ALT比值比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ )。但AST与肝病严重程度具有正相关性( $P<0.05$ )(表2)。

2.3 各组患者的左心结构功能和心脏电生理各指标的比较 随着肝病严重程度的增加, LAD、IVST、LVEDD、AF、QTc和CO的均数都逐渐增加, 并且组间差异具有统计学意义( $P<0.05$ ),



### ■同行评价

本文设计合理, 结果可靠, 具有一定的学术价值供理想细胞材料。

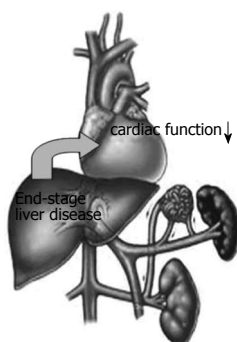


图1 终末期肝病对心功能的影响。

而LVPWT、LVEF、二尖瓣流速E/A、PRI、QRSI和HR差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表3), 终末期肝病对心功能的影响的示意图如图1。

### 3 讨论

肝硬化患者由于肝脏结构和功能的改变<sup>[6]</sup>, 会引起全身各系统反应。其中, 肝硬化最容易影响门静脉回流<sup>[7]</sup>, 导致体循环淤血, 全身各系统缺氧, 加之神经体液系统反射性调节反应<sup>[8]</sup>, 最终导致肝硬化的高动力循环状态, 心脏负担加重, 心率加快, 心肌代偿性肥厚, 收缩和舒张功能受限。随着肝硬化病程进展到终末期, 将会严重影响心脏结构和功能<sup>[9]</sup>。目前关于终末期肝病患者的肝功能评估以及两者的相关性尚不确定, 本研究旨在评价终末期肝病患者肝病严重程度与左心功能的关系。

本研究结果显示, 所有肝硬化的病因中, 慢性乙型肝炎肝硬化比例最高(67/94), 提示乙型肝炎仍是我国引起肝硬化最主要的原因, 这与以往的研究报道相符<sup>[10]</sup>。而国外的肝硬化主要为酒精性肝炎引起, 这可能与国内外的医疗卫生水平相关, 也与不同人群的饮食习惯有一定的关系<sup>[11]</sup>。

本研究结果发现, 三组患者的肌酐、总胆红素以及国际标准化比值具有显著性差异, 且MELD评分与肌酐、总胆红素以及国际标准化比值均呈正相关, 提示MELD评分系统可以准确的反应终末期肝病的严重程度, 能够用于肝功能的分级评估, 也说明了本研究的终末期肝病患者具有较好的代表性。此外, 三组患者的ALT和AST均值水平均超过参考值上限, 而且AST与MELD评分呈正相关, 提示终末期肝病患者AST的升高可能不仅仅反应肝细胞受损, 也可能是心肌细胞受损的标志<sup>[12]</sup>。因为心肌细胞损伤会明显降低心脏的收缩和舒张功能, 引起全身的代

谢紊乱, 肝肾功能失代偿, 电解质水平出现异常变化, 从而可能引起AST的异常合成与释放<sup>[13]</sup>。

本研究还发现随着肝病严重程度的增加, LAD、IVST、LVEDD、AF和CO的均数都逐渐增加, 且各组存在显著性差异, 提示终末期肝病患者处于高动力循环状态, 表现出心输出量增加, 血流加快以及左心功能下降等代偿反。其中可能的主要原因是肝硬化会导致门静脉高压, 体循环充血, 回心血量不足, 从而引起代偿性的高动力循环状态以及心脏结构性的肥厚表现<sup>[14]</sup>。而以往研究显示, 中晚期肝病患者心脏表现不明显, 可能是由于机体的自我调节功能使外周血管舒张从而降低了左心室后负荷<sup>[15]</sup>。

总之, MELD评分系统可以有效地反应终末期肝病严重程度, 且随着终末期肝病的进展, 心脏的结构, 功能及电生理活动逐渐减退。虽然患者临床症状可能不明显, 但是具有发生心衰的风险。

### 4 参考文献

- 1 吴年贵, 吴心门. 肝硬化门脉高压综合征并结石性胆囊炎109例腹腔镜胆囊切除术. 临床误诊误治 2009; 22: 56-57
- 2 徐鑫, 黎春雷, 李红洲, 孙杰, 邓又斌. 超声二维斑点追踪成像技术评价肝硬化患者左心室局部纵向收缩功能. 中国医学影像技术 2010; 26: 288-290
- 3 毛华, 江登丰, 黄纯焄, 唐银丽, 宋卫生, 沈琼. 肝硬化患者心功能改变及其影响因素. 广东医学 2012; 33: 2149-2152
- 4 江登丰, 毛华, 黄纯焄, 陈春林. 肝硬化患者心功能改变及其与肝功能的关系. 肝脏 2011; 16: 439-441
- 5 吴志勇, 陈炜. 肝硬化门静脉高压症外科治疗程序. 中国实用外科杂志 2011; 31: 39-43
- 6 苑文雯, 郭桐生. cTnT, CK-MB, Mb检测对肝炎, 肝硬化患者心功能的诊断价值. 医学综述 2013; 19: 2835-2837
- 7 何炯红, 杨龙, 李子兵, 徐敏. 33例肝硬化患者肝功能与心功能改变临床观察. 贵州医药 2010; 34: 599-600
- 8 赵玥, 王润兰, 梅丽, 杨晓英. 心肌矢量应变和应变率成像技术对晚期肝硬化患者左心室局部收缩功能的评价. 吉林大学学报(医学版) 2011; 37: 150-153
- 9 焦荣红, 刘欣, 于明月, 黄冬霞. 超声心动图技术评价肝硬化患者左心功能的研究. 现代中西医结合杂志 2012; 21: 74-75
- 10 王洁, 顾鹏. 应变率成像对研究肝硬化患者右心室纵向功能的价值. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1131-1135
- 11 卞继芳, 张蕾, 黄培红, 苏慧, 袁丁, 李典鸿, 梁宏宇. 卅味参附颗粒对急性心梗介入后BNP, CRP及心功能改善的疗效观察. 云南中医中药杂志 2013; 34: 24-25
- 12 张海霞, 卢实春. 肝硬化患者肝移植前后心电图改变的分析. 中华临床医师杂志(电子版) 2011; 5: 2228-2231
- 13 王丽萍, 张新力. 组织多普勒与脉冲多普勒Tei指数对肝硬化患者左心功能改变的对比研究. 临床超声医学杂志 2010; 12: 676-679
- 14 Matthews JC, Pagani FD, Haft JW, Koelling TM, Naftel DC, Aaronson KD. Model for end-stage liver

- disease score predicts left ventricular assist device operative transfusion requirements, morbidity, and mortality. *Circulation* 2010; 121: 214-220 [PMID: 20048215 DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA]
- 15 Wieselthaler GM, O Driscoll G, Jansz P, Khaghani A, Strueber M. Initial clinical experience with a novel left ventricular assist device with a magnetically levitated rotor in a multi-institutional trial. *J Heart Lung Transplant* 2010; 29: 1218-1225 [PMID: 20646936 DOI: 10.1016/j.healun]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



## 非酒精性脂肪性肝病合并自身免疫异常132例

吴凤娟, 徐芸, 保洁, 刘象

### ■背景资料

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)在欧美发达国家已成为慢性肝病的首要原因,在我国亦仅次于病毒性肝炎而居第2位;自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, AILD)是晚期慢性肝功能衰竭的主要原因之一,目前也是国内肝病领域研究的新热点。

吴凤娟, 徐芸, 保洁, 刘象, 郑州大学第一附属医院消化内科河南省高等学校临床医学重点学科开放实验室 河南省郑州市 450052

吴凤娟,在读硕士,主要从事消化系统疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由徐芸、保洁及吴凤娟设计;研究过程由吴凤娟与刘象操作完成;研究所用新试剂与分析工具由徐芸提供;数据分析由吴凤娟与保洁完成;本论文写作由吴凤娟完成;徐芸审核。

通讯作者: 徐芸,教授,主任医师,450052,河南省郑州市二七区建设东路1号,郑州大学第一附属医院消化内科。

xuyun@medmail.com.cn

电话: 0371-66862052

收稿日期: 2013-12-22 修回日期: 2014-01-20

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

### Non-alcoholic fatty liver disease complicated with autoimmune problems: Analysis of 132 cases

Feng-Juan Wu, Yun Xu, Jie Bao, Xiang Liu

Feng-Juan Wu, Yun Xu, Jie Bao, Xiang Liu, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Correspondence to: Yun Xu, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 1 Jianshe East Road, Erqi District, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. xuyun@medmail.com.cn

Received: 2013-12-22 Revised: 2014-01-20

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

### Abstract

**AIM:** To analyze the relationship between non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) and autoimmune diseases.

**METHODS:** One hundred and thirty-two patients with biopsy-proven NAFLD were divided into four groups: 1 [patients with NAFLD and autoimmune liver disease (AILD)], 2 (patients with NAFLD and autoimmune disease except AILD), 3 (patients with NAFLD and autoimmune phenomena) and 4 (patients with NAFLD alone). All data on clinical and biochemistry indexes, autoantibodies, imaging findings and liver histology were analyzed.

**RESULTS:** The difference in AST was statisti-

cally significant between groups 1 and 4 ( $P < 0.05$ ). There were significant differences in IgG in groups 1, 2 and 3 compared with group 4 ( $P < 0.05$  for all). Liver stiffness, fibrosis stage and inflammation level were different significantly between group 1 and groups 2, 3 and 4 ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** The levels of IgG, liver stiffness, liver fibrosis and hepatic inflammation were correlated with the severity of autoimmune problems. IgG and liver stiffness may act as long-term follow-up indicators.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Nonalcoholic fatty liver disease; Autoimmune liver disease; Liver biopsy

Wu FJ, Xu Y, Bao J, Liu X. Non-alcoholic fatty liver disease complicated with autoimmune problems: Analysis of 132 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1294-1299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1294.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1294>

### 摘要

**目的:** 分析非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)与自身免疫异常的关系。

**方法:** 经肝活检确诊的NAFLD患者132例分为NAFLD合并自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, AILD)组、NAFLD合并其他自身免疫性疾病(除外AILD)组、NAFLD合并自身免疫现象组、NAFLD组。收集各组研究对象临床生化、自身抗体、影像学及肝组织学指标,应用SPSS17.0进行统计学分析。

**结果:** AST组1与组4之间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),血清免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)组1、组2、组3分别与组4比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),肝脏硬度值、肝纤维化、炎症程度组1分别与组2、组3、组4比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### ■同行评议者

王怡,主任医师,天津市传染病医院,天津市肝病研究所



**结论:** IgG、肝脏硬度值、肝纤维化和炎症程度与自身免疫异常严重程度有关, IgG和肝脏硬度值可作为长期随访指标。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**核心提示:** 本研究对132例非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者进行自身抗体检测及肝脏组织活检, 结果发现IgG、肝脏硬度值、肝纤维化和炎症程度与自身免疫异常严重程度有关, 且IgG和肝脏硬度值可作为长期随访指标。目前, 对于NAFLD患者合并自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases)的诊断, 仍需依赖肝组织病理学。

**关键词:** 非酒精性脂肪性肝病; 自身免疫性肝病; 肝活检

吴凤娟, 徐芸, 保洁, 刘象. 非酒精性脂肪性肝病合并自身免疫异常132例. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1294-1299 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1294.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1294>

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是以肝实质细胞脂肪变性为特征, 无过量饮酒史, 排除其他肝病的临床病理综合征, 是代谢综合征的重要组分<sup>[1]</sup>。包括单纯性脂肪肝(nonalcoholic simple fatty liver, NAFL)、非酒精性脂肪性肝炎(nonalcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和隐匿性肝硬化。近年来, 生活方式的改变使以NAFLD为基础的慢性肝病日益增多, NAFLD在欧美发达国家已成为慢性肝病的首要原因, 在我国亦仅次于病毒性肝炎而居第2位<sup>[2,3]</sup>。其发病机制目前尚不明确, 肝活检仍为其诊断和分型的金标准。自身免疫(autoimmune)是机体免疫系统对自身组织细胞发生免疫应答的现象, 当免疫应答造成组织细胞病理损伤并出现临床症状者, 则表现为自身免疫性疾病<sup>[4]</sup>。自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, AILD)是一组肝脏病理损害和肝功能异常为主要表现的自身免疫性疾病, 主要包括自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)、原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)等<sup>[5]</sup>。其表现主要根据不同程度的转氨酶升高、高丙种球蛋白血症、自身抗体的检出和特征性组织学改变。自身免疫现象(autoim-

mune phenomena)是指有至少一种自身抗体阳性, 但不能确诊为任何一种自身免疫性疾病的临床现象<sup>[6,7]</sup>。

目前对无病毒感染、伴有肥胖、伴或不伴自身抗体阳性的慢性肝病的诊断日益备受临床关注, 对其发病机制及相关性的研究亦将成为热点课题。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 搜集2011-08/2013-10于郑州大学第一附属医院消化内科住院的NAFLD患者, 研究对象均选自经超声及肝活检诊断的NAFLD患者132例, 根据临床及病理学特征分为四组: NAFLD合并AILD组( $n = 7$ ), 男2例, 女5例, 平均年龄56岁 $\pm 9$ 岁; NAFLD合并其他自身免疫性疾病(除AILD)组( $n = 14$ ), 男5例, 女9例, 平均年龄44岁 $\pm 11$ 岁; NAFLD合并自身免疫现象组( $n = 33$ ), 男13例, 女20例, 平均年龄47岁 $\pm 11$ 岁; NAFLD组( $n = 78$ ), 男34例, 女44例, 平均年龄43岁 $\pm 13$ 岁。NAFLD诊断标准依据2012年美国非酒精性脂肪性肝病诊疗指南<sup>[8]</sup>, 病理学报告标准参照美国国立卫生研究院NASH临床研究网病理工作组指南<sup>[9]</sup>, AIH诊断参照2002年美国肝病学会(AASLD)制定的AIH诊疗指南<sup>[10]</sup>。研究对象均为本地区长期居住人口, 收集其相关资料。

### 1.2 方法

**1.2.1 ELISA法抗体检测及肝脏活检:** 收集研究对象一般特征[年龄、体质量指数(body mass index, BMI)、腰臀比、血压]、临床生化指标[丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、总胆固醇、甘油三酯、胰岛素抵抗指数等]、自身抗体(抗核抗体ANA、抗平滑肌抗体ASMA、抗线粒体抗体AMA、IgG等)及肝脏硬度值、肝组织学结果。其中BMI为晨起空腹测得数值得出; 生化指标由清晨空腹抽取正中静脉血2 mL测得; 自身抗体用ELISA法测出, 试剂盒由CUSABIO公司生产; 肝组织标本由16 G穿刺针在超声定位后穿刺获得, 40 g/L甲醛溶液固定, 镜下至少包括3个以上汇管区, 穿刺标本作连续切片, 进行HE、Masson、网状纤维染色, 试剂由中杉金桥公司生产。

**1.2.2 肝活检病理学评估:** 根据2001年《病毒性肝炎防治方案》<sup>[11]</sup>慢性肝炎病理分级分期及美国国立卫生研究院NASH临床研究网病理工作

### ■研究前沿

对无病毒感染、伴有肥胖、伴或不伴自身抗体阳性的慢性肝病的诊断日益备受临床关注, 目前尚缺乏对其发病机制及相关性的进一步研究。

## ■相关报道

Yatsuji等研究发现高滴度抗核抗体合并NAFLD高危因素人群容易发生自身免疫性疾病,刘玉兰等发现慢性炎症反应是AILD和NAFLD的共同病变基础,但对NAFLD合并自身免疫异常的研究目前仍缺乏相关的临床数据。

表 1 4组一般特征及生化代谢指标比较

	组1	组2	组3	组4	$F/\chi^2$	P值
<i>n</i>	7	14	33	78		
性别(男) <i>n</i> (%)	2(28.6)	5(35.7)	13(39.4)	34(43.6)	0.860	0.878
年龄(岁)	56±9	44±11	47±11	43±13	2.380	0.076
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	26.7±2.6	26.0±3.4	26.1±2.6	26.9±2.9	0.450	0.718
腰臀比	0.95±0.07	0.97±0.07	0.97±0.05	0.98±0.05	0.323	0.809
收缩压(mmHg)	130±16	129±13	121±11	124±14	1.208	0.314
舒张压(mmHg)	82±10	82±10	79±8	82±9	0.335	0.800
ALT(U/L)	133.0±180.6	86.8±40.6	93.6±44.4	87.4±59.3	1.385	0.709
AST(U/L)	101.9±143.7	61.2±19.2	75.2±30.8	55.7±32.6	8.752	0.033
ALP(U/L)	110.6±52.8	91.1±48.5	99.8±46.9	77.5±35.8	6.868	0.076
TG(mg/dL)	2.3±0.7	1.9±0.7	2.2±0.8	2.1±1.0	0.464	0.709
HOMA-R	3.1±1.0	3.5±2.1	2.5±0.8	2.7±1.1	3.871	0.276
IgG(g/L)	17.2±3.1	14.9±2.7	14.6±3.5	11.6±3.3	8.380	0.001
肝脏硬度值	17.0±7.7	10.3±2.9	11.0±2.8	8.8±2.8	10.3	0.001

BMI: 体质指数; TG: 甘油三酯; HOMA-R: 胰岛素抵抗指数; ALT: 丙氨酸转氨酶; AST: 谷草转氨酶; ALP: 碱性磷酸酶. 肝脏硬度值参考值<6.2 kpa.

表 2 4组肝组织病理纤维化、炎症活动及脂肪变程度比较 *n*(%)

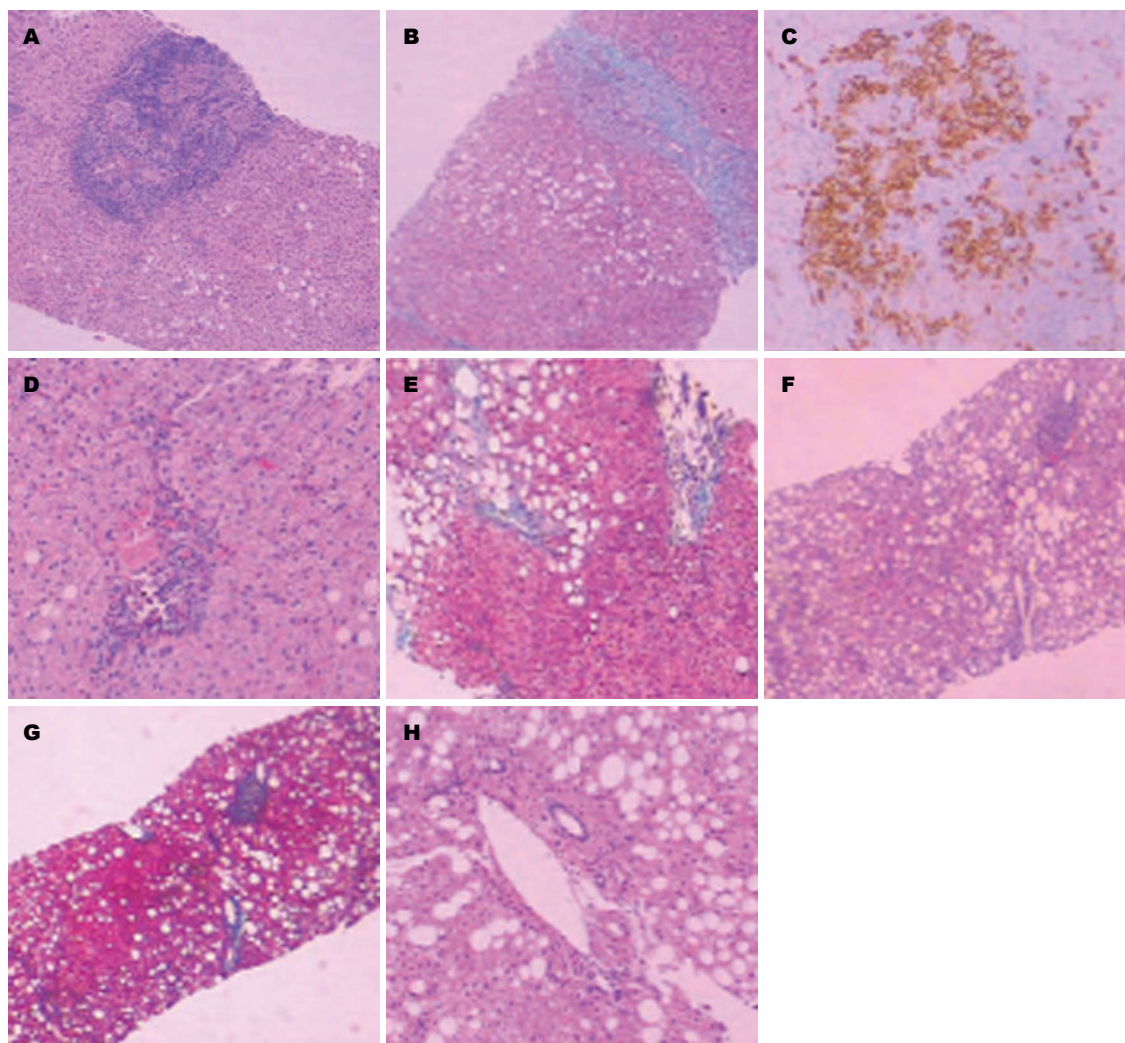
	组1	组2	组3	组4	P值
<i>n</i>	7	14	33	78	
肝纤维化					0.001
S0	0(0)	3(21.4)	9(27.3)	28(35.9)	
S1	1(14.3)	7(50)	19(57.6)	36(46.1)	
S2	5(71.4)	3(21.4)	5(15.1)	13(16.7)	
S3	1(14.3)	1(7.2)	0(0)	1(1.3)	
S4	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	
炎症活动					0.033
G1	1(14.3)	8(57.1)	19(57.6)	50(64.1)	
G2	4(57.1)	4(28.6)	13(39.4)	26(33.3)	
G3	2(28.6)	2(14.3)	1(3.0)	2(2.6)	
G4	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	
脂肪变					0.794
轻度	3(42.9)	6(42.9)	11(33.4)	25(32.1)	
中度	3(42.9)	5(35.7)	14(42.4)	32(41.0)	
重度	1(14.2)	3(21.4)	8(24.2)	21(26.9)	

组指南,采用0-4级分法评估NAFLD纤维化程度(S)和炎症活动程度(G). AIH特征性表现包括:突出的界面炎,汇管区中重度淋巴细胞浆细胞浸润,明显的桥接坏死或融合严重的淋巴细胞炎症样变,以及肝细胞玫瑰花结的形成. 脂肪变程度根据肝活检标本脂肪样变所占比例分为轻、中、重度,轻度:肝细胞脂肪变占5%-33%;中度:肝细胞脂肪变占33%-66%;重度:肝细胞脂肪变占66%以上.

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计学软件对数据进行处理. 计量资料以mean±SD表示,采用单因素方差分析、K-W检验;计数资料以例数或百分率描述,采用 $\chi^2$ 检验、秩和检验;检验水准 $\alpha=0.05$ .  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 一般特征及生化** 组1为NAFLD合并AILD组;组2为NAFLD合并其他自身免疫性疾病(除外AILD)组,其中NAFLD合并多发性肌炎4例、合并强直性脊柱炎2例、合并干燥综合征4例、合并类风湿性关节炎(RF)4例;组3为NAFLD合并自身免疫现象组;组4为NAFLD组. 四组患者一般特征、生化及代谢相关指标比较见表1,4组患者在性别、年龄、BMI、腰臀比、血压方面比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ );ALT、ALP、HOMA-R、TG四组间比较差异均无统计学意义( $P>0.05$ );AST、IgG、肝脏硬度值在四组间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),AST组1与组4之间比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ),组1与组2、组3,组4与组2、组3,2与组3之间比较均无统计学意义;IgG组1、组2、组3分别与组4比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),组1、组2、组3之间比较差异无统计学意义;肝脏硬度值组1分别与组2、组3、组4比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ),组2、组3、组4之间比较差异无统计学意义.



## ■创新盘点

本课题对132例NAFLD患者进行分组研究, 结果发现IgG、肝脏硬度值、肝纤维化和炎症程度与自身免疫异常严重程度有关, 且IgG和肝脏硬度值可作为长期随访指标。

图1 NAFLD合并自身免疫问题患者肝脏组织学表现. A: NAFLD合并PBC患者汇管区炎细胞浸润、PBC肉芽肿形成(HE  $\times$  40); B: NAFLD合并PBC患者纤维样变(Masson  $\times$  40); C: NAFLD合并PBC患者CD38细胞染色( $\times$  100); D: NAFLD合并RF患者汇管区浆细胞浸润(HE  $\times$  100); E: NAFLD合并RF患者纤维样变(Masson  $\times$  40); F: NAFLD合并自身免疫现象患者HE染色( $\times$  40); G: NAFLD合并自身免疫现象患者纤维样变(Masson  $\times$  40); H: 单纯NAFLD患者汇管区浆细胞浸润(HE  $\times$  100).

**2.2 组织学表现** 4组患者肝活检后纤维化分期、炎症程度分级及脂肪变程度比较如表2, 图1. 四组患者比较, 肝纤维化程度、炎症程度差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 肝脂肪变程度比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ). 肝纤维化程度、炎症程度组1分别与组2、组3、组4比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), 组2、组3、组4之间比较差异无统计学意义。

**2.3 7例NAFLD合并AILD患者主要指标** NAFLD合并AIH合并PBC3例, NAFLD合并AIH3例, NAFLD合并PBC1例, 7例患者IgG均升高, 3例NAFLD合并AIH患者抗体ANA均阳性(1:320), AIH评分 $>15$ 分, 1例NAFLD合并PBC患者抗体AMA阳性(1:320), AIH评分小于10分, 3例NAFLD合并重叠综合征(AIH+PBC)患者抗体ANA、AMA均阳性, 并合并肝肾微粒体抗体

(liver-kidney microsomal antibody, LKM-1)等多种抗体阳性(表3).

### 3 讨论

近年来, 随着生活方式的改变, NAFLD已成为肝功能酶学异常和慢性肝病的最常见原因之一, 其发病可能与肝脏脂质代谢障碍、胰岛素抵抗、遗传、免疫等因素相关. NAFLD常有肝脏网状内皮系统功能障碍以及炎性细胞和促炎细胞因子浸润, 此观点已被动物实验证实<sup>[12]</sup>; 肠道微生物菌群是调节异位脂肪沉积的关键, 有研究表明<sup>[13]</sup>炎症因子导致的微生物菌丛失调可加剧肝脏脂肪变和NAFLD的治疗难度。

目前认为慢性炎症反应是AILD和NAFLD的共同病变基础. NAFLD患者肝脏大量脂肪因子的分泌使机体处于慢性炎症状态, 同时, 增加



## ■同行评价

本文选材好,思路清晰,分析透彻,通过临床研究所得出的结果为临床医生规范化诊疗、避免误诊及不必要的治疗提供了依据。

表 3 NAFLD合并AILD患者一般特征、生化及自身抗体

诊断	性别	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	ALT (U/L)	ALP (U/L)	TG (mg/dL)	HOM- A-R	IgG(g/L)	抗体	肝脏硬度值(kpa)	G	S	AIH评分
NAFLD 并重叠	女	32.4	22	96	1.69	3.8	21.4	ANA1:100 AMA1:320 LKM-1	15.2	2	2	14
	女	25.1	526	191	1.98	2.52	12.96	ANA1:100 SSA(+++) sp100(+)	12.8	2	2	13
	女	24.8	37	69	2.63	2.2	16.6	ANA1:320 AMA1:100 IgG4(+)	28.6	3	3-4	8
NAFLD 并AIH	女	26	63	178	3.31	2.46	21.3	ANA1:320 SMA(±) Anti- ASGPR(±)	16	1	2	18
	男	25.8	112	77	2.62	2.23	15.47	ANA1:320	6.5	2	1	15
	女	26.4	156	103	2.32	4.8	16.9	ANA1:320 SSA(+)	13.9	3	2	16
NAFLD 并PBC	男	26.7	15	60	1.24	3.5	15.8	AMA1:320	25.7	2	2	6

BMI: 体质指数; TG: 甘油三酯; HOMA-R: 胰岛素抵抗指数; ALT: 丙氨酸转氨酶; ALP: 碱性磷酸酶。

的游离脂肪酸使肝脏脂质过度沉积, 趋化大量巨噬细胞, 进而诱发自身免疫反应; 过多的脂质可使机体处于氧化应激状态, 产生的活性氧族通过与TNF- $\alpha$ 、FAS配体作用诱导肝细胞凋亡, 并可激活核转录因子, 调节炎症因子的表达, 引起肝组织纤维化。有文献报道脂肪因子瘦素可诱导Th1细胞启动自身免疫反应<sup>[14]</sup>。对NASH和PBC小鼠模型的肝脏病理学研究也发现, NASH小鼠病理学上可出现界面炎、汇管区炎性细胞浸润以及小胆管损伤样改变, 并可检测出自身抗体, 如ANA, 但PBC小鼠病理学未发现NASH样改变。

本研究发现, NAFLD患者和NAFLD合并AILD、合并其他自身免疫性疾病(除AILD)、合并自身免疫现象患者一般特征并无显著差别, AST组1高于组2、组3、组4, 但只有组1与组4比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ); IgG在组1、组2、组3均升高, 组4正常, 组1、组2、组3分别与组4比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ ), 而组1、组2、组3之间差异无统计学意义, 此结果与国外研究结果相一致<sup>[15]</sup>。IgG升高可怀疑NAFLD合并自身免疫异常, 但不能作为鉴别的依据。肝脏剪切波弹性成像(supersonic shear imaging, SSI)目前作为一种新技术被应用于此项研究中, 有文献报道<sup>[16]</sup>SSI测得肝脏硬度值与肝纤维化程度正相关, 对于肝活检有风险者及病情长期随访有重大意义。本组研究中, 四组肝脏硬度值均升

高(参考值 $<6.2$  kpa), 组1升高显著, 组1分别与组2、组3、组4比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。此外, 四组肝活检结果比较, 肝纤维化分级、炎症活动分期组1明显高于组2、组3、组4, 组1分别与另三组比较差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 此结果与SSI测得肝脏硬度值结果相一致。表明肝脏硬度值可作为除肝活检外病情长期随访的可靠指标。NAFLD合并其他自身免疫性疾病(除AILD)、合并自身免疫现象患者可表现为多种自身抗体阳性, 而肝组织学未发现AIH特征性改变, 表明NAFLD患者是否合并AILD确诊需依据肝组织学表现, 以避免临床误诊率和不必要的治疗。

AILD和NAFLD目前尚缺乏代表性血清标志物, ANA阳性高度怀疑AIH的可能, 但其诊断仍需要依据国际自身免疫性肝病组织报道的AIH评分系统<sup>[17]</sup>。有西方国家研究表明, 20%-30%的NAFLD患者可合并有自身抗体阳性, 但是自身抗体阳性的NAFLD患者中只有10%够标准诊断NAFLD合并AIH, 尤其NASH所致肝硬化的女性患者可有很高的ANA或SMA滴度, 很难将其与抗体滴度低的AIH患者区分<sup>[7]</sup>。目前对于NAFLD患者合并AILD的诊断, 仍需依赖肝组织病理学。研究中发现血清IgG、肝脏硬度值在四组之间比较中有统计学意义, 可作为长期随访指标。本研究针对中原地区NAFLD患者, 进一步深入研究仍需要纳入不同地区、大样本

量观察, 为NAFLD患者的长期随访及疾病早期预防提供指导意义。

#### 4 参考文献

- 1 Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P. Nonalcoholic fatty liver disease. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2010; 24: 695-708 [PMID: 20955971]
- 2 Farrell GC, Wong VW, Chitturi S. NAFLD in Asia-as common and important as in the West. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 307-318 [PMID: 23458891 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.34]
- 3 Zhou YJ, Li YY, Nie YQ, Ma JX, Lu LG, Shi SL, Chen MH, Hu PJ. Prevalence of fatty liver disease and its risk factors in the population of South China. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 6419-6424 [PMID: 18081233 DOI: org/10.3748/wjg.13.6419]
- 4 卓玛, 李长山. 自身免疫和自身免疫性疾病的研究进展. *中国医药指南* 2012; 10: 92-94
- 5 贾继东. 自身免疫性肝病的基本概念和诊断思路. *中华肝脏病杂志* 2005; 13: 54
- 6 Barcellini W, Iurlo A, Radice T, Imperiali FG, Zaninoni A, Fattizzo B, Guidotti F, Bianchi P, Fermo E, Consonni D, Cortelezzi A. Increased prevalence of autoimmune phenomena in myelofibrosis: relationship with clinical and morphological characteristics, and with immunoregulatory cytokine patterns. *Leuk Res* 2013; 37: 1509-1515 [PMID: 24080022 DOI: 10.1016/j.leukres.2013.09.001]
- 7 Yatsuji S, Hashimoto E, Kaneda H, Tanai M, Tokushige K, Shiratori K. Diagnosing autoimmune hepatitis in nonalcoholic fatty liver disease: is the International Autoimmune Hepatitis Group scoring system useful? *J Gastroenterol* 2005; 40: 1130-1138 [PMID: 16378177 DOI: 10.1007/s00535-005-1711-z]
- 8 Chalasani N, Younossi Z, Lavine JE, Diehl AM, Brunt EM, Cusi K, Charlton M, Sanyal AJ. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: practice Guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases, American College of Gastroenterology, and the American Gastroenterological Association. *Hepatology* 2012; 55: 2005-2023 [PMID: 22488764 DOI: 10.1002/hep.25762]
- 9 Farrell GC, Chitturi S, Lau GK, Sollano JD. Guidelines for the assessment and management of non-alcoholic fatty liver disease in the Asia-Pacific region: executive summary. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 775-777 [PMID: 17565629 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.05002.x]
- 10 Czaja AJ, Freese DK. Diagnosis and treatment of autoimmune hepatitis. *Hepatology* 2002; 36: 479-497 [PMID: 12143059 DOI: 10.1002/hep.23584]
- 11 中华医学会传染病与寄生虫病学分会肝病学会. 病毒性肝炎防治方案. *中华传染病杂志* 2001; 19: 56-62
- 12 Pesarín M, La Mura V, Gracia-Sancho J, García-Calderó H, Rodríguez-Vilarrupla A, García-Pagán JC, Bosch J, Abalde JG. Sinusoidal endothelial dysfunction precedes inflammation and fibrosis in a model of NAFLD. *PLoS One* 2012; 7: e32785 [PMID: 22509248 DOI: 10.1371/journal.pone.0032785]
- 13 Wood NJ. Microbiota: Dysbiosis driven by inflammation exacerbates hepatic steatosis and governs rate of NAFLD progression. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 123 [PMID: 22349167 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.21]
- 14 Fernández-Riejos P, Najib S, Santos-Alvarez J, Martín-Romero C, Pérez-Pérez A, González-Yanes C, Sánchez-Margalet V. Role of leptin in the activation of immune cells. *Mediators Inflamm* 2010; 2010: 568343 [PMID: 20368778 DOI: 10.1155/2010/568343]
- 15 Cho DH, Choi MS, Kim DH, Kim DY, Shim SG, Lee JH, Koh KC, Paik SW, Yoo BC, Rhee JC. [A prospective study on the prevalence and clinical significance of autoantibodies in patients with suspected nonalcoholic fatty liver disease]. *Korean J Hepatol* 2005; 11: 261-267 [PMID: 16177552]
- 16 王利慧, 徐芸, 孙璐璐, 保洁. 实时剪切波弹性成像诊断自身免疫性肝病的肝纤维化程度. *中华内科杂志* 2013; 52: 601-603
- 17 Alvarez F, Berg PA, Bianchi FB, Bianchi L, Burroughs AK, Cancado EL, Chapman RW, Cooksley WG, Czaja AJ, Desmet VJ, Donaldson PT, Edleston AL, Fainboim L, Heathcote J, Homberg JC, Hoofnagle JH, Kakumu S, Krawitt EL, Mackay IR, MacSween RN, Maddrey WC, Manns MP, McFarlane IG, Meyer zum Büschenfelde KH, Zeniya M. International Autoimmune Hepatitis Group Report: review of criteria for diagnosis of autoimmune hepatitis. *J Hepatol* 1999; 31: 929-938 [PMID: 10580593]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 广西地区丙型肝炎病毒的基因型分布与流行病学特征

唐维, 苏明华, 江建宁, 刘志红, 韦智, 晏双龙, 覃锦耀, 滕春玲

## ■背景资料

丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 是引起慢性病毒性肝炎及肝细胞肝癌的主要病原体之一, 全球每年约35万例死于与HCV感染相关的肝脏疾病, 他严重威胁着人类的健康。由于HCV基因型与肝炎严重程度及干扰素的应答关系密切, 因此HCV的基因分型对丙型肝炎的治疗及疗效预测有着重要意义。

唐维, 苏明华, 江建宁, 刘志红, 韦智, 晏双龙, 滕春玲, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科 广西壮族自治区南宁市 530021

覃锦耀, 广西医科大学第一附属医院检验科 广西壮族自治区南宁市 530021

唐维, 在读硕士, 主要从事与慢性丙型肝炎疾病进展相关因素的研究。

广西卫生厅基金资助项目, No. Z2011346

作者贡献分布: 此课题由唐维、苏明华及江建宁设计; 研究过程、资料查找及数据分析由唐维、刘志红、韦智及晏双龙共同完成; 实验样本由覃锦耀与滕春玲收集; 论文撰写由唐维完成; 苏明华审核。

通讯作者: 苏明华, 教授, 主任医师, 530021, 广西壮族自治区南宁市双拥路6号, 广西医科大学第一附属医院感染性疾病科。

smh9292@163.com

电话: 0771-5356531

收稿日期: 2013-12-27 修回日期: 2014-01-24

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## Epidemiological characteristics and genotype distribution of hepatitis C virus in Guangxi

Wei Tang, Ming-Hua Su, Jian-Ning Jiang, Zhi-Hong Liu, Zhi Wei, Shuang-Long Yan, Jin-Yao Qin, Chun-Ling Teng

Wei Tang, Ming-Hua Su, Jian-Ning Jiang, Zhi-Hong Liu, Zhi Wei, Shuang-Long Yan, Chun-Ling Teng, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China

Jin-Yao Qin, Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China  
Supported by: the Foundation of Health Department of Guangxi, No. Z2011346

Correspondence to: Ming-Hua Su, Professor, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, 6 Shuangyong Road, Nanning 530021, Guangxi Zhuang Autonomous Region, China. smh9292@163.com

Received: 2013-12-27 Revised: 2014-01-24

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the distribution characteristics of HCV genotypes in Guangxi, and to explore the correlations of ethnicity, gender, age, route of infection and HCN-RNA load with HCV genotypes.

**METHODS:** The NS5B region was amplified from

137 HCV-RNA positive serum samples and sequenced. The sequences obtained were compared with the sequences deposited in Genbank to construct a HCV NS5B phylogenetic tree.

**RESULTS:** The major genotype of HCV in Guangxi was 1b (58.4%), followed by 6a (12.4%), 3b (10.2%), 1a (7.3%), 2a (7.3%), and 3a (4.4%). There were no significant correlations between HCV genotype and ethnicity or gender ( $P > 0.05$  for both). Significant correlations were found between HCV genotype and age, route of infection and HCV-RNA load ( $P < 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Accurate HCV genotypes and subgenotypes can be obtained by establishing a phylogenetic tree of the HCV NS5B region. At least seven subgenotypes were detected in Guangxi and the main genotypes are 1b, 6a and 3b. Compared with previous reports, our results indicated that the prevalence of genotype 1b seems to decline, and the prevalence of 6a tends to increase gradually. Genotypes 3 and 6a were mainly found in young intravenous drug users. The distribution of HCV genotypes changes with the change in the route of infection.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Guangxi; Hepatitis C virus; Genotype; Phylogenetic tree; Correlative factor

Tang W, Su MH, Jiang JN, Liu ZH, Wei Z, Yan SL, Qin JY, Teng CL. Epidemiological characteristics and genotype distribution of hepatitis C virus in Guangxi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1300-1306 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1300.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1300>

## 摘要

**目的:** 了解广西地区丙型肝炎病毒 (hepatitis C virus, HCV) 基因型的分布特征, 探讨HCV基因型与民族、性别、年龄、感染途径及HCV RNA载量的关系。

**方法:** 收集广西地区137例HCV RNA阳性患者

## ■同行评议者

阴赅宏, 研究员, 首都医科大学附属北京友谊医院感染与急救医学



的血清样本, 采用逆转录巢式PCR(RT nested-PCR)法扩增HCV NS5B区段, 对PCR终产物纯化测序后与Genbank中的标准株全基因序列比对, 共同构建HCV NS5B区段系统进化树。

**结果:** 广西地区HCV基因型主要为1b型(58.4%), 其次是6a型(12.4%), 3b型(10.2%), 1a型(7.3%), 2a型(7.3%), 3a型(4.4%)。分析表明, HCV基因型与民族、性别无明显相关性( $P>0.05$ ), 而与年龄、感染途径及HCV-RNA载量有一定相关性( $P<0.05$ )。

**结论:** 构建HCV NS5B区段系统进化树能得到准确的HCV基因型和亚型; 广西地区至少存在7种HCV基因亚型, 以1b型为主, 6a型和3b型次之; 较国内早期的研究报道, 1b型的流行率似乎有下降趋势, 而6a型的流行率似乎逐步上升; 3型与6a型多见于有静脉药瘾史的年轻患者; 随着感染途径的变迁, HCV基因型的分布也将发生改变。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 广西地区; 丙型肝炎病毒; 基因型; 系统进化树; 相关因素

**核心提示:** 广西地区目前至少存在7种丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)基因亚型(1a、1b、2a、3a、3b、6a、6d), 由于地处西南边境, 近年来吸毒人群不断增多, 静脉吸毒有可能成为广西地区新发HCV感染的主要传播途径, 且吸毒人群流动性大, 各地区的HCV基因型分布也将发生变化。

唐维, 苏明华, 江建宁, 刘志红, 韦智, 晏双龙, 覃锦耀, 滕春玲. 广西地区丙型肝炎病毒的基因型分布与流行病学特征. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1300-1306 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1300.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1300>

## 0 引言

丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)是引起慢性病毒性肝炎的主要病原体之一, 也是肝细胞肝癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的重要病因之一。全球现约1.7亿人感染了HCV<sup>[1]</sup>, 平均流行率为3.0%, 每年新发感染300-400万例, 约35万例死于与HCV感染相关的肝脏疾病<sup>[2]</sup>, 可见HCV严重威胁着人类的健康。HCV属黄病毒科, 为单股正链的RNA病毒, 基因组全长约9.6 kb。HCV基因组具有高度异质性, 根据其核苷酸序列不同, 可将HCV分为不同的基因型和基因亚型。现国际上公认可分成6个基因型(1-6型)和至少83种亚型<sup>[3]</sup>。目

前, HCV基因分型的方法有很多种, 而根据HCV NS5B区段的基因序列进行分型的方法被公认为HCV基因分型的“金标准”<sup>[4]</sup>。由于HCV基因型与肝炎严重程度及干扰素的应答关系密切<sup>[5]</sup>, 因此HCV的基因分型对丙型肝炎的防治有着重要意义。广西是以壮族为主的少数民族自治区, 也是全国少数民族人口最多的省(区), 为了解该地区流行的HCV基因型的分布特点, 及探讨该地区丙型肝炎患者的民族、性别、年龄、感染途径及HCV RNA载量与HCV基因型有无关系, 我们做了以下研究。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集广西壮族自治区2011-02/2013-05在广西医科大学第一附属医院感染性疾病科门诊及住院部就诊的137例HCV-RNA阳性患者的血清, 并排除合并HAV、HBV、HDV、HEV感染者及酒精性肝炎、自身免疫性肝炎患者。其中, 男75例, 女62例, 平均年龄41.9岁±12.3岁(按首次确诊为慢性丙型肝炎的时间计算)。HCV-RNA载量 $1.0 \times 10^3$ - $2.95 \times 10^7$  IU/mL(治疗前)。阴性对照组为健康体检者(抗HCV及HCV-RNA均阴性)的血清, 标本于-80℃保存。Trizol LS购自Invitrogen公司, 逆转录试剂盒、rTaq酶及DNA分子量标志品均购自Takara公司。引物按参考文献[6], 由上海英骏生物技术有限公司合成(表1)。

### 1.2 方法

**1.2.1 提取RNA:** 用传统TRIZOL法从200 μL血清中提取总RNA, 将其溶于10 μL焦碳酸二乙酯(diethylpyrocarbonate, DEPC)处理水中。

**1.2.2 逆转录:** 将上述提取的总RNA严格按照逆转录试剂盒PrimeScript RT Master Mix的说明书操作, 逆转录产物(cDNA)于-20℃保存备用。

**1.2.3 PCR扩增:** 应用巢式PCR扩增NS5B区, 按照Premix Taq Version 2.0说明书, 先取2 μL模板cDNA于25 μL体系中, 加引物ENO<sub>2</sub>和ENO<sub>4</sub>行第1轮PCR, 反应条件为94℃ 30 s, 59℃ 30 s, 72℃ 30 s, 30 cycles; 再取3 μL第1轮扩增产物于50 μL体系中, 加引物NS5S3和NS5A5行第2轮PCR, 反应条件同前; 最后取3 μL第2轮扩增终产物作2%琼脂糖凝胶电泳, 每次设立阴性对照、严格控制可能的污染, 确保实验的结果可靠。

**1.2.4 核苷酸测序:** 电泳结果可见阳性条带的PCR终产物送上海英骏生物技术有限公司测序, 测序引物用NS5S3。

## ■ 研究前沿

目前全国大部分地区已对HCV基因型的流行特征做了初步研究, 广西地区作为少数民族的自治区, 对此研究尚未深入探讨。本研究将可能与HCV基因型相关的因素(包括民族、性别、年龄、感染途径及HCV-RNA载量)纳入分析, 同时比较广西地区HCV基因型的流行模式与国内其他地区有无异同。

## ■ 相关报道

余晶等在广西地区小样本中未检出3a型,而聂红明等在广西地区检出罕见的6d型。云南地区以1b型和3b型多见,广东地区以1b型为主,6a型已成为第二常见的基因亚型。广西地区HCV基因型的流行模式与西南、华南地区更接近。

表 1 引物序列表

扩增区段	引物名	引物序列(5'→3')	位置(nt)	备注
NS5B区	ENO2	TGGGSTTYKCSATGAYACYCGMTGYTTTGA	8245-8275	外侧正向引物
	ENO4	ARTACCTRGTCATAGCCTCCGTGAA	8616-8640	外侧反向引物
	NS5S3	TATGATACCCGCTGCTTTGACTCCAC	8256-8281	内侧正向引物
	NS5A5	GTCATAGCCTCCGTGAAGGCTC	8611-8632	内侧反向引物

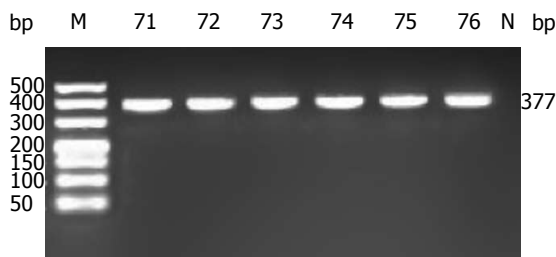


图 1 阳性扩增产物电泳图。M: MarkerDNA分子量标志品; 71-76: 不同HCV感染者的阳性扩增产物; N: 阴性对照。

1.2.5 构建进化树: 以GenBank中注册的HCV标准株全基因序列为参照, Genbank的登录号(Accession Number)1a型: AF009606、AF271632; 1b型: AB016785、AY460204、EU155217、AJ132996、AB049088; 2a型: AB047642、AF169004; 2b型: AF238486、AB030907; 3a型: D17763、AF046866; 3b型: D49374; 4a型: DQ418782、Y11604; 5a型: Y13184; 6a型: AY859526、DQ480515、EU246930、Y12083。采用软件MEGA5.0, 以ClustalW1.8进行序列比对, 邻接法(neighbor-joining)及P-distance模型构建系统进化树以确定基因型, 用Bootstrap法检验进化树的可靠性。

**统计学处理** 应用SPSS16.0, 将HCV基因型分别与民族、性别、年龄、感染途径及病毒载量进行统计分析, 计数资料采用卡方检验, 计量资料满足正态分布及方差齐性时采用单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 电泳 NS5B区PCR终产物全长377 bp, 电泳条带显示清晰, 无非特异性条带扩增(图1)。

2.2 基因型的检测 137例样本成功扩增并分型, 分型率达100%。结果显示, 1b型最多见, 占58.4%(80/137), 其次是6a型占12.4%(17/137), 3b型占10.2%(14/137), 1a与2a型各占7.3%(10/137)。此外, 还检出6例3a型(4.4%)。

2.3 相关因素中HCV基因型的分布 本研究137例

样本中共检出6种基因亚型, 由于受样本例数限制, 将1a型与1b型合并为1型, 3a型与3b型合并为3型; 5个可能与HCV基因型相关的因素(包括民族、性别、年龄、感染途径及HCV-RNA载量)被纳入分析; 其中民族分汉族与壮族; 年龄分为<40岁和≥40岁2个组; 感染途径包括: 输血、静脉药瘾、不明原因及其他途径(如纹身、针灸、打耳洞、口腔治疗、性传播等)感染4类(表2)。

2.4 民族与HCV基因型的关系 137例患者中汉族占72.3%(99/137), 壮族为24.1%(33/137), 均以1b型为主基因型, 2a型最少, 另有5例分别为瑶族、苗族、侗族、水族、京族的患者均为1b型, 因例数少未纳入分析。分析表明, HCV基因型在汉族与壮族中的总体分布差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

2.5 性别与HCV基因型的关系 在75例男性和62例女性患者中, 均以1型居多, 分别为46例(61.3%), 44例(71.0%), 2a型、3型和6a型也占有一定比例。经统计分析, HCV基因型在男女两性别组中的分布无统计学差异( $\chi^2 = 2.100, P > 0.05$ )。

2.6 年龄与HCV基因型的关系 HCV基因型在<40岁和≥40岁两个年龄组中的总体分布差异有统计学意义( $\chi^2 = 13.683, P < 0.05$ )。感染HCV1型的患者多见于≥40岁年龄组中, 而3型、6a型主要见于<40岁的年轻患者。2a型在两个年龄组中的分布无明显差异。年龄(计量资料)满足正态分布及方差齐性, 采用单因素方差分析, 差异具有统计学意义( $F = 4.127, P < 0.05$ )。进一步两两比较, 1型患者的年龄大于3型和6a型( $P < 0.05$ ); 而1型与2a型、2a型与3型、2a型与6a型、3型与6a型在两个年龄组中的分布均无统计学差异( $P > 0.05$ )。

2.7 感染途径与HCV基因型的关系 137例患者中40.1%有输血史, 9.5%有吸毒史, 19.7%来自其他感染途径如纹身、针灸、打耳洞、口腔治疗、性传播等, 另有30.7%为不明原因感染者。统计分析表明, HCV基因型在各类感染途径中的分布存在统计学差异( $\chi^2 = 44.145, P < 0.05$ )。1型主

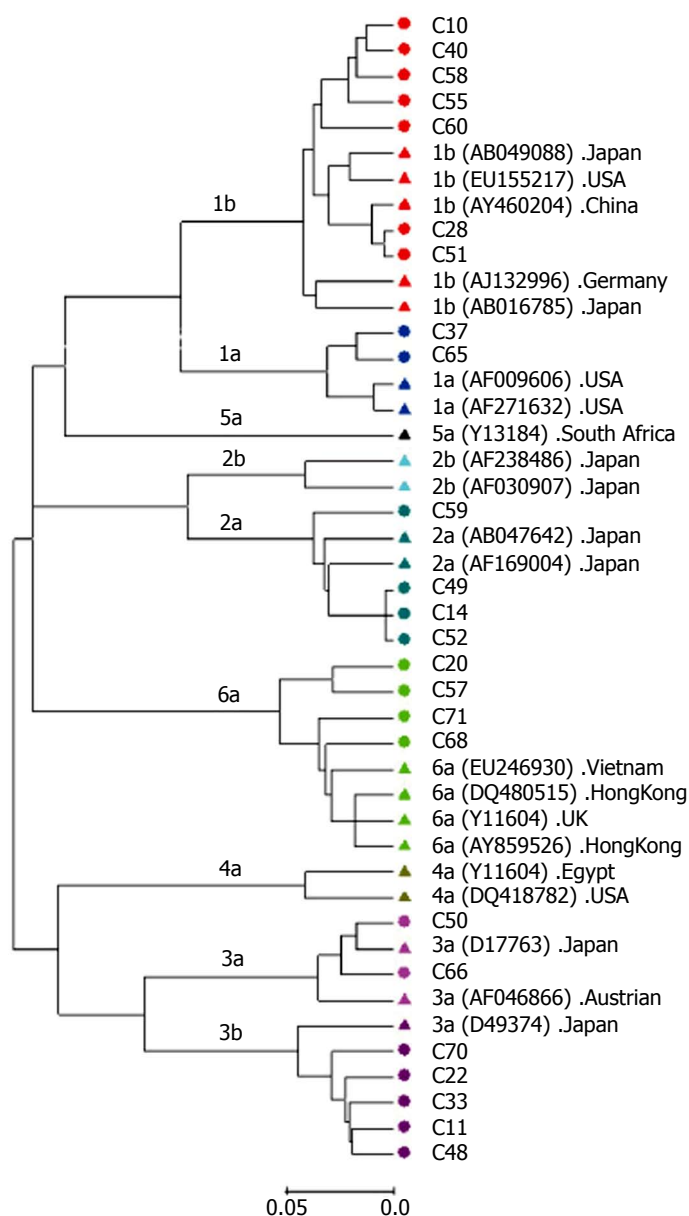


图 2 24例分离株与21例标准株共同构建的系统进化树. 圆: 成功测序的分离株; 三角: 在Genbank中注册的标准株.

#### ■ 创新盘点

本研究通过构建系统进化树从而验证该基因分型的方法准确可靠. 分析HCV基因型与民族之间的关系时, 得出与国内早期研究不一致的结论. 民族(种族)对不同基因型HCV的易感性有无影响尚无报道, HCV基因型的遗传易感性值得深入研究.

要经输血感染, 3型和6a型因静脉药瘾感染占有很高比例; 其他感染途径则以1型和3型多见, 78.6%不明原因感染的为1型, 也见于2a型、3型及6a型.

**2.8 HCV-RNA与HCV基因型的关系** 本研究的HCV-RNA载量均为患者抗病毒治疗前的检测结果. 计量资料满足正态分布及方差齐性, 单因素方差分析表明, 不同HCV基因型患者中的HCV-RNA载量差异具有统计学意义( $F = 4.408$ ,  $P < 0.05$ ). 进一步分析, 3型与1型、6a型具有统计学差异( $P < 0.05$ ), 1型和6a型患者的HCV-RNA载量要高于3型患者; 而2a型与1型、3型、6a型之间的差异无统计学意义( $P > 0.05$ ).

**2.9 进化树分析** 进化树分析(phylogenetic analysis)也称种系发生史分析, 是指通过物种间遗传

编码的变异规律来推断或估计各物种间的进化关系. 如图2所示, 相同基因型的分离株与标准株分布在同一树枝上, 进一步说明该基因分型的方法准确可靠.

### 3 讨论

HCV基因组根据其核苷酸序列的差异程度, 可将HCV分为基因型(30%-35%), 基因亚型(20%-25%), 分离株(5%-9%)和准种(1%-5%)<sup>[7]</sup>. 本研究通过对137例样本的HCV NS5B区段PCR终产物纯化测序, 并与Genbank中标准株的全基因核苷酸序列比对共同构建系统进化树, 得出不同的HCV基因型和亚型. 基因型为1b型的C28、C51与中国株(1b AY460204)分布在同一小树枝上, 表示进化距离很近, 而与美国株(1b



## ■应用要点

HCV基因型与肝炎严重程度及干扰素的应答关系密切, HCV的基因分型为丙型肝炎的治疗及疗效预测提供了理论依据. 因此抗病毒治疗前, 常规检测HCV基因型与HCV-RNA水平是很有必要的.

表 2 相关因素中HCV基因型的分布情况  $n(\%)$ 

相关因素	$n(\%)$	HCV基因型				$\chi^2/F$	$P$ 值
		1型(1a/1b)	2型(2a)	3型(3a/3b)	6型(6a)		
民族 <sup>1</sup>						<sup>2</sup>	0.127
汉族	99(72.3)	69(69.7)	7(7.1)	12(12.1)	11(11.1)		
壮族	33(24.1)	16(48.5)	3(9.1)	8(24.2)	6(18.2)		
性别						$\chi^2 = 2.100$	0.552
男	75(54.7)	46(61.3)	5(6.7)	13(17.3)	11(14.7)		
女	62(45.3)	44(71.0)	5(8.1)	7(11.3)	6(9.7)		
年龄(岁)						$\chi^2 = 13.683$	0.003
< 40	62(45.3)	31(50.0)	5(8.1)	14(22.6)	12(19.4)		
$\geq 40$	75(54.7)	59(78.7)	5(6.7)	6(8.0)	5(6.7)		
感染途径							0.000
输血	55(40.1)	45(81.8)	5(9.1)	1(1.8)	4(7.3)		
静脉药瘾	13(9.5)	2(15.4)	1(7.7)	6(46.2)	4(30.8)		<sup>2</sup>
其他 <sup>3</sup>	27(19.7)	10(37.0)	1(3.7)	9(33.3)	7(25.9)		
不明原因	42(30.7)	33(78.6)	3(7.1)	4(9.5)	2(4.8)		
HCV-RNA载量							
对数值(mean $\pm$ SD)	5.5 $\pm$ 1.0	5.6 $\pm$ 0.9	5.2 $\pm$ 0.5	4.9 $\pm$ 1.1	5.8 $\pm$ 1.0	$F = 4.408$	0.005
年龄(mean $\pm$ SD)	41.9 $\pm$ 12.3	44.5 $\pm$ 12.4	38.2 $\pm$ 16.2	36.7 $\pm$ 6.6	36.5 $\pm$ 11.1	$F = 4.127$	0.008

<sup>1</sup>其中5例1b型分别为瑶族、朝族、侗族、水族、京族, 因例数少未纳入分析; <sup>2</sup>采用确切概率法, 无卡方值; <sup>3</sup>包括纹身、针灸、打耳洞、口腔治疗、性传播等感染途径.

EU155217)、日本株(1b AB049088)进化距离较远; 日本株(2a AF169004和2a AB047642)分布在C49、C14、C52外侧; 6a型中的C68、C71紧挨着越南株(6a EU246930); C48、C11、C33、C22、C70依次分布在日本株(3b D49374)的内侧, 说明广西地区这些分离株与标准株有较高的同源性, 即有很近的亲缘关系, 有可能由同一祖先进化而来. 值得注意的是, 用PCR产物直接测序的局限性在于不能检出混合基因型, 只能得到优势株的序列. 但有学者认为, 如果在测序的序列图谱中某些位点出现兼并碱基, 也提示可能存在混合基因型的感染.

HCV基因型的分布存在明显的地域性差异, 其中1b型主要流行于日本、中国、南欧和东欧; 1a型多见于西欧和北美国家; 2a型主要分布于亚洲国家; 3型在印度半岛、东南亚和印度尼西亚较为突出<sup>[8,9]</sup>, 4型主要见于中东和北非<sup>[10]</sup>; 5型主要见于南非<sup>[11]</sup>; 6型主要分布在东南亚国家<sup>[12,13]</sup>. 在中国大陆则以1b型为主, 2a型次之, 6型主要见于香港和澳门地区, 在南方边境省份也可见. 我们的研究显示, 广西地区以1b型(58.4%)居多, 其次是6a型(12.4%), 3b型(10.2%), 1a型(7.3%), 2a型(7.3%), 3a型(4.4%), 未发现4型、5型. 余晶等<sup>[14]</sup>与我们的研究结果基本一致, 不同的是本研究

还检出6例3a型, 且6a型比例增多. 聂红明等<sup>[15]</sup>对全国18个研究中心HCV基因型的分析表明, 广西、广州、深圳地区的基因型分布呈多样化, 其余地区均以1b型为主, 3b型和6a型主要分布在南方省份, 这与我们的研究结果也相吻合. 但他们在广西地区的样本中还检出1例罕见的6d亚型, 而本研究并未发现此基因型.

与国内绝大多数地区一样, 广西地区HCV基因型也以1b型为主, 但较国内以往报道(70%-80%), 1b型的流行率(58.4%)明显下降. 推测其原因可能是由于1b型与输血传播途径相关, 而中国自1993年开始对献血者进行严格筛查, 使得通过血液传播HCV的可能性大大减少. 国内外研究表明, 3型和6a型主要见于静脉药瘾者<sup>[16]</sup>, 尤其是3b型在静脉药瘾人群中的感染率高达40.3%. 李铮等<sup>[17]</sup>报道云南地区以1b型和3b型多见; 广东地区则以1b型为主, 6a型已取代2a型成为第二常见的基因亚型<sup>[6,18]</sup>. 在我国广西地处西南边境, 毗邻毒品主要产地“金三角”, 又与广东、云南、贵州等地区接壤, 吸毒贩毒现象比较突出, 显然静脉吸毒成了这些地区HCV的主要传播方式. 由此推测, 静脉吸毒有可能成为广西及周边地区新发HCV感染的主要传播途径.

广西是以汉族为主体, 壮族在少数民族中占

多数的自治区. 本研究中137例患者主要来自汉族(72.3%)和壮族(24.1%), 均以1b型多见, 其中有5例1b型患者分别来自瑶族、苗族、侗族、水族和京族. 研究显示, HCV基因型在汉族与壮族中的总体分布差异并无统计学意义( $P>0.05$ ); 李钟燮等<sup>[19]</sup>在分析延边地区朝鲜族与汉族HCV基因型特征时也得出上述结论, 我们的研究结果与国内外大多数报道是一致的. 然而早在1998年王云等<sup>[20]</sup>研究表明在HCV感染中, 民族与民族之间基因型却存在差异. 这可能跟研究对象的地域性差异有关, 也有可能不同民族的人通婚后, 其子女主要随其父亲同民族有关(以患者的身份证为参考). 研究证明, 不同种族的慢性丙型肝炎患者对干扰素抗病毒的疗效及预后存在差异. 但不同民族(种族)的人群对不同基因型HCV的易感性有无差别尚不明确. 目前有关HCV基因型遗传易感性方面的研究处于探讨阶段, 某些不一致的结论还有待深入研究和证实. 此外, HCV基因型在男女两组中的分布亦无统计学差异( $P>0.05$ ), 男女患者都以1b型为主, 这与国内外大多数报道一致. 然而, HCV基因型在年龄、感染途径及HCV-RNA载量中的总体分布差异均具有统计学意义( $P<0.05$ ). 1b型多见于 $\geq 40$ 岁年龄组中, 主要通过输血感染, 其HCV-RNA载量亦高于其他基因型, 显然这符合HCV基因型与慢性丙型肝炎临床表现之间的规律, 即HCV-RNA载量越高, 肝细胞损害越严重, 临床表现也越明显; 而3型及6a型主要见于 $<40$ 岁的年轻患者, 且多数经吸毒(静脉药瘾)传播. 王佳佳等<sup>[21]</sup>的研究也表明HCV基因型在不同感染途径中的分布存在差异, 且吸毒人群的HCV基因分型比较复杂, 可能与吸毒人员反复共用针头导致的混合感染有关.

由此可见, 广西地区HCV基因型的分布特征更接近于华南、西南地区, 其流行模式与广东、云南等周边地区相似. 广西地区HCV基因型呈多样化, 目前至少存在7种基因亚型(1a、1b、2a、3a、3b、6a、6d). 由于样本来源的地域性差异及检测方法的局限性, 尚不能排除广西地区还存在其他基因型及混合基因型感染的可能, 本研究还有待扩充样本后进一步完善和证实. 近年来, 尽管HCV筛查技术在不断提高, 经血液传播的可能性也在逐渐减少, 但静脉吸毒、高风险性行为的人群较以往明显增多, 且该类人群人员流动性较大, 这使得各地区HCV基因型的分布也将发生很大变化.

## 4 参考文献

- 1 Baldo V, Baldovin T, Trivello R, Floreani A. Epidemiology of HCV infection. *Curr Pharm Des* 2008; 14: 1646-1654 [PMID: 18673187 DOI: 10.2174/138161208784746770]
- 2 WHO第63届世界卫生大会. 病毒性肝炎: 秘书处的报告, 2010
- 3 Pawlotsky JM. Hepatitis C virus genetic variability: pathogenic and clinical implications. *Clin Liver Dis* 2003; 7: 45-66 [PMID: 12691458 DOI: 10.1016/S1089-3261(02)00065-X]
- 4 Pawlotsky JM. Molecular diagnosis of viral hepatitis. *Gastroenterology* 2002; 122: 1554-1568 [PMID: 12016423 DOI: 10.1053/gast.2002.33428]
- 5 Hézode C, Forestier N, Dusheiko G, Ferenci P, Pol S, Goeser T, Bronowicki JP, Bourlière M, Gharakhani S, Bengtsson L, McNair L, George S, Kieffer T, Kwong A, Kauffman RS, Alam J, Pawlotsky JM, Zeuzem S. Telaprevir and peginterferon with or without ribavirin for chronic HCV infection. *N Engl J Med* 2009; 360: 1839-1850 [PMID: 19403903 DOI: 10.1056/NEJMoa0807650]
- 6 Lu L, Nakano T, He Y, Fu Y, Hagedorn CH, Robertson BH. Hepatitis C virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants. *J Med Virol* 2005; 75: 538-549 [PMID: 15714489 DOI: 10.1002/jmv.20307]
- 7 Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus--15 years on. *J Gen Virol* 2004; 85: 3173-3188 [PMID: 15483230 DOI: 10.1099/vir.0.80401-0]
- 8 Valliammai T, Thyagarajan SP, Zuckerman AJ, Harrison TJ. Diversity of genotypes of hepatitis C virus in southern India. *J Gen Virol* 1995; 76 (Pt 3): 711-716 [PMID: 7534816 DOI: 10.1099/0022-1317-76-3-711]
- 9 Narahari S, Juwle A, Basak S, Saranath D. Prevalence and geographic distribution of Hepatitis C Virus genotypes in Indian patient cohort. *Infect Genet Evol* 2009; 9: 643-645 [PMID: 19460332 DOI: 10.1016/j.meegid.2009.04.001]
- 10 Bahgat MM, Ibrahim AA, Abd-Elshafy DN, Mesalam AA, Gewaid HE, Ismaeil AA, El-Waseef AM, Maghraby AS, Barakat AB, El-Far MA, Ghanem Hel-D, Mohamed AM, Ali MA. Characterization of NS3 protease from an Egyptian HCV genotype 4a isolate. *Arch Virol* 2009; 154: 1649-1657 [PMID: 19763775 DOI: 10.1007/s00705-009-0500-z]
- 11 Smuts HE, Kannemeyer J. Genotyping of hepatitis C virus in South Africa. *J Clin Microbiol* 1995; 33: 1679-1681 [PMID: 7650216]
- 12 Pham DA, Leuangwutivong P, Jittmittraphap A, Luplertlop N, Bach HK, Akkarathamrongsin S, Theamboonlers A, Poovorawan Y. High prevalence of Hepatitis C virus genotype 6 in Vietnam. *Asian Pac J Allergy Immunol* 2009; 27: 153-160 [PMID: 19839502]
- 13 Lwin AA, Shinji T, Khin M, Win N, Obika M, Okada S, Koide N. Hepatitis C virus genotype distribution in Myanmar: Predominance of genotype 6 and existence of new genotype 6 subtype. *Hepatol Res* 2007; 37: 337-345 [PMID: 17441806 DOI: 10.1111/j.1872-034X.2007.00053.x]
- 14 余晶, 石清兰, 陈月桥, 曾芳, 杨爱水, 毛德文. 广西慢性丙型肝炎感染病毒基因型和治疗分析. *广东医学* 2012; 33: 1419-1421

## ■同行评价

本文选题较有价值, 研究方法科学, 数据真实可靠, 对了解广西地区HCV分布具有一定指导意义.

- 15 聂红明, 陈建杰, 汪蓉, 王成宝, 董慧琳, 陈逸云. 中国汉族人群慢性丙型肝炎病毒基因型分布规律研究. 中华流行病学杂志 2012; 33: 501-504
- 16 Su YY, Liu HX, Wang N. [Hepatitis C virus genotypes in China: a systematic review]. *Zhonghua Liuixingbingxue Zazhi* 2013; 34: 80-84 [PMID: 23648257]
- 17 李峥, 高玉红, 台虹, 毕胜, 杨曦, 张桂前. 云南省丙型肝炎病毒基因的分型. 中华传染病杂志 2007; 25: 246-247
- 18 Fu Y, Qin W, Cao H, Xu R, Tan Y, Lu T, Wang H, Tong W, Rong X, Li G, Yuan M, Li C, Abe K, Lu L, Chen G. HCV 6a prevalence in Guangdong province had the origin from Vietnam and recent dissemination to other regions of China: phylogeographic analyses. *PLoS One* 2012; 7: e28006 [PMID: 22253686 DOI: 10.1371/journal.pone.0028006]
- 19 李钟燮, 孟繁平, 申钢铁, 金丹, 冯相伟. 吉林省延边地区朝鲜族与汉族HCV基因型特征分析. 中华实验和临床病毒学杂志 2010; 2: 104-106
- 20 王云, 张希成, 谭欣成, 李小平, 刘志华, 王乐农. 新疆地区不同民族HCV基因酶切分型研究. 中华肝脏病杂志 1998; 6: 1-2
- 21 王佳佳, 唐筛娣, 丁伟良, 许可, 喻荣彬, 王洁, 张云. 不同感染途径丙型肝炎患者HCV基因分型. 中国公共卫生 2013; 29: 809-811

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# 脂肪肝患者肝脏剪切波速度与实验室指标的关系

王宇, 李广霞, 李素梅, 邹松平, 靳元

王宇, 李广霞, 李素梅, 邹松平, 靳元, 大庆龙南医院齐齐哈尔医学院第五附属医院物理诊断科B超室 黑龙江省大庆市 163453

王宇, 主要从事腹部器官的超声诊断。

作者贡献分布: 课题设计与论文写作由王宇完成; 研究过程与病理采集由李广霞与李素梅完成; 数据分析由邹松平与靳元完成。

通讯作者: 王宇, 主治医师, 163453, 黑龙江省大庆市爱国路35号, 齐齐哈尔医学院第五附属医院大庆龙南医院物理诊断科B超室, 2458992624@qq.com

电话: 0459-5910872

收稿日期: 2014-01-15 修回日期: 2014-03-03

接受日期: 2014-03-12 在线出版日期: 2014-03-28

## Virtual touch tissue quantification and biochemical indicators for quantitative diagnosis of fatty liver

Yu Wang, Guang-Xia Li, Su-Mei Li, Song-Ping Zou, Yuan Jin

Yu Wang, Guang-Xia Li, Su-Mei Li, Song-Ping Zou, Yuan Jin, Department of Physical Diagnosis Ultrasonography Room, Daqing Longnan Hospital, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Yu Wang, Attending Physician, Qiqihar Medical College Affiliated Fifth Hospital, Daqing Longnan Hospital, Physical Diagnosis Ultrasonography Room, 35 Patriotic Road, Daqing 163453, Heilongjiang Province, China. 2458992624@qq.com

Received: 2014-01-15 Revised: 2014-03-03

Accepted: 2014-03-12 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To explore the value of virtual touch tissue quantification (VTQ) measuring the liver shear wave speed and biochemical indicators in the quantitative diagnosis and classification of fatty liver.

**METHODS:** One hundred patients with fatty liver and 40 normal controls were included in the study. The shear wave speed of the liver was measured by VTQ, and alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), triglycerides (TG), high density lipoprotein (HDL-C) and low density lipoprotein (LDL-C) were measured. The relationship of these quantitative indexes with fatty liver was analyzed.

**RESULTS:** Among 100 patients with fatty liver, 46 had mild disease, 32 had moderate disease and 22 had severe disease. The values of shear wave speed, ALT, AST, TG, HDL-C and LDL-C were significantly different ( $P < 0.05$  for all) between the control and fatty liver groups. The difference in the shear wave speed was not significant between the normal group and mild fatty liver group ( $1.05 \text{ m/s} \pm 0.09 \text{ m/s}$  vs  $1.09 \text{ m/s} \pm 0.12 \text{ m/s}$ ,  $P > 0.05$ ). The shear wave speed was the highest in the moderate ( $1.32 \text{ m/s} \pm 0.14 \text{ m/s}$ ) and the lowest ( $0.85 \text{ m/s} \pm 0.07 \text{ m/s}$ ) in the severe fatty liver group. The shear wave speed in the mild-moderate fatty liver group was closely related with ALT, AST, HDL-C, LDL-C, TC and TG ( $P < 0.05$  for all), of which HDL-C was negatively correlated with the shear wave speed while others were positively correlated with.

**CONCLUSION:** VTQ and biochemical indicators have appreciable value in quantitative diagnosis of fatty liver and provide a reliable and objective basis for clinical diagnosis and treatment of this disease.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Fatty liver; Virtual touch tissue quantification; Shear wave speed

Wang Y, Li GX, Li SM, Zou SP, Jin Y. Virtual touch tissue quantification and biochemical indicators for quantitative diagnosis of fatty liver. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1307-1311 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1307.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1307>

## 摘要

**目的:** 探讨脂肪肝患者肝脏剪切波速度与实验室指标的相关性, 为其研究提供可参考依据。

**方法:** 随机选择共纳入100例我院采用声触诊组织量化技术(virtual touch quantification, VTQ)行肝脏检查的脂肪肝患者及40例正常人群作为观察对象, 记录所有受试者肝脏剪切波速度, 且均空腹抽取静脉血检测实验室相关指标。

## ■背景资料

研究证实, 随着脂肪肝的进一步加重, 可出现肝纤维化甚至肝硬化的发生, 少部分患者可并发内分泌及心脑血管疾病。因此更好、更客观的进行脂肪肝的诊断尤为重要。临床上传统腹部彩色多普勒超声可以检测出脂肪含量大于30.0%的脂肪肝, 且对含量超过50.0%的脂肪肝诊断率超过90%。但仅仅定性诊断并不能更好的反应肝脏病变的严重程度, 因此通过声触诊组织量化技术(virtual touch quantification, VTQ)进行定量诊断并进行更为准确的分级得到广泛的关注。

## ■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院感染科

## ■ 研究前沿

肝脏剪切波速度分析在分析肝纤维化方面已经得到了多方的认可, 但其在脂肪肝严重程度的评估方面的研究还鲜有报道, 而其与相关实验室生化指标的关系则更加缺乏相关研究.

**结果:** 100例诊断为脂肪肝患者中, 轻度脂肪肝46例, 中度脂肪肝32例, 重度脂肪肝22例. 4组受试者剪切波速度、谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT), 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST), 高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL-C), 低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL-C), 总胆固醇(total cholesterol, TC), 甘油三酯(triglycerides, TG)比较均有差异( $P<0.05$ ); 其中, 对照组与轻度脂肪肝组剪切波速度比较差异不明显( $1.05 \text{ m/s} \pm 0.09 \text{ m/s}$  vs  $1.09 \text{ m/s} \pm 0.12 \text{ m/s}$ ,  $P>0.05$ ). 中度脂肪肝肝脏剪切波速度最高( $1.32 \text{ m/s} \pm 0.14 \text{ m/s}$ ), 重度脂肪肝肝脏剪切波速度最低( $0.85 \text{ m/s} \pm 0.07 \text{ m/s}$ ). 轻中度脂肪肝剪切波速度与ALT、AST、HDL-C、LDL-C、TC、TG均存在密切相关性(均 $P<0.05$ ), 其中HDL-C为负相关关系, 其余为正相关关系.

**结论:** 采用VTQ进行肝脏剪切波速度测定可以更为准确、客观的进行脂肪肝诊断与分度, 其操作简便、耗时短; 同时肝脏剪切波速度与肝功能及血脂等生化指标存在密切的相关性, VTQ值得临床推广应用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 脂肪肝; 声触诊组织量化技术; 剪切波速度

**核心提示:** 本研究随机选择共纳入100例我院采用声触诊组织量化技术(virtual touch quantification, VTQ)行肝脏检查的脂肪肝患者及40例正常人群作为观察对象, 记录所有受试者肝脏剪切波速度, 且均空腹抽取静脉血检测实验室相关指标. 得出采用VTQ进行肝脏剪切波速度测定可以更为准确、客观的进行脂肪肝诊断与分度, 其操作简便、耗时短; 同时肝脏剪切波速度与肝功能及血脂等生化指标存在密切的相关性, VTQ值得临床推广应用.

王宇, 李广霞, 李素梅, 邹松平, 靳元. 脂肪肝患者肝脏剪切波速度与实验室指标的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1307-1311 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1307.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1307>

## 0 引言

临床上脂肪肝是肝细胞内脂肪量过多并超过一定程度的病变, 多种因素可引起脂肪肝的发生, 且脂肪肝被认为是隐蔽性肝硬化的常见原因, 是病毒性肝炎之后, 第2大危害健康的肝病<sup>[1-3]</sup>. 一般而言轻度脂肪肝为脂肪量 $>5\%$ , 中度脂肪肝为 $>10\%$ , 重度脂肪肝为 $>25\%$ <sup>[4]</sup>. 目前脂肪肝的诊

断多采用B型超声, 但其主观性比较大, 易出现偏差. 声触诊组织量化技术(virtual touch quantification, VTQ)是目前较为先进的组织弹性评价技术, 其可以通过肝脏剪切波速度更准确地分析脂肪肝的严重程度<sup>[5-9]</sup>. 我们已经知道, 脂肪肝患者的相关实验室生化指标会发生改变, 其已经成为评估脂肪肝严重程度的有效工具之一<sup>[10]</sup>. 肝脏剪切波速度分析在分析肝纤维化方面已经得到了多方的认可, 但其在脂肪肝严重程度的评估方面的研究还鲜有报道, 而其与相关实验室生化指标的关系则更加缺乏相关研究. 在此背景下, 本研究探讨脂肪肝患者肝脏剪切波速度与实验室指标的相关性, 旨在为临床无创、简便地评估脂肪肝严重程度提供可参考的依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 随机选择2012-01/2013-10 100例采用VTQ行肝脏检查的脂肪肝患者, 男性58例, 女性42例, 年龄22-69岁, 平均年龄 $38.2 \text{ 岁} \pm 5.2 \text{ 岁}$ . 同时选取40例正常人群作为对照组, 男性25例, 女性15例, 年龄23-69岁, 平均年龄 $38.3 \text{ 岁} \pm 5.4 \text{ 岁}$ . 排除标准: 长期饮酒史、病毒性肝炎等肝脏疾病病史、恶性肿瘤、结缔组织病等. 所有受试者均签署知情同意书.

### 1.2 方法

**1.2.1 超声检查:** 所有受试者均行腹部彩色多普勒超声(PHILIPS IU22)检查, 脂肪肝诊断: 肝脏近场回声弥漫性增强或远场回声逐渐减弱; 肝脏结构显示不佳, 根据常规标准分为轻中重. 在上述检查基础上采用4C1凸阵探头(取频率2.5-7.5 MHz, 机械指数1.7)进行VTQ检查, 避开血管及胆管. 在感兴趣部位测量, 保持感兴趣区域(region of interest, ROI)上缘到肝包膜至少1 cm并固定, 嘱受试者屏住呼吸进行机械低频脉冲波激发, 产生肝脏剪切波速度, 同一位置重复5次取平均值.

**1.2.2 观察指标:** 所有受试者均抽取空腹肘正中静脉血2 mL, 3000 r/min离心5 min, 检测谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT), 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST), 高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL-C), 低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL-C), 总胆固醇(total cholesterol, TC), 甘油三酯(triglycerides, TG)水平.

**统计学处理** 数据处理采用SPSS17.0软件包进行. 采用mean $\pm$ SD表示正态分布且方差齐的计量资料, 行 $t$ 检验; 采用百分数表示计数资料,

表 1 一般资料分析

分组	n	性别		年龄(岁)
		男	女	
轻度脂肪肝	46	25	21	38.3 ± 5.7
中度脂肪肝	32	20	12	38.5 ± 5.5
重度脂肪肝	22	13	9	38.1 ± 5.4
对照组	40	25	15	38.3 ± 5.4
$F(\chi^2)$ 值		1.023		0.787
P值		0.324		0.654

行 $\chi^2$ 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料分析** 100例诊断为脂肪肝患者中,轻度脂肪肝46例,男性25例,女性21例,年龄22-69岁,平均年龄38.2岁±5.2岁;中度脂肪肝32例,男性20例,女性12例,年龄22-69岁,平均年龄38.2岁±5.2岁;重度脂肪肝22例,男性13例,女性9例,年龄22-69岁,平均年龄38.2岁±5.2岁。4组受试者一般资料相比差异不明显( $P > 0.05$ )(表1)。

**2.2 不同组受试者肝脏剪切波速度及相关生化指标分析** 不同组受试者肝脏剪切波速度及相关生化指标分析结果显示,随着脂肪肝严重程度的逐渐严重,ALT、AST、LDL-C、TC、TG水平均显著升高,HDL-C水平显著降低,比较均有差异( $P < 0.05$ ),而剪切波速度在轻、中度脂肪肝组中逐渐升高,在重度脂肪肝组中显著降低,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );两两比较发现,对照组与轻度脂肪肝组剪切波速度比较差异不明显( $P > 0.05$ ),其余两两比较均有统计学意义( $P < 0.05$ ),中度脂肪肝肝脏剪切波速度最高,重度脂肪肝肝脏剪切波速度最低(表2),中重度肝剪切波速度如图1。

**2.3 肝脏剪切波速度与生化指标相关性分析** 肝脏剪切波速度与生化指标相关性分析结果显示:剪切波速度由于呈现出“先升高后降低”的趋势与ALT、AST、HDL-C、LDL-C、TC、TG均不存在相关性( $P > 0.05$ ),但如果只评估轻中度脂肪肝的剪切波速度发现,其与ALT、AST、LDL-C、TC、TG呈正相关,与HDL-C呈负相关关系( $P < 0.05$ )(表3),剪切波速度与ALT的散点图分析详如图2。

## 3 讨论

目前由于多种因素的影响,我国国民脂肪肝的发病率越来越高,严重危害其健康。关于脂肪肝



图 1 中重度肝剪切波速度图。A: 中度脂肪肝肝脏剪切波速度测量(1.31 m/s); B: 重度脂肪肝肝脏剪切波速度测量(0.72 m/s)。

发生率上升的原因认为主要有<sup>[11-15]</sup>:(1)饮食结构的改变,营养过剩、高脂膳食及过量饮酒等是引起脂肪肝的根本原因;(2)生活水平的提高亦增强了人们的保健意识,当人们出现食后腹胀、右上腹疼痛感、疲乏感等不适时,能够及时进行诊断治疗;(3)医学技术的发展使脂肪肝的诊断手段更为先进,提高了脂肪肝的诊断率。研究证实,随着脂肪肝的进一步加重,可出现肝纤维化甚至肝硬化的发生,少部分患者可并发内分泌及心脑血管疾病<sup>[16-19]</sup>。因此更好、更客观的进行脂肪肝的诊断尤为重要。临床上传统腹部彩色多普勒超声可以检测出脂肪含量大于30.0%的脂肪肝,且对含量超过50.0%的脂肪肝诊断率达超过90%。但仅仅定性诊断并不能更好的反应肝脏病变的严重程度,因此通过VTQ进行定量诊断并进行更为准确的分度得到广泛的关注<sup>[20-23]</sup>。

本研究分析不同组受试者肝脏剪切波速度差异发现,对照组与轻度脂肪肝组剪切波速度比较差异不明显,但与中、重度比较有明显差异,中度脂肪肝肝脏剪切波速度最高,重度脂肪肝肝脏剪切波速度最低。这与Winaikosol等<sup>[24]</sup>的研究发现近似,该研究中,正常组与脂肪肝组剪切波速度的差异具有统计学意义。其原因可能是由于VTQ检查肝脏剪切波速度是根据肝脏的

## ■ 相关报道

目前脂肪肝的诊断多采用B型超声,但其主观性比较大,易出现偏差。VTQ是目前较为先进的组织弹性评价技术,其可以通过肝脏剪切波速度更准确地分析脂肪肝的严重程度。



## ■应用要点

本研究显示,采用VTQ进行肝脏剪切波速度可以更为准确、客观的进行脂肪肝诊断与分度,其操作简便、耗时短;同时轻中度脂肪肝剪切波速度与肝功能及血脂等生化指标存在密切的相关性,值得临床推广应用。

表 1 不同组受试者肝脏剪切波速度及相关生化指标分析

分组	n	剪切波速度(m/s)	ALT (mmol/L)	AST(mmol/L)	HDL-C(mmol/L)	LDL-C(mmol/L)	TC(mmol/L)
对照组	40	1.05 ± 0.09	25.44 ± 22.23	20.33 ± 11.35	1.85 ± 0.65	3.06 ± 0.34	3.54 ± 0.44
轻度脂肪肝	46	1.09 ± 0.12	28.72 ± 9.34	23.54 ± 9.32	1.74 ± 0.32	3.32 ± 0.31	3.81 ± 0.53
中度脂肪肝	32	1.32 ± 0.14	36.83 ± 14.13	29.36 ± 10.44	1.67 ± 0.44	3.75 ± 0.53	4.06 ± 0.43
重度脂肪肝	22	0.85 ± 0.07	46.64 ± 20.44	35.44 ± 10.64	1.39 ± 0.23	4.15 ± 0.52	4.34 ± 0.74
F值		5.953	5.162	2.543	3.133	3.547	2.123
P值		0.011	0.026	0.041	0.039	0.036	0.043

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; HDL-C: 高密度脂蛋白; LDL-C: 低密度脂蛋白; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯。

表 3 轻中度脂肪肝剪切波速度与生化指标相关性分析

剪切波速度	ALT	AST	HDL-C	LDL-C	TC	TG
r值	0.132	0.543	-0.433	0.547	0.423	0.464
P值	0.023	0.021	0.019	0.006	0.033	0.027

ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶; HDL-C: 高密度脂蛋白; LDL-C: 低密度脂蛋白; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯。

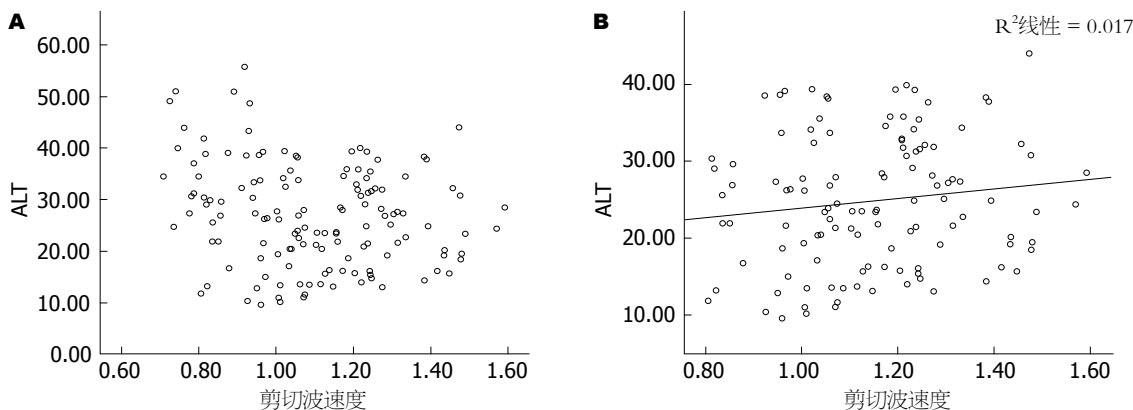


图 2 剪切波速度与ALT的散点图分析。A: 140例轻中度脂肪肝患者剪切波速度与ALT的相关性分析, 两者无相关性 ( $P > 0.05$ ); B: 轻中度脂肪肝的剪切波速度与ALT的相关性分析, 两者呈正相关 ( $P < 0.05$ )。ALT: 谷丙转氨酶。

弹性或硬度进行评价, 而肝脏的弹性或硬度是基于肝组织分子结构的组织形式。轻度脂肪肝患者其肝组织细胞病理改变不明显, 因此肝脏的弹性或硬度变化不大。而重度脂肪肝患者的肝组织细胞病理改变比较大, 大量脂肪细胞占据肝细胞间隙, 使肝脏的密度下降, 组织变软, 最终使肝脏的弹性或硬度发生明显变化。

本研究进一步分析不同组受试者相关生化指标发现, 4组受试者ALT、AST、LDL-C、TC、TG随着脂肪肝严重程度的逐渐严重而均显著升高, HDL-C水平显著降低, 而剪切波速度由于呈现出“先升高后降低”的趋势与ALT、AST、HDL-C、LDL-C、TC、TG均不存在相关

性, 但如果只评估轻中度脂肪肝的剪切波速度, 其与ALT、AST、LDL-C、TC、TG呈正相关, 与HDL-C呈负相关关系。可见血脂等多种因素与轻中度脂肪肝患者肝脏剪切波速度存在密切的联系<sup>[25,26]</sup>。但这与郝美娜等<sup>[27]</sup>的研究存在不同, 其报道肝脏的剪切波速度与ALT、AST及血脂指标具有相关性 ( $P < 0.05$ ), 而本研究只在轻中度脂肪肝的剪切波速度中发现了其余实验室生化指标的相关性。不过VTQ的应用重点就在轻中度脂肪肝的早期检测上, 因为重度脂肪肝可以通过B超检查、实验室指标等方式准确地评估。

总之, 本研究显示, 采用VTQ进行肝脏剪切波速度可以更为准确、客观的进行脂肪肝诊断

与分度, 其操作简便、耗时短; 同时轻中度脂肪肝剪切波速度与肝功能及血脂等生化指标存在密切的相关性, 值得临床推广应用。

#### 4 参考文献

- 1 吴翠霞. 非酒精性脂肪肝相关危险因素的调查分析. 重庆医学 2011; 40: 364-365
- 2 林连捷, 曹男, 郑长青, 林艳, 王东旭, 金玉. 沈阳市成年居民脂肪肝的流行病学调查. 世界华人消化杂志 2013; 21: 1114-1119
- 3 李敏, 周健, 史丽萍, 张艾莉, 白智平, 刘元琳. 2006-2010年陕西省干部群体脂肪肝流行病学调查. 世界华人消化杂志 2012; 20: 1868-1872
- 4 中华医学会肝脏病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 非酒精性脂肪性肝病诊疗指南. 胃肠病学 2010; 15: 676-680
- 5 金清, 赵明珠. 应用声辐射力脉冲成像技术评估非酒精性单纯性脂肪肝的初步经验. 中华医学超声杂志(电子版) 2010; 7: 1004-1008
- 6 裴书芳, 丛淑珍, 冯占武, 甘科红, 周立峰, 李康. 实时组织弹性成像诊断肝纤维化. 中国医学影像技术 2010; 26: 332-334
- 7 张新力, 李猛, 冯卉, 张大鹏, 苏颖, 周艳贤, 陈敏, 陈霞. 声触诊组织成像量化技术无创评价慢性肝病肝纤维化程度的初步临床研究. 中华超声影像学杂志 2010; 19: 12-15
- 8 沈文, 林森浩, 丁红, 毛丽娟, 王文平, 徐晨. 声触诊组织量化技术无创评价肝纤维化的临床研究. 中华临床医师杂志(电子版) 2012; 6: 593-596
- 9 沈文, 丁红, 王文平, 李丛, 李娜, 徐智章. 正常人肝脏声触诊组织量化值参考范围的建立. 中国医学影像技术 2010; 26: 690-692
- 10 周燕, 王绩凯, 黄凯, 李迎春. 脂肪肝患者肝功能与血脂水平关系. 中国公共卫生 2011; 27: 101-102
- 11 何本振, 夏国园, 江珍珍. 脂肪肝声像图分度与脂肪肝相关危险因素评估. 实用医学杂志 2012; 28: 269-271
- 12 陈越峰, 甘科红, 丛淑珍, 李妙珊, 李谊. 超声弹性成像组织弥散定量分析技术在脂肪肝分度中的应用. 中国医学影像技术 2011; 27: 1435-1438
- 13 张超, 万婕, 陈云超, 李开艳, 邓又斌, 张青萍. 超声检测脂肪肝患者胆囊床附近肝岛的发生率及临床意义. 放射学实践 2013; 28: 980-982
- 14 张大鹏, 张新力, 李志艳, 陈敏, 冯卉, 李猛, 董政, 赵媛媛. 声辐射力脉冲成像技术定量评价弥漫性脂肪肝的临床研究. 中国临床医学影像杂志 2010; 21: 744-746
- 15 苏善勇. 早期脂肪肝肝静脉多普勒频谱检测. 中国医药导刊 2013; (z1): 66-67
- 16 张炎晶, 刘利平, 鲁琴, 赵育芳, 郝艳红, 徐琨, 曹成. 超声造影评价兔脂肪肝及正常肝背景炎症假瘤血流灌注的研究. 中华超声影像学杂志 2013; 22: 525-529
- 17 陈越峰, 冯占武, 吴丽桑, 郭又涛, 许少兰. 组织弥散定量分析技术在脂肪肝分度中的价值评估. 中国临床医学影像杂志 2012; 23: 173-175
- 18 张羲娥, 黄子星, 袁放, 宋彬, 刘曦娇, 张威. 3.0T1H-MRS联合梯度回波化学位移技术定量分析评估脂肪肝治疗效果. 放射学实践 2012; 27: 641-644
- 19 石喻, 郭启勇, 夏菲, 张兰, 卞胜昕. 同反相位图像减影技术及T2校正1H-MRS定量分析非酒精性脂肪肝的临床研究. 中国临床医学影像杂志 2012; 23: 248-252
- 20 孟洁, 张凤娟, 周军华, 赵娜, 韩若凌. 声触诊组织量化技术对脂肪肝内低回声病变的定性诊断价值. 中国超声医学杂志 2012; 28: 1006-1008
- 21 吴燕, 庄磊, 柯红, 蒋银花, 周晓彦, 张民. 声脉冲辐射力成像定量技术对非酒精性脂肪肝的初步探讨. 医学影像学杂志 2011; 21: 1204-1206
- 22 王学梅, 桑亮. 脂肪肝的超声定量诊断研究. 中国医疗器械信息 2010; 16: 1-3
- 23 田跃军. 超声在脂肪肝诊断中的应用价值. 中国实用医药 2011; 7: 86-87
- 24 Winaikosol K, Phacherat K, Chotikawanich E. Laparoscopic simple nephrectomy: perioperative outcomes at Srinagarind Hospital. J Med Assoc Thai 2012; 95 Suppl 11: S18-S24 [PMID: 23961615]
- 25 张丽娟, 赵玉珍, 郭丹丹. 超声声强及生化指标在脂肪肝定量诊断中的应用. 中国医疗设备 2011; 26: 17-19, 16
- 26 王茜, 王兴田. 脂肪肝的超声定量诊断及与血糖血脂体质指数的相关性分析. 徐州医学院学报 2012; 32: 608-611
- 27 郝美娜, 赵玉珍, 舒瑞, 郭丹丹. 声触诊组织量化技术及生化指标在脂肪肝定量诊断中的应用. 中国超声医学杂志 2013; 29: 795-798

#### 同行评价

本研究方法实用, 可操作性较强, 内容可引起超声医师重视, 值得报道。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 胆肠吻合术后早期进食与传统进食的临床疗效对比

彭沙沙, 段键, 黄汉飞, 林杰, 徐王刚, 黄智, 苏子庭, 曾仲

## ■背景资料

胃肠道手术后早期进食作为快速康复外科的一项重要组成部分在欧美许多国家广泛应用于临床, 寻求术后合理的营养支持方式及时机, 对患者术后快速康复有着重要的意义。术后早期进食在胆肠吻合术患者中是否安全、有效值得进一步探讨。

彭沙沙, 段键, 黄汉飞, 林杰, 徐王刚, 黄智, 苏子庭, 曾仲, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心 云南省昆明市 650032

彭沙沙, 硕士研究生, 主要从事肝胆外科疾病的治疗与肝移植的研究。

云南省科技厅昆明医科大学应用基础研究联合专项基金资助项目, No. 2011FB176

云南省教育厅科学研究基金资助项目, No. 2013C245

云南省卫生科技计划基金资助项目, No. 2012ws0019

作者贡献分布: 彭沙沙与曾仲对此文做出主要贡献; 本课题由曾仲设计; 徐王刚、黄智及苏子庭收集并整理数据; 曾仲、段键、黄汉飞及彭沙沙统计分析数据; 本论文写作由曾仲与彭沙沙完成, 林杰参与研究。

通讯作者: 曾仲, 教授, 博士研究生导师, 650032, 云南省昆明市西昌路295号, 昆明医科大学第一附属医院器官移植中心。

zzong@medmail.com.cn

电话: 0871-65359202

收稿日期: 2013-12-04 修回日期: 2014-01-29

接受日期: 2014-02-18 在线出版日期: 2014-03-28

## Clinical effects of early postoperative oral feeding versus traditional oral feeding after bilioenteric anastomosis

Sha-Sha Peng, Jian Duan, Han-Fei Huang, Jie Lin, Wang-Gang Xu, Zhi Huang, Zi-Ting Su, Zhong Zeng

Sha-Sha Peng, Jian Duan, Han-Fei Huang, Jie Lin, Wang-Gang Xu, Zhi Huang, Zi-Ting Su, Zhong Zeng, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming 650032, Yunnan Province, China

Supported by: the Joint Special Fund of Practical and Basic Research of Kunming Medical University and Yunnan Provincial Science and Technology Department, No. 2011FB176; and the Scientific Research Foundation of Yunnan Provincial Education Department, No. 2013C245; and the Science and Technology Foundation of Yunnan Provincial Health Department, No. 2012ws0019

Correspondence to: Zhong Zeng, Professor, Organ Transplantation Center, the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, 295 Xichang Road, Kunming 650032, Yunnan Province, China. zzong@medmail.com.cn

Received: 2013-12-04 Revised: 2014-01-29

Accepted: 2014-02-18 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To explore the security and feasibility of early postoperative oral feeding in patients after bilioenteric anastomosis.

**METHODS:** A randomized controlled trial was performed on 78 patients who underwent

bilioenteric anastomosis from January 2010 to December 2012 at the First Affiliated Hospital of Kunming Medical University. The patients were randomized into two groups: early oral feeding (EOF group,  $n = 42$ ) and traditional oral feeding (TOF group,  $n = 36$ ). The length of postoperative hospital stay, time to first flatus and defecation, nutritional status and postoperative complications were compared.

**RESULTS:** The EOF group was associated with significantly shorter post-operative hospital stay, time to first flatus and defecation compared with the TOF group ( $P < 0.05$  for all). The levels of albumin, prealbumin and lymphocyte count were significantly higher in the EOF group than in the TOF group on postoperative days 3 and 7 ( $P < 0.05$  for all). There were no significant differences in patient characteristics and other postoperative complications between the two groups ( $P > 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** Early oral feeding after bilioenteric anastomosis is safe and beneficial, and leads to faster recovery of bowel function and shorter postoperative hospital stay without increasing postoperative complications.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Bilioenteric anastomosis; Postoperative; Early oral feeding; Fast track surgery

Peng SS, Duan J, Huang HF, Lin J, Xu WG, Huang Z, Su ZT, Zeng Z. Clinical effects of early postoperative oral feeding versus traditional oral feeding after bilioenteric anastomosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1312-1316 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1312.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1312>

## 摘要

**目的:** 探讨胆肠吻合术后患者早期经口进食的安全性及有效性。

**方法:** 随机选取昆明医科大学第一附属医院我科2010-01/2012-12行胆肠吻合手术的78

## ■同行评议者

薛东波, 教授, 哈尔滨医科大学附属第一医院



例病例, 随机分为早期经口进食组(early oral feeding, EOF)42例和传统进食组(traditional oral feeding, TOF)36例, 比较两组术后住院时间、首次排气和排便时间、营养情况以及并发症的发生率。

**结果:** EOF组与TOF对照组比较, EOF组患者术后住院时间明显缩短、术后首次排气和排便时间均短于TOF组( $P<0.05$ )。在术后第3和第7天, EOF组患者白蛋白、前白蛋白、淋巴细胞计数均明显高于TOF组( $P<0.05$ ), 两组术后并发症发生率的差异无统计学意义( $P>0.05$ )。

**结论:** 胆肠吻合术后EOF是安全可行的, 患者术后胃肠道功能恢复明显加快, 显著缩短了术后住院时间, 但并发症发生率无明显增加。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 胆肠吻合术; 手术后期间; 早期经口进食; 快速康复外科

**核心提示:** 本文通过随机对照比较胆肠吻合术后早期经口进食(early oral feeding)与传统进食(traditional oral feeding)患者在临床指标、营养免疫情况以及并发症的发生率之间的差异, 结果显示术后早期进食是安全有效的, 在不增加并发症的情况下有助于肠道功能的恢复、提高机体营养状况及免疫功能, 同时有效避免了术后肝功能损害及胆汁淤积, 明显缩短术后住院时间及降低治疗费用。

彭沙沙, 段键, 黄汉飞, 林杰, 徐王刚, 黄智, 苏子庭, 曾仲. 胆肠吻合术后早期进食与传统进食的临床疗效对比. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1312-1316 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1312.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1312>

## 0 引言

对于肠道手术后进食时机的选择, 大多数外科医生依然遵循肠鸣音恢复和肛门排气后逐步进食的传统原则。但在术后到肛门排气期间禁食水会使术后患者肠内营养缺乏, 同时抑制唾液及消化腺的分泌, 延迟了消化系功能的恢复, 增加了潜在的致病菌感染、微生物移位等风险, 严重影响术后恢复和伤口愈合<sup>[1]</sup>。营养状况是影响术后恢复的重要因素, 近年来国内外大量报道提出肠道手术后早期经口进食(early oral feeding, EOF)是可行的<sup>[2-4]</sup>。我科2010-01/2012-12对实施胆肠吻合手术的患者进行随机分组对比分

析, 采取快速康复理念与方法, 术后早期经口进食效果明显。现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取昆明医科大学第一附属医院器官移植中心2010-01/2012-12行胆肠吻合术患者78例, 其中男性43例, 女性35例, 年龄9-68岁, 平均50.76岁±14.30岁。病因包括肝胆管结石、胆管结石伴胆管下段炎性狭窄、术后胆道狭窄、医源性胆管损伤、先天性胆管囊肿、肝门部胆管肿瘤、壶腹周围肿瘤等。本研究经医院伦理委员会同意, 所有患者均神志清楚, 并签署知情同意书。病例随机分为早期经口进食组(EOF组)和传统进食组(TOF组)。EOF组42例, 其中男20例, 女22例; TOF组36例, 其中男23例, 女13例。两组病例基本情况如表1。病例纳入标准: (1)患者自愿参与原则; (2)体质指数(body mass index, BMI)17.5-27.5 kg/m<sup>2</sup>; (3)既往无严重消化系疾病史; (4)术前检查未发现合并心、肝、脑肾等重要脏器的严重病变; (5)所有病例术前常规留置胃管、导尿、复方聚乙二醇电解质散口服清洁洗肠; (6)均行择期胆肠Roux-en-Y吻合术, 手术由同一手术组完成, 手术时间<4 h。

## 1.2 方法

**1.2.1 围手术期处理:** 患者术后均按照热量104.6 kJ(25 kcal)/(kg·d), 蛋白质1.2 g/(kg·d)总量供给。EOF组于术后5-6 h麻醉清醒后拔除胃管并开始饮水, 术后第1天进少量流质饮食如果汁、米汤、菜汤、面汤等, 并根据患者耐受情况逐渐过渡到半流质、普食。经口所进食物均由营养师监测其热量和蛋白质含量, 供给不足部分由静脉肠外营养提供(机体理论需要量-经口获得能量)。TOF组患者术后常规留置胃管、禁食水, 每天所需要热量和蛋白质量按照生理需要量均由静脉肠外营养提供, 待肛门排气后拔除胃管并进少量流质饮食, 并逐渐过渡到普通饮食, 供给不足部分仍由静脉肠外营养提供。患者出院标准: (1)患者完全恢复至普食, 不需静脉补液; (2)术前及术后不适症状消失, 无任何引流管及并发症; (3)可以自由活动, 有出院意愿。

**1.2.2 术后观察指标:** 记录患者术后首次排气和排便时间、术后住院时间, 分别检测术前、术后第3、7天患者白蛋白(albumin, ALB)、前白蛋白(prealbumin, PA)、淋巴细胞计数(lymphocyte, LY), 比较两组病例术后营养情况。比较术

## ■研究前沿

当前, 胃肠道手术后进食时机的选择是当前研究的一大热点。国内外越来越多的实验研究发现, 术后早期经口进食是可行的, 不会增加术后各种并发症的发生率。

## ■ 相关报道

Gianotti等研究发现胃肠道手术后早期经口进食可以促进胃肠功能恢复,增加内脏血流量,减少胆汁淤积,能减轻患者疲劳感,有利于患者术后恢复。

表 1 两组患者临床特征及术后观察指标比较 (mean ± SD)

分组	n	性别(M/F)	平均年龄(岁)	手术时间(min)	术中出血量(mL)	首次排气时间(h)	首次排便时间(h)	术后住院时间(d)
EOF组	42	20/22	51.1 ± 15.1	130.1 ± 9.1	66.2 ± 13.5	69.3 ± 9.0	76.4 ± 9.0	9.96 ± 1.37
TOF组	36	23/13	50.5 ± 13.6	127.8 ± 9.3	63.2 ± 15.0	75.7 ± 8.7	83.4 ± 8.8	11.01 ± 1.48
P值	—	0.150	0.862	0.286	0.361	0.002	0.001	0.001

EOF组: 早期经口进食组; TOF组: 传统进食组; M/F: 男性/女性。

表 2 两组患者术后营养学指标比较(mean ± SD)

分组	白蛋白(g/L)			前体白蛋白(mg/L)			淋巴细胞计数( $\times 10^9/L$ )		
	术前	术后3 d	术后7 d	术前	术后3 d	术后7 d	术前	术后3 d	术后7 d
EOF组	30.3 ± 6.9	33.5 ± 4.9	35.6 ± 6.7	310.3 ± 20.7	301.3 ± 19.4	308.7 ± 14.6	1.63 ± 0.57	1.18 ± 0.43	1.56 ± 0.53
TOF组	31.2 ± 6.3	29.8 ± 4.2	31.2 ± 6.9	316.4 ± 24.9	282.8 ± 18.9	290.8 ± 15.1	1.68 ± 0.62	1.03 ± 0.47	1.42 ± 0.46
P值	0.367	0.042	0.029	0.245	0.018	0.016	0.763	0.027	0.039

EOF组: 早期经口进食组; TOF组: 传统进食组。

表 3 两组患者术后并发症比较 (n)

分组	n	恶心呕吐	腹胀	胸腔积液	肺部感染肺不张	切口感染	吻合口瘘	腹腔脓肿
EOF组	42	4	2	2	4	2	0	0
TOF组	36	2	0	5	7	2	0	1
$\chi^2$	—	0.430	1.759	1.977	1.575	0.025	—	1.182
P值	—	0.512	0.185	0.160	0.209	0.874	—	0.277

EOF组: 早期经口进食组; TOF组: 传统进食组。

后主要并发症包括: 恶心呕吐、腹胀、胸腔积液、肺部感染肺不张、切口感染、吻合口瘘、腹腔脓肿等。

**统计学处理** 采用SPSS17.0统计软件包进行统计学分析。正态计量资料用mean ± SD表示, 计量资料比较采用两独立样本t检验, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验, 重复测量资料采用方差分析, 检验标准 $\alpha = 0.05$ ,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 术后观察指标** EOF组患者术后首次排气和排便时间明显短于TOF组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。EOF患者术后住院时程缩短, 与TOF组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )(表1)。

**2.2 术后营养状况** EOF组患者术后第3天、第7天白蛋白和前体白蛋白均高于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 两组患者术后淋巴细胞计数均降低, 术后第3天与术后第7天比较, EOF组淋巴细胞计数升高, 差异有统计学意义

( $P < 0.05$ )(表2)。

**2.3 术后并发症** 两组患者术后均康复出院, EOF组患者较TOF组并发症的发生率减少。但相比两组术后恶心呕吐、腹胀、胸腔积液、肺部感染肺不张、切口感染、吻合口瘘、腹腔脓肿等并发症差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表3)。

## 3 讨论

胆肠吻合术自1888年Riedel首次施行以来, 常用于治疗先天性胆管囊肿、胆道良恶性梗阻、医源性胆管损伤等肝胆外科疾病, 也是包括肝移植、胰十二指肠切除术等手术后重建胆道的重要方法。大部分胆道疾病患者伴有营养障碍及电解质紊乱, 胆肠吻合手术创伤应激、术后机体高分解负氮平衡状态等容易导致患者免疫力下降及并发症发生率增高。因此, 胆肠吻合术后早期营养支持治疗十分重要, 对术后早期恢复具有决定性意义。随着现代临床外科的进步与发展, 术后EOF作为快速康复外科的一项重要措

施在欧美许多国家广泛应用于临床<sup>[5,6]</sup>。

肠道是创伤应激的一个重要的器官, 手术、创伤、休克所引起肠道低灌注, 导致肠黏膜屏障功能损伤, 进而导致肠内正常菌群移位形成肠源性感染。肠道手术后恢复肛门排气后开始逐渐进食的传统方式一直沿用至今, 但围手术期传统进食方式缺乏循证依据, 目前国内学者一致认为只要胃肠道有功能就应该首选肠内营养支持<sup>[7]</sup>。术后早期咀嚼动作和食物刺激能促进胃及小肠规律收缩、消化液分泌以及增加肠道血流灌注, 所以术后早期进食的重要性不仅仅在于提供肠内营养, 其更重要的意义在于降低肠道通透性保护肠道屏障结构、促进肠道功能的恢复、加速负氮平衡的恢复以及提高患者术后康复的信心。同时可以有效避免胆汁淤积引起的肝功能损伤。早期经口进食不仅适用于成人, 也适用于儿童, 这与Sholadoye等<sup>[8]</sup>的研究一致。本研究结果显示85.71%(36/42)肠道术后患者能耐受早期进食, EOF组患者在手术后的第3天能耐受正常饮食, Han-Geurts等<sup>[9,10]</sup>的研究也证实了这一点。EOF组患者术后首次排气排便时间以及住院时间均短与TOF组, 差异有统计学意义, 证实早期经口进食明显促进肠道功能恢复、缩短住院时间及降低治疗费用, 与Hosseini等<sup>[11]</sup>的研究结果相似。

胆肠吻合术后早期经口进食能明显促进免疫蛋白动力学、改善营养状况及维护机体免疫功能。术后早期经口进食保障了肠道淋巴组织的能量供给, 维护了免疫细胞的结构和功能的稳定, 从而促进术后免疫功能的恢复<sup>[7,12]</sup>。本研究结果显示, EOF组患者术后3和7 d ALB、PA、LY较TOF组升高明显( $P<0.05$ ), 说明早期经口进食能明显改善患者术后的营养状况及提高免疫力。传统观念认为术后早期进食会导致腹胀、肠梗阻、吻合口瘘等并发症, 本研究EOF组术后并发症发生率低于TOF组, 两组患者术后发生恶心呕吐、腹胀、胸腔积液、肺部感染肺不张、切口感染、吻合口瘘等并发症的差异无统计学意义, 这与Osland等<sup>[13]</sup>及邱强等<sup>[14]</sup>的荟萃分析结果相同。EOF组中出现恶心呕吐、腹胀6例, 均给予胃动力药物及对症治疗后恢复。TOF组肺部并发症达12例, 考虑为术后长期留置胃管不利患者下床活动及咳嗽排痰引起, EOF组患者麻醉清醒后早期拔除胃管有利于下床活动促进肠蠕动, 减少术后肠粘连的形成, 同时也有效避免了肺部感染肺不张等并发症的发生。两组患者均未

发生吻合口瘘, 可能由于选取病例数较少原因, 吻合口瘘是否与早期进食有关, 还需要大量统计数据进一步论证。但是在动物实验证明早期进食可以促进吻合口的愈合<sup>[15]</sup>。我们认为, 吻合口瘘的原因主要由吻合口缺血引起, 所以在精确熟练吻合技术的基础上, 早期进食能有效促进胃肠蠕动, 防止食物潴留, 避免吻合口产生纵向张力而引起缺血。同时早期进食增加了肠道血流灌注, 降低了吻合口缺血风险, 从而降低了吻合口瘘的发生率。

总之, 胆肠吻合术后患者大部分能耐受早期经口进食, 早期进食不但有助于肠道功能的恢复、提高机体营养状况及免疫功能, 而且避免了术后肝功能损害及胆汁淤积, 同时明显缩短术后住院时间及降低治疗费用。因此, 可以作为围手术期标准处理方式应用于临床。

#### 4 参考文献

- 1 史振慧, 商晓燕, 付军. 术后早期进食对肛门排气的影响. 中华临床医药 2003; 4: 83
- 2 Gianotti L, Nespoli L, Torselli L, Panelli M, Nespoli A. Safety, feasibility, and tolerance of early oral feeding after colorectal resection outside an enhanced recovery after surgery (ERAS) program. *Int J Colorectal Dis* 2011; 26: 747-753 [PMID: 21286920 DOI: 10.1007/s00384-011-1138-3]
- 3 熊仁海, 莫伟明, 黄绪群, 徐祝英, 王兵, 阮勇. 胆道手术中不常规放置鼻胃管并早期进食的临床应用研究. 中华普通外科杂志 2012; 27: 1025-1027
- 4 Qiu Q, Cao JQ, Wang Q, Xin L, Huang J. [Safety and feasibility of early oral feeding after gastrectomy: a meta-analysis]. *Zhonghua Weichang Waike Zazhi* 2013; 16: 1045-1050 [PMID: 24277398]
- 5 Ansari D, Gianotti L, Schröder J, Andersson R. Fast-track surgery: procedure-specific aspects and future direction. *Langenbecks Arch Surg* 2013; 398: 29-37 [PMID: 23014834 DOI: 10.1007/s00423-012-1006-9]
- 6 Lassen K, Kjaeve J, Fetveit T, Tranø G, Sigurdsson HK, Horn A, Revhaug A. Allowing normal food at will after major upper gastrointestinal surgery does not increase morbidity: a randomized multicenter trial. *Ann Surg* 2008; 247: 721-729 [PMID: 18438106 DOI: 10.1097/SLA.0b013e31815cca68]
- 7 米磊, 仲蓓, 张佃良, 周岩冰, 王东升. 胃癌患者术后早期肠内营养对临床结局的影响. 中华胃肠外科杂志 2012; 15: 464-467
- 8 Sholadoye TT, Suleiman AF, Mshelbwala PM, Ameh EA. Early oral feeding following intestinal anastomoses in children is safe. *Afr J Paediatr Surg* 2012; 9: 113-116 [PMID: 22878758 DOI: 10.4103/0189-6725.99395]
- 9 Han-Geurts IJ, Hop WC, Kok NF, Lim A, Brouwer KJ, Jeekel J. Randomized clinical trial of the impact of early enteral feeding on postoperative ileus and recovery. *Br J Surg* 2007; 94: 555-561 [PMID: 17443854]
- 10 Han-Geurts IJ, Jeekel J, Tilanus HW, Brouwer KJ. Randomized clinical trial of patient-controlled versus fixed regimen feeding after elective abdomi-

#### ■创新盘点

胃肠道手术后进食时机的选择一直是研究热点, 本文通过对比认为患者行胆肠吻合术后5-6 h麻醉清醒后经口进食是安全有效的, 有助于肠道功能的恢复、提高机体营养状况及免疫功能, 而且避免了术后肝功能损害及胆汁淤积, 同时明显缩短术后住院时间及降低治疗费用。



## ■同行评价

本文立意新意, 科学性较好, 研究严谨, 结果有一定的创新性, 对临床工作有实际的指导意义。

- 11 Hosseini SN, Mousavinasab SN, Rahmanpour H, Sotodeh S. Comparing early oral feeding with traditional oral feeding in upper gastrointestinal surgery. *Turk J Gastroenterol* 2010; 21: 119-124 [PMID: 20872323]
- 12 杨东杰, 何伟玲, 王亮, 徐建波, 彭建军, 吴晖, 宋武, 张常华, 何裕隆. 术后早期经口进食对结直肠癌术后体液免疫功能的影响. *中华胃肠外科杂志* 2013; 16: 1051-1054
- 13 Osland E, Yunus RM, Khan S, Memon MA. Early versus traditional postoperative feeding in patients undergoing resectional gastrointestinal surgery: a meta-analysis. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2011; 35: 473-487 [PMID: 21628607 DOI: 10.1177/0148607110385698]
- 14 邱强, 曹家庆, 王琦, 辛林, 黄俊. 胃癌患者术后早期经口进食的安全性与可行性Meta分析. *中华胃肠外科杂志* 2013; 16: 1045-1050
- 15 Tadano S, Terashima H, Fukuzawa J, Matsuo R, Ikeda O, Ohkohchi N. Early postoperative oral intake accelerates upper gastrointestinal anastomotic healing in the rat model. *J Surg Res* 2011; 169: 202-208 [PMID: 20421119 DOI: 10.1016/j.jss.2010.01.004]

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静



# 监护室新生儿长期胃肠外营养致胆汁淤积症的表现及预后

赵军育, 吴立江, 刘晓莉

赵军育, 天津医科大学总医院儿科 天津市 300052  
赵军育, 吴立江, 刘晓莉, 天津市滨海新区汉沽医院儿科 天津市 300480  
赵军育, 主治医师, 主要从事新生儿疾病的研究.  
作者贡献分布: 赵军育进行课题设计与论文写作; 吴立江参与研究过程; 刘晓莉进行数据分析.  
通讯作者: 赵军育, 主治医师, 300480, 天津市滨海新区汉沽医院路28号, 天津市滨海新区汉沽医院儿科. tjhgzhaojunyu@163.com  
电话: 022-67127136  
收稿日期: 2014-02-10 修回日期: 2014-03-10  
接受日期: 2014-03-18 在线出版日期: 2014-03-28

## Clinical manifestations and prognosis of long-term parenteral nutrition induced cholestasis in neonates

Jun-Yu Zhao, Li-Jiang Wu, Xiao-Li Liu

Jun-Yu Zhao, Department of Pediatrics, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China  
Jun-Yu Zhao, Li-Jiang Wu, Xiao-Li Liu, Department of Pediatrics, Hangu Hospital of Binhai New Area, Tianjin 300480, China  
Correspondence to: Jun-Yu Zhao, Attending Physician, Department of Pediatrics, Hangu Hospital of Binhai New Area, 28 Hangu Yiyuan Road, Binhai District, Tianjin 300480, China. tjhgzhaojunyu@163.com  
Received: 2014-02-10 Revised: 2014-03-10  
Accepted: 2014-03-18 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To explore the clinical manifestations and prognosis of parenteral nutrition induced cholestasis (PNIC).

**METHODS:** One hundred and two newborns receiving continuous parenteral nutrition (PN)  $\geq 14$  d from January 2010 to December 2013 were divided into either a PNIC group ( $n = 42$ ) or a non-PNIC group ( $n = 60$ ). PNAC onset time, duration and hepatic injury were compared between the two groups.

**RESULTS:** PNIC occurred  $3.4 \text{ wk} \pm 1.5 \text{ wk}$  after PN administration, and its mean duration was  $13.4 \text{ wk} \pm 5.2 \text{ wk}$ . The maximum total bilirubin was  $198.9 \mu\text{mol/L} \pm 95.8 \mu\text{mol/L}$ , and the direct bilirubin was  $137.1 \mu\text{mol/L} \pm 64.3 \mu\text{mol/L}$ . In the PNIC group, 77.8% (28/36) suffered from

hepatic injury. Hepatic injury occurred  $6.5 \text{ wk} \pm 2.9 \text{ wk}$  after PN administration, and lasted for  $9.6 \text{ wk} \pm 5.2 \text{ wk}$ . Multiple linear regression analysis showed that the severity of cholestasis was positively correlated with the duration of PN ( $r = 0.287, P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** The prognosis of PNIC was favorable. To reduce the incidence of PNIC, long-term PN and infections should be avoided, enteral feeding should be started early and the PN formula should be improved.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Neonates; Parenteral nutrition; Cholestasis

Zhao JY, Wu LJ, Liu XL. Clinical manifestations and prognosis of long-term parenteral nutrition induced cholestasis in neonates. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1317-1321 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1317.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1317>

## 摘要

**目的:** 探讨监护室新生儿长期胃肠外营养相关性胆汁淤积症(parenteral nutrition associated cholestasis, PNAC)的表现及预后.

**方法:** 选择2010-01/2013-12在我院新生儿监护室接受持续胃肠外营养 $\geq 14$  d的102例新生儿为研究对象, 其中42例发生了PNAC, 作为研究组(PNAC组), 未发生PNAC的60例患儿为对照组(非PNAC组). 观察PNAC患儿PNAC发生时间、持续时间、肝功能损害及预后等情况.

**结果:** PNAC组患儿发生PNAC的平均时间为开始接受胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)后 $3.4 \text{ wk} \pm 1.5 \text{ wk}$ , 平均持续时间为 $13.4 \text{ wk} \pm 5.2 \text{ wk}$ , 平均总胆红素(total bilirubin, TB)峰值为 $198.9 \mu\text{mol/L} \pm 95.8 \mu\text{mol/L}$ , 平均直接胆红素(direct bilirubin, DB)峰值为 $137.1 \mu\text{mol/L} \pm 64.3 \mu\text{mol/L}$ ; PNAC组患儿中有77.8%(28/36)伴有肝功能损害, 肝损一般发生于PN后6.5 wk

## ■背景资料

胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)广泛应用于危重症新生儿, 尤其危重症早产儿及低出生体质量儿的救治中. 然而由于新生儿胃肠道及肝脏等重要脏器尚未完全发育成熟, PN在应用过程中出现诸多并发症, 其中胃肠外营养相关性胆汁淤积症(parenteral nutrition associated cholestasis, PNAC)是PN并发症中最为严重的一种, 部分患儿甚至可以发展为肝功能衰竭而死亡.

## ■同行评议者

崔清波, 副主任医师, 副教授, 哈尔滨医科大学附属第二医院儿外科

## ■ 研发前沿

PNAC的确切病因尚不明确,目前认为PNAC可能是脓毒血症、肝脏发育不成熟、肠内营养缺乏、肠外营养毒素等因素单独或相互作用导致的胆汁酸分泌受抑,致使胆管内胆汁流速及胆汁成份改变引起的一种综合征。其中有关胃肠外营养导致的PNAC越来越受重视。

±2.9 wk,持续9.6 wk±5.2 wk。多重线性回归分析显示,胆汁淤积程度与PN持续时间呈正相关( $r = 0.287, P < 0.05$ ),与其他各项指标无线性关系。

**结论:** PNAC患儿总体预后良好,临床应用中应该避免长时间持续PN,同时防治感染、尽早开始肠内营养、改善PN配方等,可以有效减少PNAC发生。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 新生儿; 胃肠外营养; 胆汁淤积

**核心提示:** 本研究中,42例胃肠外营养相关性胆汁淤积症(parenteral nutrition associated cholestasis, PNAC)患儿肝功能损害发生率为77.8%,一般发生于胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)后6.5 wk±2.9 wk,较PNAC出现晚,肝损持续时间大约9.6 wk±5.2 wk。部分研究表明,停用PN后PNAC症状会好转缓解。本次入组的42例PNAC患儿在停用PN,并给予能量合剂、熊脱氧胆酸及护肝治疗后,40例患儿临床症状消失,随诊1-2 mo肝功能指标正常,2例患儿治疗2 wk临床症状无改善,自动出院。

赵军育, 吴立江, 刘晓莉. 监护室新生儿长期胃肠外营养致胆汁淤积症的表现及预后. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1317-1321  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1317.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1317>

## 0 引言

胃肠外营养(parenteral nutrition, PN)广泛应用于危重症新生儿,尤其危重症早产儿及低出生体重儿的救治中。然而由于新生儿胃肠道及肝脏等重要脏器尚未完全发育成熟,PN在应用过程中出现诸多并发症,其中胃肠外营养相关性胆汁淤积症(parenteral nutrition associated cholestasis, PNAC)是PN并发症中最为严重的一种,部分患儿甚至可以发展为肝功能衰竭而死亡<sup>[1,2]</sup>。PNAC的发病机制目前尚不完全清楚,了解新生儿PNAC的临床表现及预后,采取合理的干预措施对于新生儿PNAC的救治具有十分重要的意义。本研究对2010-01/2013-12我院新生儿监护室接受PN治疗的患者临床资料进行总结,分析PNAC的临床特征及预后。

## 1 材料和方法

1.1 材料 选择2010-01/2013-12在我院新生儿监

护室接受持续胃肠外营养≥14 d的102例新生儿为研究对象,其中42例发生了PNAC,作为研究组(PNAC组),剩余未发生PNAC的60例患儿作为对照组(非PNAC组)。

### 1.2 方法

1.2.1 PNAC诊断标准: 持续胃肠外营养≥14 d,临床表现有皮肤黄染和(或)大便颜色呈白陶土样,直接胆红素(direct bilirubin, DB)≥34 μmol/L(2 mg/dL),排除病毒、细菌等感染,胆道畸形、外科手术及遗传代谢疾病等原因引起的胆汁淤积<sup>[3]</sup>。肝功能损害标准: 谷丙转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)≥50 U/L,谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)≥50 U/L,排除标本溶血等因素者可诊断为肝功能损害。

1.2.2 肠外营养支持: PN液配方包括10%葡萄糖、6.74%小儿复方氨基酸、20%中长链脂肪乳、水溶性及脂溶性维生素、电解质、微量元素。氨基酸及脂肪乳均由1 g/(kg·d)开始,每天增加0.5 g/kg,最大增至2.5-3.5 g/(kg·d),葡萄糖用量开始用量为6-8 g/(kg·d),逐渐增至12-16 g/(kg·d)。PN液由周围或中心静脉微泵输入,输注过程注意避光处理。

1.2.3 观察项目: 包括各组患儿的性别、胎龄、出生体质量、禁食时间、PN时间、是否窒息、有无感染、颅内出血、机械通气、动脉导管开放等情况,所有患儿定期接受头颅B超,心脏彩超,腹部B超,甲状腺功能及其他常规检查。

1.2.4 PNAC患儿的治疗: DB>3 mg/dL时予以减少PN用量, DB>8 mg/dL时停用PN,并根据患儿胆汁淤积情况给予熊脱氧胆酸及护肝治疗,如果经上述治疗4 wk,患儿病情无好转甚至加重者,则转上级医院进一步治疗。

**统计学处理** 采用SPSS19.0统计软件进行统计分析。计量资料以mean±SD表示,两组之间比较采用 $t$ 检验,计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 两组患儿临床资料比较 PNAC组与非PNAC组患儿临床资料比较如表1。两组患儿在性别比例、合并感染及动脉导管开放方面差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。PNAC组患儿的胎龄及出生体质量均小于非PNAC组,禁食时间、PN时间长于非PNAC组,同时PNAC组窒息、颅内出血的患儿明显多于非PNAC组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。



表 1 PNAC组与非PNAC组患儿临床资料的比较

项目	PNAC组	非PNAC组	$t$ 或 $\chi^2$ 值	$P$ 值
$n$	42	60		
性别(男/女)	18/24	21/39	0.646	>0.05
胎龄(wk)	31.4 $\pm$ 3.5	33.1 $\pm$ 3.3	2.497	<0.05
出生体质量(g)	1351.6 $\pm$ 321.5	1832.9 $\pm$ 256.1	8.402	<0.05
禁食时间(d)	10.6 $\pm$ 6.8	4.5 $\pm$ 3.6	5.878	<0.05
PN时间(d)	39.5 $\pm$ 19.2	24.6 $\pm$ 9.3	5.209	<0.05
窒息 $n$ (%)	15(35.7)	7(11.7)	8.446	<0.05
感染 $n$ (%)	18(42.9)	17(28.3)	2.312	>0.05
颅内出血 $n$ (%)	24(57.1)	21(35.0)	4.913	<0.05
机械通气 $n$ (%)	26(61.9)	18(30.0)	10.253	<0.05
动脉导管开放 $n$ (%)	13(31.0)	17(28.3)	0.816	>0.05

PNAC: 胃肠外营养相关性胆汁淤积症; PN: 胃肠外营养.

表 2 PNAC患儿的临床特征

项目	$n$	mean $\pm$ SD	最小值	最大值
PNAC发生时间(wk)	42	3.4 $\pm$ 1.5	1	7.5
PNAC持续时间(wk)	42	13.4 $\pm$ 5.2	4	24
TB-max( $\mu$ mol/L)	36	198.9 $\pm$ 95.8	58.5	486.3
DB-max( $\mu$ mol/L)	36	137.1 $\pm$ 64.3	47.3	293.8
肝损发生时间(wk)	28	6.5 $\pm$ 2.9	1	15
肝损持续时间(wk)	28	9.6 $\pm$ 5.2	2	21
ALT-max(U/L)	28	120.9 $\pm$ 47.3	50	248
AST-max(U/L)	28	239.6 $\pm$ 121.8	81	642

PNAC发生时间: 开始胃肠外营养至发生PNAC的周数; 肝损发生时间: 开始胃肠外营养至发生肝损的周数; PNAC: 胃肠外营养相关性胆汁淤积症; DB: 直接胆红素; TB: 总胆红素; ALT: 谷丙转氨酶; AST: 谷草转氨酶.

**2.2 PNAC患儿临床特征及预后** PNAC组患儿发生PNAC的平均时间为开始接受PN后3.4 wk $\pm$ 1.5 wk, 其中5例发生在停用PN 1 wk, 1例发生在停用PN 2 wk, 停用PN后发生PNAC的患儿在排除其他原因引起后, 给予常规利胆护肝治疗等对症支持治疗后好转. PNAC平均持续时间为13.4 wk $\pm$ 5.2 wk, 总胆红素(total bilirubin, TB)峰值为198.9  $\mu$ mol/L $\pm$ 95.8  $\mu$ mol/L, DB峰值为137.1  $\mu$ mol/L $\pm$ 64.3  $\mu$ mol/L; PNAC患儿中有77.8%(28/36)伴有肝功能损害, 肝损一般发生于PN后6.5 wk $\pm$ 2.9 wk, 较PNAC发生晚, 持续9.6 wk $\pm$ 5.2 wk, ALT峰值120.9 U/L $\pm$ 47.3 U/L, AST峰值239.6 U/L $\pm$ 121.8 U/L(表2). PNAC发生后, 逐渐停用PN, 并给予能量合剂、熊脱氧胆酸及护肝治疗, 40例患儿临床症状消失, 随诊1-2 mo

肝功能指标正常, 2例患儿治疗2 wk临床症状无改善, 自动出院.

**2.3 胆汁淤积程度与PN持续时间的关系** 通过对胆汁淤积程度即直接胆红素峰值与胎龄、出生体质量、禁食时间、PN持续时间进行多重线性回归分析, 结果显示, 胆汁淤积程度与PN持续时间呈正相关( $r = 0.287, P < 0.05$ ), 其他各项指标无线性关系(图1).

### 3 讨论

PNAC的确切病因尚不明确, 目前<sup>[4,5]</sup>认为PNAC可能是脓毒血症、肝脏发育不成熟、肠内营养缺乏、肠外营养毒素等因素单独或相互作用导致的胆汁酸分泌受抑, 致使胆管内胆汁流速及胆汁成份改变引起的一种综合征. 其中有关胃

### ■ 相关报道

Cober等曾报道, PN治疗小于2 wk的患儿没有或程度较轻的胆汁淤积, 而超过2 wk的患儿PNAC发生机率增高, PN持续超过6 wk者则会发生胆汁淤积及胆管增生.

## ■应用要点

PNAC的发病机制目前尚不完全清楚,了解新生儿PNAC的临床表现及预后,采取合理的干预措施对于新生儿PNAC的救治具有十分重要的意义。

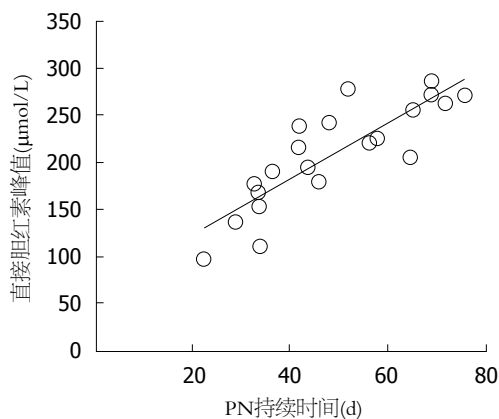


图1 PNAC患儿直接胆红素峰值与PN持续时间的散点图。  
PNAC: 胃肠外营养相关性胆汁淤积症; PN: 胃肠外营养。

肠外营养导致的PNAC越来越受重视。

胃肠外营养是新生儿学中的一个重要发展,目前已成为新生儿监护室救治患儿的重要方法,但胃肠外营养液成分本身具有的毒性作用可以导致肝脏损害,出现PNAC。有报道,PN液中牛磺酸、谷氨酰胺缺乏或蛋氨酸过多等可引起PNAC<sup>[6,7]</sup>,另外热卡过高、水份及脂肪乳配伍不均等也可能是PNAC的重要因素<sup>[8,9]</sup>。本次研究中我们通过对本院新生儿监护室接受持续PN治疗的患儿进行研究显示:PNAC患儿的胎龄及出生体质量普遍小于非PNAC患儿,平均禁食时间、PN时间均长于非PNAC患儿,同时PNAC组窒息、颅内出血的患儿明显多于非PNAC组。通过对上述因素进一步行多重线性回归分析显示,胆汁淤积程度与PN持续时间呈正相关其他各项指标无线性关系。说明PN持续时间是PNAC的重要危险因素,PN时间越长,PNAC发生的可能性越大,这与国内外报道结论一致<sup>[10-13]</sup>。其原因可能与长时间的PN增加了PN液的累积毒性,同时由于过高的非蛋白热卡摄入,水份、糖原及脂肪乳等在肝脏的沉积致使肝细胞发生肿胀、变性,进而堵塞胆管引起胆汁淤积,从而对肝脏造成进一步的损害。

Cober等<sup>[14]</sup>曾报道,PN治疗小于2 wk的患儿没有或程度较轻的胆汁淤积,而超过2 wk的患儿PNAC发生率增高,PN持续超过6 wk者则会发生胆汁淤积及胆管增生。本研究中,我们通过对PNAC组42例患儿的临床资料分析发现,PNAC的主要临床表现为黄疸、肝脾肿大、大便呈白陶土样外,PNAC平均时间为开始接受PN后3.4 wk $\pm$ 1.5 wk,最早发生在开始PN后1 wk,最晚发生在开始PN后7.5 wk。其中5例发生在停用

PN 1 wk, 1例发生在停用PN 2 wk,停用PN后发生PNAC的患儿在排除其他原因引起后,给予常规利胆护肝治疗等对症支持治疗后好转,PNAC平均持续时间为13.4 wk $\pm$ 5.2 wk。可见,临床上对于使用持续PN治疗的患儿应该定期监测肝功能,尤其对于持续使用2 wk以上的患儿,应密切观察患儿有无皮肤黄染,大便颜色变浅等情况,并结合相应肝功能检测结果,判断是否发生PNAC。另外,我们发现PNAC患儿的胆汁淤积程度并不一致,PNAC组患儿平均TB峰值为198.9  $\mu$ mol/L $\pm$ 95.8  $\mu$ mol/L,平均DB峰值为137.1  $\mu$ mol/L $\pm$ 64.3  $\mu$ mol/L;而最严重的患儿TB峰值可达486.3  $\mu$ mol/L, DB可达293.8  $\mu$ mol/L。这与国内学者报道的数据基本一致<sup>[15,16]</sup>。线性回归分析结果也显示,胆汁淤积程度与PN持续时间呈正相关。这可能是由于新生儿机体降解机制尚不完善,肝脏、肾脏等重要脏器功能不全,长期PN致使患儿体内氨基酸不断积累,又缺乏相应的代谢,所以DB水平升高<sup>[17]</sup>。

PNAC患儿常伴有肝功能的损害<sup>[18,19]</sup>。本研究中,42例PNAC患儿肝功能损害发生率为77.8%,一般发生于PN后6.5 wk $\pm$ 2.9 wk,较PNAC出现晚,肝损持续时间大约9.6 wk $\pm$ 5.2 wk。部分研究表明<sup>[20,21]</sup>停用PN后PNAC症状会好转缓解。本次入组的42例PNAC患儿在停用PN,并给予能量合剂、熊脱氧胆酸及护肝治疗后,40例患儿临床症状消失,随诊1-2 mo肝功能指标正常,2例患儿治疗2 wk临床症状无改善,自动出院。所以我们认为,PNAC患儿总体预后良好,当然这可能与本次研究中患儿接受PN治疗时间相对较短有关。

在PN治疗过程中,除了避免消除危险因素,如长时间持续PN外,防治感染、尽早开始肠内营养、改善PN配方等也是有效的预防手段<sup>[21]</sup>。医务工作者应该密切观察患儿临床表现,及时调整PN用量并监测肝功能的变化。

#### 4 参考文献

- 1 刘艳,黄志华,徐三清,黄永建,周华,董永绥,冯杰雄. 肝组织病理学检查在婴儿胆汁淤积症鉴别诊断中的价值. 世界华人消化杂志 2012; 20: 2200-2204
- 2 Willis TC, Carter BA, Rogers SP, Hawthorne KM, Hicks PD, Abrams SA. High rates of mortality and morbidity occur in infants with parenteral nutrition-associated cholestasis. *JPN J Parenter Enteral Nutr* 2010; 34: 32-37 [PMID: 19587385 DOI: 10.1177/0148607109332772]
- 3 Rangel SJ, Calkins CM, Cowles RA, Barnhart DC, Huang EY, Abdullah F, Arca MJ, Teitelbaum DH. Parenteral nutrition-associated cholestasis: an

- American Pediatric Surgical Association Outcomes and Clinical Trials Committee systematic review. *J Pediatr Surg* 2012; 47: 225-240 [PMID: 22244423 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2011.10.007]
- 4 Costa S, Maggio L, Sindico P, Cota F, De Carolis MP, Romagnoli C. Preterm small for gestational age infants are not at higher risk for parenteral nutrition-associated cholestasis. *J Pediatr* 2010; 156: 575-579 [PMID: 20036379 DOI: 10.1016/j.jpeds.2009.10.038]
  - 5 Arsenault DA, Potemkin AK, Robinson EM, Fallon EM, Ozonoff A, de Meijer VE, Puder M. Surgical intervention in the setting of parenteral nutrition-associated cholestasis may exacerbate liver injury. *J Pediatr Surg* 2011; 46: 122-127 [PMID: 21238652 DOI: 10.1016/j.jpedsurg.2010.09.072]
  - 6 蒋晓梅. 胃肠外营养中氨基酸摄入量与极低出生体重儿胃肠外营养相关性胆汁淤积的关系分析. *中国医药导报* 2011; 8: 38-40
  - 7 邓亚楠, 王琳琳, 唐清, 陈秀奇, 陈萍, 单庆文, 连淑君, 云翔. 胆盐输出泵基因V444A与特发性婴儿肝炎肝内胆汁淤积的关系. *世界华人消化杂志* 2011; 19: 38-43.
  - 8 许波, 王曼秋, 曹艳华. 早产儿早期微量喂养和胃肠外营养相关性胆汁淤积的关系探讨. *临床军医杂志* 2012; 40: 1477-1479
  - 9 刘剑. 胃肠外营养对早产儿的作用研究. *吉林医学* 2013; 34: 429
  - 10 杨慧, 王卫, 刘晓红. 早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积影响因素研究. *中国新生儿科杂志* 2013; 28: 32-35
  - 11 许靖, 张小英, 李秋平, 王自珍, 周丽, 杨璐, 马兴娜, 封志纯. 超低出生体质量儿早期胃肠内微量喂养的临床研究. *实用儿科临床杂志* 2012; 27: 486-488, 518
  - 12 Blackmer A B, Btaiche I F, Arnold M A, Teitelbaum D H. Parenteral Nutrition-Associated Liver Disease in Pediatric Patients: Strategies for Treatment and Prevention. *Diseases of the Liver in Children*. New York: Springer, 2014: 327-349 [DOI: 10.1007/978-1-4614-9005-017]
  - 13 王艳. 新生儿胃肠外营养45例临床运用及分析. *中国当代医药* 2011; 18: 180-181
  - 14 Cober MP, Teitelbaum DH. Prevention of parenteral nutrition-associated liver disease: lipid minimization. *Curr Opin Organ Transplant* 2010; 15: 330-333 [PMID: 20386446 DOI: 10.1097/MOT.0b013e328338c2da]
  - 15 庞占凤, 郭静, 孙梅. 早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积的临床研究. *中华临床医师杂志(电子版)* 2011; 5: 4331-4335
  - 16 黄瑞文, 周勇, 颜卫群, 肖艾青, 李军. 早产儿胃肠外营养总胆汁酸的变化. *医学临床研究* 2009; 26: 1318-1319
  - 17 杨清波, 姚黎军, 于建渤. 极低出生体重儿胃肠外营养相关性胆汁淤积病因学研究及治疗进展. *内蒙古中医药* 2013; 32: 119
  - 18 许红, 黄启凌. 熊去氧胆酸治疗早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积症. *实用药物与临床* 2012; 15: 820-821
  - 19 王陈红, 施丽萍, 吴秀静, 陈正, 罗芳. 早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积症的临床特征. *中华儿科杂志* 2011; 49: 199-202
  - 20 陈蓓, 苏萍, 韩进天, 王岩, 林广. 极早早产儿早期持续鼻饲输注喂养预防胃肠外营养相关性胆汁淤积. *广东医学* 2012; 33: 2298-2300
  - 21 郭宏湘, 王怀立, 张茜, 徐千雅, 李燕. 熊脱氧胆酸治疗早产儿胃肠外营养相关性胆汁淤积症的疗效. *实用儿科临床杂志* 2012; 27: 138-140

#### ■同行评价

本研究内容实用, 结果清晰, 对临床医师有一定的参考价值.

编辑 田滢 电编 鲁亚静





## 定量检测溃疡性结肠炎患者血清色氨酸的临床意义

苏丽, 李楠, 吴凯, 王欣, 张萌

### ■背景资料

溃疡性结肠炎是一种肠道慢性炎症性疾病, 近年来, 其在亚洲国家发病率呈上升趋势。目前病因尚不明确, 无有效评估疾病活动性方法, 临床诊断和治疗仍需进一步研究。对溃疡性结肠炎患者血清色氨酸水平定量检测, 了解溃疡性结肠炎发生、发展、诊断及治疗效果判断有一定的临床意义。

苏丽, 张萌, 河北北方学院 河北省张家口市 075000  
李楠, 吴凯, 王欣, 中国人民解放军309医院消化科 北京市 100091

苏丽, 硕士, 主要从事炎症性肠病的临床与基础研究。

作者贡献分布: 主要实验、数据分析、文章起草由苏丽完成; 病例选择、临床资料整理由吴凯、王欣及张萌完成; 课题设计、文章修改和审阅由李楠完成。

通讯作者: 李楠, 主任医师, 100091, 北京市海淀区黑山扈路甲17号, 中国人民解放军309医院. xhk309@126.com

电话: 010-66775074

收稿日期: 2013-12-29 修回日期: 2014-01-25

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

### Clinical significance of quantitative detection of serum tryptophan in patients with ulcerative colitis

Li Su, Nan Li, Kai Wu, Xin Wang, Meng Zhang

Li Su, Meng Zhang, Hebei North University, Zhangjiakou 075000, Hebei Province, China

Nan Li, Kai Wu, Xin Wang, Department of Gastroenterology, 309<sup>th</sup> Hospital of People's Liberation Army, China, Beijing 100091, China

Correspondence to: Nan Li, Chief Physician, Department of Gastroenterology, 309<sup>th</sup> Hospital of People's Liberation Army, China, 17 Heishanhu Road, Haidian District, Beijing 100091, China. xhk309@126.com

Received: 2013-12-29 Revised: 2014-01-25

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

### Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of serum tryptophan in patients with ulcerative colitis (UC).

**METHODS:** Serum samples were obtained from 20 UC patients and 20 healthy volunteers. For each patient, serum samples were collected when the disease was active and inactive. The diagnosis for each patient was based on clinical symptoms, endoscopic, radiographic, and histological findings. The Montreal Classification was used for disease phenotyping. Disease activity was assessed by the modified Mayo score. Tryptophan in serum was measured by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). Differences between different groups and the relationship between serum tryptophan and ESR/CRP in patients with active UC were analyzed.

**RESULTS:** Compared with patients with active UC, serum levels of tryptophan in patients with inactive UC and healthy volunteers were significantly lower ( $P < 0.05$  for both), but there was no significant difference between patients with inactive UC and healthy volunteers. Serum tryptophan in active UC patients was inversely related to ESR ( $r = -0.502$ ,  $P = 0.024$ ) and CRP ( $r = -0.530$ ,  $P = 0.016$ ). After conventional treatment, the levels of serum tryptophan were significantly elevated ( $P < 0.05$ ).

**CONCLUSION:** Tryptophan may play a key role in the occurrence and development of UC.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Ulcerative colitis; Tryptophan; Clinical significance

Su L, Li N, Wu K, Wang X, Zhang M. Clinical significance of quantitative detection of serum tryptophan in patients with ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1322-1327 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1322.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1322>

### 摘要

**目的:** 探讨溃疡性结肠炎血清色氨酸的临床意义。

**方法:** 从40例(20例溃疡性结肠炎患者和20例健康志愿者)收集血清样本。并分别收集同一名溃疡性结肠炎患者疾病活动期和缓解期血清。综合临床表现、内镜、影像及组织学检查对溃疡性结肠炎患者进行诊断。使用蒙特利尔分类对疾病分型, 使用梅奥评分评估疾病活动性。用液相色谱-质谱联用法定量检测色氨酸。对不同分组及色氨酸与血沉和C-反应蛋白的关系进行分析。

**结果:** (1)活动期溃疡性结肠炎患者血清色氨酸水平显著低于缓解期溃疡性结肠炎患者和健康志愿者( $P < 0.05$ )。缓解期溃疡性结肠炎患者组与健康志愿者无明显差异; (2)活动期溃疡性结肠炎血清色氨酸与血沉呈负相关( $r =$

■同行评议者  
张庆瑜, 教授, 主任医师, 天津医科大学总医院科研处

-0.502,  $P = 0.024$ ); 活动期溃疡性结肠炎血清色氨酸与C-反应蛋白呈负相关( $r = -0.530$ ,  $P = 0.016$ ); (3) 活动期溃疡性结肠炎患者经规律治疗后, 血清色氨酸水平有所提高( $P < 0.05$ ).

**结论:** 色氨酸在溃疡性结肠炎发生发展中起关键性作用.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

**关键词:** 溃疡性结肠炎; 色氨酸; 临床意义

**核心提示:** 血清色氨酸水平在溃疡性结肠炎发生、发展以及治疗前后均发生显著变化, 说明色氨酸在溃疡性结肠炎发病过程中起重要作用, 对于人们更好的了解此疾病具有重要价值.

苏丽, 李楠, 吴凯, 王欣, 张萌. 定量检测溃疡性结肠炎患者血清色氨酸的临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1322-1327  
URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1322.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1322>

## 0 引言

溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)与克罗恩病(Crohn's disease, CD)共同称为炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD), 其是一种与多因素有关, 但原因不明的疾病, 具有较高的表型变化<sup>[1]</sup>. 目前许多文献显示UC与遗传、环境、微生物、免疫等多种因素相关. UC最常发生于青壮年期, 根据我国统计资料, 发病高峰年龄为20-49岁, 男女性别差异不大(男:女约为1.0-1.3:1)<sup>[2,3]</sup>. 临床表现为持续或反复发作的腹泻、黏液脓血便伴腹痛、里急后重和不同程度的全身症状. 因其病因尚不明确, 所以目前缺乏诊断金标准. 主要结合临床表现、内镜和病理组织学检查进行综合分析, 在排除感染性和其他非感染性结肠炎的基础上作出诊断<sup>[4]</sup>. 自身抗体核周抗中性白细胞胞质抗体(p-ANCA)可作为诊断标记物, 但是他的敏感性和特异性并不理想. 生物标志物通常用来监测疾病的活动性和对治疗的反应, 像红细胞沉降率(erythrocyte sedimentation rate, ESR)和C-反应蛋白(C-reactive protein, CRP), 他们并不总是和疾病活动性相关, 也不是UC特异性的标志物<sup>[5]</sup>. 该疾病目前的治疗目标为诱导并维持临床缓解及黏膜愈合, 防治并发症, 改善患者生存质量<sup>[6]</sup>. 主要为改善饮食及生活方式, 服用5-氨基水杨酸类药物、激素、免疫抑制剂、抗生素、微生态制剂、生物制剂、中药等, 以及外科手术治疗. 但目前尚无

令人满意的治疗方法. 所以, UC在发病机制、诊断和治疗方面成为研究热点. 最近有证据表明, 氨基酸在保持肠道健康中起着重要作用<sup>[7]</sup>. 而色氨酸(tryptophan, Trp)又是一种与自身免疫相关的必需氨基酸, 其代谢途径与炎症性肠病的发病机制相关<sup>[8]</sup>. 本实验中我们对20个UC患者(包括活动期和缓解期)与20个健康志愿者(HCs)血清Trp进行了定量分析, 探讨血清Trp水平在UC发生发展中可能的作用和临床意义.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 此项研究中的UC患者来自于2012-10/2013-05的中国人民解放军309医院消化科住院及门诊病人. HCs来自中国人民解放军309医院健康体检者. 均有完整的临床信息登记, 其中包括性别、年龄、种族、蒙特利尔分类、梅奥评分(Mayo score)、CRP、ESR、外科手术情况及用药史等. UC诊断严格按照2012年中国炎症性肠病诊断与治疗共识意见. UC疾病活动性的评估和分级来自于Mayo score. 排除标准: (1)合并糖尿病、痛风、骨质疏松症等代谢性疾病者; (2)合并严重心、肝、肾等重要脏器和血液、内分泌系统病变者; (3)有近期输血史及服用激素、免疫抑制剂药物的病例; (4)怀孕、哺乳或不能排除妊娠可能的女性. HCs为经体检不存在UC或者其他炎症性疾病的健康人群自愿参加. 人口统计信息与UC病例组相似. 本研究得到本医院伦理委员会批准后实施. (API)液相色谱-质谱联用仪(美国AB SCIEX公司), 配有Agilent 1200 SL自动进样器、Waters色谱柱柱(2.1 mm × 150 mm i.d., 3 μm). Analyst v.1.5.1 (应用的生物系统/MDS SCIEX)用于数据的获取和分析. 未标记的Trp, 2H5-Trp购自Sigma-Aldrich公司, 样品制备和LC-MS色谱纯的溶剂购自德国Fisher Scientific和Merck公司. 实验用水皆为Milli-Q水.

**1.2 方法** 采集符合纳入标准的UC患者及HCs基本信息, 并对其资料统计归纳整理. UC期患者统一经规律5-氨基水杨酸(美沙拉嗪)治疗后转为缓解期. 收集UC患者疾病活动期与缓解期不同时期的血清以及HCs晨起空腹静脉血, 血液标本被存取登记, 经离心处理获得血清, 将其保存在-80 °C的冰箱里. 血清样本于室温下解冻后, 将10 μL内标物加入50 μL血清中, 并用0.1%甲酸的水溶液(体积/体积)稀释至100 μL, 然后将400 μL的冷甲醇加入此混合溶液中涡旋, 于-20 °C下冷

**■研究前沿**  
最近有证据表明, 氨基酸在保持肠道健康中起着重要作用, 因此对溃疡性结肠炎患者氨基酸代谢的研究已成为国内外热点课题.

## ■ 相关报道

Hisamatsu等研究发现, 溃疡性结肠炎患者血浆色氨酸水平显著低于健康志愿者。

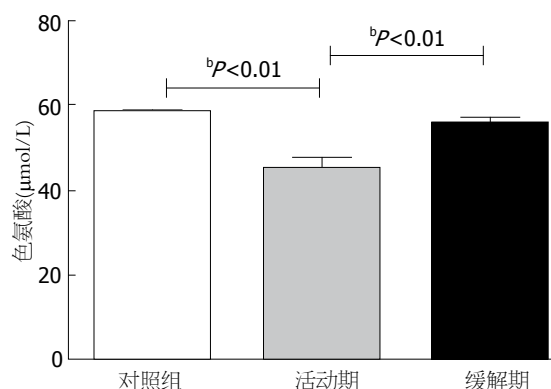


图1 对照组(HCs)、活动期UC组、缓解期UC组血清Trp水平差异分析. 活动期UC患者血清Trp水平显著低于活动期UC患者和HCs( $P < 0.05$ ). 缓解期UC患者组与HCs无明显差异。

冻1 h, 以确保蛋白质完全沉淀. 然后离心(10000 r/min, 10 min)、氮气吹干, 将残余物再次溶解于100  $\mu$ L 0.1%甲酸的水溶液中, 再次离心(10000 r/min, 5 min), 取上清液进样检测。

**统计学处理** 根据LC-MS/MS色氨酸的峰面积与内标峰面积的比值, 由线性得到色氨酸的浓度值. 使用Graphpad Prism 5.0以及SPSS18.0软件进行数据的差异分析统计处理及绘图, 统计方法包括单因素方差分析(one-way analysis of variance)、配对的Student's *t*-test (paired Student's *t*-test)以及Spearman等级相关分析. 数据如无特殊说明, 均用mean  $\pm$  SD表示.  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 样本特征** 本研究中疾病组与健康对照组人群特征如表1. 各个研究组中年龄、性别、饮食及生活方式没有显著差异. 活动期和缓解期血清样本均来自于同一个UC患者. 20例患者中均未接受过外科手术治疗, 疾病组用药情况包括: 5-氨基水杨酸(20例)、皮质类固醇(0例)、巯基嘌呤(0例)、抗代谢药物(0例)、抗肿瘤坏死因子(0例)。

**2.2 各组间血清Trp差异性分析** UC患者处于疾病活动期的血清Trp水平( $44.89 \pm 12.11$ )与健康对照组的血清Trp水平( $58.59 \pm 5.986$ )相比明显下调, 与处于疾病缓解期患者的血清Trp水平( $55.29 \mu\text{mol/L} \pm 9.497 \mu\text{mol/L}$ )相比明显下调, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ), UC患者处于缓解期的血清Trp水平与健康对照组的血清Trp水平相比无明显变化(图1)。

**2.3 UC组活动期患者血清Trp与炎症因子相关性**

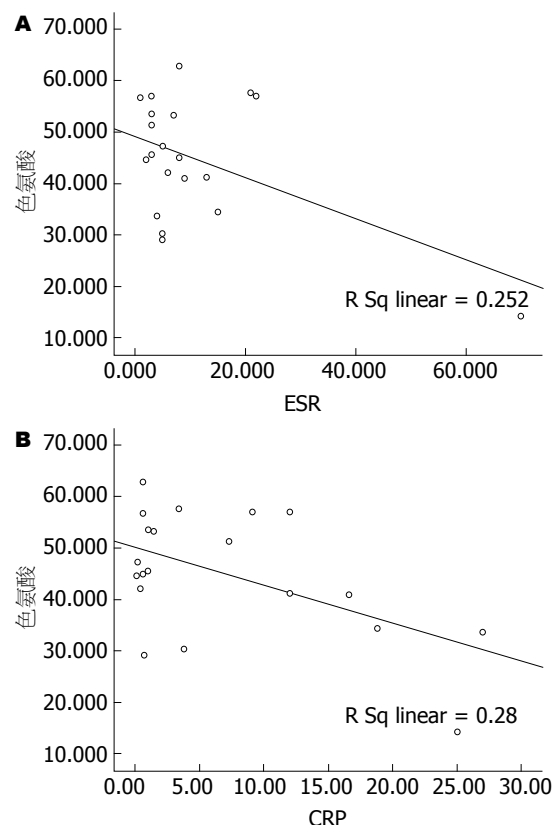


图2 活动期UC组血清Trp与炎症因子(ESR/CRP)相关性分析. A: UC组活动期患者血清Trp水平与血清ESR水平呈负相关( $r = -0.502$ ,  $P < 0.05$ ); B: UC组活动期患者血清Trp水平与血清CRP水平呈负相关( $r = -0.502$ ,  $P < 0.05$ ).

分析 UC组活动期患者血清Trp水平与血清ESR水平呈负相关( $r = -0.502$ ,  $P < 0.05$ , 图2A); UC组活动期患者血清Trp水平与血清CRP( $r = -0.502$ ,  $P < 0.05$ )(图2B)水平呈负相关。

**2.4 UC活动期治疗后转为缓解期血清Trp水平变化** UC组活动期患者经治疗后转为缓解期, 其Trp的水平均有不同程度上调, 有统计学意义( $P < 0.0001$ )(图3)。

## 3 讨论

本实验中, 我们检测了20例UC患者活动期、缓解期血清和相应20例健康志愿者血清中Trp水平. 结果显示活动期患者血清Trp与UC缓解期患者及健康志愿者血清色氨酸之间差异均存在显著统计学意义( $P < 0.05$ ), 而缓解期患者血清中Trp水平与健康志愿者之间无明显差异( $P > 0.05$ ). Trp是人体八种必需氨基酸之一, 当人体摄入色氨酸后, 其将进入不同的代谢途径中, 包括: 蛋白质合成代谢以及Trp分解代谢. 其中Trp分解代谢途径包括: 五羟色胺途径(约占95%<sup>[9]</sup>), 犬尿氨酸途径(约占1%-2%<sup>[10]</sup>), 以及细菌分解途径. 这



表 1 本研究中溃疡性结肠炎组(活动期和缓解期)与健康对照组人群特征

	溃疡性结肠炎组		健康对照组
	活动期	缓解期	
数量(男/女)	20(13/7)	—	20(13/7)
平均年龄(范围)	38.8(23–59)	—	36.55(23–57)
疾病平均持续时间(年)	2.67	—	—
疾病持续中位时间(年)	2.115(0.1–10)	—	—
过去一年平均发病次数	1.15(0–2)	—	—
疾病发病部位( <i>n</i> )			
左半结肠	6	—	—
全结肠	2	—	—
直肠/乙状结肠	12	—	—
外科手术(男/女)	0	—	—
改良的Mayo Score			
平均值	9.1	1.05	—
中位值(范围)	10(6–12)	1(0–2)	—
主要用药( <i>n</i> )		—	—
氨基水杨酸类药物	20	20	—
皮质类固醇	0	—	—
巯基嘌呤	0	—	—
抗代谢药物	0	—	—
抗肿瘤坏死因子	0	—	—
血沉(ESR)	10.65(1–70)	4.90(1–13)	4.65(1–10)
C-反应蛋白(CRP)	7.08(0.1–25)	0.93(0.4–2.1)	0.81(0.1–1.6)

## ■创新盘点

本研究对溃疡性结肠炎患者(包括活动期和缓解期)与健康志愿者血清色氨酸进行了定量分析,探讨血清色氨酸水平在溃疡性结肠炎发生、发展中可能的作用和临床意义,为临床对该疾病的诊断、评估和治疗提供参考文献。

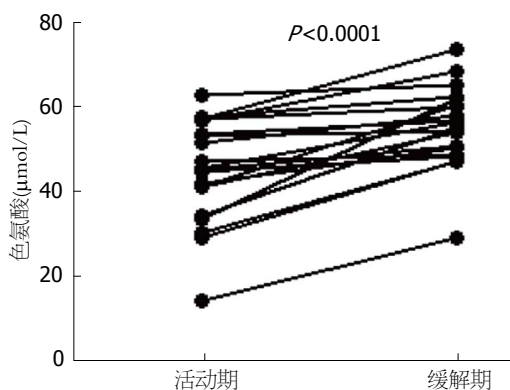


图 3 UC活动期患者经治疗后转为缓解期血清Trp水平变化. UC组活动期患者经治疗后转为缓解期,其Trp的水平均有不同程度上调( $44.89 \mu\text{mol/L} \pm 12.11 \mu\text{mol/L}$  vs  $55.29 \mu\text{mol/L} \pm 9.497 \mu\text{mol/L}$ ),有统计学意义( $P<0.0001$ ).

些途径共同维持人体内环境平衡,使人体保持健康状态.同时,Trp也作为一种药物,被广泛应用于多种疾病的治疗中.例如:补充Trp可以降低妇女经前期综合征的情绪不稳、紧张易激惹症状<sup>[11]</sup>,改善睡眠障碍患者的睡眠质量<sup>[12]</sup>,治疗抑郁症<sup>[13]</sup>,以及可以作为吸烟者戒烟的辅助治疗手段<sup>[14]</sup>.最近研究证实,Trp的代谢途径能够调节胃肠道功能,而当Trp代谢情况发生改变时,将会导致胃肠道功能紊乱并致病,如炎症性肠病、肠

易激综合征、腹腔疾病和憩室炎<sup>[8]</sup>.已有研究中,UC患者Trp水平显著低于健康志愿者水平<sup>[15,16]</sup>.同样的结果也在UC动物模型中出现<sup>[17,18]</sup>.但研究者均未对疾病活动期与缓解期严格区分后研究.本实验通过比较Trp在UC患者不同时期(活动期、缓解期)及健康志愿者之间的差异,更进一步说明了Trp在UC发生、发展中起到关键性的作用.实验中,我们还发现处于活动期的UC患者血清Trp水平与炎症标志物ESR和CRP呈负相关( $P<0.05$ ).基于UC活动期和缓解期血清Trp的变化,以及活动期Trp水平与炎症标志物的相关性结果,UC患者血清Trp水平可能对于监测UC的活动性具有重要意义.这也充分说明了Trp在UC研究中的价值.

另外,我们还对UC患者治疗前后血清Trp水平一一对应进行比较(治疗前即为活动期,治疗后即为缓解期).结果表明,UC患者治疗前后血清Trp水平均有不同程度的增加,说明疾病炎症缓解后,Trp水平相应提高,即Trp代谢过程在UC治疗过程中发生着相应的变化.那么UC活动期患者是否能够通过补充Trp,改变Trp的代谢过程来抑制疾病炎症,达到缓解炎症活动性的目的呢?2010年,Kim等<sup>[19]</sup>用Trp灌胃大肠炎

## ■应用要点

本文证实血清色氨酸在溃疡性结肠炎患者(包括活动期和缓解期)与健康志愿者的水平差异、血清色氨酸与该疾病活动期炎症生物标志的相关性以及治疗前后血清色氨酸的变化情况。检测溃疡性结肠炎患者血清色氨酸水平对临床对该疾病的诊疗及评估具有重要的意义。

模型动物,使其肠道炎症程度减轻,康复时间缩短,减少炎症促炎因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白介素-6(interleukin-6, IL-6)、IFN- $\gamma$ 、IL-12p40、IL-1 $\beta$ 和IL-17以及IL-8和等的表达。从蛋白和基因表达水平上证明了Trp在UC发病机制中起到关键性作用,是治疗UC的有效免疫调节剂。2013年,Shizuma等<sup>[20]</sup>也证实了给予UC模型鼠Trp治疗可以缓解UC模型鼠的炎症症状。Trp具有炎症调节作用,这可能与Trp家族的一些代谢产物是自由基清除剂有关<sup>[21-23]</sup>。但目前为止,给予UC患者补充Trp是否能治疗UC患者尚无定论。我们希望本实验的结果同时也能为Trp治疗UC方面的研究提供相关依据。

总之,Trp在UC发生、发展中起到关键性的作用。通过对健康志愿者以及UC患者疾病不同时期Trp水平的比较,为更好的了解UC发病机制,疾病活动性检测以及疾病治疗提供了新的思路。未来,我们将还需要对UC患者Trp的代谢途径进行更进一步的研究,以期更加明确疾病的发病机制,更好的检测疾病的发展,从而发现UC更有效的治疗方法。

## 4 参考文献

- 1 Strober W, Fuss I, Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. *J Clin Invest* 2007; 117: 514-521 [PMID: 17332878 DOI: 10.1172/JCI30587]
- 2 Wang Y, Ouyang Q. Ulcerative colitis in China: retrospective analysis of 3100 hospitalized patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1450-1455 [PMID: 17716349 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2007.04873.x]
- 3 Chow DK, Leong RW, Tsoi KK, Ng SS, Leung WK, Wu JC, Wong VW, Chan FK, Sung JJ. Long-term follow-up of ulcerative colitis in the Chinese population. *Am J Gastroenterol* 2009; 104: 647-654 [PMID: 19262521 DOI: 10.1038/ajg.2008.74]
- 4 Ooi CJ, Fock KM, Makharia GK, Goh KL, Ling KL, Hilmi I, Lim WC, Kelvin T, Gibson PR, Gearry RB, Ouyang Q, Sollano J, Manatsathit S, Rerknimitr R, Wei SC, Leung WK, de Silva HJ, Leong RW. The Asia-Pacific consensus on ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2010; 25: 453-468 [PMID: 20370724 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2010.06241.x]
- 5 Bossuyt X. Serologic markers in inflammatory bowel disease. *Clin Chem* 2006; 52: 171-181 [PMID: 16339302 DOI: 10.1373/clinchem.2005.058560]
- 6 胡品津, 钱家鸣, 吴开春, 冉志华. 炎症性肠病诊断与治疗的共识意见(2012年·广州). *中华内科杂志* 2012; 51: 818-831
- 7 Wang WW, Qiao SY, Li DF. Amino acids and gut function. *Amino Acids* 2009; 37: 105-110 [PMID: 18670730 DOI: 10.1007/s00726-008-0152-4]
- 8 Keszthelyi D, Troost FJ, Masclee AA. Understanding the role of tryptophan and serotonin metabolism in gastrointestinal function. *Neurogastroenterol Motil* 2009; 21: 1239-1249 [PMID: 19650771 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01370.x]
- 9 Peters JC. Tryptophan nutrition and metabolism: an overview. *Adv Exp Med Biol* 1991; 294: 345-358 [PMID: 1772073]
- 10 Bender DA. Biochemistry of tryptophan in health and disease. *Mol Aspects Med* 1983; 6: 101-197 [PMID: 6371429]
- 11 Steinberg S, Annable L, Young SN, Liyanage N. A placebo-controlled study of the effects of L-tryptophan in patients with premenstrual dysphoria. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 85-88 [PMID: 10721042]
- 12 Schneider-Helmert D, Spinweber CL. Evaluation of L-tryptophan for treatment of insomnia: a review. *Psychopharmacology (Berl)* 1986; 89: 1-7 [PMID: 3090582]
- 13 Joyce PR, Porter RJ, Mulder RT, Luty SE, McKenzie JM, Miller AL, Kennedy MA. Reversed diurnal variation in depression: associations with a differential antidepressant response, tryptophan: large neutral amino acid ratio and serotonin transporter polymorphisms. *Psychol Med* 2005; 35: 511-517 [PMID: 15856721]
- 14 Bowen DJ, Spring B, Fox E. Tryptophan and high-carbohydrate diets as adjuncts to smoking cessation therapy. *J Behav Med* 1991; 14: 97-110 [PMID: 1880796]
- 15 Hisamatsu T, Okamoto S, Hashimoto M, Muramatsu T, Andou A, Uo M, Kitazume MT, Matsuoka K, Yajima T, Inoue N, Kanai T, Ogata H, Iwao Y, Yamakado M, Sakai R, Ono N, Ando T, Suzuki M, Hibi T. Novel, objective, multivariate biomarkers composed of plasma amino acid profiles for the diagnosis and assessment of inflammatory bowel disease. *PLoS One* 2012; 7: e31131 [PMID: 22303484 DOI: 10.1371/journal.pone.0031131]
- 16 Ooi M, Nishiumi S, Yoshie T, Shiomi Y, Kohashi M, Fukunaga K, Nakamura S, Matsumoto T, Hatano N, Shinohara M, Irino Y, Takenawa T, Azuma T, Yoshida M. GC/MS-based profiling of amino acids and TCA cycle-related molecules in ulcerative colitis. *Inflamm Res* 2011; 60: 831-840 [PMID: 21523508 DOI: 10.1007/s00011-011-0340-7.]
- 17 Shiomi Y, Nishiumi S, Ooi M, Hatano N, Shinohara M, Yoshie T, Kondo Y, Furumatsu K, Shiomi H, Kutsumi H, Azuma T, Yoshida M. GCMS-based metabolomic study in mice with colitis induced by dextran sulfate sodium. *Inflamm Bowel Dis* 2011; 17: 2261-2274 [PMID: 21287666 DOI: 10.1002/ibd.21616]
- 18 Schicho R, Nazyrova A, Shaykhtudinov R, Duggan G, Vogel HJ, Storr M. Quantitative metabolomic profiling of serum and urine in DSS-induced ulcerative colitis of mice by (1)H NMR spectroscopy. *J Proteome Res* 2010; 9: 6265-6273 [PMID: 20886908 DOI: 10.1021/pr100547y.]
- 19 Kim CJ, Kovacs-Nolan JA, Yang C, Archbold T, Fan MZ, Mine Y. L-Tryptophan exhibits therapeutic function in a porcine model of dextran sodium sulfate (DSS)-induced colitis. *J Nutr Biochem* 2010; 21: 468-475 [PMID: 19428234 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2009.01.019.]
- 20 Shizuma T, Mori H, Fukuyama N. Protective effect of tryptophan against dextran sulfate sodium-induced experimental colitis. *Turk J Gastroenterol* 2013; 24: 30-35 [PMID: 23794341 DOI: 10.4318/tjg.2013.0558]
- 21 Reiter RJ, Tan DX, Cabrera J, D'Arpa D. Melatonin and tryptophan derivatives as free radical scavengers.

- gers and antioxidants. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 379-387 [PMID: 10721079]
- 22 Goda K, Hamane Y, Kishimoto R, Ogishi Y. Radical scavenging properties of tryptophan metabolites. Estimation of their radical reactivity. *Adv Exp Med Biol* 1999; 467: 397-402 [PMID: 10721081]
- 23 Kaszaki J, Palásthy Z, Erczes D, Rácz A, Torday C, Varga G, Vécsei L, Boros M. Kynurenic acid inhibits intestinal hypermotility and xanthine oxidase activity during experimental colon obstruction in dogs. *Neurogastroenterol Motil* 2008; 20: 53-62 [PMID: 17973632 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2007.00989.x]

■同行评价  
本文具有一定指导意义。

编辑 田滢 电编 鲁亚静





# CacyBP/SIP在不同大肠组织中的表达及临床意义

翟惠虹, 冯珊珊, 仇长青, 武婧, 王安萍

## ■背景资料

钙周期素结合蛋白[calcyclin (S100A6)-binding-protein, CacyBP]首先发现是S100蛋白的靶蛋白, 随后在泛素化降解通路中发现其可以与Siah-1(Siah-1 interacting protein)相互作用, 因此命名为CacyBP/SIP。目前发现其与胃癌、肾癌、胰腺癌及乳腺癌相关。我们前期研究发现, 其在多种正常组织中低表达, 肿瘤组织中高表达。因此, 本研究拟进一步研究CacyBP/SIP在不同大肠组织中的表达, 探讨其在大肠癌发生发展中的作用。

翟惠虹, 仇长青, 武婧, 王安萍, 宁夏医科大学总医院消化内科 宁夏回族自治区银川市 750004  
冯珊珊, 宁夏医科大学总医院外科学研究室 宁夏回族自治区银川市 750004  
翟惠虹, 副教授, 主要从事大肠癌的临床与基础研究  
国家自然科学基金资助项目, No. 81072040  
作者贡献分布: 此课题设计、数据分析、制图由翟惠虹完成; 论文写作由翟惠虹与冯珊珊完成; 仇长青与武婧完成免疫组织化学检测; 王安萍完成Western blot检测。  
通讯作者: 翟惠虹, 副教授, 750004, 宁夏回族自治区银川市兴庆区胜利街804号, 宁夏医科大学总医院消化内科。  
zhaihuihong@263.net  
电话: 0951-6744281 传真: 0951-6744200  
收稿日期: 2013-11-09 修回日期: 2014-01-23  
接受日期: 2014-01-24 在线出版日期: 2014-03-28

## Clinical significance of expression of CacyBP/SIP in colorectal tissues

Hui-Hong Zhai, Shan-Shan Feng, Chang-Qing Qiu, Jing Wu, An-Ping Wang

Hui-Hong Zhai, Chang-Qing Qiu, Jing Wu, An-Ping Wang, Department of Gastroenterology, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China  
Shan-Shan Feng, Surgery Laboratory, General Hospital of Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China  
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81072040

Correspondence to: Hui-Hong Zhai, Associate Professor, Department of Gastroenterology, General Hospital of Ningxia Medical University, 804 Shengli Road, Xingqing District, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. zhaihuihong@263.net

Received: 2013-11-09 Revised: 2014-01-23  
Accepted: 2014-01-24 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To detect the expression of CacyBP/SIP [Calcyclin (S100A6)-binding protein/Siah-1 interacting protein] in normal colorectal tissue, colorectal hyperplastic polyps, colorectal adenoma and colorectal cancer.

**METHODS:** Immunohistochemistry was used to analyze the expression of CacyBP/SIP in 10 normal colorectal tissue samples, 17 samples of colorectal hyperplastic polyps, 26 samples of colorectal adenomas and 50 samples of colorectal cancer. Four frozen tissue samples of colorec-

tal cancer and adjacent noncancerous tissues were used in Western blot to detect CacyBP/SIP expression. Immunohistochemical results were compared against patient data and pathological analysis of tissue slices. Slices were assessed for associations with gender, age, degree of tumor differentiation and TNM stage.

**RESULTS:** CacyBP/SIP was detected in 0 (0/10) of normal tissue samples, 17.7% (7/26) of colorectal hyperplastic polyps, 26.9% (7/26) of colorectal adenomas, and 52% (26/50) of colorectal cancer tissues by immunohistochemistry. The expression of CacyBP/SIP in colorectal adenomas and colorectal cancer tissues was higher than that in the normal colon tissue and colorectal hyperplastic polyps (0 vs 26.9%, 0 vs 52%, 17.7% vs 26.9%, 17.7% vs 52%,  $P < 0.05$  for all). The expression of CacyBP/SIP was also higher in cancerous tissue than in adjacent noncancerous colorectal tissue, as revealed by Western blot ( $P < 0.05$ ). There was no association between CacyBP/SIP expression and patient age, gender, degree of tumor differentiation or TNM stage ( $P > 0.05$  for all).

**CONCLUSION:** These results suggest that CacyBP/SIP may be involved in the progression of colorectal cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** CacyBP/SIP; Colorectal cancer; Immunohistochemistry; Western blot

Zhai HH, Feng SS, Qiu CQ, Wu J, Wang AP. Clinical significance of expression of CacyBP/SIP in colorectal tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1328-1333 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1328.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1328>

## 摘要

**目的:** 检测钙周期素结合蛋白[calcyclin (S100A6)-binding-protein, CacyBP/Siah-1 interacting protein, SIP]在大肠各种组织中的表达, 探讨

## ■同行评议者

刘占举, 教授, 同济大学附属上海市第十人民医院

其在大肠癌发生发展中的作用。

**方法:** 采用免疫组织化学技术检测10例正常大肠组织、17例大肠增生性息肉、26例大肠腺瘤和50例大肠癌组织中CacyBP/SIP的表达。采用Western blot检测3例大肠癌及相应癌旁正常组织中CacyBP/SIP的表达。并分析CacyBP/SIP与大肠癌临床病理资料之间的关系。

**结果:** CacyBP/SIP在正常大肠、大肠增生性息肉、大肠腺瘤及大肠癌组织中的表达率分别为0(0/10)、17.7%(3/17)、26.9%(7/26)、52.0%(26/50), CacyBP/SIP在大肠增生性息肉中的表达与正常大肠组织中的表达比较无统计学差异( $P>0.05$ ), 而在大肠腺瘤组织、大肠癌组织中的表达与正常大肠组织比较差异均有统计学意义( $P<0.05$ )。Western blot显示CacyBP/SIP在大肠癌组织中的表达明显高于其相应癌旁正常组织, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )。CacyBP/SIP在大肠癌组织中的表达与大肠癌患者的性别、年龄、组织分化程度、TNM分期之间比较均无统计学差异( $P>0.05$ )。

**结论:** CacyBP/SIP在大肠腺瘤组织、大肠癌组织中高表达, 可能参与了大肠癌的发生发展。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** CacyBP/SIP; 大肠癌; 免疫组织化学; 蛋白质免疫印迹

**核心提示:** 钙周期素结合蛋白CacyBP/SIP[calcyclin(S100A6)-binding-protein, CacyBP, Siah-1 interacting protein, SIP]是泛素化降解通路中的一员, 在G<sub>1</sub>/S期转换中具有重要作用。本文研究发现: 与正常大肠、大肠增生性息肉中的表达相比, CacyBP/SIP在大肠腺瘤、大肠癌中的表达明显升高, 提示其可能参与大肠癌的发生发展。

翟惠虹, 冯珊珊, 仇长青, 武婧, 王安萍. CacyBP/SIP在不同大肠组织中的表达及临床意义. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1328-1333 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1328.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1328>

## 0 引言

钙周期素结合蛋白CacyBP[calcyclin (S100A6)-binding-protein, CacyBP]是1998年在小鼠艾氏腹水瘤中发现的、以Ca<sup>2+</sup>浓度依赖的方式结合S100A6蛋白<sup>[1]</sup>。2001年, 从人cDNA文库中钓到一个可以和人Siah-1相互作用的蛋白(Siah-1

interacting protein, SIP), 经序列比对发现, 人SIP和鼠CacyBP基因93%相同, 认为SIP即为CacyBP, 从此命名为CacyBP/SIP<sup>[2]</sup>。

研究发现, CacyBP/SIP可以与S100蛋白家族结合, 如S100 A6蛋白<sup>[3]</sup>; 可以与细胞骨架蛋白结合, 如tubulin、actin、tropomyosin(ERK1/2激酶)、ERK1/2<sup>[4-6]</sup>。目前关于CacyBP/SIP的功能发现: CacyBP/SIP可以参与细胞的泛素化调控<sup>[7]</sup>、神经细胞和心肌细胞的分化<sup>[4,8]</sup>、调控凋亡<sup>[9]</sup>等。另外还发现, CacyBP/SIP参与了胃癌<sup>[10]</sup>、肾癌<sup>[11]</sup>、胰腺癌<sup>[12]</sup>、乳腺癌<sup>[13-15]</sup>等肿瘤的发生发展。但是CacyBP/SIP在大肠癌中的病理作用仍不清楚。

本研究小组前期通过自制的CacyBP/SIP单克隆抗体(mAb)<sup>[16]</sup>对其在正常组织及肿瘤组织中的表达进行了研究, 发现: CacyBP/SIP在正常大肠黏膜组织中不表达, 而在结肠癌中高表达<sup>[17]</sup>。进一步的研究发现, CacyBP/SIP在结肠癌细胞中具有依赖Ca<sup>2+</sup>浓度的核转位现象<sup>[18]</sup>。因此认为CacyBP/SIP可能参与了大肠癌的发生发展过程, 但需进一步验证。

为此, 本研究对CacyBP/SIP在大肠组织、大肠息肉、大肠腺瘤以及大肠癌中的表达进行检测, 并分析其表达与大肠癌临床病理资料之间的关系, 探讨其在大肠癌发生发展中的作用, 为大肠癌分子诊断和治疗提供实验依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2006-06/2008-02在宁夏医科大学总医院手术切除的50例大肠癌石蜡标本, 结肠镜及病理诊断的26例腺瘤组织、17例增生性息肉石蜡标本、10例大肠正常组织石蜡标本。大肠癌患者50例, 男29例, 女21例。用于Western blot检测的3例手术切除标本, 均经病理诊断为大肠癌。抗CacyBP/SIP单克隆抗体为实验室冻存<sup>[13]</sup>; SP超敏免疫组织化学试剂盒、DAB显色试剂盒(北京中山公司); HRP及酶标二抗(DAKO公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色:** 取大肠癌组织、腺瘤组织、增生性息肉组织及正常组织石蜡标本, 连续3 μm切片, 采用免疫组织化学SP法检测CacyBP/SIP的表达情况, 具体操作参照SP试剂盒说明进行, PBS代替一抗作阴性对照, 以已知CacyBP/SIP阳性组织切片做阳性对照。

**1.2.2 免疫组织化学结果判定:** 由两位病理医师采用双盲法独立评估。随机于高倍镜下取10个

### ■ 研发前沿

CacyBP/SIP在正常大肠组织、大肠增生性息肉中低表达, 在大肠腺瘤及大肠癌中高表达, 表明其参与了大肠癌的发生过程, 可能是大肠癌早期发生的分子之一, 可以作为早期诊断早期治疗的靶标之一。

## ■ 相关报道

CacyBP/SIP在胃癌细胞、肾癌细胞中低表达, 增强其表达则抑制肾癌细胞生长; 在胰腺癌组织中高表达, 且与胰腺癌的肿瘤分期、转移呈正相关; 在乳腺癌的研究中目前结果不一, 有研究表明CacyBP/SIP在乳腺癌中的表达低于正常组织, 且与肿瘤的分化程度呈负相关; 但另有研究表明, CacyBP/SIP在乳腺癌组织中高表达, 且与预后呈正相关; 最新的研究表明: 在应用DMBA制备的乳腺癌鼠模型中发现, 随着乳腺癌的进展, CacyBP/SIP表达逐渐升高。

表 1 CacyBP/SIP在大肠不同组织中的表达

大肠不同组织	n	染色结果阳性数	阳性率(%)	P值
正常大肠黏膜	10	0	0	
增生性息肉	17	3	17.7	>0.05
大肠腺瘤	26	7	26.9	<0.05
大肠癌	50	26	52.0	<0.05

不同视野, 各计数100个细胞, 同时对染色强度及阳性细胞所占百分比进行评分。无色为0分, 淡黄色为1分, 棕黄色为2分, 棕褐色为3分; 小于总数的5%为0分, 5%-25%为1分, 26%-50%为2分, >50%为3分; 染色强度得分与阳性细胞数得分相乘, 0分为阴性(-), 1-3分为弱阳性(+), 4-5分为中度阳性(++), ≥6分为强阳性(+++). 胞浆、胞核染色均计为阳性细胞。

1.2.3 Western blot检测: 参照Santa Cruz公司提供的方法, 用RIPA组织裂解液裂解大肠癌及癌旁组织, 提取总蛋白, 按照蛋白定量试剂盒说明测定蛋白浓度, 取相同的蛋白上样量行SDS-PAGE, 电转移至NC膜, 封闭后, 加入一抗(抗hCacyBP/SIP单抗, 1:100)及用HRP标记的山羊抗小鼠IgG(1:2000), 按常规方法进行ECL底物化学发光, 曝光, 显影, 以 $\beta$ -actin为内参。化学发光试剂检测蛋白条带, 测定各条带积分吸光度(A)值, 采用Image ProPlus图像分析系统对蛋白条带的相对深度进行分析。

**统计学处理** 采用SPSS18.0统计分析软件包进行统计分析, 采用 $\chi^2$ 检验,  $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 CacyBP/SIP在不同大肠组织中的表达 免疫组织化学结果: CacyBP/SIP在大肠癌组织、大肠腺瘤组织、大肠增生性息肉组织中的肠上皮细胞中均存在一定程度的表达, 在大肠正常组织中不表达, 主要分布于肠上皮细胞的细胞浆和细胞核, 呈棕黄色颗粒或线网状分布(图1)。CacyBP/SIP在大肠正常组织中无表达(0/10); 大肠增生性息肉组织中表达率为17.7%(3/17); 大肠腺瘤组织的表达率为26.9%(7/26); 在大肠癌组织中的表达最高为52.0%(26/50)。CacyBP/SIP在大肠增生性息肉中的表达与正常大肠组织相比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 而CacyBP/SIP在大肠腺瘤组织、大肠癌组织中的表达率与正常大肠组织相比, 差异均有统计学意义(均 $P<0.05$ )(表

表 2 CacyBP/SIP表达与大肠癌临床病理参数的关系 n(%)

临床及病理学特征	n	阳性数	阳性率(%)	P值
性别				>0.05
男	29	17	58.6	
女	21	9	42.9	
年龄(岁)				>0.05
<50	18	11	61.1	
≥50	32	15	46.9	
分化程度				>0.05
高分化	19	11	57.9	
中分化	17	12	70.6	
低分化	14	9	64.3	
TNM分期				>0.05
I + II	23	15	65.2	
III + IV	27	11	40.7	

1). 与正常大肠组织、大肠增生性息肉及大肠腺瘤组织相比, CacyBP/SIP在大肠癌组织中的表达显著升高( $P<0.05$ )(表1, 图1), 且CacyBP/SIP在肠上皮细胞的细胞核中表达(图1P), 提示CacyBP/SIP参与了大肠从正常结肠黏膜-息肉-腺瘤-癌的发生发展过程。

2.2 CacyBP/SIP在大肠癌旁组织和大肠癌中的表达 3例大肠癌组织及相应癌旁组织中CacyBP/SIP的蛋白表达情况, 发现: CacyBP/SIP在大肠癌组织中均表达, 而在相应癌旁组织中均表达下调(图2A), 且差异均有统计学意义( $P<0.05$ )(图2B)。进一步从蛋白水平上提示CacyBP/SIP参与了大肠癌的发生。

2.3 CacyBP/SIP表达与大肠癌临床病理参数的关系 50例大肠癌的临床病理数据分析表明, CacyBP/SIP在大肠癌中的阳性表达与患者的性别、年龄、组织分化程度和TNM分期均无关, 差异均无统计学意义( $P>0.05$ ), (表2)。

## 3 讨论

本研究小组前期发现: CacyBP/SIP在多种正常组织和肿瘤组织中表达<sup>[17]</sup>。现有研究提示, CacyBP/SIP在胃癌细胞中低表达, 通过下调 $\beta$ -catenin的表达来抑制胃癌细胞的增殖和侵袭<sup>[10]</sup>; 在肾癌细胞中亦是低表达, 增强其表达则抑制肾癌细胞生长<sup>[11]</sup>; 在胰腺癌组织中高表达, 且与胰腺癌的肿瘤分期、转移呈正相关<sup>[12]</sup>; 在乳腺癌的研究中目前结果不一, 有研究表明CacyBP/SIP在乳腺癌中的表达低于癌组织, 且与肿瘤的分化程度呈负相关, 在乳腺癌细胞中降低其表达, 则可增强乳腺癌细胞的增殖及侵袭<sup>[13]</sup>; 但另有研



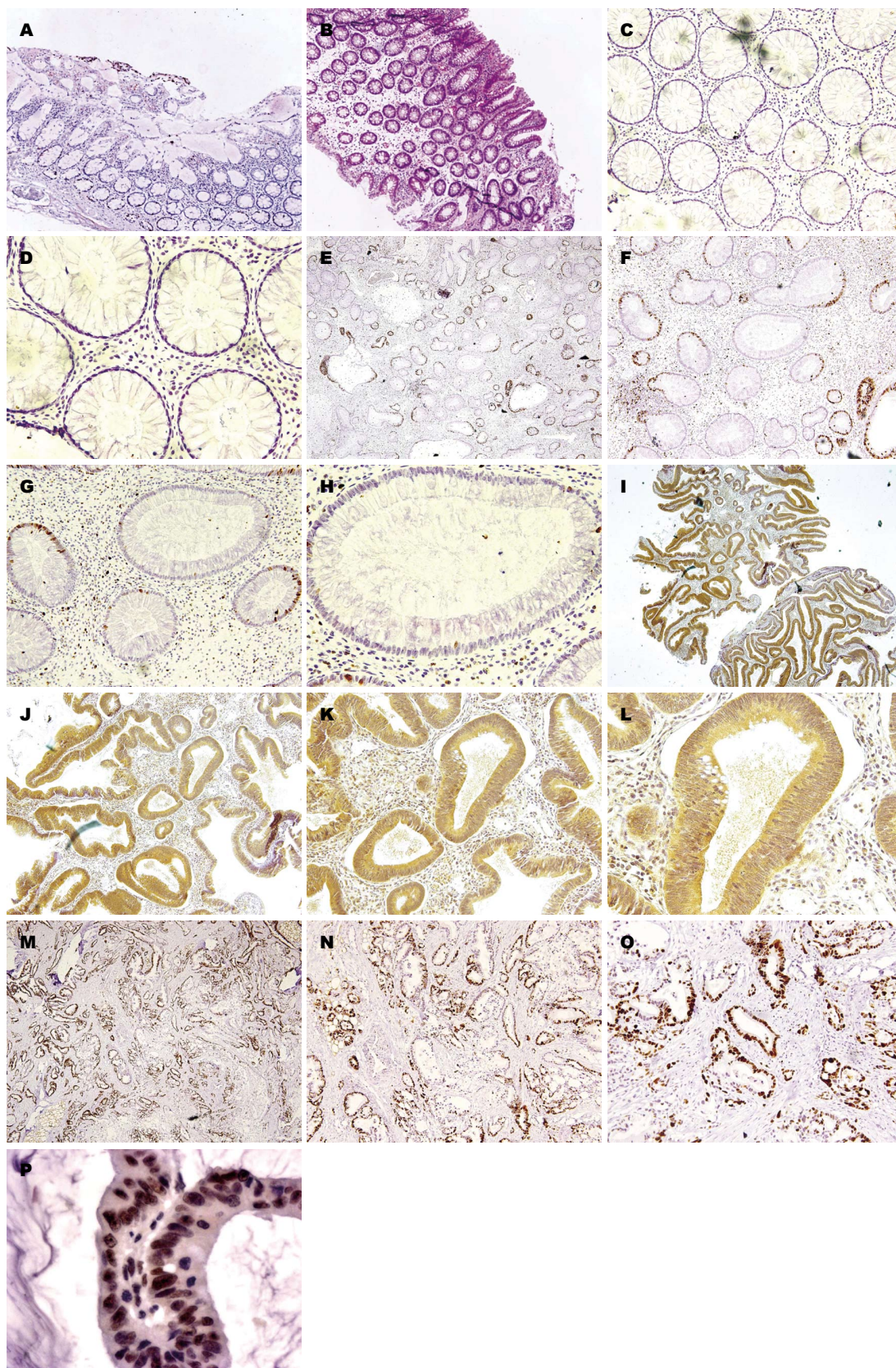


图 1 CacyBP/SIP 在不同大肠组织中的表达. A: 正常大肠黏膜CacyBP表达阴性(SP × 40); B: 正常大肠黏膜CacyBP表达阴性(HE染色); C: 正常大肠黏膜CacyBP表达阴性(SP × 100); D: 正常大肠黏膜CacyBP表达阴性(SP × 200); E: 大肠增生性息肉CacyBP表达阴性(SP × 40); F: 大肠增生性息肉CacyBP表达阴性(SP × 100); G: 大肠增生性息肉CacyBP表达阴性(SP × 200); H: 大肠增生性息肉CacyBP表达阴性(SP × 400); I: 大肠腺瘤CacyBP表达阳性(SP × 40); J: 大肠腺瘤CacyBP表达阳性(SP × 100); K: 大肠腺瘤CacyBP表达阳性(SP × 200); L: 大肠腺瘤CacyBP表达阳性(SP × 400); M: 大肠癌CacyBP表达阳性(SP × 40); N: 大肠癌CacyBP表达阳性(SP × 100); O: 大肠癌CacyBP表达阳性(SP × 200); P: 大肠癌CacyBP表达阳性(SP × 400).

#### ■创新盘点

本文应用不同的大肠组织, 对CacyBP/SIP在正常大肠黏膜、增生性息肉、大肠腺瘤及大肠癌中的表达进行深入研究, 为明确CacyBP/SIP在大肠癌中的作用提供了依据.



## ■应用要点

本研究发现CacyBP/SIP在正常结肠黏膜-息肉-腺瘤-癌的演变过程中,表达逐渐升高,且发现其在大肠癌组织细胞核染色,表明其参与大肠癌的发生过程,且具有核转位现象,可以作为早期诊断的分子。

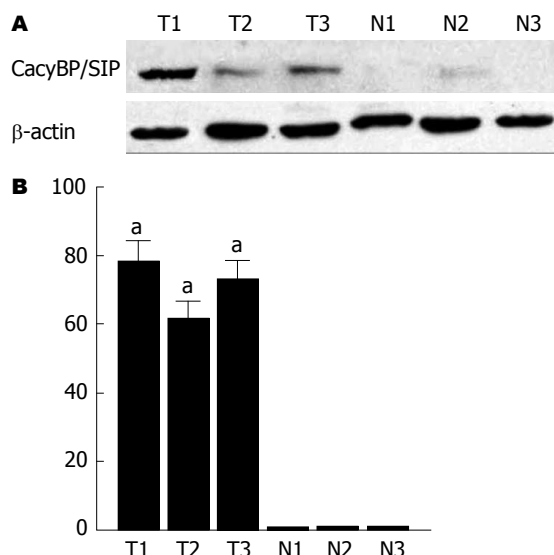


图2 CacyBP/SIP在大肠癌及相应癌旁组织中的蛋白表达。A: 免疫印迹检测大肠癌及相应癌旁组织CacyBP的蛋白表达。T: 大肠癌组织; N: 相应癌旁组织; CacyBP/SIP: 钙周期素结合蛋白/Siah结合蛋白;  $\beta$ -actin: 肌动蛋白 $\beta$ ; B: 免疫印迹条带相对吸光度值的比较。\* $P < 0.05$  vs 大肠癌癌旁组织组。

究表明, CacyBP/SIP在乳腺癌组织中高表达, 且与预后呈正相关<sup>[14]</sup>; 最新的研究表明: 在应用二甲基苯并(α)蒽DMBA[dimethylbenz(α)anthracene]制备的乳腺癌鼠模型中发现, 随着乳腺癌的进展, CacyBP/SIP表达逐渐升高<sup>[15]</sup>。本研究发现: CacyBP/SIP在正常大肠黏膜中不表达, 增生性息肉和腺瘤组织中表达逐渐增高, 大肠癌组织中的蛋白高表达, 在其相应的癌旁组织中不表达。结果提示, CacyBP/SIP参与了大肠癌的发生发展过程。CacyBP/SIP在不同的肿瘤中发挥的作用不同, 亦说明其作用的多样性。但是, 其在大肠癌组织的高表达, 为后续结肠癌细胞中的研究奠定了基础。

本研究结果亦发现: CacyBP/SIP在大肠癌组织中的高表达与肿瘤的分化程度、TNM分期无关。但CacyBP/SIP在胰腺癌组织中高表达, 且与肿瘤低分化, 高TNM分级有关<sup>[14]</sup>。CacyBP/SIP在乳腺癌组织中低表达, 与肿瘤低分化、TNM分级增高, 淋巴转移及生存率降低有关<sup>[13]</sup>。因此, CacyBP/SIP在不同肿瘤组织中所发挥的作用不同, 可能与其肿瘤类别有关; 在大肠癌中, CacyBP/SIP可能只是参与了大肠癌的发生发展, 并不是关键分子。

免疫组织化学结果提示, CacyBP/SIP在大肠癌组织的细胞核中表达。分析CacyBP/SIP的基因序列发现, CacyBP/SIP包含非经典的核定位

序列信号(nuclear localization signal, NLS, amino acids: 144-160)<sup>[19,20]</sup>。本课题组前期研究证明CacyBP/SIP在结肠癌细胞中表达, 胃泌素可诱导CacyBP/SIP发生核转位, 具有依赖 $Ca^{2+}$ 浓度的核转位现象<sup>[18]</sup>。另外, 在胃癌<sup>[12]</sup>和神经细胞瘤NB-2a细胞系<sup>[20]</sup>中也发现CacyBP/SIP可根据不同的 $Ca^{2+}$ 浓度出现由胞浆到胞核的转位现象。细胞核是细胞增殖、分化、代谢的调控中枢, 蛋白转位至细胞核且发生磷酸化对于传递细胞外信号, 调控下游基因表达具有重要意义。在大肠癌的组织学和细胞学水平均证实CacyBP/SIP主要存在于细胞浆, 某些时候可以转位至细胞核。由此提示, CacyBP/SIP可能作为信号分子, 可能通过入核来参与大肠癌的发生发展。

CacyBP/SIP广泛存在于哺乳动物的组织和细胞中, 他可以和S100A6蛋白结合。根据目前研究结果<sup>[21]</sup>表明: CacyBP/SIP可以与S100A6及S100蛋白家族的其他成员, Siah-1、Skp 1、tubulin、actin、tropomyosin、ERK1/2结合。CacyBP/SIP与Siah-1、Skp 1结合在 $\beta$ -catenin泛素化降解过程中发挥作用, 进而引起细胞增殖、肿瘤形成。CacyBP/SIP与tubulin、actin、tropomyosin、ERK1/2结合在细胞骨架重建、细胞分化、转录活性调控过程中发挥作用。因此, 从CacyBP/SIP的结构和功能上分析, CacyBP/SIP是通过结合不同的蛋白而在许多正常组织和病理组织中发挥不同的细胞学功能。那么, CacyBP/SIP引起大肠癌发生发展的机制为何, 他在信号通路中的作用如何, 这是我们下一步的研究方向。

#### 4 参考文献

- Filipek A, Kuźnicki J. Molecular cloning and expression of a mouse brain cDNA encoding a novel protein target of calcyclin. *J Neurochem* 1998; 70: 1793-1798 [PMID: 9572262 DOI: 10.1046/j.1471-4159.1998.70051793.x]
- Matsuzawa SI, Reed JC. Siah-1, SIP, and Ebi collaborate in a novel pathway for beta-catenin degradation linked to p53 responses. *Mol Cell* 2001; 7: 915-926 [PMID: 11389839 DOI: 10.1016/S1097-2765(01)00242-8]
- Filipek A, Jastrzebska B, Nowotny M, Kuźnicki J. CacyBP/SIP, a calcyclin and Siah-1-interacting protein, binds EF-hand proteins of the S100 family. *J Biol Chem* 2002; 277: 28848-28852 [PMID: 12042313 DOI: 10.1074/jbc.M203602200]
- Schneider G, Nieznanski K, Kilanczyk E, Bieganski P, Kuźnicki J, Filipek A. CacyBP/SIP interacts with tubulin in neuroblastoma NB2a cells and induces formation of globular tubulin assemblies. *Biochim Biophys Acta* 2007; 1773: 1628-1636 [PMID: 17916393 DOI: 10.1016/j.bbamer.2007.07.013]

- 5 Jurewicz E, Ostrowska Z, Jozwiak J, Redowicz MJ, Lesniak W, Moraczewska J, Filipek A. CacyBP/SIP as a novel modulator of the thin filament. *Biochim Biophys Acta* 2013; 1833: 761-766 [PMID: 23266554 DOI: 10.1016/j.bbamcr.2012.12.010]
- 6 Kilanczyk E, Filipek S, Jastrzebska B, Filipek A. CacyBP/SIP binds ERK1/2 and affects transcriptional activity of Elk-1. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 380: 54-59 [PMID: 19166809 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.01.026]
- 7 Wasik U, Filipek A. The CacyBP/SIP protein is sumoylated in neuroblastoma NB2a cells. *Neurochem Res* 2013; 38: 2427-2432 [PMID: 24078263 DOI: 10.1007/s11064-013-1155-4]
- 8 Au KW, Kou CY, Woo AY, Chim SS, Fung KP, Cheng CH, Waye MM, Tsui SK. Calcyclin binding protein promotes DNA synthesis and differentiation in rat neonatal cardiomyocytes. *J Cell Biochem* 2006; 98: 555-566 [PMID: 16440310 DOI: 10.1002/jcb.20710]
- 9 Lou JR, Zhang XX, Zheng J, Ding WQ. Transient metals enhance cytotoxicity of curcumin: potential involvement of the NF-kappaB and mTOR signaling pathways. *Anticancer Res* 2010; 30: 3249-3255 [PMID: 20944094]
- 10 Ning X, Sun S, Hong L, Liang J, Liu L, Han S, Liu Z, Shi Y, Li Y, Gong W, Zhang S, Chen Y, Guo X, Cheng Y, Wu K, Fan D. Calcyclin-binding protein inhibits proliferation, tumorigenicity, and invasion of gastric cancer. *Mol Cancer Res* 2007; 5: 1254-1262 [PMID: 18171983 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-06-0426]
- 11 Sun S, Ning X, Liu J, Liu L, Chen Y, Han S, Zhang Y, Liang J, Wu K, Fan D. Overexpressed CacyBP/SIP leads to the suppression of growth in renal cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 356: 864-871 [PMID: 17400182 DOI: 10.1016/j.bbrc.2007.03.080]
- 12 Chen X, Han G, Zhai H, Zhang F, Wang J, Li X, Huang S, Wang X, Fan D. Expression and clinical significance of CacyBP/SIP in pancreatic cancer. *Pancreatol* 2008; 8: 470-477 [PMID: 18765951 DOI: 10.1159/000151774]
- 13 Nie F, Yu XL, Wang XG, Tang YF, Wang LL, Ma L. Down-regulation of CacyBP is associated with poor prognosis and the effects on COX-2 expression in breast cancer. *Int J Oncol* 2010; 37: 1261-1269 [PMID: 20878073]
- 14 Wang N, Ma Q, Wang Y, Ma G, Zhai H. CacyBP/SIP expression is involved in the clinical progression of breast cancer. *World J Surg* 2010; 34: 2545-2552 [PMID: 20585948 DOI: 10.1007/s00268-010-0690-2]
- 15 Kilańczyk E, Gwoździński K, Wilczek E, Filipek A. Up-regulation of CacyBP/SIP during rat breast cancer development. *Breast Cancer* 2012 Aug 28. [Epub ahead of print] [PMID: 22926504]
- 16 Zhai H, Shi Y, Yu J, Hong L, Tang H, Wang J, Hu S, Bai F, Fan D. Establishment and characterization of calcyclin binding protein (CacyBP) monoclonal antibody. *Hybridoma (Larchmt)* 2006; 25: 91-94 [PMID: 16704310]
- 17 Zhai H, Shi Y, Jin H, Li Y, Lu Y, Chen X, Wang J, Ding L, Wang X, Fan D. Expression of calcyclin-binding protein/Siah-1 interacting protein in normal and malignant human tissues: an immunohistochemical survey. *J Histochem Cytochem* 2008; 56: 765-772 [PMID: 18443365 DOI: 10.1369/jhc.2008.950519]
- 18 翟惠虹, 陈雄, 卢媛媛, 王新, 樊代明. 结肠癌细胞中 CacyBP/SIP 的表达及核转位现象. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3953-3957
- 19 Filipek A, Jastrzebska B, Nowotny M, Kwiatkowska K, Hetman M, Surmacz L, Wyroba E, Kuznicki J. Ca<sup>2+</sup>-dependent translocation of the calcyclin-binding protein in neurons and neuroblastoma NB-2a cells. *J Biol Chem* 2002; 277: 21103-21109 [PMID: 11927578 DOI: 10.1074/jbc.M111010200]
- 20 Wu J, Tan X, Peng X, Yuan J, Qiang B. Translocation and phosphorylation of calcyclin binding protein during retinoic acid-induced neuronal differentiation of neuroblastoma SH-SY5Y cells. *J Biochem Mol Biol* 2003; 36: 354-358 [PMID: 12895292]
- 21 Schneider G, Filipek A. S100A6 binding protein and Siah-1 interacting protein (CacyBP/SIP): spotlight on properties and cellular function. *Amino Acids* 2011; 41: 773-780 [PMID: 20182755 DOI: 10.1007/s00726-010-0498-2]

#### 同行评价

CacyBP/SIP, 可以与 Siah-1, Skp 1 结合在  $\beta$ -catenin 泛素化降解过程中发挥作用, 进而引起细胞增殖、肿瘤形成。与 tubulin、actin、tropomyosin、ERK 1/2 结合在细胞骨架重建、细胞分化、转录活性调控过程中发挥作用。发现 CacyBP/SIP 在细胞核染色, 提示其具有核转位现象, 同时在大肠腺瘤及大肠癌中高表达, 提示其参与了大肠癌的发生。

编辑 郭鹏 电编 鲁亚静





# Survivin基因启动子区多态性与结肠癌易感性及临床意义的相关性

朱正明, 欧阳喜, 罗洪亮, 黄俊, 朱培谦

## ■背景资料

结肠癌是最常见的消化系恶性肿瘤之一。近年来, 随着食物结构和生活方式的改变, 我国的结肠癌发病率和死亡率呈逐年上升趋势。结肠癌的发生和发展已被证实是一个多步骤、多阶段及多基因改变参与的过程, 随着其发病机制研究的不断深入, 细胞增殖和凋亡的失衡在结直肠癌发生发展中的作用日益受到关注。

朱正明, 欧阳喜, 罗洪亮, 黄俊, 朱培谦, 南昌大学第二附属医院胃肠外科 江西省南昌市 330006

朱正明, 副教授, 主任医师, 主要从事消化系统肿瘤的诊疗、临床及基础研究。

江西省科技厅课题基金资助项目, No. 201013sb00202

作者贡献分布: 朱正明为课题负责人; 欧阳喜负责基础实验和论文的撰写; 罗洪亮、黄俊及朱培谦进行临床资料统计。

通讯作者: 朱正明, 副教授, 主任医师, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院胃肠外科。zzm8654@163.com

收稿日期: 2013-05-25 修回日期: 2013-12-28

接受日期: 2014-01-10 在线出版日期: 2014-03-28

## Survivin gene promoter polymorphisms: Clinical significance and association with susceptibility to colon cancer

Zheng-Ming Zhu, Xi Ouyang, Hong-Liang Luo, Jun Huang, Pei-Qian Zhu

Zheng-Ming Zhu, Xi Ouyang, Hong-Liang Luo, Jun Huang, Pei-Qian Zhu, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China  
Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangxi, No. 201013sb00202

Correspondence to: Zheng-Ming Zhu, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Affiliated Hospital of Nanchang University, 1 Minde Road, Nanchang 330006, Jiangxi Province, China. zzm8654@163.com

Received: 2013-05-25 Revised: 2013-12-28

Accepted: 2014-01-10 Published online: 2014-03-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the clinical significance of survivin gene promoter polymorphisms and their association with susceptibility to colon cancer.

**METHODS:** The -31G/C, -241T/C, -625G/C and -644T/C single nucleotide polymorphisms in the survivin gene promoter region were genotyped in 217 colon cancer specimens and 198 normal people specimens by PCR-RFLP.

**RESULTS:** The frequency of the -31G/C locus containing the G allele (CG + GG) in colon cancer patients (60.8%) was significantly lower

than that in the normal control group (60.8% vs 72.7%,  $P = 0.010$ , OR = 0.582, 95% CI: 0.385-0.882). The -31G/C site G variation was associated with tumor differentiation ( $P = 0.019$ ), extent of tumor invasion ( $P = 0.008$ ), and distant metastasis ( $P = 0.0008$ ). Other three survivin polymorphisms had no significant differences between the colon cancer group and normal control group, and showed no significant correlation with tumor differentiation, tumor invasion, lymph node metastasis or tumor distant metastasis.

**CONCLUSION:** The -31G/C locus carrying the G allele significantly decreases susceptibility to colon cancer, and the G variant genotype is a protective factor against colon cancer.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

**Key Words:** Colon cancer; Polymorphism; Survivin; Gene

Zhu ZM, Ouyang X, Luo HL, Huang J, Zhu PQ. Survivin gene promoter polymorphisms: Clinical significance and association with susceptibility to colon cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1334-1340 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1334.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i9.1334>

## 摘要

**目的:** 探讨生存素survivin基因启动子区单核苷酸多态性(single nucleotide polymorphism, SNP)与结肠癌遗传易感性及临床意义的相关性。

**方法:** 采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态技术(PCR-RFLP)分别检测217例结肠癌患者与198例正常对照组的survivin基因启动子区-31G/C、-241T/C、-625G/C和-644T/C位点单核苷酸多态性。

**结果:** 发现-31G/C位点含G等位基因(CG+GG)的结肠癌组频率(60.8%)较正常对照组频率(72.7%)显著降低, 具有统计学意义( $P = 0.010$ ,

## ■同行评议者

顾岩, 教授, 主任医师, 上海交通大学医学院附属上海第九人民医院普外科

OR = 0.582, 95%CI: 0.385-0.882); 同时, -31G/C位点G变异与肿瘤的分化程度( $P = 0.019$ )、肿瘤的浸润范围( $P = 0.008$ )及远处转移( $P = 0.0008$ )均相关。而*survivin*基因启动子区其他3个多态性位点各基因变异型在结肠癌组和正常对照组分布无明显差别, 在分化程度、肿瘤浸润范围、淋巴结转移、远处转移等因素上均无统计学差异。

**结论:** -31G/C位点携带G等位基因较不携带G等位基因患结肠癌的风险明显下降, 并且G变异基因型能显著降低结肠癌的恶性程度, 是结肠癌的保护因素。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** 结肠癌; 多态性; *Survivin*; 基因

**核心提示:** *Survivin*基因启动子区-31G/C位点携带G等位基因较不携带G等位基因患结肠癌的风险明显下降, 并且G变异基因型能显著降低结肠癌的恶性程度, 是结肠癌的保护因素。

朱正明, 欧阳喜, 罗洪亮, 黄俊, 朱培谦. *Survivin*基因启动子区多态性与结肠癌易感性及临床意义的相关性. 世界华人消化杂志 2014; 22(9): 1334-1340 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1334.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1334>

## 0 引言

结肠癌是胃肠道中常见的恶性肿瘤, 以41-65岁发病率高, 现已成为恶性疾病的主要死因之一。在我国, 随着人口老龄化以及环境的恶化, 结肠癌发病率可能继续保持上升趋势, 严重影响着人们的身心健康。各地资料显示, 随着人民生活水平的提高, 饮食结构的改变, 结肠癌的发病率呈逐年上升趋势。国内外学者已经普遍认识到结肠癌的发生是一个多阶段发展的过程, 涉及多个癌基因的激活和抑癌基因的失活。个体遗传因素和环境的相互作用是结肠癌发生发展的主要原因<sup>[1]</sup>。生存素(*survivin*)是凋亡抑制蛋白(*inhibition apoptosis protein*, IAP)家族的新成员, 也是这个家族中最小的成员, 由146个氨基酸组成<sup>[2]</sup>, 他广泛表达于人类的胚胎组织和恶性肿瘤组织中, 但是几乎不存在于正常的分化的细胞<sup>[3]</sup>。*survivin*基因被公认为目前所发现的最强大的凋亡抑制基因<sup>[4]</sup>, 在抑制细胞凋亡、调节细胞周期、促进细胞增殖及细胞转化等方面均发挥着重要作用, 从而影响肿瘤的发生发展<sup>[5-7]</sup>。单核苷酸多态性

(single nucleotide polymorphism, SNP)在基因组中具有高密度和遗传稳定性的特点, 是个体间遗传差异的主要来源, 也是肿瘤等多种基因疾病的发病基础。以SNP为研究目标将有助于揭示肿瘤的发病基础。我们从Genebank发现*survivin*基因有4个常见SNP位点: -31G/C、-241T/C、-625G/C和-644T/C, 我们推测这些位点的变异可能改变*survivin*基因的转录启动效率, 从而影响肿瘤的发生发展。本研究旨在探讨*survivin*基因启动子区SNP与结肠癌的发生发展的关系, 为结肠癌的早期诊断和个体化治疗提供理论依据。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2010-01/2011-10在南昌大学第二附属医院确诊为原发性结肠癌的患者外周静脉血标本217例以及正常对照组清晨外周静脉血标本198例, 各2 mL, EDTA-Na抗凝, -20 °C保存, 用于PCR检测。结肠癌组排除家族性腺瘤病和遗传性结肠癌, 正常对照组为来我院体检者, 均证实身体健康。所有结肠癌组和正常对照组均无血缘关系。收集并整理结肠癌组和正常对照组临床病理资料, 记录年龄、性别、吸烟、饮酒、家族史、肿瘤分化程度及TNM分期。结肠癌组病理分期按2003年UICC临床分期标准。本实验均得到所有对象知情同意签字, 并取得医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

**1.2.1 总DNA的提取:** 用DNA提取试剂盒(北京全式金生物技术公司)提取每份抗凝外周血的总DNA, 操作均按说明书进行。采用紫外分光光度计(珠海黑马医学仪器有限公司)测定DNA纯度并进行定量, 波长设定为260和280 nm。

**1.2.2 *survivin*基因启动子区SNP位点基因型检测:** 引物设计及合成: 采用Oligo Primer 6.0软件设计, 由Invitrogen公司合成。引物序列如下: -31G/C位点: 上游引物: 5'-GACTACAACTCCCGGCACACCCCGC-3', 下游引物: 5'-CCCAGGAGGCCGGCAGTCTCACCC-3'片段长度297 bp; -241T/C: 上游引物: 5'-TGGCACCCTGTAAAGCTCTCCTG-3', 下游引物: 5'-GGGCAACGTCGGGGCAC-3', 片段长度619 bp; -644T/C: 上游引物5'-GCTGCACTCCATCCCTCCCCGGT-3', 下游引物: 5'-GGCAGAGGGTGCAGTGAGC-3', 片段长度: 185 bp; -625G/C: 上游引物5'-GTTCATTGTCTTCATGCGC-3', 下游引物5'-GGCAGAGGGTGCAGTGAGC-3', 片段长度

## ■ 研发前沿

*survivin*基因在肿瘤组织中被激活而参与肿瘤的发生发展并影响预后, 他的表达意味着疾病复发危险性较高和对放疗耐受。虽然目前对*survivin*的研究取得一定进展, 但仍有许多问题尚未阐明, 针对*survivin*的靶向治疗试验尚处于起步阶段。

## ■相关报道

多项研究表明-31G/C多态性与CDE/CHR抑制因子结合序列改变、启动子活动改变有关,是*survivin*启动子中的一个功能性SNP位点。此SNP位点的G等位基因能够形成一个CDE元件,因而影响*survivin*转录,而C等位基因不能形成此抑制元件,所以不同的等位基因型能对*survivin*表达造成不同的影响。

表 1 结肠癌流行病学相关因素频数表  $n(\%)$ 

变量	结肠癌组	正常对照组	P值
<i>n</i>	217	198	
性别			0.350
男	139(64.1)	118(59.6)	
女	78(35.9)	80(40.4)	
年龄(岁)			0.545
<50	33(15.2)	35(17.7)	
50-70	136(62.7)	127(64.1)	
>70	48(22.1)	36(18.2)	
吸烟史			0.006
是	131(60.4)	93(47.0)	
否	86(39.6)	105(53.0)	
饮酒史			0.018
是	77(35.5)	49(24.7)	
否	140(64.5)	149(75.3)	
肿瘤家族史			0.013
是	43(19.8)	22(11.1)	
否	174(80.2)	178(89.9)	

164 bp。在PCR反应管中依次加入ddH<sub>2</sub>O 31.25 μL、10×PCR 缓冲液5 μL、25 mmol/L MgCl<sub>2</sub> 5 μL、10 mmol/L dNTPs 1 μL、上、下游引物各2.5 μL、5 U/μL Taq 酶0.25 μL、cDNA模板2.5 μL上下游引物各2.5 μL,充分混匀成50 μL PCR反应体系。94 °C变性5 min; (94 °C, 1 min; 58 °C-61 °C 30 s; 72 °C, 1 min)共35循环;最后72 °C 7 min延伸。

PCR扩增后所得产物经酶切反应后行琼脂糖凝胶电泳检测基因型。含-31G/C位点片段对应限制性内切酶为*EcoO109* I 限制性内切酶(New England Biolabs, USA),酶切反应结果判断标准为GG型: 163、134 bp, CC型: 297 bp, GC型: 163、134、297 bp; 含-241T/C位点片段对应限制性内切酶为*Hae* II 限制性内切酶(New England Biolabs, USA),酶切反应结果判断标准为CC型: 360、259 bp, TT型: 619 bp, TC型: 360、259、619 bp; 含-625G/C位点片段对应限制性内切酶为*BstU* I 限制性内切酶(New England Biolabs, USA),酶切反应结果判断标准为GG型: 145、19 bp, CC型: 164 bp, GC型: 145、19、164 bp; 含-644T/C位点片段对应限制性内切酶为*BstU* I 限制性内切酶(New England Biolabs, USA),酶切反应结果判断标准为CC型: 165、20 bp, TT型: 185 bp, TC型: 165、20、185 bp。

**统计学处理** 应用SPSS17.0软件进行统计分析,以优势比(odds ratio, OR)及其95%可信区间(confidence interval, CI)表示相对风险度。SNP

位点基因型进行哈迪-温伯格平衡(hardy-weinberg equilibrium, HWE)检验和连锁平衡分析。以 $\chi^2$ 检验比较结肠癌组和正常对照组之间各基因型分布的差异。采用 $\chi^2$ 检验和Fisher确切概率法统计分析各基因型与肿瘤分期、分化程度、淋巴结转移等临床病理因素的关系。所有的统计检验均为双侧概率检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 结肠癌流行病学相关因素的分析** 本实验217例结肠癌组和198例正常对照组一般资料如表1。结肠癌组与正常对照组在年龄、性别因素上比较无统计学差异( $P > 0.05$ )。与正常对照组相比,结肠癌组在吸烟史、饮酒史、家族史及肿瘤家族史等暴露因素上有明显差异( $P = 0.006$ ,  $P = 0.018$ ,  $P = 0.013$ )。

**2.2 *Survivin*基因启动子区SNP分型** 所提取的各样品的DNA经紫外分光光度计检测,  $A_{260/280}$ 为1.8-2.0,提示所提取DNA纯度较纯。含-31G/C位点扩增后片段为297 bp, G变异型能被*EcoO109*I 限制性内切酶酶切,故GG型产生两个片段(163、134 bp), CC型只产生一个片段(297 bp), GC型产生3个片段(163、134、297 bp)。与此类似,含-241T/C位点扩增后片段为619 bp, C变异型能被*Hae* II 限制性内切酶酶切,故CC型产生两个片段(360、259 bp), TT型只产生一个片段(619 bp), TC型产生3个片段(360、259、619 bp)。含-625G/C位点扩增后片段为164 bp, G变异型能被*BstU* I 限制性内切酶酶切,故GG型产生两个片段(145、19 bp), CC型只产生一个片段(164 bp), GC型产生3个片段(145、19、164 bp)。含-644T/C位点扩增后片段为185 bp, C变异型能被*Hae* II 限制性内切酶酶切,故CC型产生两个片段(165、20 bp), TT型只产生一个片段(185 bp), TC型产生3个片段(165、20、185 bp)。经2%琼脂糖凝胶电泳后, -31G/C、-241T/C、-625G/C和-644T/C 4个位点酶切结果与预期相符(图1)。

**2.3 *Survivin*基因启动子区SNP与结肠癌易感性的相关性分析** *Survivin*基因启动子区-31G/C、-241T/C、-625G/C和-644T/C位点基因型在结肠癌组和正常对照组的分布频率如表2示。对比结肠癌组和正常对照组之间各基因型分布的差异,发现-31G/C位点含G等位基因(CG+GG)结肠癌组频率(60.8%)较正常对照组频率(72.7%)显著降低,具有统计学意义( $P = 0.010$ , OR = 0.582,



表 2 *survivin*基因启动子区SNP等位基因频数分布以及与结肠癌易感性分析  $n(\%)$

基因型	结肠癌组	正常对照组	P值	OR (95%CI)
<i>n</i>	217	120		
-31G/C				
CC	85(39.2)	54(27.3)	—	1.000(ref.)
CG	53(24.4)	56(28.3)	0.049	0.601(0.362–0.999)
GG	79(36.4)	88(44.4)	0.016	0.570(0.361–0.900)
CG+GG	132(60.8)	144(72.7)	0.010	0.582(0.385–0.882)
-241T/C				
TT	208(95.9)	194(98.0)	—	1.000(ref.)
TC	7(3.2)	4(2.0)	0.436	1.632(0.470–5.663)
CC	2(0.9)	0(0)	0.174	1.933(1.759–2.124)
TC+CC	9(4.1)	4(2.0)	0.214	2.099(0.636–6.925)
-625G/C				
CC	23(10.6)	16(8.1)	—	1.000(ref.)
CG	77(35.5)	70(35.3)	0.463	0.765(0.374–1.565)
GG	117(53.9)	112(56.6)	0.362	0.727(0.365–1.447)
CG+GG	194(89.4)	182(91.9)	0.380	0.742(0.380–1.448)
-644T/C				
TT	131(60.4)	129(65.2)	—	1.000(ref.)
TC	59(27.1)	49(24.7)	0.458	1.186(0.756–1.860)
CC	27(12.4)	20(10.1)	0.373	1.329(0.867–1.500)
TC+CC	86(39.6)	69(34.8)	0.314	1.227(0.823–1.830)

# ■创新盘点

本文检测了*survivin*基因启动子区4个常见SNP位点在结肠癌患者中的基因型分布情况及其与临床病理特征之间的关系,进而对*survivin*基因启动子区多态性与结肠癌易感性及临床意义的相关性进行分析。

95%CI: 0.385-0.882), 提示-31G/C位点携带G等位基因较不携带G等位基因患结肠癌的风险明显下降。而另外3个多态性位点各基因变异型之间在结肠癌组和正常对照组分布无明显差别。

**2.4 *survivin*基因启动子区SNP等位基因与结肠癌肿瘤病理的相关性** 由于-241T/C位点C变异型在结肠癌组和对照组样本分布均低于1%, 我们对于此位点不进行分析。其他3个位点SNP不同基因型与结肠癌病理分期的关系如表3。-31G/C位点G变异与肿瘤的分化程度( $P = 0.019$ )、肿瘤的浸润范围( $P = 0.008$ )、远处转移( $P = 0.0008$ )均相关, G变异基因型能显著降低结肠癌的恶性程度, G变异是结肠癌的保护因素。-625G/C与-644T/C位点不同基因型在肿瘤分化程度、肿瘤范围、淋巴结转移、远处转移等因素上均无统计学差异。

## 3 讨论

*survivin*基因被公认为目前所发现的最强大的凋亡抑制基因, 一方面通过与细胞周期调节因子CDK4结合, 使CDK2/cyclinE活化和Rb磷酸化, 促进细胞由G<sub>1</sub>期进入S期, 促进细胞分化, 并且能躲避G<sub>2</sub>/M期细胞凋亡监视, 抵抗自身介导

的细胞凋亡, 促进细胞的异常增殖<sup>[8,9]</sup>; 另一方面*survivin*蛋白通过直接抑制细胞凋亡信号通路下游的终末效应因子Caspase3、Caspase7的活性以及干扰内源性凋亡信号通路上游Caspase9的活化来阻断各种刺激诱导的细胞凋亡过程, 从而实现其抗凋亡作用<sup>[10]</sup>。*survivin*基因作为一种凋亡抑制基因, 已有研究证实他的表达产物能促进癌细胞的有丝分裂的进展和G<sub>1</sub>/S期转换<sup>[11]</sup>, 从而在肿瘤的发生、发展中起重要作用。以往的研究证实*survivin*基因几乎与所有人类常见的恶性肿瘤, 如肺癌、肝癌、胰腺癌、前列腺癌和乳腺癌的发生发展有关, 并且*survivin*基因在这些癌组织内都是过度表达<sup>[12]</sup>。

SNP是指在基因水平上由单个核苷酸的变异引起的DNA序列多样性。这种序列的多样性对于遗传表型起到了一定的累加作用<sup>[13]</sup>。*survivin*基因启动子区有4个常见SNP位点-31G/C、-241T/C、-625G/C和-644T/C, 我们推测这些位点的变异可能改变*survivin*基因转录启动效率, 改变*survivin*蛋白表达情况从而影响肿瘤的发生发展。鉴于此, 本实验研究*survivin*基因启动子区4个SNP位点与结肠癌遗传易感性及临床意义的相关性。本研究结果显示, 发现-31G/C位

## ■应用要点

本文提示*survivin*基因启动子区-31G/C位点G变异通过降低*survivin*蛋白的表达来降低结肠癌的易感性,并抑制结肠癌,降低结肠癌的恶性程度。

表 3 *survivin*基因启动子区SNP与结肠癌肿瘤病理相关性分析

	-31G/C			-625G/C			-644T/C		
	CC	CG+GG	P值	CC	CG+GG	P值	TT	TC+CC	P值
分化程度			0.019			0.725			0.443
高分化	15	39		6	48		29	25	
中分化	29	53		7	75		53	29	
低分化	41	40		10	71		49	32	
肿瘤范围			0.008			0.062			0.314
T1	3	11		3	11		10	4	
T2	8	19		6	21		15	12	
T3	31	67		9	87		63	33	
T4	43	36		5	75		43	37	
淋巴结转移			0.890			0.962			0.078
N0	20	36		7	49		36	20	
N1	35	55		9	81		60	30	
N2	22	29		5	46		23	28	
N3	8	12		2	18		12	8	
远处转移			0.008			0.100			0.844
M0	77	101		16	162		108	70	
M1	8	31		7	32		23	16	

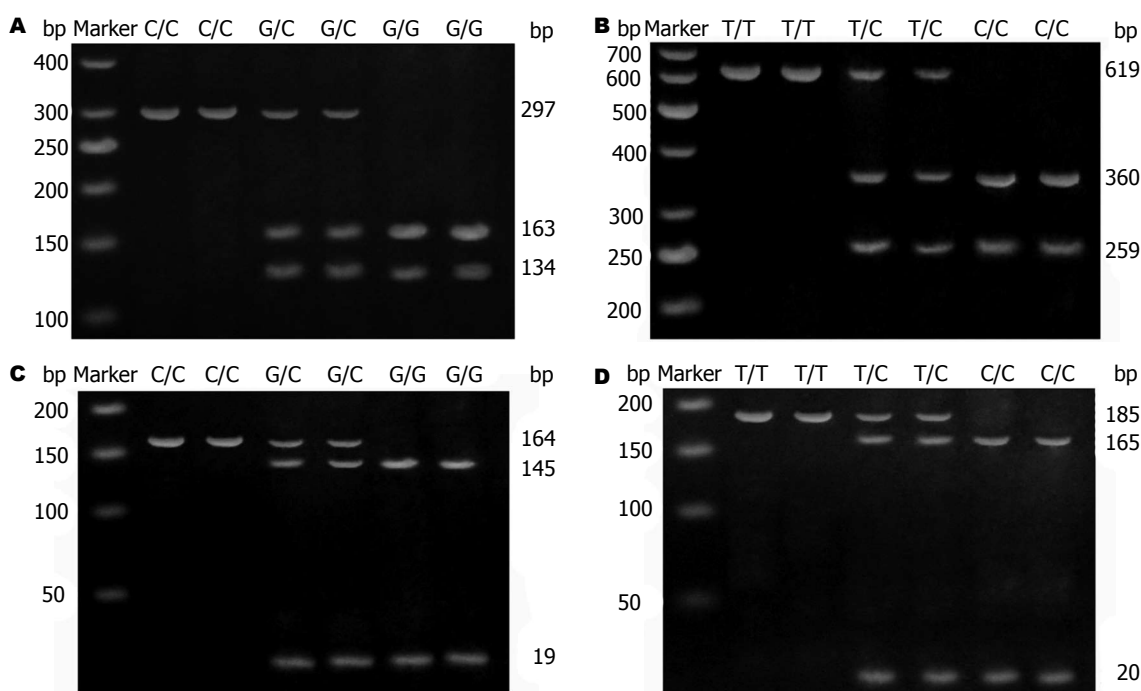


图 1 *survivin*基因启动子区4处SNP酶切分型结果. A: -31G/C位点GG型: 163、134 bp, CC型: 297 bp, GC型: 163、134、297 bp; B: -625G/C位点CC型: 360、259 bp, TT型: 619 bp, TC型: 360、259、619 bp; C: -644T/C位点GG型: 145、19 bp, CC型: 164 bp, GC型: 145 bp、19、164 bp; D: -241T/C位点CC型: 165、20 bp, TT型: 185 bp, TC型: 165、20、185 bp.

点G变异能明显降低结肠癌的患病风险, G变异是结肠癌发病的一个保护因素. 这与Qin等<sup>[14]</sup>研究的*survivin*基因-31G>C多态性与患肿瘤的风险: 29项研究的荟萃分析的结果相符, 并且这一位点的多态性在其他相关恶性肿瘤中也有相

似的研究结果<sup>[15,16]</sup>. 我们推测*survivin*基因启动子区-31G/C位点G变异, 降低*survivin*基因的转录活性使*survivin*蛋白表达量下降, 从而减少结肠癌的发生发展. *survivin*基因启动子区的细胞周期依赖性元件(cell cycle dependent element,

CDE)/细胞周期同源区(cell cycle homology region, CHR)激活后能启动G<sub>2</sub>/M期的周期依赖的*survivin*基因高表达, -31G/C位点位于CDE/CHR区。C等位基因能与上游调控元件结合而启动*survivin*基因表达, -31G/C位点G变异等位基因通过改变CDE/CHR调控元件结合位点的特异序列阻遏上游调控元件与CDE/CHR元件的结合从而降低*survivin*基因的表达<sup>[17]</sup>。这解释了本研究中正常对照组中G变异等位基因频率多于结肠癌组。这与黄俊等研究的*survivin*基因启动子区-31C/G单核苷酸多态性与中国华南地区散发性结直肠癌CRC遗传易感性报到的结果相符<sup>[18]</sup>。此外, 本研究还发现-31G/C位点G变异与肿瘤的分化程度、肿瘤的浸润范围、远处转移均相关, 与C等位基因型相比, G变异基因型能显著降低结肠癌的恶性程度。G变异通过减少*survivin*的表达, 影响后者与DNA双链断裂修复蛋白的相互作用, 进而调整DNA-PKcs的活性, 诱导DNA损伤, 来调节肿瘤的分化和转移<sup>[19]</sup>。

此外, 本研究结果显示*survivin*基因启动子区其他3个多态性位点基因变异与结肠癌的易感性无明显相关性。我们发现-241T/C、-625G/C和-644T/C 3个位点不位于非顺式作用元件或是转录因子结合位点, 故此三个多态性位点可能为无意义序列碱基, 因此可以解释这三个位点的基因变异与*survivin*基因表达无明显相关性。

总之, *survivin*基因启动子区-31G/C位点G变异通过降低*survivin*蛋白的表达来降低结肠癌的易感性, 并抑制结肠癌, 降低结肠癌的恶性程度。本课题的不足之处在于样本量偏少, 以及样本的局限性, 为此我们后续的研究将扩大样本量并建立适当的动物模型, 探索*survivin*基因激活后具体的信号传递分子机制, 为结肠癌的发生发展提供新的研究思路, 并为临床药物治疗提供重要依据。

#### 4 参考文献

- 1 杨玲, 李连弟, 陈育德, Parkin DM. 中国2000年及2005年恶性肿瘤发病死亡的估计与预测. 中国卫生统计 2005; 22: 218-221
- 2 Jarrin M, Mansergh FC, Boulton ME, Gunhaga L, Wride MA. Survivin expression is associated with lens epithelial cell proliferation and fiber cell differentiation. *Mol Vis* 2012; 18: 2758-2769 [PMID: 23213276]
- 3 Kawata N, Tsuchiya N, Horikawa Y, Inoue T, Tsuruta H, Maita S, Satoh S, Mitobe Y, Narita S, Habuchi T. Two survivin polymorphisms are cooperatively associated with bladder cancer susceptibility. *Int J Cancer* 2011; 129: 1872-1880 [PMID: 21154810]

- DOI: 10.1002/ijc.25850]
- 4 Watson AJ. An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer. *Crit Rev Oncol Hematol* 2006; 57: 107-121 [PMID: 16326109 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2005.06.005]
- 5 Johnson ME, Howerth EW. Survivin: a bifunctional inhibitor of apoptosis protein. *Vet Pathol* 2004; 41: 599-607 [PMID: 15557069 DOI: 10.1354/vp.41-6-599]
- 6 Li F, Brattain MG. Role of the Survivin gene in pathophysiology. *Am J Pathol* 2006; 169: 1-11 [PMID: 16816356 DOI: 10.2353/ajpath.2006.060121]
- 7 Fukuda S, Pelus LM. Survivin, a cancer target with an emerging role in normal adult tissues. *Mol Cancer Ther* 2006; 5: 1087-1098 [PMID: 16731740 DOI: 10.1158/1535-7163.MCT-05-0375]
- 8 Saleem M, Murtaza I, Witkowsky O, Kohl AM, Maddodi N. Lupeol triterpene, a novel diet-based microtubule targeting agent: disrupts survivin/cFLIP activation in prostate cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2009; 388: 576-582 [PMID: 19683515 DOI: 10.1016/j.bbrc.2009.08.060]
- 9 Dallaglio K, Palazzo E, Marconi A, Dumas M, Truzzi F, Lotti R, Bontè F, Pincelli C. Endogenous survivin modulates survival and proliferation in UVB-treated human keratinocytes. *Exp Dermatol* 2009; 18: 464-471 [PMID: 19320741 DOI: 10.1111/j.1600-0625.2008.00819.x]
- 10 Sah NK, Khan Z, Khan GJ, Bisen PS. Structural, functional and therapeutic biology of survivin. *Cancer Lett* 2006; 244: 164-171 [PMID: 16621243 DOI: 10.1016/j.canlet.2006.03.007]
- 11 Antonacopoulou AG, Floratou K, Bravou V, Kottorou A, Dimitrakopoulos FI, Marousi S, Stavropoulos M, Koutras AK, Scopa CD, Kalofonos HP. The survivin -31 snp in human colorectal cancer correlates with survivin splice variant expression and improved overall survival. *Cell Oncol (Dordr)* 2011; 34: 381-391 [PMID: 21538024 DOI: 10.1007/s13402-011-0038-4]
- 12 Hsieh YS, Tsai CM, Yeh CB, Yang SF, Hsieh YH, Weng CJ. Survivin T9809C, an SNP located in 3'-UTR, displays a correlation with the risk and clinicopathological development of hepatocellular carcinoma. *Ann Surg Oncol* 2012; 19 Suppl 3: S625-S633 [PMID: 22052111 DOI: 10.1245/s10434-011-2123-3]
- 13 夏荣耀, 张冉冉, 孙亚娇, 陈复辉. Survivin基因与肿瘤相关研究进展. 现代肿瘤医学 2013; 21: 0662-0665
- 14 Qin Q, Zhang C, Zhu H, Yang X, Xu L, Liu J, Lu J, Zhan L, Cheng H, Sun X. Association between survivin -31G& amp; gt; C polymorphism and cancer risk: meta-analysis of 29 studies. *J Cancer Res Clin Oncol* 2014; 140: 179-188 [PMID: 24077840 DOI: 10.1007/s00432-013-1524-z]
- 15 Upadhyay R, Khurana R, Kumar S, Ghoshal UC, Mittal B. Role of survivin gene promoter polymorphism (-31G& gt; C) in susceptibility and survival of esophageal cancer in northern India. *Ann Surg Oncol* 2011; 18: 880-887 [PMID: 20957442 DOI: 10.1245/s10434-010-1371-y]
- 16 Borges Bdo N, Burbano RR, Harada ML. Survivin -31C/G polymorphism and gastric cancer risk in a Brazilian population. *Clin Exp Med* 2011; 11: 189-193 [PMID: 21161671 DOI: 10.1007/s10238-010-0122-5]
- 17 Wagner M, Schmelz K, Dörken B, Tamm I. Epigenetic and genetic analysis of the survivin promoter in acute myeloid leukemia. *Leuk Res* 2008; 32: 1054-1060 [PMID: 18206228 DOI: 10.1016/

#### ■同行评价

本文结合临床, 对于临床工作具有一定的意义。



- j.leukres.2007.11.013]
- 18 黄俊, 汪建平, 王磊, 刘焕亮, 魏宜胜, 黄美近, 傅新晖, 陈静, 陈典克. Survivin基因启动子区-31C/G多态性与散发性结直肠癌遗传易感性的关系. 中山大学学报 2010; 31: 59-63
- 19 Capalbo G, Dittmann K, Weiss C, Reichert S, Hausmann E, Rödel C, Rödel F. Radiation-induced survivin nuclear accumulation is linked to DNA damage repair. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2010; 77: 226-234 [PMID: 20394854 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2009.12.001]

编辑 田滢 电编 鲁亚静



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》被评为中国精品科技期刊

本刊讯 2011-12-02, 中国科学技术信息研究所在北京发布2010年中国科技论文统计结果, 经过中国精品科技期刊遴选指标体系综合评价, 《世界华人消化杂志》被评为2011年度中国精品科技期刊. 中国精品科技期刊以其整体的高质量示范作用, 带动我国科技期刊学术水平的提高. 精品科技期刊的遴选周期为三年. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 原发性肝脏平滑肌肉瘤1例

刘春华, 李庆彦, 管珊, 王思奎

刘春华, 李庆彦, 管珊, 王思奎, 聊城市人民医院感染科 山东省聊城市 252000

刘春华, 主治医师, 主要从事病毒性肝炎与肝癌的研究.

作者贡献分布: 刘春华与李庆彦整理病例资料; 论文写作由刘春华完成; 由管珊与王思奎审校.

通讯作者: 王思奎, 教授, 主任医师, 252000, 山东省聊城市东昌西路67号, 聊城市人民医院感染科. wangsk1966@sina.com

电话: 0635-8272630

收稿日期: 2013-12-20 修回日期: 2014-01-18

接受日期: 2014-02-03 在线出版日期: 2014-03-28

## A case of primary leiomyosarcoma of the liver

Chun-Hua Liu, Qing-Yan Li, Shan Guan, Si-Kui Wang

Chun-Hua Liu, Qing-Yan Li, Shan Guan, Si-Kui Wang, Department of Infectious Diseases, Liaocheng People's Hospital, Liaocheng 252000, Shandong Province, China

Correspondence to: Si-Kui Wang, Professor, Chief Physician, Department of Infectious Diseases, Liaocheng People's Hospital, 67 Dongchang West Road, Liaocheng 252000, Shandong Province, China. wangsk1966@sina.com

Received: 2013-12-20 Revised: 2014-01-18

Accepted: 2014-02-03 Published online: 2014-03-28

## Abstract

A 22-year-old female patient was admitted with a hepatic space-occupying lesion found by CT examination. He had no history of liver disease. The alpha-fetoprotein (AFP) level was normal. The space-occupying lesion was further confirmed by computerized tomography and functional MRI scans. By histopathology and immunohistochemistry, a primary leiomyosarcoma of the liver was diagnosed.

© 2014 Baishideng Publishing Group Co., Limited. All rights reserved.

Key Words: Primary leiomyosarcoma; Liver

Liu CH, Li QY, Guang S, Wang SK. A case of primary leiomyosarcoma of the liver. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(9): 1341-1344 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1341.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1341>

## 摘要

患者, 女, 22岁, 因发现肝占位性病变5 d入院,

既往无肝病史, AFP正常, CT增强及MRI提示肝内占位性病变, 恶性变可能性大, B超引导下行针吸细胞学检查, 病理确诊为肝脏平滑肌肉瘤, 此病罕见.

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有.

关键词: 平滑肌肉瘤; 肝脏

**核心提示:** 肝脏平滑肌肉瘤是一种罕见恶性肿瘤. 临床表现同原发性肝癌, 既往无肝病病史, 甲胎蛋白不高. 影像学显示呈巨块型、血供丰富、有囊性化倾向. 镜下可见梭形细胞, 细胞核极向不同, 排列杂乱, 免疫组织化学示特异标志物Vimentin及actin阳性.

刘春华, 李庆彦, 管珊, 王思奎. 原发性肝脏平滑肌肉瘤1例. *世界华人消化杂志* 2014; 22(9): 1341-1344 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/1341.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i9.1341>

## 0 引言

原发性肝脏平滑肌肉瘤是一种比较罕见的恶性肿瘤, 多见于40岁, 男性, 常表现为巨大肿物, 血供丰富, 易误诊为原发性肝癌. 我院收治1例, 现将患者影像学表现、临床病理特点、免疫组织化学标记、诊断与治疗报道如下.

## 1 病例报告

患者, 女, 22岁, 因“乏力、腹胀、肝功异常10 d, 肝占位5 d”入院. 查体: 消瘦、贫血貌, 眼睑苍白, 上腹部膨隆, 肝肋下可触及, 约3 cm, 质硬, 移动性浊音阴性. 强化CT示肝右叶见截面12 cm × 10 cm肿块, 提示肝占位性病变(图1). 实验室检查: CA-199: 124.8 U/mL. 甲胎蛋白(alpha-fetoprotein, AFP)正常. 肝功示丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)202 IU/L, 谷草转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)183 IU/L, 碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, AKP)733 IU/L, γ-谷氨酰转肽酶(γ-glutamyl transpeptidase, GGT)345 IU/L, 排除甲型肝炎病毒(hapatitis A virus, HAV)、

## ■背景资料

肝脏平滑肌肉瘤在所有肝脏恶性肿瘤中极为罕见, 多认为起源于肝脏血管或胆管平滑肌. 临床诊断困难, 影像学检查无特异性, 确诊依赖免疫组织化学. 需要与原发肝癌、转移性肝癌、肝内瘤样瘤等鉴别. 总结该病诊治过程, 减少误诊发生率.

## ■同行评议者

徐迅迪, 教授, 中南大学湘雅二医院肝胆胰外科

# ■ 研发前沿

目前病理学诊断研究相对较多. 该类患者一旦发现多为晚期, 亟待有一套诊疗方法, 以便能早期诊断, 早期手术切除. 因该病罕见, 病例稀少, 影像学及治疗方面的相关研究较少, 其早期诊断及治疗方面仍未有新进展.

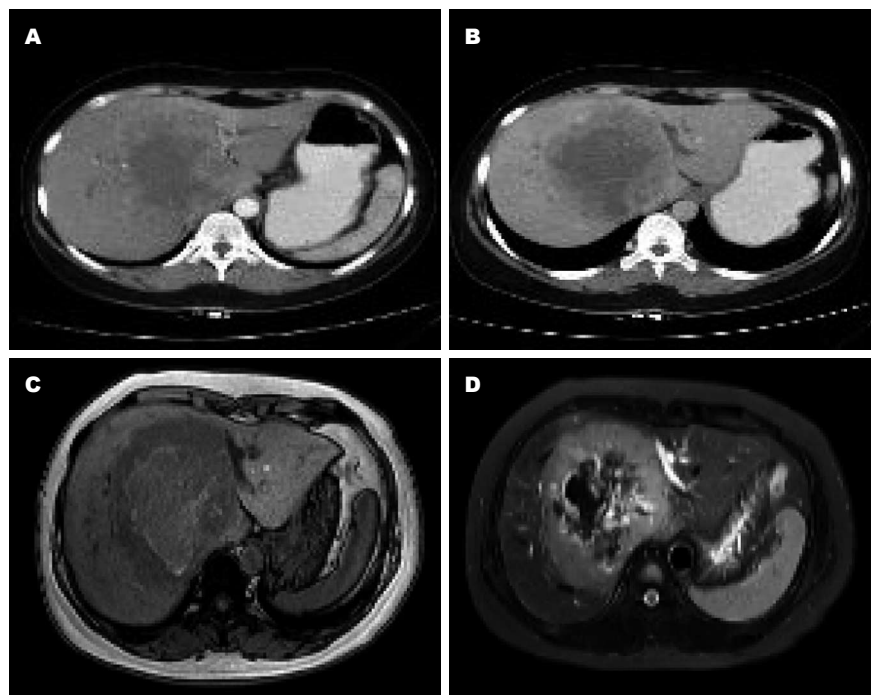


图 1 CT强化与MRI影像学表现. A:动脉期肿瘤周边血供丰富、强化明显、呈类分隔样改变, 可见供血动脉; 中央密度低呈不均匀强化, CT值34 Hu; B: 延迟期肿瘤病灶密度低于肝实质、中央低于周边; C: T1WI呈略长及短T1; D: T2WI长及短T2信号.

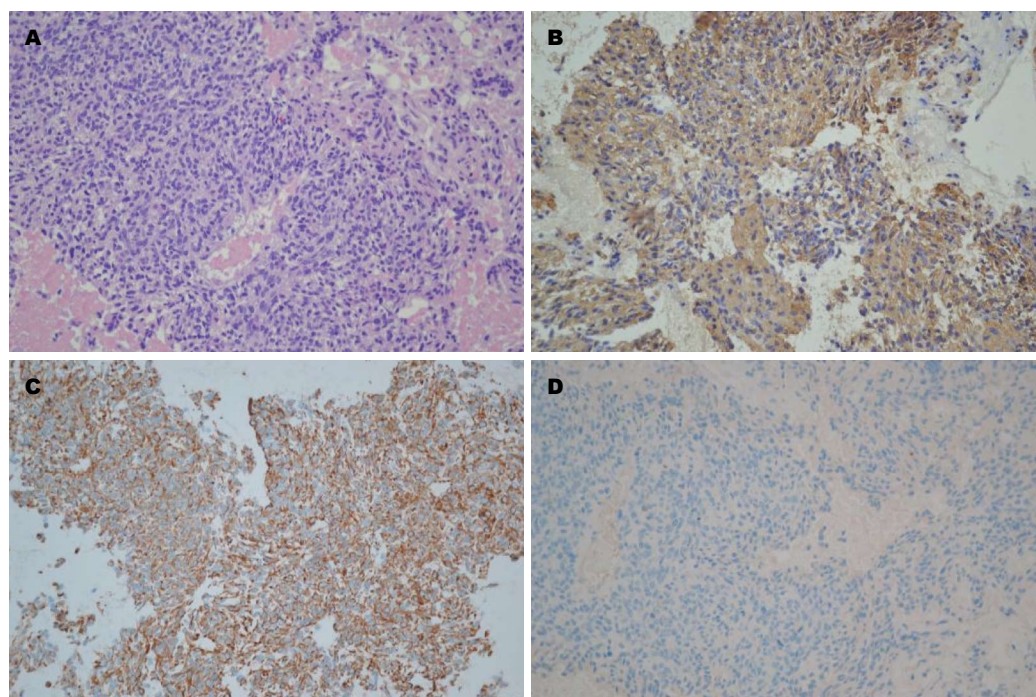


图 2 细针肝穿刺留取肝脏组织镜检及免疫组织化学( $\times 400$ ). A: HE染色, 胞核呈梭形(极向不同, 排列杂乱呈网状), 红色区域为出血; 免疫组织化学(EliVision法); B: 标志物Actin(肌动蛋白)阳性; C: 标志物Vimentin(波形蛋白)阳性; D: 标志物CK(pan)阴性.

乙型肝炎病毒(hapatitis B virus, HBV)、丙型肝炎病毒(hapatitis C virus, HCV)及戊型肝炎病毒(hapatitis E virus, HEV)感染. 以“肝占位性质待查”于2013-10-08收入我院. 入院后给予保肝、降酶治疗, 行肝脏MRI示肝右叶占位性病变, 性质待定, 恶性病变可能性大. 患者青年女性, 无饮酒及肝病病史、影像学显示肿瘤血供丰富,

AFP正常, 原发性肝癌不能解释, 为明确诊断, 行病理检查. 在B超引导下肝穿刺, 留取 $0.8\text{ cm} \times 0.6\text{ cm} \times 0.4\text{ cm}$ 暗红色血块样组织标本, 经 $40\text{ g/L}$ 甲醛溶液固定, 常规石蜡包埋 $4\text{ }\mu\text{m}$ 厚切片, HE染色, 采用EliVision<sup>TM</sup>法分别进行actin、Vimentin、CD34、CD117、S100、Desmin、DOG-1、CK等免疫组织化学染色. 光镜观察. 结果示镜



检见恶性瘤细胞, 考虑为梭形细胞性肉瘤, 免疫组织化学示actin(+)、Vimentin(+)、CD34(-)、CD117(-)、S100(-)、Desmin(-)、DOG-1(-)、CK(-)(图2)。病理诊断为平滑肌肉瘤。为明确病变原发部位, 行胸片、上消化道钡餐、肠镜及子宫B超等检查, 均未见异常, 排除肺、胃肠道及子宫原发性平滑肌瘤的可能, CK示阴性亦排除肝脏肉瘤样癌的可能, 确诊为肝脏原发性平滑肌瘤。入院后患者肝功能进行性恶化(出现阻塞性黄疸)、无手术治疗指征, 行经皮肝穿刺胆管引流术(percutaneous transhepatic biliary drainage, PTBD)症状改善后行TACE。出院1 mo, 随访患者一般情况尚可。

## 2 讨论

原发性肝脏平滑肌瘤在所有肝脏恶性肿瘤中极为罕见, 多认为起源于肝脏血管或胆管平滑肌, 易误诊为原发性肝癌。具体病因及发病机制尚不明确, 吕国庆等<sup>[1]</sup>报道其与EB病毒感染有关。文献报道多发生于中老年人, 男性多见, 常见于右半肝, 单发, 质地硬易坏死、出血、囊性变<sup>[2]</sup>。较小肿瘤临床上无任何症状, 中晚期症状及体征与原发肝癌类似, 腹胀、腹痛、发热、上腹部包块及黄疸。肝功能正常或异常, 甲胎蛋白不高, 肝炎病毒学指标阴性。

**2.1 影像学及病理学特点** 作为肝癌中一种罕见的特殊肿瘤, 除具有一般肝癌的特点又具有自身部分特征。体积大, 由于肿瘤生长迅速, 早期无临床症状, 发现时体积一般较大, 该病例直径约12 cm, 呈巨块性, 边界尚清。本例病灶CT表现较典型, 和徐爱民等<sup>[3]</sup>报道的6例平滑肌瘤表现类似。平扫病灶密度不均匀, 内见不规则片状低密度区。增强扫描病灶周边强化明显, 可见条状及团块状肿瘤供血动脉, 呈类分隔状。中央低密度区呈不均匀强化、CT值34 Hu、未完全发生坏死液化, 病理已证实低密度区大部分为肿瘤实质, 存在散在陈旧性出血。三期扫描中, 实性部分强化明显, 病灶中心区域呈不均匀强化。MRI在T2WI呈长及短T2信号, 显示肿瘤组织的恶性特征, 与病理相符。

该病的病理学方面的研究报道相对较多, 尚未有统一的标准。分析文献总结其病理学特点<sup>[4-7]</sup>: (1)镜下见梭形瘤细胞呈编织状排列, 胞核两端钝圆; (2)免疫组织化学染色VG呈黄色, Masson染色呈红色; (3)免疫组织化学标志物有Vimentin (波形蛋白)、Desmin(结蛋白)及平滑肌

肉瘤的特异性SM-action(平滑肌肌动蛋白)均阳性, 同时CK(-)排除上皮性成分。其中Desmin在良性肌源性肿瘤中强阳性表达, Vimentin在恶性肌源性肿瘤中强阳性表达, 二者呈反向关系。该病例诊断为平滑肌瘤依据: 镜下见到明确的恶性梭形细胞, 免疫组织化学Vimentin(+)、actin(+)、Desmin(-)、CK(-)。Vimentin(+)而Desmin(-)提示该病例恶性程度高。

**2.2 诊断及治疗** 原发性肝脏平滑肌瘤的诊断主要依靠临床、影像学 and 病理学, 确诊需要病理学和免疫组织化学。诊断该病亦应排除肝脏转移性平滑肌瘤及肝肉瘤样癌。本病例病理检查确诊平滑肌瘤, 已完善胸片、上消化道钡餐、肠镜、子宫B超等各项检查未见明显异常, 排除子宫、胃肠道、肺部原发的可能。免疫组织化学显示CK阴性排除肝内瘤样癌的可能。

手术切除可改善患者预后, 为目前首选治疗。李小刚等<sup>[8,9]</sup>对56例手术病例进行综合分析, 平均存活率仅为3.5年。该病存活率低, 一方面与肿瘤的大小、分化程度有关; 另一方面与手术后并发症有关。该肿瘤发现时多中晚期, 瘤体大, 手术切除范围广, 存留肝实质细胞少, 术后门静脉血流量增加、压力升高, 过高的门静脉压力可导致剩余肝脏的再灌注损伤, 甚至发展至肝衰竭<sup>[10]</sup>。平滑肌瘤对放化疗不敏感, 对不能耐受手术者, 可给予肝动脉化疗栓塞术结合中药抗癌治疗, 该治疗效果尚未有相关报道。该患者入院时肝功能异常, 肿瘤体积大, 短期内肝功能进行性恶化, 腹胀及乏力加重, 出现黄疸, 无手术治疗指征。行PTBD治疗症状改善后行TACE术。TACE术后出现发热、腹痛、恶心、呕吐, 10 d后症状缓解, 出院。现出院1 mo, 随访, 患者一般情况尚可。拟定下一步治疗方案, TACE联合肿瘤中心区放疗(陀螺刀), 缩小肿瘤体积以减轻其对胆管、血管的压迫, 缓解症状。

总之, 发现肝脏有血供丰富占位病变, AFP不高, 无肝炎病史及家族史, 影像学呈囊性化倾向, 应考虑到平滑肌瘤, 及时行病理检查以明确诊断及组织分化程度。如能早期发现可手术切除, 以延长患者存活时间。

## 3 参考文献

- 1 吕国庆. 肝平滑肌瘤一例. 中华肝胆外科. 2003; 6: 322
- 2 杨炼, 陈立波. 原发性肉瘤样癌肝细胞的临床与CT特征. 世界华人消化杂志. 2008; 16: 904 - 907
- 3 徐爱民, 程红岩, 贾雨辰, 吴孟超. 肝脏原发性平滑肌

## ■ 相关报道

徐爱民等总结了肝脏原发性平滑肌瘤的CT特点, 巨大占位, 血供丰富, 强化不均匀, 有囊性化倾向; 黄煥军等观察了6例原发性平滑肌瘤病例的病理及免疫组织化学特征, 指出平滑肌瘤确诊依赖免疫组织化学。李小刚对手术后患者进行随访, 发现手术后存活率低。

## ■同行评价

本文报道罕见病例肝脏平滑肌肉瘤, 临床资料详细, 结合国内外相关文献, 为该病诊断提供思路, 具有一定的临床参考价值。

- 肉瘤的CT表现(附6例病例分析). 中华肝胆外科杂志 2004; 3: 205-207
- 4 黄焕军, 刘瑶, 陈孝平, 林菊生. 原发性平滑肌肉瘤病理及免疫组织化学观察. 临床消化病杂志 2007; 2: 85-87
- 5 Kim DG, Park SY, Kim H, Chun YH, Moon WS, Park SH. A comprehensive karyotypic analysis on a newly established sarcomatoid hepatocellular carcinoma cell line SH-J1 by comparative genomic hybridization and chromosome painting. *Cancer Genet Cytogenet* 2002; 132: 120-124 [PMID: 11850072]
- 6 张哉根, 叶明福, 谢青, 王亚丽, 汤金梁. 肉瘤样癌的肉瘤的CT表现(附6例病例分析). 中华肝胆外科杂志 2004; 3: 205-207
- 7 马红钦, 姚若全. 肝肉瘤样癌1例并文献复习. 现代肿瘤医学 2012; 20: 765-767
- 8 李小刚, 刘青光, 姚英民. 原发性肝脏平滑肌肉瘤1例分析. 西安医科大学学报 2001; 22: 92
- 9 吴伯文, 吴孟超. 实用肝脏外科学. 北京: 人民军医出版社, 2009: 238-239
- 10 郑波, 杨训, 周晓辉, 张刚, 安宁, 邓晓军. 参附注射液在防治肝脏手术时缺血再灌注损伤的应用. 中国中医急症 2008; 17: 1234-1236

编辑 田滢 电编 鲁亚静



# 《世界华人消化杂志》投稿须知

## 1 投稿总则

1.1 性质 《世界华人消化杂志(*World Chinese Journal of Digestology*, *WCJD*, ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online), DOI: 10.11569)》是一份同行评议和开放获取期刊(*Open Access Journal*, *OAJ*), 创始于1993-01-15, 旬刊, 每月8、18和28号出版。《世界华人消化杂志》编辑委员会成员, 由483位专家组成, 分布在30个省市、自治区和特别行政区。

《世界华人消化杂志》的首要任务是出版胃肠病学, 肝病, 消化系内镜学, 消化系外科学, 消化系肿瘤学, 消化系影像学, 消化系介入治疗, 消化系病理学, 消化系感染学, 消化系药理学, 消化系病理生理学, 消化系病理学, 消化系循证医学, 消化系管理学, 胰腺病学, 消化系检验医学, 消化系分子生物学, 消化系免疫学, 消化系微生物学, 消化系遗传学, 消化系转化医学, 消化系诊断学, 消化系治疗学和糖尿病等领域的原始创新性文章, 综述文章和评论性的文章。最终目的是出版高质量的文章, 提高期刊的学术质量, 使之成为指导本领域胃肠病学和肝病实践的重要学术性期刊, 提高消化系疾病的诊断和治疗水平。

《世界华人消化杂志》由百世登出版集团有限公司(*Baishideng Publishing Group*, *BPG*)主办和出版的一份印刷版, 电子版和网络版三种版本的学术类核心期刊, 由北京百世登生物医学科技有限公司生产制作, 所刊载的全部文章存储在《世界华人消化杂志》网站上。OAJ最大的优点是出版快捷, 一次性缴纳出版费, 不受版面和彩色图片限制, 作者文章在更大的空间内得到传播, 全球读者免费获取全文PDF版本, 网络版本和电子期刊。论文出版后, 作者可获得高质量PDF, 包括封面、编委会成员名单、目次、正文和封底, 作为稿酬, 样刊两本。BPG拥有专业的编辑团队, 涵盖科学编辑、语言编辑和电子编辑。目前编辑和出版42种临床医学OAJ期刊, 其中英文版41种, 具备国际一流的编辑与出版水平。

《世界华人消化杂志》被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》, 《Chemical Abstracts》, 《EMBASE/Excerpta Medica》, 《Abstracts

*Journals*》和《Digital Object Identifier》收录。《世界华人消化杂志》于2012-12-26获得RCCSE中国权威学术期刊(A+)称号。《世界华人消化杂志》在中国科学技术信息研究所, 2012-12-07发布的2011年度《中国科技期刊引证报告(核心版)》统计显示, 总被引频次3871次(他引率0.82), 影响因子0.775, 综合评价总分65.5分, 分别位居内科学研究领域类52种期刊第5位、第7位和第5位, 并荣获2011年度中国精品科技期刊。

1.2 栏目 述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 循证医学, 病例报告, 会议纪要。文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确。

## 2 撰稿要求

2.1 总体标准 文稿撰写应遵照国家标准GB7713科学技术报告、学位论文和学术论文的编写格式, GB6447文摘编写规则, GB7714文后参考文献著录规则, GB/T 3179科学技术期刊编排格式等要求; 同时遵照国际医学期刊编辑委员会(*International Committee of Medical Journal Editors*)制定的《生物医学期刊投稿的统一要求(第5版)》(*Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals*)。见: *Ann Intern Med* 1997; 126: 36-47。

2.2 名词术语 应标准化, 前后统一, 如原词过长且多次出现者, 可于首次出现时写出全称加括号内注简称, 以后直接用简称。医学名词以全国自然科学名词审定委员会公布的《生理学名词》、《生物化学名词与生物物理学名词》、《化学名词》、《植物学名词》、《人体解剖学名词》、《细胞生物学名词》及《医学名词》系列为准, 药名以《中华人民共和国药典》和卫生部药典委员会编的《药名词汇》为准, 国家食品药品监督管理局批准的新药, 采用批准的药名; 创新性新药, 请参照我国药典委员会的“命名原则”, 新译名词应附外文。公认习用缩略语可直接应用(建议第一次也写出全称), 如ALT, AST, mAb, WBC, RBC, Hb, T, P, R, BP, PU, GU, DU, ACTH, DNA, LD50, HBsAg, HCV

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊)》, 《中文核心期刊要目总览(2011年版)》收录的学术期刊。



《世界华人消化杂志》英文摘要被《Chemical Abstracts》,《EMBASE/Excerpta Medica》,《Abstracts Journals》和《Digital Object Identifier》收录。

RNA, AFP, CEA, ECG, IgG, IgA, IgM, TCM, RIA, ELISA, PCR, CT, MRI等。为减少排印错误, 外文、阿拉伯数字、标点符号必须正确打印在A4纸上。中医药名词英译要遵循以下原则: (1)有对等词者, 直接采用原有英语词, 如中风stroke, 发热fever; (2)有对应词者应根据上下文合理选用原英语词, 如八法eight principal methods; (3)英语中没有对等词或相应词者, 宜用汉语拼音, 如阴yin, 阳yang, 阴阳学说yinyangology, 人中renzhong, 气功qigong; 汉语拼音要以词为单位分写, 如weixibao nizhuanwan(胃细胞逆转丸), guizhitang(桂枝汤)。通常应小写。

2.3 外文字符 注意大小写正斜体与上下角标。静脉注射iv, 肌肉注射im, 腹腔注射ip, 皮下注射sc, 脑室注射icv, 动脉注射ia, 口服po, 灌胃ig。s(秒)不能写成S, kg不能写成Kg, mL不能写成ML, lcpm(应写为1/min)÷E%(仪器效率)÷60 = Bq, pH不能写PH或P<sup>H</sup>, *H. pylori*不能写成HP,  $T_{1/2}$ 不能写成tl/2或T,  $V_{max}$ 不能Vmax,  $\mu$ 不写为英文u。需排斜体的外文字, 用斜体表示。如生物学中拉丁学名的属名与种名, 包括亚属、亚种、变种。如幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*), *Ilex pubescens* Hook, et Arn. var. *glaber* Chang(命名者勿划横线); 常数*K*; 一些统计学符号(如样本数*n*, 均数mean, 标准差SD, *F*检验, *t*检验和概率*P*, 相关系数*r*); 化学名中标明取代位的元素、旋光性和构型符号(如*N*, *O*, *P*, *S*, *d*, *l*)如*n*-(normal, 正), *N*-(nitrogen, 氮), *o*-(ortho, 邻), *O*-(oxygen, 氧, 习惯不译), *d*-(dextro, 右旋), *p*-(para, 对), 例如*n*-butyl acetate(醋酸正丁酯), *N*-methylaniline(*N*-甲基乙酰胺), *o*-cresol(邻甲酚), 3-*O*-methyl-adrenaline(3-*O*-甲基肾上腺素), *d*-amphetamine(右旋苯丙胺), *l*-dopa(左旋多巴), *p*-aminosalicylic acid(对氨基水杨酸)。拉丁字及缩写*in vitro*, *in vivo*, *in situ*; *Ibid*, *et al*, *po*, *vs*; 用外文字母代表的物理量, 如*m*(质量), *V*(体积), *F*(力), *p*(压力), *W*(功), *v*(速度), *Q*(热量), *E*(电场强度), *S*(面积), *t*(时间), *z*(酶活性, kat), *t*(摄氏温度, °C), *D*(吸收剂量, Gy), *A*(放射性活度, Bq),  $\rho$ (密度, 体积质量, g/L), *c*(浓度, mol/L),  $\phi$ (体积分数, mL/L), *w*(质量分数, mg/g), *b*(质量摩尔浓度, mol/g), *l*(长度), *b*(宽度), *h*(高度), *d*(厚度), *R*(半径), *D*(直径),  $T_{max}$ ,  $C_{max}$ ,  $V_d$ ,  $T_{1/2}$ , *CI*等。基因符号通常用小写斜体, 如*ras*, *c-myc*; 基因产物用大写正体, 如P16蛋白。

2.4 计量单位 采用国际单位制并遵照有关国家标准, GB3100-3102-93量和单位。原来的“分子

量”应改为物质的相对分子质量。如30 kD改为*M<sub>r</sub>* 30 000或30 kDa(*M*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); “原子量”应改为相对原子质量, 即*A<sub>r</sub>*(*A*大写斜体, *r*小写正体, 下角标); 也可采用原子质量, 其单位是u(小写正体)。计量单位在+、-及-后列出。在±前后均要列出, 如37.6 °C ± 1.2 °C, 45.6岁 ± 24岁, 56.4 d ± 0.5 d, 3.56 ± 0.27 pg/mL应改为3.56 ng/L ± 0.27 ng/L。BP用kPa(mmHg), RBC数用1 × 10<sup>12</sup>/L, WBC数用1 × 10<sup>9</sup>/L, WBC构成比用0.00表示, Hb用g/L。明确的体内物质以nmol/L或mmol/L表示, 不明确者用g/L表示。1 M硫酸, 改为1 mol/L硫酸, 1 N硫酸, 改为0.5 mol/L硫酸。长10 cm, 宽6 cm, 高4 cm, 应写成10 cm × 6 cm × 4 cm。生化指标一律采用法定计量单位表示, 例如, 血液中的总蛋白、清蛋白、球蛋白、脂蛋白、血红蛋白、总脂用g/L, 免疫球蛋白用mg/L; 葡萄糖、钾、尿素、尿素氮、CO<sub>2</sub>结合力、乳酸、磷酸、胆固醇、胆固醇酯、三酰甘油、钠、钙、镁、非蛋白氮、氯化物; 胆红素、蛋白结合碘、肌酸、肌酐、铁、铅、抗坏血酸、尿胆元、氨、维生素A、维生素E、维生素B1、维生素B2、维生素B6、尿酸; 氢化可的松(皮质醇)、肾上腺素、汞、孕酮、甲状腺素、睾酮、叶酸用nmol/L; 胰岛素、雌二醇、促肾上腺皮质激素、维生素B12用pmol/L。年龄的单位有日龄、周龄、月龄和岁。例如, 1秒, 1 s; 2分钟, 2 min; 3小时, 3 h; 4天, 4 d; 5周, 5 wk; 6月, 6 mo; 雌性♀, 雄性♂, 酶活性国际单位IU = 16.67 nkat, 对数log, 紫外uv, 百分比%, 升L, 尽量把1 × 10<sup>-3</sup> g与5 × 10<sup>-7</sup> g之类改成1 mg与0.5 mg, hr改成h, 重量γ改成mg, 长度m改成mm。国际代号不用于无数值的文句中, 例如每天不写每d, 但每天8 mg可写8 mg/d。在一个组合单位符号内不得有1条以上的斜线, 例如不能写成mg/kg/d, 而应写成mg/(kg·d), 且在整篇文章内应统一。单位符号没有单、复数的区分, 例如, 2 min不是2 mins, 3 h不是3 hs, 4 d不是4 ds, 8 mg不是8 mgs。半个月, 15 d; 15克, 15 g; 10%福尔马林, 40 g/L甲醛; 95%酒精, 950 mL/L乙醇; 5% CO<sub>2</sub>, 50 mL/L CO<sub>2</sub>; 1 : 1 000肾上腺素, 1 g/L肾上腺素; 胃黏膜含促胃液素36.8 pg/mg, 改为胃黏膜蛋白含促胃液素36.8 ng/g; 10%葡萄糖改为560 mmol/L或100 g/L葡萄糖; 45 ppm = 45 × 10<sup>-6</sup>; 离心的旋转频率(原称转速)用r/min, 超速者用g; 药物剂量若按体质量计算, 一律以“/kg”表示。

2.5 统计学符号 (1)*t*检验用小写*t*; (2)*F*检验用英文大写*F*; (3)卡方检验用希文小写χ<sup>2</sup>; (4)样本的

相关系数用英文小写 $r$ ; (5)自由度用希文小写 $\nu$ ; (6)样本数用英文小写 $n$ ; (7)概率用英文斜体大写 $P$ . 在统计学处理中在文字叙述时平均数 $\pm$ 标准差表示为 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 平均数 $\pm$ 标准误为 $\text{mean} \pm \text{SE}$ . 统计学显著性用 $^aP < 0.05$ ,  $^bP < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注). 如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP < 0.05$ ,  $^dP < 0.01$ ; 第三套为 $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ 等.

2.6 数字用法 遵照国家标准GB/T 15835-1995出版物上数字用法的规定, 作为汉语词素者采用汉字数字, 如二氧化碳、十二指肠、三倍体、四联球菌、五四运动、星期六等. 统计学数字采用阿拉伯数字, 如1 000-1 500 kg, 3.5 mmol/L  $\pm$  0.5 mmol/L等. 测量的数据不能超过其测量仪器的精密度, 例如6347意指6 000分之一的精密度. 任何一个数字, 只允许最后一位有误差, 前面的位数不应有误差. 在一组数字中的 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 应考虑到个体的变差, 一般以SD的1/3来定位数, 例如3 614.5 g  $\pm$  420.8 g, SD的1/3达一百多g, 平均数波动在百位数, 故应写成3.6 kg  $\pm$  0.4 kg, 过多的位数并无意义. 又如8.4 cm  $\pm$  0.27 cm, 其SD/3 = 0.09 cm, 达小数点后第2位, 故平均数也应补到小数点后第2位. 有效位数以后的数字是无效的, 应该舍. 末尾数字, 小于5则舍, 大于5则进, 如恰等于5, 则前一位数逢奇则进, 逢偶(包括“0”)且5之后全为0则舍. 末尾时只可1次完成, 不得多次完成. 例如23.48, 若不要小数点, 则应成23, 而不应该23.48  $\rightarrow$  23.5  $\rightarrow$  24. 年月日采用全数字表达法, 请按国家标准GB/T 7408-94书写. 如1985年4月12日, 可写作1985-04-12; 1985年4月, 写作1985-04; 从1985年4月12日23时20分50秒起至1985年6月25日10时30分止, 写作1985-04-12 T23:20:50/1985-06-25 T10:30:00; 从1985年4月12日起至1985年6月15日止, 写作1985-04-12/06-16, 上午8时写作08:00, 下午4时半写作16:30. 百分数的有效位数根据分母来定: 分母 $\leq 100$ , 百分数到个位;  $101 \leq \text{分母} \leq 1\,000$ , 百分数到小数点后1位; 余类推. 小数点前后的阿拉伯数字, 每3位间空1/4阿拉伯数字距离, 如1 486 800.475 65. 完整的阿拉伯数字不移行!

2.7 标点符号 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用

于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末. 标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU. 外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体.

### 3 稿件格式

3.1 题名 简明确切地反映论文的特定内容, 鲜明而有特色, 阿拉伯数字不宜开头, 不用副题名, 一般20个字. 避免用“的研究”或“的观察”等非特定词.

3.2 作者 论文作者的署名, 按照国际医学杂志编辑委员会(ICMJE, International Committee of Medical Journal Editors)作者资格标准执行. 作者标准为: (1)对研究的理念和设计、数据的获得、分析和解读做出重大贡献; (2)起草文章, 并对文章的重要的知识内容进行批评性修改; (3)接受对准备发表文章的最后一稿. 作者应符合条件1, 2, 3, 对研究工作有贡献的其他人可放入志谢中. 作者署名的次序按贡献大小排列, 多作者时姓名间用逗号, 如是单名, 则在姓与名之间空1格(正文和参考文献中不空格). 《世界华人消化杂志》要求所有署名人写清楚自己对文章的贡献. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

3.3 单位 作者后写单位的全称空1格后再写省市及邮政编码. 格式如: 张旭晨, 梅立新, 承德医学院病理教研室 河北省承德市 067000

3.4 第一作者简介 格式如: 张旭晨, 1994年北京中医药大学硕士, 讲师. 主要从事消化系统疾病的病理研究.

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献两均等; 此课题由陈湘川、庞丽娟、陈玲、杨兰、张金芳、齐妍及李洪安设计; 研究过程由陈玲、杨兰、张金芳、蒋金芳、杨磊、李锋及曹秀峰操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由曹秀峰提供; 数据分析由陈湘川、杨兰及庞丽娟完成; 本论文写作由陈湘川、庞丽娟及李洪安完成.

3.6 同行评议者 为了确保刊出文章的质量, 本刊即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略, 将同行评议者姓名, 职称, 机构的名称与文章一同在脚注出版. 格式如: 房静远, 教授, 上海交通大学医学院附属医院仁济医院, 上海市消化疾病研究所.

《世界华人消化杂志》编辑部, 100025, 北京市朝阳区, 东四环中路62号, 远洋国际中心D座903室, 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893, Email: wcjd@wjgnet.com; http://www.wjgnet.com

《世界华人消化杂志》自2006-01-01起改为旬刊发行, 每月8、18、28日出版。

3.7 基金资助项目 格式如: 国家自然科学基金资助项目, No. 30224801

3.8 通讯作者 格式如: 通讯作者: 黄缘, 教授, 330006, 江西省南昌市民德路1号, 南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室. huang9815@yahoo.com

电话: 0351-4078656 传真: 0351-4086337

收稿日期: 修回日期:

### 3.9 英文摘要

题名 文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致。

作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号。格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”。

单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码。例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China

基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801

通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wcjd@wjgnet.com

收稿及修回日期 格式如: Received: Revised:

摘要 包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致。

3.10 中文摘要 必须在300字左右, 内容应包括目的(应阐明研究的背景和设想、目的), 方法(必须包括材料或对象, 应描述课题的基本设计, 双盲、单盲还是开放性, 使用什么方法, 如何进行分组和对照, 数据的精确程度, 研究对象选择条件与标准是否遵循随机化、齐同化的原则, 对照组匹配的特征。如研究对象是患者, 应阐明其临床表现, 诊断标准, 如何筛选分组, 有多少例进行过随访, 有多少例因出现不良反应而中途停止研究), 结果(应列出主要结果, 包括主要数据, 有什么新发现, 说明其价值和局限, 叙述要真实、准确、具体, 所列数据经用何种统计学方法处理; 应给出结果的置信区间和统计学显著性检验的确切值; 概率写 $P$ , 后应写出相应显著性检验值), 结论(全文总结, 准确无误的观点及价值)。

3.11 正文标题层次 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参

考文献。序号一律左顶格写, 后空1格写标题; 2级标题后空1格接正文。正文内序号连排用(1), (2), (3)。以下逐条陈述。

0 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。

1 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。

2 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。

3 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。

图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用:  $^aP<0.05$ ,  $^bP<0.01$  ( $P>0.05$  不注)。如同一表中另有一套 $P$ 值, 则 $^cP<0.05$ ,  $^dP<0.01$ ; 第3套为 $^eP<0.05$ ,  $^fP<0.01$ 。 $P$ 值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P<0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、-应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用 $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$ 表达。

志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。

4 参考文献 本刊采用“顺序编码制”的著录方法, 即以文中出现顺序用阿拉伯数字编号排序。提倡对国内同行近年已发表的相关研究论文给予充分的反映, 并在文内引用处右上角加方括号注明角码。文中如列作者姓名, 则需在“Pang等”的右上角注角码号; 若正文中仅引用某文献中的论述, 则在该论述的句末右上



角注码号。如马连生<sup>[1]</sup>报告……, 潘伯荣等<sup>[2-5]</sup>认为……; PCR方法敏感性高<sup>[6-7]</sup>。文献序号作正文叙述时, 用与正文同号的数字并排, 如本实验方法见文献[8]。所引参考文献必须以近2-3年SCIE, PubMed, 《中国科技论文统计源期刊》和《中文核心期刊要目总览》收录的学术类期刊为准, 通常应只引用与其观点或数据密切相关的国内外期刊中的最新文献。期刊: 序号, 作者(列出全体作者)。文题, 刊名, 年, 卷, 起页-止页, PMID和DOI编号; 书籍: 序号, 作者(列出全部), 书名, 卷次, 版次, 出版地, 出版社, 年, 起页-止页。

5 网络版的发表前链接 本刊即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传。读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文, 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程。

## 4 写作格式实例

### 4.1 述评写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/sp.asp>

### 4.2 研究原著写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjyz.asp>

### 4.3 焦点论坛写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/jdlt.asp>

### 4.4 文献综述写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/wxzs.asp>

### 4.5 研究快报写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/yjkb.asp>

### 4.6 临床经验写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/lcyj.asp>

### 4.7 病例报告写作格式实例

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/blbg.asp>

## 5 投稿方式

接受在线投稿, 不接受其他方式的投稿, 如E-mail、打印稿。在线投稿网址: <http://www.baishideng.com/wcjd/ch/index.aspx>。无法在线提交的通过[submission@wjgnet.com](mailto:submission@wjgnet.com), 电话: 010-8538-1892, 传真: 010-8538-1893寻求帮助。投

稿须知下载网址<http://www.wjgnet.com/1009-3079/tgxz.pdf>。审稿过程平均时间需要14-28天。所有的来稿均经2-3位同行专家严格评审, 2位或以上通过为录用, 否则将退稿或修改后再审。

## 6 修回稿须知

6.1 修回稿信件 来稿包括所有作者签名的作者投稿函。内容包括: (1)保证无重复发表或一稿多投; (2)是否有经济利益或其他关系造成的利益冲突; (3)所有作者均审读过该文并同意发表, 所有作者均符合作者条件, 所有作者均同意该代表其真实研究成果, 保证文责自负; (4)列出通讯作者的姓名、职称、地址、电话、传真和电子邮件; 通讯作者应负责与其他作者联系, 修改并最终审核复核稿; (5)列出作者贡献分布; (6)来稿应附有作者工作单位的推荐信, 保证无泄密, 如果是几个单位合作的论文, 则需要提供所有参与单位的推荐信; (7)愿将印刷版和电子版出版权转让给本刊编辑部。

6.2 稿件修改 来稿经同行专家审查后, 认为内容需要修改、补充或删除时, 本刊编辑部将把退修稿连同审稿意见、编辑意见发给作者修改, 而作者必须于15天内将单位介绍信、作者符合要点承诺书、版权转让信等书面材料电子版发回编辑部, 同时将修改后的电子稿件上传至在线办公系统; 逾期寄回, 所造成的问题由作者承担责任。

6.3 版权 本论文发表后作者享有非专有权, 文责由作者自负。作者可在本单位或本人著作集中汇编出版以及用于宣讲和交流, 但应注明发表于《世界华人消化杂志》××年; 卷(期): 起止页码。如有国内外其他单位和个人复制、翻译出版等商业活动, 须征得《世界华人消化杂志》编辑部书面同意, 其编辑版权属本刊所有。

### 《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

E-mail: [wcjd@wjgnet.com](mailto:wcjd@wjgnet.com)

<http://www.wjgnet.com>

《世界华人消化杂志》坚持开放获取(open access, OA)的出版模式, 编辑出版高质量文章, 努力实现编委、作者和读者利益的最大化, 努力推进本学科的繁荣和发展, 向专业化、特色化和品牌化方向迈进。

## 2014年国内国际会议预告

2014-03-12/15

2014年亚太肝病研究协会肝病周(APASL)

会议地点: 澳大利亚

联系方式: <http://apasl2014.com/>

2014-04-05/09

2014年美国癌症研究协会大会(AACR)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.aacr.org/home/scientists/meetings--workshops/meetings--workshops-calendar.aspx>

2014-04-09/13

2014年第49届欧洲肝病研究协年会(EASL)

会议地点: 英国

联系方式: [http://www.easl.eu/\\_the-international-liver-congress/general-information](http://www.easl.eu/_the-international-liver-congress/general-information)

2014-04-18/05-20

2014中国超声医学学术大会

会议地点: 北京市

联系方式: <http://www.cuda.org.cn/new/meeting>

2014-04-26/27

中华医学会临床药学会2014年全国学术会议

会议地点: 成都市

联系方式: <http://www.cncscp.org/>

2014-05-04/06

2014年美国消化疾病周(DDW)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.ddw.org/attendees/faqs>

2014-05-16/18

2014第七届世界癌症大会

会议地点: 南京市

联系方式: <http://www.bitlifesciences.com/cancer2014/cn/meeting.asp>

2014-05-23/24

第六届药源性疾病与安全用药中国论坛-消化系统与肝病药物专题研讨会

会议地点: 北京市

联系方式: [adrhuiyi@126.com](mailto:adrhuiyi@126.com)

2014-05-30/06-03

2014年美国临床肿瘤协会年会(ASCO)

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.asco.org/meetings/calendar-events>

2014-06-04/07

2014年第20届国际肝移植协会年会(ILTS)

会议地点: 英国

联系方式: <http://www.ilts.org/meetings/>

2014-06-09/12

2014年第47届欧洲儿科胃肠病、肝病和营养学协会大会(ESPGHAN)

会议地点: 以色列

联系方式: <http://www.espghan2014.org/>

2014-06-18/21

2014年欧洲胃肠与腹部放射学协会肝部成像研讨会(ESGAR)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.esgar.org/files/File/ESGAR14>

2014-06-25/28

2014年世界胃肠癌大会(WGIC)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://worldgicancer.com/WCGI>

2014-06-25/28

2014年第14届欧洲内窥镜手术协会国际大会(EAES)

会议地点: 法国

联系方式: [hdimcs@163.com](mailto:hdimcs@163.com)

2014-06-27/28

2014中华医学会肝病与代谢学术研讨会

会议地点: 上海市

联系方式: [lilyjia@163.com](mailto:lilyjia@163.com)

2014-07-26/31

2014年世界移植大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.wtc2014.org/>

2014-07-28/30

第3届国际肠胃病学与泌尿学大会

会议地点: 美国

联系方式: <http://www.omicsgroup.com/gastroenterology-urology-conference-2014/registration.php>

2014-09-05/07

2014年第8届国际肝癌协会大会(ILCA)

会议地点: 日本

联系方式: <http://www.ilca2014.org/>

2014-09-26/30

2014年欧洲临床肿瘤协会年会(ESMO)

会议地点: 西班牙

联系方式: <http://www.esmo.org/>

2014-10-18/22

2014年第22届欧洲联合胃肠病学周(UEG)

会议地点: 奥地利

联系方式: <http://www.ueg.eu/week/past-future/future-ueg-week/>

## 志谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

白爱平 副教授  
江西省南昌大学第一附属医院消化病研究所

蔡开琳 副教授  
华中科技大学同济医学院附属协和医院普通外科

陈光 教授  
吉林大学第一医院消化器官外科

陈其奎 教授  
中山大学附属第二医院消化内科

陈卫昌 教授  
苏州大学附属第一医院消化内科

崔莲花 副教授  
青岛大学医学院公共卫生系

董蕾 教授  
西安交通大学第二附属医院消化内科

傅红 副教授  
上海复旦大学肿瘤医院肿瘤外科

傅晓辉 副教授  
东方肝胆外科医院

甘华田 教授  
四川大学华西医院老年消化内科

葛海燕 教授  
同济大学附属第十人民医院普通外科

巩鹏 教授  
大连医科大学附属第一医院普外二科

何松 教授  
重庆医科大学附属第二医院消化内科

黄缘 教授  
南昌大学第二附属医院消化内科, 江西省分子医学重点实验室

蒋敬庭 教授  
常州市第一人民医院(苏州大学附属第三医院)肿瘤生物诊疗中心

康春博 副主任医师  
北京大学航天临床医院普通外科

李苏宜 教授  
东南大学附属中大医院肿瘤科

刘超 教授  
中山大学孙逸仙纪念医院(附属第二医院)肝胆胰外科

刘亮 副主任医师  
复旦大学胰腺癌研究所, 复旦大学附属肿瘤医院胰腺肝胆外科

刘正稳 教授  
西安交通大学医学院第一附属医院

卢宁 副主任医师  
中国人民解放军兰州军区乌鲁木齐总医院肿瘤科

茅爱武 教授  
上海同仁医院介入中心

潘阳林 副主任医师  
中国人民解放军第四军医大学西京医院消化病医院消化六科

唐文富 副教授  
四川大学华西医院中西医结合科

万军 教授  
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

肖恩华 教授  
中南大学湘雅二医院放射教研室

许玲 教授  
上海中医药大学附属龙华医院肿瘤科

宣世英 教授  
市立医院肝病内科

杨家和 教授  
中国人民解放军第二军医大学附属东方肝胆外科医院综合治疗三科

杨薇 副教授  
北京大学肿瘤医院超声科

赵春玲 副教授  
潍坊医学院细胞生物学教研室

朱传武 主任医师  
第五人民医院传染科



## 《中文核心期刊要目总览》收录证书

### 《中文核心期刊要目总览》入编通知

尊敬的主编先生/女士：

我们谨此郑重通知：依据文献计量学的原理和方法，经研究人员对相关文献的检索、统计和分析，以及学科专家评审，贵刊《世界华人消化杂志》入编《中文核心期刊要目总览》2011年版（即第六版）之临床医学/特种医学类的核心期刊。该书由北京大学出版社出版。书中按《中国图书馆分类法》的学科体系，列出了73个学科的核心期刊表，并逐一对核心期刊进行了著录。著录项目包括：题名、并列题名、主办单位、创刊时间、出版周期、学科分类号、ISSN号、CN号、邮发代号、编辑部地址、邮政编码、电话、网址、电子邮箱、内容简介等。

评选核心期刊的工作，是运用科学方法对各种刊物在一定时期内所刊载论文的学术水平和学术影响力进行综合评价的一种科研活动，研究工作量浩大。北京地区十几所高校图书馆、中国科学院国家科学图书馆、中国社会科学院文献信息中心、中国人民大学书报资料中心、中国学术期刊（光盘版）电子杂志社、中国科学技术信息研究所、北京万方数据股份有限公司、国家图书馆等相关单位的百余名专家和期刊工作者参加了研究。

课题组对核心期刊的评价理论、评价方法等问题进行了深入研究，进一步改进了核心期刊评价方法，使之更趋科学合理，力求使评价结果符合客观实际。对于核心期刊的评价仍采用定量评价和定性评审相结合的方法。定量评价指标体系采用了被引量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标，选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达到60余种，统计到的文献数量共计221177余万篇次，涉及期刊14400余种。参加核心期刊评审的学科专家达8200多位。经过定量筛选和专家定性评审，从我国正在出版的中文期刊中评选出1982种核心期刊。

需要特别指出的是，该研究成果只是一种参考工具书，主要是为图书情报界、出版界等需要对期刊进行评价的用户提供参考，例如为各图书情报部门的中文期刊采购和读者导读服务提供参考帮助等，不应作为评价标准。谨此说明。

顺颂  
撰安

《中文核心期刊要目总览》2011年版编委会  
代章：





Published by **Baishideng Publishing Group Co., Limited**  
Flat C, 23/F., Lucky Plaza,  
315-321 Lockhart Road, Wan Chai, Hong Kong, China  
Fax: +852-3177-9906  
Telephone: +852-6555-7188  
E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)  
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

