

# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 7 月 8 日      第 27 卷      第 13 期      (Volume 27 Number 13)**



**13 / 2019**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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

## 目次

2019年7月8日 第27卷 第13期 (总第633期)

## 述评

- 791 肛周脓肿三间隙引流术的理论基础及临床应用进展  
张心怡, 金黑鹰

## 基础研究

- 798 miR-183调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌SGC-7901细胞生物学特性的研究  
张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙
- 807 表达持续活化型ALK3抑制大鼠肝星状细胞活化  
石慧, 柳长柏, 肖和杰
- 814 长链非编码RNA MALAT1在大肠癌中的表达及其临床意义: 基于多基因表达数据库分析  
倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博

## 临床研究

- 822 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑胃镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响分析  
李新鹏, 王世民

## 文献综述

- 828 嗜酸性粒细胞性食管炎诊疗进展  
郑璞, 谭煌英
- 835 基于膳食结构的非酒精性脂肪性肝病动物模型  
曾庆敏, 李嘉
- 842 他克莫司治疗炎症性肠病的最新进展  
王静静, 范一宏



## 消 息

- 797 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
806 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事  
813 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
834 《世界华人消化杂志》正文要求  
850 《世界华人消化杂志》栏目设置

## 封面故事

卡世全, 主任医师, 教授, 兰州市第一人民医院消化科主任医师, 西北民族大学医学院兼职教授, 甘肃省消化协会HP学组成员, 全国疑难及重症肝病攻关协作组成员, 全国疑难及重症肝病攻关协作组第三届全国委员, 全国肝胆病咨询专家, 《中国医学创新》杂志编委、审稿人, 《世界消化病杂志》编委、审稿人. 发表学术论文50篇, 发表出版专著2部, 发明国家专利2项, 主持参与省级科研攻关项目5项, 曾获甘肃省医学科技二等奖一项, 兰州市人民政府科技进步二等奖及三等奖各一项. 从事消化专业的卡世全主任医师, 35年来坚守临床一线, 重视学术思想, 视病人为亲人, 在消化及肝病治疗上做出较大的贡献. 经过多年大量临床观察及探索研究, 有他牵头与兰州燕滨扶正有限责任公司共同研制的调节免疫治疗乙肝肝硬化新药——燕滨扶正胶囊, 已获得国家卫生部门批准文号, 进入临床观察使用.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-07-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 13 Jul 8, 2019

### EDITORIAL

- 791 Three-cavity clearance for perianal abscess: Theoretical basis and progress in clinical application  
*Zhang XY, Jin HY*

### BASIC RESEARCH

- 798 MiR-183 affects biological behaviors of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway  
*Zhang XC, Shen JG, Jia ZW, Qian LF, Sun YL*
- 807 Stable expression of constitutively activated ALK3 suppresses rat hepatic stellate cell activation  
*Shi H, Liu CB, Xiao HJ*
- 814 MALAT1 gene expression in colorectal cancer and its clinical significance: Data mining based on multiple gene expression databases  
*Ni YY, Xue LH, Zhang P, Zhu GB*

### CLINICAL RESEARCH

- 822 Effect of anesthesia with propofol plus remi-fentanil vs etomidate plus remifentanil on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia treated by gastroscopy  
*Li XP, Wang SM*

### REVIEW

- 828 New developments in diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis  
*Zheng P, Tan HY*
- 835 Diet-induced animal models of nonalcoholic fatty liver disease  
*Zeng QM, Li J*
- 842 Advances in research of tacrolimus for treatment of inflammatory bowel disease  
*Wang JJ, Fan YH*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 13 Jul 8, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Ka shi-quan, Chief physician, professor, First People's Hospital of Lanzhou, No. 1th, Wu Homeland, Qilihe District, Lanzhou 730050, Gansu Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** July 8, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

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

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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



## 肛周脓肿三间隙引流术的理论基础及临床应用进展

张心怡, 金黑鹰

张心怡, 南京中医药大学研究生院 江苏省南京市 210023

金黑鹰, 南京中医药大学第二附属医院肛肠中心 江苏省南京市 210017

张心怡, 硕士研究生, 主要从事中医肛肠疾病的临床研究.

作者贡献分布: 本论文写作由张心怡及金黑鹰完成.

通讯作者: 金黑鹰, 教授, 主任医师, 210017, 江苏省南京市建邺区南湖路23号, 南京中医药大学第二附属医院肛肠中心. [jinhuiying@hotmail.com](mailto:jinhuiying@hotmail.com)  
电话: 025-83291219

收稿日期: 2019-03-26

修回日期: 2019-04-12

接受日期: 2019-05-15

在线出版日期: 2019-07-08

### Three-cavity clearance for perianal abscess: Theoretical basis and progress in clinical application

Xin-Yi Zhang, Hei-Ying Jin

Xin-Yi Zhang, Graduate School of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Hei-Ying Jin, Department of Colorectal Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210017, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Hei-Ying Jin, Professor, Chief Physician, Department of Colorectal Surgery, Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 23 Nanhu Road, Jianye District, Nanjing 210017, Jiangsu Province, China. [jinhuiying@hotmail.com](mailto:jinhuiying@hotmail.com)

Received: 2019-03-26

Revised: 2019-04-12

Accepted: 2019-05-15

Published online: 2019-07-08

### Abstract

Three-cavity clearance (TCC) is an innovative technique

that completely preserves anal sphincter, which can effectively reduce the probability of postoperative anal fistula formation and the recurrence of abscess, has small trauma and a low risk, and deserves further promotion and study clinically. In this paper, we discuss the theoretical basis, clinical application, and related problems of TCC for perianal abscess.

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

Key Words: Perianal abscess; Three-cavity clearance; Theoretical basis; Progress in clinical application

Zhang XY, Jin HY. Three-cavity clearance for perianal abscess: Theoretical basis and progress in clinical application. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 791-797

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/791.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.791>

### 摘要

肛周脓肿三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC)是一种完全保留肛门括约肌的创新术式,能有效降低术后肛瘘形成的概率,减少脓肿的复发,创伤小,风险低,值得在临床进一步推广和研究. 本文就肛周脓肿TCC的理论基础、临床应用及相关问题予以探讨.

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

关键词: 肛周脓肿; 三间隙引流术; 理论基础; 临床应用进展

**核心提要:** 肛周脓肿的三间隙引流术,是根据肛周脓肿发生的生理病理环节设计提出,理论上对于肛周脓肿的手术是一种创新术式,契合肛周手术的微创理念,符合清除感染源、彻底引流、保护肛门功能的基本治疗原则,在保证疗效的同时,减轻患者痛苦,保护肛门括约肌功能,提高患者满意度,值得进一步推广及研究.

张心怡, 金黑鹰. 肛周脓肿三间隙引流术的理论基础及临床应用进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 791-797

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/791.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.791>

## 0 引言

肛周脓肿是一种常见的肛周感染性疾病, 祖国医学称之为“肛痈”, 每年约有2-10万的新发病例, 以30-50岁年轻男性多见, 小儿发病率也相对较高<sup>[1,2]</sup>. 现代医学对于肛周脓肿的发病病因有多种讨论, 认为90%由腺源性感染引起<sup>[3]</sup>, 还有一些如合并糖尿病、白血病、克罗恩病、艾滋病或有肥胖及肛门直肠外伤病史的患者, 更容易诱发肛周脓肿<sup>[4,5]</sup>. 临床多根据脓肿发生的部位分为: 肛周皮下脓肿、括约肌间脓肿、坐骨直肠间隙脓肿、骨盆直肠间隙脓肿及直肠后间隙脓肿<sup>[6]</sup>. 本病起病急骤, 一旦形成应及时给予手术治疗<sup>[7]</sup>, 常规行单纯切开引流术, 但术后约有7%-66%的肛瘘形成率及4%-31%复发率<sup>[8,9]</sup>, 部分学者采用根治性脓肿切开术, 即在单纯切开引流基础上同时切开可疑瘘管或采用切开挂线治疗, 虽减少了术后肛瘘的形成, 但却增加了术后肛门缺损及肛门失禁的风险<sup>[10-12]</sup>. 鉴于此, 我们根据肛周脓肿发病的生理病理机制设计出一种新的手术方式——三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC), 现就TCC的理论基础、临床应用及相关问题展开论述.

## 1 TCC提出的理论基础

研究发现在黏膜下和内括约肌之间存在肛腺, 并且认为肛周脓肿的发病可能是由于肛腺感染引起<sup>[13]</sup>. 1956年Eisenhammer<sup>[14]</sup>根据肛腺解剖学特点正式提出“隐窝腺感染学说”, 并由Parks<sup>[15]</sup>于1961年提供组织学证据证明, 1978年Eisenhammer<sup>[16]</sup>将肛周脓肿分为“腺源性脓肿”和“非腺源性脓肿”两大类, 目前这一学说得到了广泛认可.

人类的肛腺呈烧瓶状, 包括腺体、导管和开口三部分(如图1<sup>[17]</sup>), 数目为6-10个<sup>[18]</sup>. 研究检测到肛腺可分泌中性和酸性黏蛋白, 主要成分为多糖体和IgA, 具有免疫和润滑作用<sup>[19,20]</sup>. 肛腺开口于肛隐窝处, 有多个肛腺同时开口于同一个肛隐窝的情况, 2/3的肛腺通过肛腺导管向下向外伸展到括约肌间<sup>[21]</sup>, 当肛腺导管由于粪渣等堵塞时, 肛腺分泌液无法排出, 导致导管内积液, 进而引起括约肌间的肛腺感染, 若此感染灶向肛管波及穿透内括约肌, 形成黏膜下感染, 即为“内口”<sup>[22]</sup>, 同时其感染还可以向3个方向蔓延<sup>[23]</sup>: 第一是向下蔓延形成括约肌间脓肿或肛周皮下脓肿, 第二是向后侧方蔓延, 形成外

括约肌外脓肿(坐骨直肠脓肿、直肠后间隙脓肿), 第三是向上蔓延, 在肛提肌以上间隙形成盆腔脓肿或高位肛间脓肿, 这种情况较少见, 主要取决于感染的肛腺和纵行肌之间的关系(如图2和3<sup>[18,24]</sup>).

临床上对于肛周脓肿的术式选择, 是应该进行单纯切开引流、还是为降低术后肛瘘形成率和复发率进行脓肿根治性手术, 是一个具有广泛争议的问题. 研究发现, 34%-50%的肛周脓肿单纯切开引流后并不会形成肛瘘, 也就是说这一部分人通过单纯切开引流完全可以治愈, 而不必要承担损伤括约肌的风险<sup>[12]</sup>. 我们分析单纯切开引流术后高复发率及高肛瘘形成可能的原因是<sup>[18]</sup>: (1)切口引流部位不通畅; (2)“内口”并非肛腺开口处, 其本质是黏膜下感染, 这导致临床中有近一半的脓肿没有正确找到“内口”并给予处理; (3)没有处理括约肌间的感染源. 因此, 如何在不损害肛门括约肌的前提下, 清除感染源, 彻底引流以减少瘘管的形成及脓肿的复发是我们治疗肛周脓肿应遵循的原则.

肛周脓肿TCC即是根据肛周脓肿发生的生理病理环节提出, 根据脓肿形成的过程, 我们将肛管直肠周围分为三个间隙(如图4), 即黏膜和内括约肌之间的黏膜下间隙、内外括约肌间的括约肌间间隙和外括约肌以外间隙(包括坐骨直肠间隙、直肠后间隙和骨盆直肠间隙). 当一个人发生肛周脓肿时, 这三个间隙都可能会有脓肿, 若不能全部打开引流, 残余的脓腔就会导致重复感染并形成肛瘘.

为了能够证实三间隙手术能彻底引流感染腔, 保护肛门功能, 在临床病例研究收集数据分析的同时, 我们还使用了肛管直肠周围三维超声作术前术后评估, 使之在图像上有个直观的反映. 如图5所示: A和B指的是患者在术前的三维超声下, 表现为坐骨直肠间隙脓肿; C和D则是术后的三维超声下所见, 内外括约肌均保留完好, 且未见残余脓腔. 进一步证实三间隙引流理论的可行.

## 2 TCC的操作要点

于脓肿波动最明显处为中心, 作放射状切口(图6A), 切开皮肤后充分引流外括约肌外间隙(图6B); 沿括约肌间沟分离至正常组织, 充分排脓后, 分离括约肌间脓腔间隔(图6C); 最后切开黏膜下间隙(图6D), 沿内括约肌表面切除该间隙周围的黏膜及黏膜下组织, 适当扩大切口, 必要时结扎感染区痔核, 修剪创缘, 彻底止血后填入灭菌凡士林纱布, 肛内可酌情置一排气, 外敷无菌纱布加压包扎. 术中同时打开三个潜在感染间隙, 充分引流, 并行全括约肌保留, 从而降低术后肛瘘形成率, 实现疾病治愈且不损伤肛门功能的初衷, 提高患者的生活

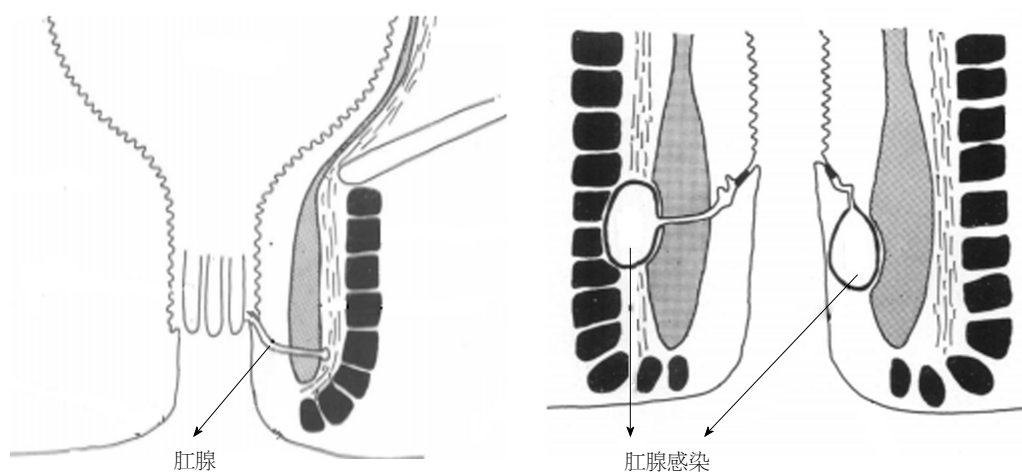


图 1 肛腺位置.

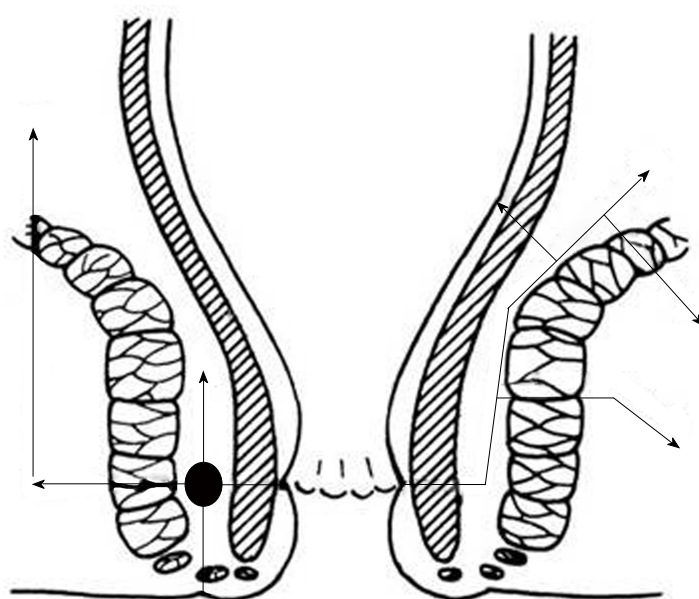


图 2 肛周脓肿扩散方向.

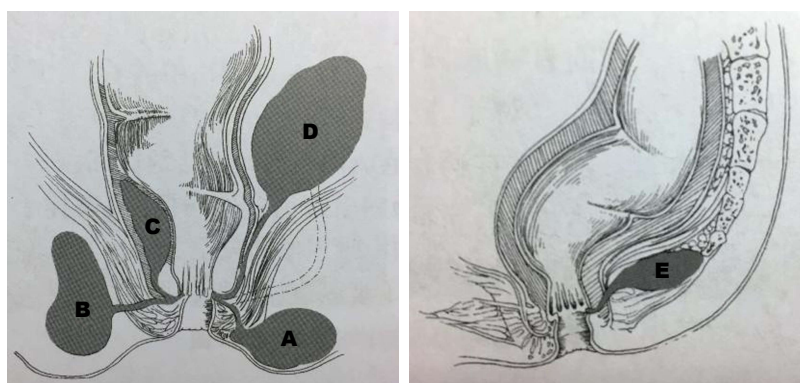


图 3 肛周脓肿分类. A: 肛周皮下脓肿; B: 括约肌间脓肿; C: 坐骨直肠间隙脓肿; D: 骨盆直肠间隙脓肿; E: 直肠后间隙脓肿.



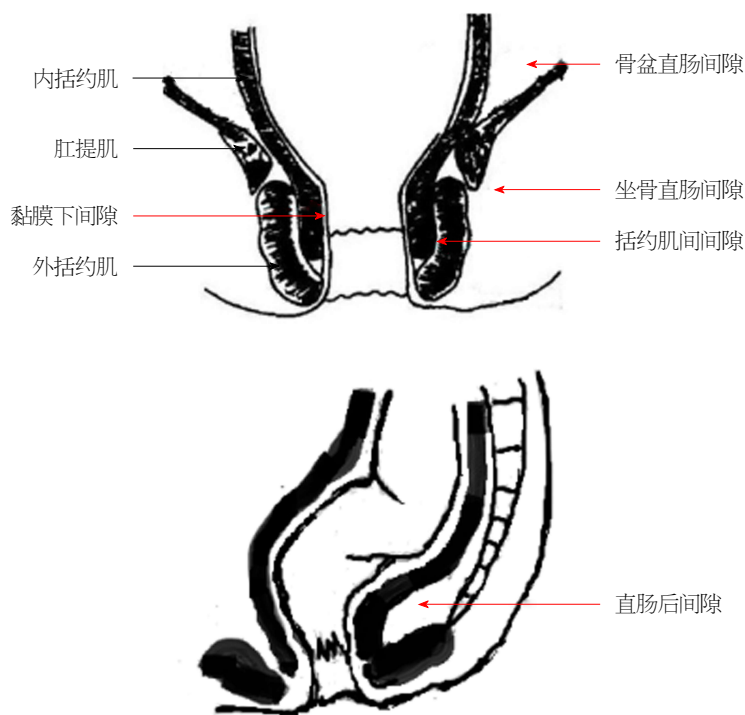


图 4 三间隙位置示意图.

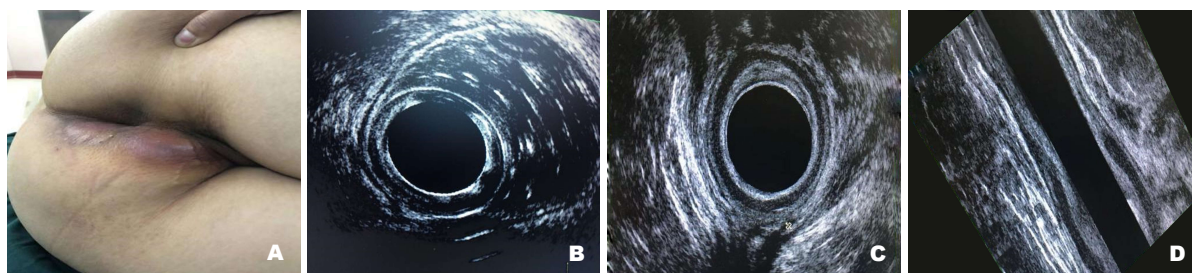


图 5 肛管直肠周围三维超声. A和B: 术所见; C和D: 术后所见.

质量<sup>[24]</sup>.

### 3 TCC的临床应用

在我们进行的一项纳入64例患者的前瞻性队列研究中, 以肛周脓肿TCC的患者作为研究对象, 建立队列; 对照组选取同期行肛周脓肿单纯切开引流术的患者, 以年龄差距5岁以内、性别相同且脓肿部位相同与实验组进行1:1配对, 进行15.3 mo±6.7 mo的随访发现, 三间隙引流组的肛瘘形成率为6%, 明显低于单纯切开引流组(34.0%,  $P<0.01$ ); 三间隙引流组与单纯切开引流组均未出现肛门失禁的情况; 两组的住院时间、创面愈合时间没有统计学差异( $P>0.05$ ). 提示肛周脓肿TCC是一种安全的术式, 能有效降低术后肛瘘形成率.

研究<sup>[25]</sup>对三间隙引流、单纯切开引流和切开挂线三组75例患者的回顾性随机对照研究发现, 单纯切开引流组的肛瘘形成率为48%, 明显高于三间隙引流组12%

和切开挂线组12%( $P<0.01$ ). 在术后肛门功能方面, 三间隙引流组和单纯切开引流组均无肛门失禁病例, 而切开挂线组有2例出现肛门功能障碍. 从术后疼痛方面看, 术后首次排便时, 三组均无明显差异, 但在术后1 wk紧线时, 切开挂线组VAS:  $6.5\pm1.3$ 分明显高于三间隙引流组:  $1.3\pm0.5$ 分和单纯切开引流组:  $1.2\pm0.4$ 分( $P<0.01$ ). 许勇辉等<sup>[26]</sup>纳入84例患者的进行了三间隙引流和对照研究, 三组术后1 wk VAS评分组间差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 其中三间隙引流组最低, 切开挂线组最高; 三组伤口愈合时间及肛瘘形成率组间差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 在术后并发症(术后感染及肛门功能障碍)出现情况上, 三间隙引流组术后感染7.14%, 肛门失禁10.71%, 与单纯切开引流组11.11%、11.11%和切开挂线组6.90%、17.24%比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ). 认识到TCC治疗肛周脓肿是可行的, 降低术后肛瘘形成率, 具有术后疼痛轻和保护肛门功能的优点.

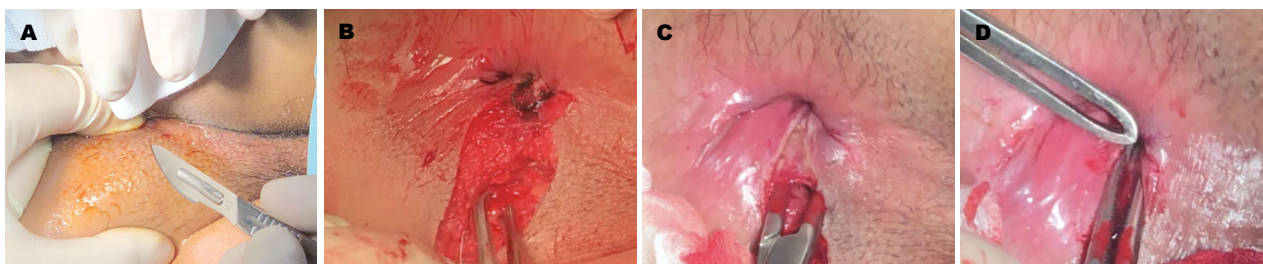


图6 三间隙引流手术过程. A:于脓肿波动最明显处作放射状切口; B:引流外括约肌外间隙; C:引流括约肌间间隙; D:引流黏膜下间隙.

另一篇由Jin教授等<sup>[24]</sup>发表在Gastroenterology Report一项长达3年对138例患者的回顾性病例对照研究分析,三间隙引流组肛瘘形成率为13.0%,明显低于单纯切开引流组39.1%( $P<0.01$ ),与根治性脓肿手术8.7%相似( $P>0.05$ ).三间隙引流组和单纯切开引流组均无肛门失禁,根治性脓肿手术组有2例肛门失禁的病例,他们的Wexner评分分别为6分和3分.证实了TCC可以达到和根治性脓肿手术相同的效果,且不会对肛门括约肌造成损伤.

许跃文等<sup>[27]</sup>对三间隙引流和切开挂线的随机对照研究,纳入病例74例,结果显示,除了跟上述研究结论能降低术后肛瘘形成率,减轻术后疼痛,保护肛门功能基本一致外,三间隙引流组创面愈合时间和住院时间均短于切开挂线,且术后随访中,三间隙引流组无复发病例,而切开挂线组的复发率为2.70%,得出三间隙引流还具有术后恢复快、减少复发率等优点.

洪文等<sup>[28]</sup>对94例肛周脓肿患者进行研究分析TCC的临床疗效,三间隙引流组和切开挂线组术后首次排便时VAS评分、肛瘘形成率比较差异均无统计学意义,但三间隙引流组术后1 wk VAS评分、肛门功能障碍率明显低于切开挂线组( $P<0.05$ ),患者满意度也显著高于切开挂线组.认为TCC可作为肛周脓肿的理想术式.

刘涛等<sup>[29]</sup>选取各44例患者对TCC及切开挂线术比较发现,三间隙引流组术后1 wk VAS评分:  $1.21 \pm 0.54$ 分,明显较切开挂线组:  $5.42 \pm 1.37$ 低( $P<0.05$ );术后并发症(肛门功能障碍及肛瘘)发生率三间隙引流组低于切开挂线组(4.55% vs 11.3%,  $P>0.05$ ).结论三间隙引流可获得与切开挂线相近的疗效,但三间隙引流有利于缓解患者术后排便疼痛并具有保护肛门功能的作用.

王华等<sup>[30]</sup>的病例对照研究中,收集了80例患者作为研究对象,研究显示,三间隙引流组除了住院时间、愈合时间、术后1 wk疼痛程度及术后各时点Wexner肛门功能评分均明显低于切开挂线组外,三间隙引流组的术中出血量  $15.67 \text{ mL} \pm 4.53 \text{ mL}$ 也低于切开挂线组  $23.34 \text{ mL} \pm 6.28 \text{ mL}$ ,差异均有统计学意义( $P<0.05$ ).得出TCC在肛

周脓肿手术治疗中具有一定的优势.

在以上研究结果中,肛周脓肿TCC均取得了令人满意的疗效,不仅保护肛门功能,在一定程度上降低术后并发症发生率,还具有创伤小、疼痛轻、恢复快的优点(表1).

#### 4 TCC的问题及展望

在我们的前瞻性队列研究中两组的瘘管形成率均低于两项回顾性研究中TCC组的12%和13%及切开引流组的48%和39.1%<sup>[12,25]</sup>,分析其原因,回顾性研究中有几例术后形成肛瘘的患者,其主要为合并克罗恩病或长期服用免疫抑制剂而导致的盆腔脓肿,这类脓肿的治疗目标应为控制感染、防止再次发作,最好选用切开引流同时给予引流挂线<sup>[22,31,32]</sup>;而TCC的理论根基于肛腺感染学说,提示三间隙引流对于腺源性肛周脓肿更加适用,并且切开引流对于非腺源性肛周脓肿成功率也并不高.但是现有的研究中病例数较少,随访时间较短,且国外目前未见相关报道研究,缺少了大样本临床研究证实这一理论的可行性及有效性,也不能明确这一术式对于哪种类型的肛周脓肿更为有效来证明我们的判断.

其次,少数报道中也并未指明术前是否运用盆底磁共振成像和肛门直肠周围EUS对脓肿部位进行评估.研究发现<sup>[33]</sup>不同部位的脓肿在手术引流后有不同的肛瘘形成率.这造成了不同研究结果之间的数据不具可比性.

因此,我们的三间隙引流手术需要进一步规范适应症及大样本的随机对照研究,并进行广泛培训指导,使用盆底磁共振成像和肛门直肠周围EUS对肛周脓肿术前精准评估及术后分析也是十分必要的.

#### 5 结论

肛周脓肿的TCC,是根据肛周脓肿发生的生理病理环节设计提出的,理论上对于肛周脓肿是一种创新术式,契合肛周手术的微创理念,符合清除感染源、彻底引流、保护肛门功能的基本治疗原则,并在初步的研究中取得了满意的疗效,后期需要更大样本,更加规范的进一步推广和研究.

表 1 三间隙引流术的临床应用

研究	分组	总数/n	肛瘘形成率(%)			肛门功能障碍(%)			术后1 wk疼痛评分/分			愈合时间/d		
			I组	II组	III组	I组	II组	III组	I组	II组	III组	I组	II组	III组
陈滢 <sup>[18]</sup>	I组II组 III组	75	48	12	12	0	8	0	1.2 ± 0.4	6.5 ± 1.3	1.3 ± 0.5	49.2 ± 23.1	53.5 ± 24.1	45.8 ± 19.9
Jin等 <sup>[19]</sup>	I组II组 III组	138	39	8.7	13	0	4.3	0	—	—	—	55.008 ± 33.82	53.93 ± 23.73	42.46 ± 21.87
许勇辉 <sup>[26]</sup>	I组II组 III组	84	48.2	20.7	10.7	11.1	17.2	10.7	3.27 ± 0.86	7.24 ± 1.06	2.56 ± 0.47	51.07 ± 8.23	55.19 ± 8.94	40.62 ± 7.81
许跃文 <sup>[27]</sup>	II组III组	74	—	13.5	10.8	—	2.7	0	—	4.43 ± 1.24	2.78 ± 1.06	—	40.15 ± 13.19	34.17 ± 11.03
洪文等 <sup>[28]</sup>	II组III组	94	—	4.4	4.1	—	6.7	0	—	6.6 ± 1.2	2.3 ± 0.24	—	—	—
刘涛 <sup>[29]</sup>	II组III组	88	—	4.5	4.5	—	6.8	0	—	5.42 ± 1.37	1.21 ± 0.54	—	—	—
王华 <sup>[30]</sup>	II组III组	80	—	10	5	—	2.5	0	—	—	—	—	26.82 ± 4.58	22.35 ± 2.16

I组: 单纯切开引流组; II组: 切开挂线组; III组: 三间隙引流组。

6 参考文献

1 Zanutti C, Martinez-Puente C, Pascual I, Pascual M, Herreros D, Garcia-Olmo D. An assessment of the incidence of fistula-in-ano in four countries of the European Union. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1459-1462 [PMID: 17554546 DOI: 10.1007/s00384-007-0334-7]

2 Sainio P. Fistula-in-ano in a defined population. Incidence and epidemiological aspects. *Ann Chir Gynaecol* 1984; 73: 219-224 [PMID: 6508203]

3 Ommer A, Herold A, Berg E, Furst A, Sailer M, Schiedeck T. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 831-837 [PMID: 22362468 DOI: 10.1007/s00384-012-1430-x]

4 黄李, 常忠生. 肛周脓肿的病因、分类及临床诊断. *中国肛肠病杂志* 2018; 38: 63-65 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-1174.2018.01.1031]

5 Adamo K, Sandblom G, Brannstrom F, Strigard K. Prevalence and recurrence rate of perianal abscess—a population-based study, Sweden 1997-2009. *Int J Colorectal Dis* 2016; 31: 669-673 [PMID: 26768004 DOI: 10.1007/s00384-015-2500-7]

6 金黑鹰. 实用肛肠病学. 上海: 上海科学技术出版社 2014; 157

7 Marvin L. CORMAN结直肠外科学. 上海: 上海科学技术出版社 2016; 243

8 Ommer A, Herold A, Berg E, Furst A, Sailer M, Schiedeck T; German Society for General and Visceral Surgery. Cryptoglandular anal fistulas. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 707-713 [PMID: 22114639 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0707]

9 Ommer A, Herold A, Berg E, Fürst A, Post S, Ruppert R, Schiedeck T, Schwandner O, Strittmatter B. German S3 guidelines: anal abscess and fistula (second revised version). *Langenbecks Arch Surg* 2017; 402: 191-201 [PMID: 28251361 DOI: 10.1007/s00423-017-1563-z]

10 Knoefel WT, Hosch SB, Hoyer B, Izbicki JR. The initial approach to anorectal abscesses: fistulotomy is safe and reduces the chance of recurrences. *Dig Surg* 2000; 17: 274-278 [PMID: 10867462 DOI: 10.1159/00018847]

11 King SK. Should we seek a fistula-in-ano when draining a perianal abscess? *J Paediatr Child Health* 2010; 46: 273-274 [PMID: 20602669 DOI: 10.1111/j.1440-1754.2009.01694.x]

12 Rosen SA, Colquhoun P, Efron J, Vernava AM 3rd, Nogueras JJ, Wexner SD, Weiss EG. Horseshoe abscesses and fistulas: how are we doing? *Surg Innov* 2006; 13: 17-21 [PMID: 16708151 DOI: 10.1177/155335060601300104]

13 毛红. 肛周脓肿发病的中西医认识. *中国中医药现代远程教育* 2013; 11: 138-140 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2013.14.091]

14 Eisenhammer S. The internal anal sphincter and the anorectal abscess. *Surg Gynecol Obstet* 1956; 103: 501-506 [PMID: 13360660]

15 PARKS AG. Pathogenesis and treatment of fistula-in-ano. *Br Med J* 1961; 1: 463-469 [PMID: 13732880]

16 Eisenhammer S. The final evaluation and classification of the surgical treatment of the primary anorectal cryptoglandular intermuscular (intersphincteric) fistulous abscess and fistula. *Dis Colon Rectum* 1978; 21: 237-254 [PMID: 657933]

17 McColl I. The comparative anatomy and pathology of anal glands. Arris and Gale lecture delivered at the Royal College of Surgeons of England on 25th February 1965. *Ann R Coll Surg Engl* 1967; 40: 36-67 [PMID: 6016560]

18 陈滢. 三间隙引流术治疗肛周脓肿的应用研究. 南京: 南京中医药大学 2017; 22-24

19 Seow-Choen F, Ho JM. Histoanatomy of anal glands. *Dis Colon Rectum* 1994; 37: 1215-1218 [PMID: 7995146]

20 Kuroda N, Tanida N, Ohara M, Hirouchi T, Mizuno K, Kubo A, Lee GH. Anal canal adenocarcinoma with MUC5AC expression suggestive of anal gland origin. *Med Mol Morphol* 2007; 40: 50-53 [PMID: 17384991 DOI: 10.1007/s00795-006-0344-5]

21 姜朋朋, 周东风. 肛周脓肿的病因学浅析. *临床普外科电子杂志* 2017; 5: 4 0-46 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-5308.2017.03.011]

22 梅世文, 金黑鹰. 肛旁脓肿的术式选择. *中华结直肠疾病电子杂志* 2016; 5: 376-379 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-3224.2016.05.002]

23 Beck DE, Roberts PL, Saclarides TJ, Senagore AJ, Stamos MJ, Wexner SD. The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery. New York: Springer 2011; 221

24 Jin H, Chen Y, Zhang B. Three-cavity clearance (TCC) can decrease the fistula rate after drainage of a perianal abscess: a case-control study. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2018; 6: 221-224 [PMID: 30151207 DOI: 10.1093/gastro/gox044]

25 Chen Y, Wang X, Jin H, Zhang B, Yao H, Wu K, Wang S. [Feasibility investigation of three cavity clearance in treatment of perianal abscess]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2016; 19: 442-445 [PMID: 27112481]

26 许勇辉. 三间隙引流术在肛周脓肿治疗中的应用效果观察. *贵州医药* 2018; 42: 725-727 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-



- 744X.2018.06.037]
- 27 许跃文. 肛周脓肿三间隙引流术的临床应用效果. 现代医药卫生 2018; 34: 2550-2552 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2018.16.039]
  - 28 洪文, 刘扬, 杨博, 张忠伟, 路明. 三间隙引流术治疗肛周脓肿临床疗效观察. 中国现代手术学杂志 2017; 21: 265-267 [DOI: 10.16260/j.cnki.1009-2188.2017.04.006]
  - 29 刘涛. 三间隙引流术对肛周脓肿患者术后排便及肛门功能障碍的影响. 内蒙古医学杂志 2018; 50: 1095-1096 [DOI: 10.16096/J.cnki.nmgxzz.2018.50.09.043]
  - 30 王华. 三间隙引流术及传统切开挂线术治疗肛周脓肿的疗效对比. 结直肠肛门外科 2017; 23: 497-500
  - 31 Nasser Y, Cassella L, Berns M, Zaghiyan K, Cohen J. The anal fistula plug in Crohn's disease patients with fistula-in-ano: a systematic review. *Colorectal Dis* 2016; 18: 351-356 [PMID: 26749385 DOI: 10.1111/codi.13268]
  - 32 Schwartz DA, Loftus EV Jr, Tremaine WJ, Panaccione R, Harmsen WS, Zinsmeister AR, Sandborn WJ. The natural history of fistulizing Crohn's disease in Olmsted County, Minnesota. *Gastroenterology* 2002; 122: 875-880 [PMID: 11910338]
  - 33 Keighley MRB, Williams NS. *Surgery of the anus, rectum and colon*. 北京: 科学出版社 2003; 478

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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

# miR-183调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌SGC-7901细胞生物学特性的研究

张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙

张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙, 浙江省桐乡市第一人民医院消化内科 浙江省桐乡市 314500

张希成, 主治医师, 主要从事消化内科疾病的研究.

**作者贡献分布:** 由张希成与孙元龙设计; 研究过程由张希成、沈金根及贾正我操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由钱丽芬提供; 数据分析由张希成、沈金根及孙元龙完成; 本论文写作由张希成、沈金根、贾正我及钱丽芬完成.

**通讯作者:** 孙元龙, 副主任医师, 314500, 浙江省桐乡市校场东路1918号, 浙江省桐乡市第一人民医院消化内科. 108444989@qq.com  
电话: 0573-88021111

收稿日期: 2019-03-27

修回日期: 2019-04-30

接受日期: 2019-06-17

在线出版日期: 2019-07-08

## MiR-183 affects biological behaviors of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway

Xi-Cheng Zhang, Jin-Gen Shen, Zheng-Wo Jia, Li-Fen Qian, Yuan-Long Sun

Xi-Cheng Zhang, Jin-Gen Shen, Zheng-Wo Jia, Li-Fen Qian, Yuan-Long Sun, Department of Gastroenterology, The First People's Hospital of Tongxiang City, Tongxiang 314500, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Yuan-Long Sun, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First People's Hospital of Tongxiang City, 1918 East Campus Road, Tongxiang 314500, Zhejiang Province, China. 108444989@qq.com

Received: 2019-03-27

Revised: 2019-04-30

Accepted: 2019-06-17

Published online: 2019-07-08

## Abstract BACKGROUND

MiR-183 is lowly expressed in various tumor tissues such as gastric cancer, breast cancer, and bladder cancer, and plays a role as a tumor suppressor gene. However, its mechanism of action in gastric cancer is still not fully understood. Studies have shown that miR-183 can inhibit the growth, migration, and invasion of osteosarcoma cells by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway, and the high activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway is closely related to the occurrence and metastasis of gastric cancer. However, it is still unclear whether miR-183 affects the biological behaviors of gastric cancer cells by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

## AIM

To investigate the effect of miR-183 on the biological behaviors of gastric cancer cells and the possible mechanism involved.

## METHODS

qRT-PCR was used to detect the expression of miR-183 in different gastric cancer cell lines. After gastric cancer SGC-7901 cells were transfected with miR-183 mimic or miR-NC, the transfection efficiency was detected by qRT-PCR, the proliferation of SGC-7901 cells was detected by MTT proliferation assay, the apoptosis of SGC-7901 cells was detected by flow cytometry, and the invasion and migration of SGC-7901 cells were detected by Transwell assay. Western blot was used to detect the expression of apoptosis-related and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway-related proteins. The SGC-7901 cells overexpressing miR-183 were treated with Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway agonist lithium chloride to observe the changes

in biological behaviors of SGC-7901 cells.

## RESULTS

Compared with normal gastric mucosal epithelial GES-1 cells, the expression of miR-183 was significantly decreased in the four gastric cancer cell lines ( $P < 0.05$ ). The expression level of miR-183 was significantly increased in SGC-7901 cells transfected with miR-183 mimic ( $P < 0.05$ ). After overexpression of miR-183, the proliferation of SGC-7901 cells decreased ( $P < 0.05$ ), the apoptosis rate and the protein expression of Bax and cleaved Caspase-3 increased ( $P < 0.05$ ), and cell migration and invasion decreased ( $P < 0.05$ ). The expression levels of  $\beta$ -catenin, p-GSK-3 $\beta$ , and cyclin D1 proteins were down-regulated ( $P < 0.05$ ), and the expression level of GSK-3 $\beta$  protein was up-regulated ( $P < 0.05$ ). Activation of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway partially reversed the inhibitory effect of miR-183 overexpression on the proliferation, invasion, and migration of SGC-7901 cells and the promotive effect on cell apoptosis ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

MiR-183 inhibits the proliferation, invasion, and migration of human gastric cancer SGC-7901 cells and promotes cell apoptosis possibly by inhibiting the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway.

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

Key Words: MiR-183; Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway; Gastric cancer cells; Proliferation; Apoptosis; Invasion and migration

Zhang XC, Shen JG, Jia ZW, Qian LF, Sun YL. MiR-183 affects biological behaviors of gastric cancer SGC-7901 cells by regulating the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 798-806  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/798.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.798>

## 摘要

### 背景

miR-183在胃癌、乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤组织中低表达,发挥抑癌基因的作用,但其在胃癌中作用机制目前尚不十分清楚。研究表明,miR-183可以通过调节Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭,而Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在胃癌中高度激活与胃癌的发生和转移密切相关。但miR-183是否调节Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌细胞生物学特性尚不清楚。

### 目的

探讨miR-183调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对胃癌细胞

生物学特性的影响。

## 方法

采用qRT-PCR检测miR-183在不同胃癌细胞株中的表达情况,在胃癌细胞SGC-7901中转染miR-183 mimics或mimics对照,分别设为miR-183组和miR-NC组,qRT-PCR检测转染效率,噻唑蓝增殖实验检测SGC-7901细胞增殖变化,流式细胞仪检测SGC-7901细胞凋亡情况,Transwell实验检测SGC-7901细胞侵袭和迁移能力,Western blot法检测凋亡相关及Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关蛋白表达水平。使用Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激动剂氯化锂处理过表达miR-183的SGC-7901细胞,观察SGC-7901细胞生物学特性的变化。

## 结果

与正常胃黏膜上皮GES-1细胞相比,4株胃癌细胞中miR-183的表达水平明显降低( $P < 0.05$ )。转染miR-183 mimics后SGC-7901细胞中miR-183的表达水平显著升高( $P < 0.05$ )。过表达miR-183后SGC-7901细胞OD值降低( $P < 0.05$ ),凋亡率、Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平升高( $P < 0.05$ ),侵袭和迁移细胞数减少( $P < 0.05$ ), $\beta$ -catenin、p-GSK-3 $\beta$ 和Cyclin D1蛋白表达水平下调( $P < 0.05$ ),GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平上调( $P < 0.05$ )。激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路部分逆转了过表达miR-183对SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移的抑制作用及凋亡促进作用( $P < 0.05$ )。

## 结论

miR-183可能通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路阻碍人胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移能力,促进细胞凋亡。

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

关键词: miR-183; Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路; 胃癌细胞; 增殖; 凋亡; 迁移和侵袭

**核心提要:** miR-183可能通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路阻碍人胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移能力,促进细胞凋亡。

张希成, 沈金根, 贾正我, 钱丽芬, 孙元龙. miR-183调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌SGC-7901细胞生物学特性的研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 798-806  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/798.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.798>

## 0 引言

胃癌是全球第四大常见癌症,也是全球癌症死亡的第



三大原因. 在中国, 统计数据表明, 就发病率(每10万人中有679.1人)和死亡率(每10万人中有498.0人)而言, 胃癌是第二大常见癌症<sup>[1]</sup>. 近年来, 随着胃镜检查和手术技术的发展, 早期胃癌的5年死亡率显著降低, 然而, 对于晚期胃癌, 5年死亡率仍为30%-50%<sup>[2]</sup>. 晚期胃癌死亡率与腹膜播散, 血行播散和淋巴结转移有关. 因此, 有必要探讨胃癌进展的机制, 如增殖, 生长, 凋亡, 迁移和侵袭. 大量研究表明, 微小RNA(microRNA, miRNA)在胃癌进展中起重要作用<sup>[3-5]</sup>. miRNA是高度保守的非编码序列, 其长度通常为18至24个核苷酸, 通过与靶基因mRNA的3'UTR结合, 以抑制靶基因翻译或诱导其降解. 迄今为止, 已经鉴定了超过2500种miRNA(miRbase数据库), 并且它们的异位表达与肿瘤生长, 侵袭, 转移, 肿瘤细胞增殖和凋亡相关<sup>[6]</sup>. miR-183是一种在不同物种中高度保守的miRNA, 最近的证据表明, 其在乳腺癌、膀胱癌和子宫内膜癌等多种肿瘤中异常表达, 参与肿瘤的形成和进展<sup>[7-9]</sup>. 已有报道表明miR-183在胃癌组织中表达水平降低, 发挥抑癌基因的作用, 但其作用机制目前尚不完全清楚<sup>[10]</sup>. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路普遍存在于动物体, 在调控机体生长发育、细胞增殖分化、肿瘤发生等多种生理病理中扮演重要角色<sup>[11,12]</sup>. 目前研究显示, Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在胃癌中高度激活, 且与胃癌的发生和转移密切相关<sup>[13]</sup>. 目前关于miR-183是否通过调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌细胞生物学特性的研究尚无报道, 因此本实验以胃癌SGC-7901细胞为研究对象, 探究miR-183影响胃癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移可能的机制.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 人正常胃黏膜上皮GES-1细胞及4株胃癌SGC-7901、NCI-N87、MKN-28和MKN-45细胞购自美国ATCC细胞库; 胎牛血清、胰蛋白酶购自美国HyClone公司; 青霉素、链霉素购自北京鼎国昌盛生物技术有限公司; PRIM-1640培养基购自美国Gibco公司; miR-183 mimics及mimics Control购自广州市锐博生物科技有限公司; Lipofectamine 2000转染试剂购自美国Invitrogen公司; MTT试剂购自美国Sigma公司; Annexin V-FITC/PI细胞凋亡测定试剂盒购自日本TaKaRa公司; TRIzol试剂、逆转录试剂盒、荧光定量PCR测定试剂盒购自北京康为世纪生物科技有限公司; BCA蛋白浓度测定试剂盒、ECL化学发光试剂购自碧云天生物科技公司; 兔抗Bax一抗和兔抗Cleaved Caspase-3一抗和辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔IgG购自美国Abcam公司; 兔抗 $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 和Cyclin D1抗

体购自美国CST公司.

## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养和转染:** 人正常胃黏膜上皮GES-1细胞及胃癌SGC-7901、NCI-N87、MKN-28和MKN-45细胞培养于含10%胎牛血清、 $1 \times 10^5$  U/L青霉素、100 mg/L链霉素的PRIM-1640培养基中, 置于5%CO<sub>2</sub>、相对湿度95%、37 °C培养箱内培养, 及时观察细胞生长状态并更换新鲜培养液, 待细胞生长汇合率在80%以上时, 使用0.25%的胰蛋白酶消化细胞, 进行传代培养.

选择SGC-7901细胞为转染对象, 转染前1 d, 将处于对数生长期的SGC-7901细胞种植到6孔板中, 置37 °C培养箱过夜培养, 采用Lipofectamine 2000分别将miR-183 mimics和对照mimics Control转染至SGC-7901细胞, 分别记为miR-183组和miR-NC组, 同时设置空白对照, 即未转染的SGC-7901细胞记为Blank组. 具体操作步骤参考Lipofectamine 2000试剂说明书, 转染后6 h更换为完全培养液.

**1.2.2 qRT-PCR检测各细胞中miR-183的表达水平:** 分别收集对数生长期的GES-1、SGC-7901、NCI-N87、MKN-28、MKN-45及转染48 h后各组SGC-7901细胞, 使用TRIzol试剂提取细胞总RNA, 使用逆转录试剂盒以总RNA为模板合成cDNA, 测定cDNA浓度, 以cDNA为模板使用荧光定量PCR试剂盒扩增目的产物, 扩增条件设置为: 94 °C预变性3 min, 94 °C变性20 s, 60 °C退火20 s, 72 °C延伸10 s, 共设40个循环. 以U6为内参, 使用2<sup>- $\Delta\Delta C_t$</sup> 法计算各细胞系及各组SGC-7901细胞中miR-183相对表达水平.

**1.2.3 MTT法检测SGC-7901细胞增殖能力:** 收集转染48 h后各组SGC-7901细胞接种于96孔板中, 每孔 $5 \times 10^3$ 个, 待细胞贴壁后按照方法1.2进行转染和分组, 分别在转染12、24、48、72 h时, 向每孔细胞中加入10  $\mu$ L浓度为5 mg/mL的MTT, 于37 °C下孵育4 h, 弃上清后每孔细胞中加入150  $\mu$ L二甲亚砜, 避光反应10 min, 使用酶标仪测定各孔细胞在490 nm处OD值, 每组细胞每个时间点设置3个复孔, 实验重复3次.

**1.2.4 流式细胞仪检测细胞凋亡情况:** 收集转染48 h后各组SGC-7901细胞, 用预冷PBS洗涤2次, 收集约 $1 \times 10^6$ 个细胞, 加入100  $\mu$ L结合缓冲液重悬细胞, 再向细胞中分别加入5  $\mu$ L FITC-Annexin V和5  $\mu$ L PI染液, 轻轻混匀, 避光孵育30 min, 立即上流式细胞仪检测细胞凋亡情况, 实验重复3次.

**1.2.5 Transwell实验检测细胞侵袭和迁移能力:** 使用RPMI-1640培养液稀释Matrigel基质胶, 稀释的Matrigel胶包被Transwell小室的上室面, 风干待用. 分别收集转

染24 h各组SGC-7901细胞, 以无血清培养液重悬细胞, 制成 $2 \times 10^5$ 个/mL的细胞悬液, 取200  $\mu$ L细胞悬液加入到Transwell小室的上室(Transwell迁移实验上室不以Matrigel胶包被), 在下室中加入500  $\mu$ L含10%胎牛血清的RPMI-1640培养液, 置培养箱中常规培养24 h. 取出小室, 用棉签擦去上室细胞, PBS洗涤小室3次, 以多聚甲醛固定20 min, 结晶紫染色20 min, PBS洗涤数次, 风干后在倒置显微镜下随机选取5个视野, 观察并记录穿膜细胞数, 实验重复3次.

**1.2.6 Western blot检测各组SGC-7901细胞中蛋白表达水平:** 转染48 h后, 收集各组SGC-7901细胞, 加入细胞裂解液在冰上提取总蛋白. BCA蛋白浓度测定试剂盒检测总蛋白浓度, 取30  $\mu$ g蛋白样品经10%十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳分离蛋白, 将凝胶上的蛋白电转至PVDF膜上, 将膜置5%脱脂奶粉中封闭1 h, 分别加入一抗4  $^{\circ}$ C过夜孵育, Bax一抗(1:1000), Cleaved Caspase-3一抗(1:1000),  $\beta$ -catenin一抗(1:1000), GSK-3 $\beta$ 一抗(1:1000), p-GSK-3 $\beta$ 一抗(1:1000), Cyclin D1一抗(1:1000). PBST洗涤3次, 每次10 min, 加入辣根过氧化物酶标记的二抗(1:3000), 室温孵育2 h. PBST洗涤3次, 每次10 min, 加入ECL化学发光试剂显影, 以GAPDH为内参, 使用Image J软件分析各条带灰度值, 计算各组SGC-7901细胞中目的蛋白相对表达水平.

**1.2.7 激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对SGC-7901细胞的影响:** 为进一步探究miR-183通过调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌细胞增殖、凋亡侵袭和迁移的生物学特性, 本实验在过表达miR-183的SGC-7901细胞添加20 mmol/L的Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激动剂LiCl, 分别采用MTT、流式细胞仪、Transwell实验检测细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移能力的变化.

**统计学处理** 使用SPSS 21.0软件分析数据, 所得数据均以mean $\pm$ SD表示, 两组间差异比较采用 $t$ 检验, 多组间差异比较采用单因素方差分析, 两两组间差异比较采用SNK- $q$ 检验分析, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 miR-183在胃癌细胞中呈低表达** qRT-PCR检测结果表明, 与人正常胃黏膜上皮GES-1细胞相比, 4株胃癌SGC-7901、NCI-N87、MKN-28和MKN-45细胞中miR-183的表达水平明显降低( $P < 0.05$ ). 见图1. 提示miR-183在胃癌细胞中呈低表达, 尤其在SGC-7901细胞中表达水平最低, 后续选取SGC-7901细胞株进行miR-183过表达的功能研究.

**2.2 SGC-7901细胞中miR-183 mimics转染效率检测** qRT-PCR检测结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞中miR-183表达水平明显升高( $P < 0.05$ ). Blank组与miR-NC组比, SGC-7901细胞中miR-183表达水平差异无明显变化( $P > 0.05$ ). 见图2. 结果表明miR-183 mimis转染胃癌SGC-7901细胞能够上调miR-183的表达, 可满足后续miR-183过表达的功能研究.

**2.3 过表达miR-183抑制SGC-7901细胞增殖能力** MTT实验检测结果表明, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞增殖能力明显降低( $P < 0.05$ ). Blank组与miR-NC组比, SGC-7901细胞增殖能力无明显改变( $P > 0.05$ ). 见图3. 说明过表达miR-183能够抑制SGC-7901细胞体外增殖能力.

**2.4 过表达miR-183促进SGC-7901细胞凋亡** 流式细胞仪和Western blot检测结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞凋亡率、Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平平均明显升高( $P < 0.05$ ). Blank组与miR-NC组比, SGC-7901细胞凋亡率、Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平平均无明显改变( $P > 0.05$ ). 见图4. 提示过表达miR-183能够促进SGC-7901细胞凋亡.

**2.5 过表达miR-183抑制SGC-7901细胞侵袭和迁移能力** Transwell实验结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组侵袭和迁移细胞数均明显减少( $P < 0.05$ ). Blank组与miR-NC组比, 侵袭和迁移细胞数均无明显改变( $P > 0.05$ ). 见图5. 提示过表达miR-183能够抑制SGC-7901细胞侵袭和迁移能力.

**2.6 过表达miR-183抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活** Western blot检测结果显示, 与Blank组和miR-NC组比, miR-183组SGC-7901细胞中 $\beta$ -catenin、p-GSK-3 $\beta$ 和Cyclin D1蛋白表达水平下调( $P < 0.05$ ), GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平上调( $P < 0.05$ ). Blank组与miR-NC组比,  $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 和Cyclin D1表达水平无明显变化( $P > 0.05$ ). 见图6. 提示过表达miR-183能够抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活.

**2.7 LiCl激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对SGC-7901细胞的影响** 使用Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激动剂激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路后, MTT实验、流式细胞仪以及Transwell实验结果发现, 与miR-183组比, miR-183+LiCl组SGC-7901细胞增殖能力升高( $t = 6.832, P < 0.05$ ), 凋亡率下降( $t = 5.24, P < 0.05$ ), 侵袭和迁移细胞数增多[ $t$ (侵袭) = 7.281,  $t$ (迁移) = 7.564,  $P < 0.05$ ]. 见图7. 表明miR-183介导Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响SGC-7901细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移.

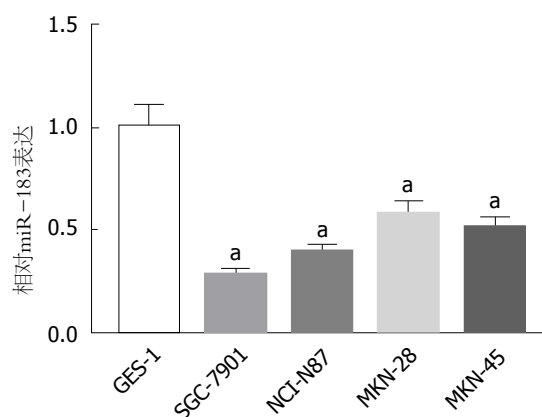


图1 qRT-PCR检测不同细胞株中miR-183的表达水平。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与GES-1细胞比。

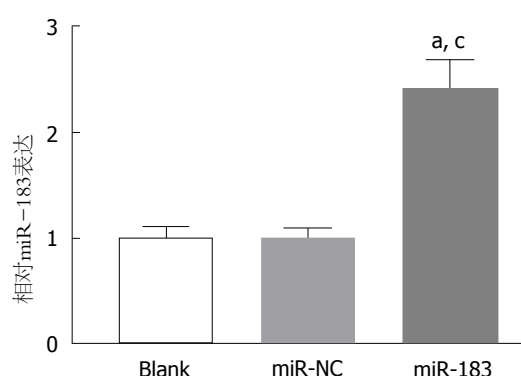


图2 转染miR-183 mimics对SGC-7901细胞中miR-183表达的影响。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与Blank组比; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与miR-NC组比。

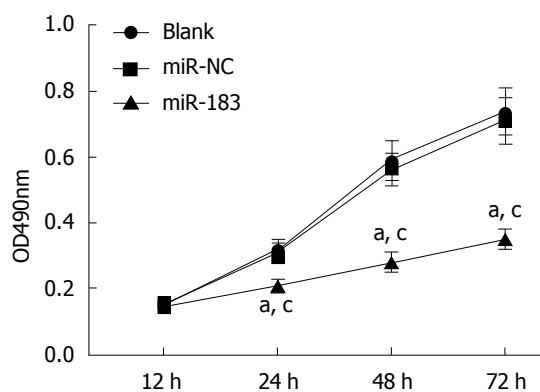


图3 过表达miR-183对SGC-7901细胞增殖能力的影响。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与Blank组比; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与miR-NC组比。

### 3 讨论

目前研究已经证明miRNA是致癌过程中的关键调节剂, 例如肿瘤细胞增殖, 分化, 侵袭和转移, 起到肿瘤抑制剂或癌基因的作用<sup>[14,15]</sup>。因此, 阐明miRNA在肿瘤发展中的潜在机制可为恶性肿瘤提供有价值的诊断和治疗策略。本实验探究了miR-183在不同胃癌细胞株及正常胃

黏膜上皮细胞中的表达, 结果发现miR-183在4种胃癌细胞株中的表达均显著低于正常胃黏膜上皮细胞, 其中miR-183在胃癌SGC-7901细胞中表明量降低最为明显。Cao等<sup>[16]</sup>研究发现, 胃癌组织中miR-183的表达明显低于其邻近正常组织, miR-183的下调与淋巴结转移和病理TNM分期密切相关, 体外细胞实验发现miR-183通过调节Ezrin在胃癌中起到肿瘤抑制剂的作用。而Li等<sup>[17]</sup>实验表明, miR-183可能通过调节胃癌细胞增殖, 凋亡和转移而作为致癌基因起作用, 并且miR-183的致癌作用可能与直接靶向PDCD4有关。提示miR-183在胃癌中的作用可能与肿瘤微环境下调控的不同靶基因有关。本实验构建过表达miR-183的SGC-7901细胞, 结果发现过表达miR-183可抑制SGC-7901细胞体外增殖、侵袭和迁移能力, 且能够诱导细胞凋亡, 表明miR-183在胃癌SGC-7901细胞中发挥抑癌基因的作用。

Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在进化上高度保守, 在细胞增殖、分化及黏附等多种细胞生物学行为中发挥重要作用<sup>[18]</sup>。多项研究表明, Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在肝癌、乳腺癌、肺癌等多种恶性肿瘤的发生和发展中起关键作用<sup>[19-21]</sup>。目前研究已发现胃癌中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路异常激活, 且在胃癌发生和进展中发挥重要作用<sup>[22]</sup>。 $\beta$ -catenin是Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的关键效应因子, 被认为是肿瘤进展中有效的致癌基因。Wnt蛋白作为一种细胞生长信号因子, 诱导细胞内信号转导导致GSK-3 $\beta$ 蛋白发生磷酸化, 进而阻碍 $\beta$ -catenin降解, 导致 $\beta$ -catenin累积。当 $\beta$ -catenin转位至细胞核中, 将激活下游分子Cyclin D1等的转录, 调节细胞增殖、迁移等相应细胞学行为<sup>[23]</sup>。Leung等<sup>[24]</sup>研究发现, Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激活可促进高侵袭性肝细胞癌中miR-183/96/182的表达。最近Yang等<sup>[25]</sup>研究发现miR-183通过调节Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭。本研究中, 过表达miR-183后通过Western blot检测SGC-7901细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关分子, 结果发现 $\beta$ -catenin、p-GSK-3 $\beta$ 和Cyclin D1蛋白表达水平均明显下调, 而GSK-3 $\beta$ 蛋白表达水平上调, 表明过表达miR-183能够抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活, 提示miR-183对胃癌SGC-7901细胞生物学特性的影响可能与调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活有关。为进一步探究miR-183通过调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路发挥作用, 本实验在过表达miR-183的SGC-7901细胞中添加Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路特异性激动剂LiCl激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 结果显示, LiCl激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路可部分逆转过表达miR-183导致的对SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移能力的抑制作用以及对细胞



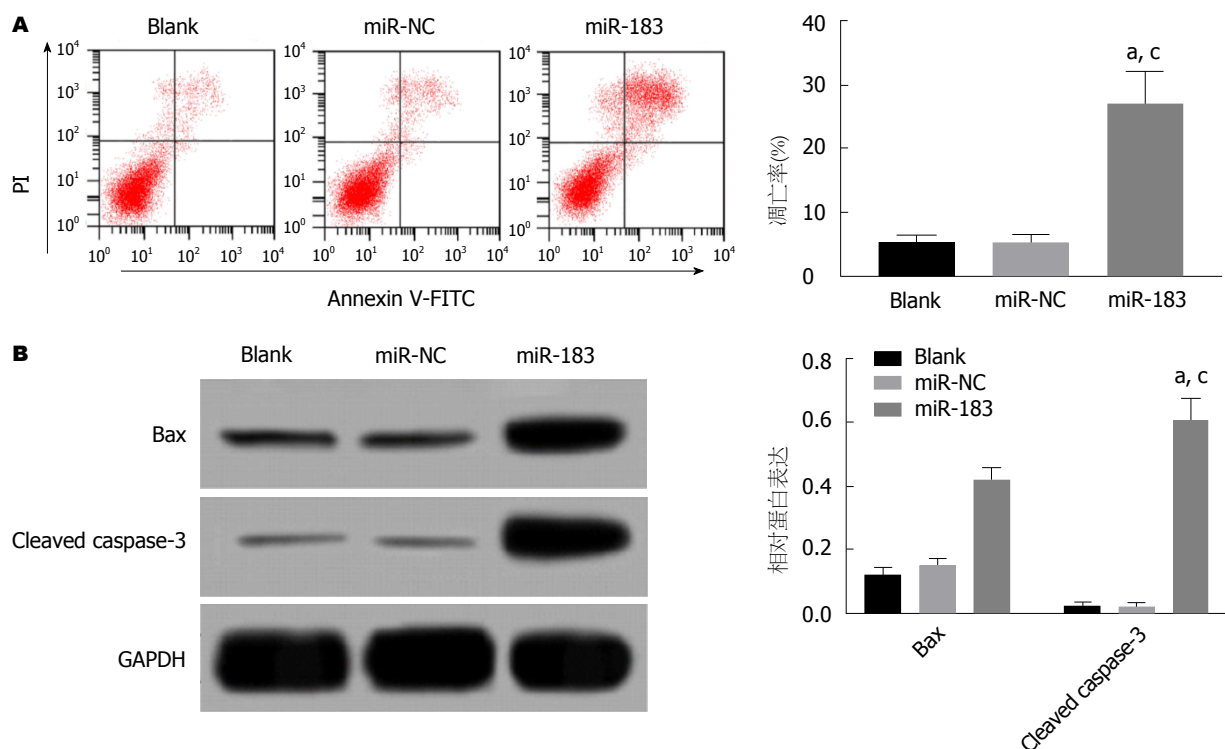


图 4 过表达miR-183对SGC-7901细胞凋亡的影响. A: 流式细胞仪检测各组SGC-7901细胞凋亡率; B: Western blot检测各组SGC-7901细胞中Bax和Cleaved Caspase-3蛋白表达水平. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与Blank组比; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与miR-NC组比.

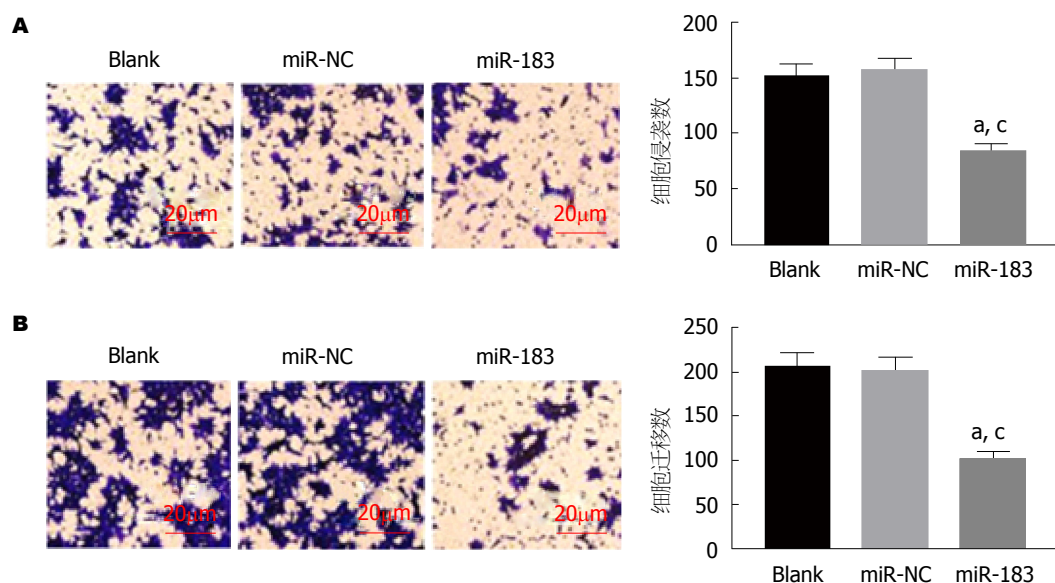


图 5 过表达miR-183对SGC-7901细胞侵袭和迁移能力的影响. A: Transwell实验检测SGC-7901细胞侵袭能力; B: Transwell实验检测SGC-7901细胞迁移能力. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与Blank组比; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与miR-NC组比.

凋亡诱导作用. 以上实验结果表明miR-183通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活抑制胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移, 促进细胞凋亡.

总之, 本研究表明miR-183可抑制胃癌SGC-7901细胞增殖、侵袭和迁移, 促进细胞凋亡, 该过程与抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路的激活有关. 了解miR-183在胃癌发病机制和Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路中的确切作用有

望增加我们对癌症发展的生物学基础的掌握, 且还可促进针对胃癌的新治疗策略的开发.

## 文章亮点

## 实验背景

miR-183在胃癌、乳腺癌、膀胱癌等多种肿瘤组织中



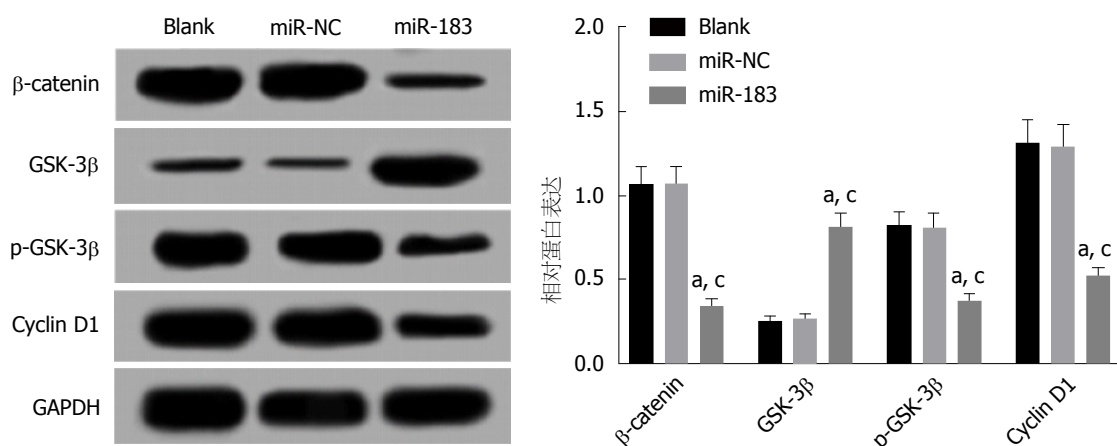


图 6 SGC-7901细胞中 $\beta$ -catenin、GSK-3 $\beta$ 、p-GSK-3 $\beta$ 和Cyclin D1蛋白检测。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与Blank组比; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与miR-NC组比。

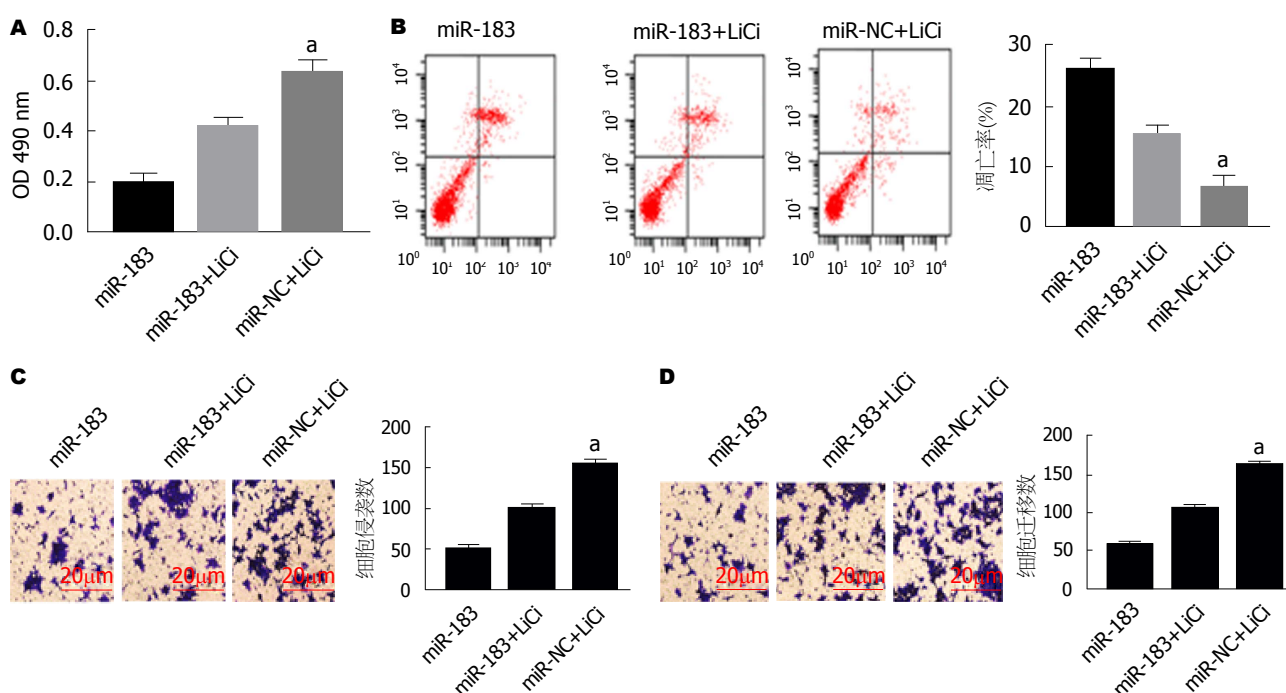


图 7 激活Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路对过表达miR-183的SGC-7901细胞的影响。A: MTT法检测SGC-7901细胞增殖活力; B: 流式细胞仪检测细胞凋亡率; C: Transwell实验检测细胞侵袭能力; D: Transwell实验检测细胞迁移能力。<sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与miR-183组比。

低表达, 发挥抑癌基因的作用, 但其在胃癌中作用机制目前尚不十分清楚。研究表明, miR-183可以通过调节Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路抑制骨肉瘤细胞的生长、迁移和侵袭, 而Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路在胃癌中高度激活与胃癌的发生和转移密切相关。但miR-183是否调节Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌细胞生物学特性尚不清楚。

#### 实验动机

本研究探讨miR-183是否通过调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移, 旨在阐明miR-183在胃癌中的抗癌机制。

#### 实验目标

本研究探讨miR-183是否通过调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路影响胃癌细胞增殖、凋亡、侵袭和迁移, 旨在阐明miR-183在胃癌中的抗癌机制。

#### 实验方法

体外培养人正常胃黏膜细胞和4中胃癌细胞系, RT-qPCR检测miR-183在各细胞中的表达情况。以胃癌SGC-7901细胞为研究对象, 构建过表达miR-183的胃癌细胞, MTT法、流式细胞术和Transwell实验分别检测过表达miR-183对胃癌细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭的影响,

Western blot实验检测过表达miR-183对胃癌细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin通路相关蛋白表达的影响. 使用Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激动剂激活过表达miR-183的胃癌细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 观察细胞增殖、凋亡、迁移和侵袭能力变化.

## 实验结果

miR-183在4中胃癌细胞株中均表达下调. 过表达miR-183抑制胃癌SGC-7901细胞增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡, 抑制胃癌细胞中Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路相关蛋白表达. Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路激动剂处理过表达miR-183的胃癌细胞后, miR-183对胃癌细胞增殖、迁移和侵袭的抑制作用减弱, 对胃癌细胞凋亡的促进作用也减弱.

## 实验结论

过表达miR-183可能通过抑制Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路, 抑制胃癌细胞增殖、迁移和侵袭并诱导细胞凋亡.

## 展望前景

本研究仅初步证实miR-183在胃癌中的抑癌作用可能与调控Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路有关, 后期将继续深入探讨miR-183具体与哪个分子靶向结合而调控Wnt/ $\beta$ -catenin通路, 在胃癌中发挥抗癌作用.

## 4 参考文献

- Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338.]
- Ciesielski M, Kruszkowski WJ, Walczak J, Szajewski M, Szefer J, Wydra J, Buczek T, Czerepko M. Analysis of postoperative morbidity and mortality following surgery for gastric cancer. Surgeon volume as the most significant prognostic factor. *Prz Gastroenterol* 2017; 12: 215-221 [PMID: 29123584 DOI: 10.5114/pg.2017.70475]
- Alessandrini L, Manchi M, De Re V, Dolcetti R, Canzonieri V. Proposed Molecular and miRNA Classification of Gastric Cancer. *Int J Mol Sci* 2018; 19 [PMID: 29882766 DOI: 10.3390/ijms19061683]
- Hao NB, He YF, Li XQ, Wang K, Wang RL. The role of miRNA and lncRNA in gastric cancer. *Oncotarget* 2017; 8: 81572-81582 [PMID: 29113415 DOI: 10.18632/oncotarget.19197]
- Liao Y, Liao Y, Li J, Liu L, Li J, Wan Y, Peng L. Genetic variants in miRNA machinery genes associated with clinicopathological characteristics and outcomes of gastric cancer patients. *Int J Biol Markers* 2018; 33: 301-307 [PMID: 29683064 DOI: 10.1177/1724600818754752]
- Franke KR, Schmidt SA, Park S, Jeong DH, Accerbi M, Green PJ. Analysis of Brachypodium miRNA targets: evidence for diverse control during stress and conservation in bioenergy crops. *BMC Genomics* 2018; 19: 547 [PMID: 30029591 DOI: 10.1186/s12864-018-4911-7]
- Macedo T, Silva-Oliveira RJ, Silva VAO, Vidal DO, Evangelista AF, Marques MMC. Overexpression of mir-183 and mir-494 promotes proliferation and migration in human breast cancer cell lines. *Oncol Lett* 2017; 14: 1054-1060 [PMID: 28693273 DOI: 10.3892/ol.2017.6265]

- Gao JM, Huang LZ, Huang ZG, He RQ. Clinical value and potential pathways of miR-183-5p in bladder cancer: A study based on miRNA-seq data and bioinformatics analysis. *Oncol Lett* 2018; 15: 5056-5070 [PMID: 29616090 DOI: 10.3892/ol.2018.7967]
- Ruan H, Liang X, Zhao W, Ma L, Zhao Y. The effects of microRNA-183 promotes cell proliferation and invasion by targeting MMP-9 in endometrial cancer. *Biomed Pharmacother* 2017; 89: 812-818 [PMID: 28273643 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.02.091]
- 俞进友, 仇建玲, 朱正峰, 田翠芳. 胃癌组织中miR-98和miR-183表达及临床意义. *临床肿瘤学杂志* 2018; 23: 408-412 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-0460.2018.05.005]
- Nusse R, Clevers H. Wnt/ $\beta$ -Catenin Signaling, Disease, and Emerging Therapeutic Modalities. *Cell* 2017; 169: 985-999 [PMID: 28575679 DOI: 10.1016/j.cell.2017.05.016]
- Janda CY, Dang LT, You C, Chang J, de Lau W, Zhong ZA, Yan KS, Marecic O, Siepe D, Li X, Moody JD, Williams BO, Clevers H, Piehler J, Baker D, Kuo CJ, Garcia KC. Surrogate Wnt agonists that phenocopy canonical Wnt and  $\beta$ -catenin signalling. *Nature* 2017; 545: 234-237 [PMID: 28467818 DOI: 10.1038/nature22306]
- Dai H, Deng HB, Wang YH, Guo JJ. Resveratrol inhibits the growth of gastric cancer via the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Oncol Lett* 2018; 16: 1579-1583 [PMID: 30008840 DOI: 10.3892/ol.2018.8772]
- Xu J, Xiao X, Yang D. In Vitro Methods for Analyzing miRNA Roles in Cancer Cell Proliferation, Invasion, and Metastasis. *Methods Mol Biol* 2018; 1733: 159-171 [PMID: 29435931 DOI: 10.1007/978-1-4939-7601-0\_13]
- Ganju A, Khan S, Hafeez BB, Behrman SW, Yallapu MM, Chauhan SC, Jaggi M. miRNA nanotherapeutics for cancer. *Drug Discov Today* 2017; 22:424-432 [PMID: 27815139 DOI: 10.1016/j.drudis.2016.10.014]
- Cao LL, Xie JW, Lin Y, Zheng CH, Li P, Wang JB, Lin JX, Lu J, Chen QY, Huang CM. miR-183 inhibits invasion of gastric cancer by targeting Ezrin. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 5582-5594 [PMID: 25337200]
- Li C, Deng L, Zhi Q, Meng Q, Qian A, Sang H, Li X, Xia J. MicroRNA-183 Functions As an Oncogene by Regulating PDCD4 in Gastric Cancer. *Anticancer Agents Med Chem* 2016; 16: 447-455 [PMID: 26961483]
- Liu X, Gao Q, Zhao N, Zhang X, Cui W, Sun J, Fu J, Hao J. Sohlh1 suppresses glioblastoma cell proliferation, migration, and invasion by inhibition of Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Mol Carcinog* 2018; 57: 494-502 [PMID: 29240260 DOI: 10.1002/mc.22774]
- Debebe A, Medina V, Chen CY, Mahajan IM, Jia C, Fu D, He L, Zeng N, Stiles BW, Chen CL, Wang M, Aggarwal KR, Peng Z, Huang J, Chen J, Li M, Dong T, Atkins S, Borok Z, Yuan W, Machida K, Ju C, Kahn M, Johnson D, Stiles BL. Wnt/ $\beta$ -catenin activation and macrophage induction during liver cancer development following steatosis. *Oncogene* 2017; 36: 6020-6029 [PMID: 28671671 DOI: 10.1038/ncr.2017.207]
- Xiao X, Ao M, Xu F, Li X, Hu JL, Wang Y, Li DX, Zhu XQ, Xin CL, Shi WD. Effect of matrine against breast cancer by downregulating the vascular endothelial growth factor via the Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Oncol Lett* 2018; 15: 1691-1697 [PMID: 29434864 DOI: 10.3892/ol.2017.7519]
- Zhang Q, Zhang B, Sun L, Yan Q, Zhang Y, Zhang Z, Su Y, Wang C. MicroRNA-130b targets PTEN to induce resistance to cisplatin in lung cancer cells by activating Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Cell Biochem Funct* 2018; 36: 194-202 [PMID: 29653464 DOI: 10.1002/cbf.3331]

- 22 Li G, Su Q, Liu H, Wang D, Zhang W, Lu Z, Chen Y, Huang X, Li W, Zhang C, He Y, Fu L, Bi J. Frizzled7 Promotes Epithelial-to-mesenchymal Transition and Stemness Via Activating Canonical Wnt/ $\beta$ -catenin Pathway in Gastric Cancer. *Int J Biol Sci* 2018; 14: 280-293 [PMID: 29559846 DOI: 10.7150/ijbs.23756]
- 23 Zheng W, Lin P, Ma Y, Shao X, Chen H, Chen D, Liu X, Li X, Ye H. Psoralen promotes the expression of cyclin D1 in chondrocytes via the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Int J Mol Med* 2017; 40: 1377-1384 [PMID: 28949389 DOI: 10.3892/ijmm.2017.3148]
- 24 Leung WK, He M, Chan AW, Law PT, Wong N. Wnt/ $\beta$ -Catenin activates MiR-183/96/182 expression in hepatocellular carcinoma that promotes cell invasion. *Cancer Lett* 2015; 362: 97-105 [PMID: 25813403 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.03.023]
- 25 Yang X, Wang L, Wang Q, Li L, Fu Y, Sun J. MiR-183 inhibits osteosarcoma cell growth and invasion by regulating LRP6-Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 496: 1197-1203 [PMID: 29402412 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.01.170]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

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

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

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

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

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

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

## 表达持续活化型ALK3抑制大鼠肝星状细胞活化

石 慧, 柳长柏, 肖和杰

石慧, 海南医学院第一附属医院消化内科 海南省海口市 570000

石慧, 柳长柏, 三峡大学肿瘤微环境与免疫治疗湖北省重点实验室  
湖北省宜昌市 443000

石慧, 柳长柏, 肖和杰, 三峡大学肝病研究所 湖北省宜昌市 443000

石慧, 主治医师, 讲师, 主要从事消化系统疾病尤其是肝病临床及基础研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81070348.

作者贡献分布: 主要实验、数据分析及文章起草由石慧完成; 课题设计、  
文章修改与审阅由柳长柏与肖和杰完成.

通讯作者: 柳长柏, 教授, 443000, 湖北省宜昌市大学路8号, 三峡大学肿瘤  
微环境与免疫治疗湖北省重点实验室. 295489660@qq.com

收稿日期: 2019-03-20

修回日期: 2019-06-19

接受日期: 2019-06-25

在线出版日期: 2019-07-08

### Stable expression of constitutively activated ALK3 suppresses rat hepatic stellate cell activation

Hui Shi, Chang-Bai Liu, He-Jie Xiao

Hui Shi, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Hainan Medical College, Haikou 570000, Hainan Province, China

Hui Shi, Chang-Bai Liu, Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Hubei Province, Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Hui Shi, Chang-Bai Liu, He-Jie Xiao, Institute of Liver Diseases, China Three Gorges University, Yichang 443000, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81070348.

Corresponding author: Chang-Bai Liu, Professor, Key Laboratory of Tumor Microenvironment and Immunotherapy of Hubei Province,

Three Gorges University, No. 8 University Road, Yichang 443000, Hubei Province, China. 295489660@qq.com

Received: 2019-03-20

Revised: 2019-06-19

Accepted: 2019-06-25

Published online: 2019-07-08

### Abstract

#### BACKGROUND

Hepatic fibrosis is related to activation of hepatic stellate cells (HSCs) and epithelial mesenchymal transformation (EMT), in which transforming growth factor- $\beta$ 1 (TGF- $\beta$ 1) plays a pivotal role, but bone morphogenetic protein-7 (BMP7) can antagonize TGF- $\beta$ 1. Currently, the TGF- $\beta$ /BMPs-Smad signaling pathway is a hot topic of research in this field. ALK3 belongs to the constitutively activated type I receptor of BMPs, and its role in the molecular mechanism of hepatic fibrosis is rarely studied.

#### AIM

To detect the expression of Samd1, P-Smad1, and fibrosis-related genes E-cadherin,  $\alpha$ -SMA, and col1A2 in cultured rat HSCs (HSC-T6) to investigate how BMP-7 antagonizes TGF- $\beta$ 1 in the development of liver fibrosis and its anti-hepatic fibrosis mechanisms.

#### METHODS

After HSCs-T6 were transfected with constitutively active cDNA construct expressing ALK3, RT-PCR method was used to screen the cell line with stable ALK3 expression and detect the mRNA level of col1A2. MTT assay was used to examine the proliferation of HSC-T6 cells with high expression



of ALK3. Western blot method was used to detect the expression of Smad1, P-Smad1, E-cadherin,  $\alpha$ -SMA, and col1A2. Optic microscopy was used to detect the morphological changes of HSC-T6 cells with high expression of ALK3.

## RESULTS

Compared with control cells, ALK3 high expression restrained the growth of HSC-T6 cells, suppressed the expression of  $\alpha$ -SMA and col1A2, promoted the expression of P-Smad1 and E-cadherin, but had no significant effect on Samd1.

## CONCLUSION

BMP-7 competitively antagonizes TGF- $\beta$ 1 induced fibrosis by enhancing the phosphorylation of Samd1.

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

Key Words: Bone morphogenetic protein 7; Smad1; P-Smad1; Hepatic stellate cells

Shi H, Liu CB, Xiao HJ. Stable expression of constitutively activated ALK3 suppresses rat hepatic stellate cell activation. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 807-813

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/807.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.807>

## 摘要

### 背景

肝纤维化与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)上皮细胞间充质转化(epithelial mesenchymal transformation, EMT)相关, TGF- $\beta$ 1在其中起着重要的作用, 而BMP7能够拮抗TGF- $\beta$ 1, 目前主要研究的是TGF- $\beta$ /BMPs-Smad信号通路, ALK3属于BMPs的持续活化 I 型受体, 在肝纤维化分子研究机制中较少运用。

### 目的

观察大鼠HSCs中稳定表达持续活化型ALK3时 Smad1磷酸化及纤维化相关基因E-cadherin、 $\alpha$ -SMA、col1A2等表达情况, 探讨BMP-7信号转导在肝纤维化发生发展过程中拮抗TGF- $\beta$ 1信号及其抗肝纤维化机制。

### 方法

建立体外培养大鼠HSCs (HSC-T6)持续活化型ALK3的稳定表达细胞株, MTT检测细胞的增殖; RT-PCR检测col1A2等相关分子mRNA水平; Western blotting检测Samd1、E-cadherin、 $\alpha$ -SMA、col1A2蛋白表达和Smad1磷酸化; 显微镜下观察细胞形态。

## 结果

稳定表达持续活化型ALK3的HSC-T6细胞增殖受到抑制, Smad1磷酸化显著升高,  $\alpha$ -SMA, col1A2表达下调, E-cadherin表达上调。

## 结论

BMP-7信号转导通过增强Samd1的磷酸化而拮抗TGF- $\beta$ 1致纤维化作用, 抑制大鼠HSCs的活化。

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

关键词: 骨形成蛋白7; Smad1; 磷酸化Smad1; 肝星状细胞

**核心提要:** 利用BMP-7 I 型受体的持续性活化突变基因真核表达载体, 建立稳定高表达持续活化型BMP-7 I 型受体ALK3细胞株。无需BMP-7刺激, 持续活化型ALK3即可激活下游信号通路, 证实BMP-7信号转导通过增强Samd1的磷酸化而拮抗TGF- $\beta$ 1致纤维化作用, 抑制大鼠肝星状细胞的活化, 从而逆转肝纤维化, 解决临床上肝硬化难以逆转的问题, 挽救早期肝硬化患者。

石慧, 柳长柏, 肖和杰. 表达持续活化型ALK3抑制大鼠肝星状细胞活化. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 807-813

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/807.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.807>

## 0 引言

在肝纤维化发生发展过程中由于慢性炎症刺激肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)被活化, 由静止的储脂细胞转变成肌成纤维细胞(myofibroblast, MFB)并合成分泌大量纤维化相关因子和胶原蛋白<sup>[1]</sup>。TGF- $\beta$ 1在肝纤维化病理发展过程中发挥着极其重要的作用, BMP-7是TGF- $\beta$ 超家族成员之一, 许多研究表明BMP-7能够拮抗TGF- $\beta$ 的促纤维化作用, 在肝纤维化进展过程中, BMP-7表达水平被逐渐下调<sup>[2]</sup>。

ALK3属于BMPs的持续活化 I 型受体, 无需BMP-7与BMP-7 II 受体结合, 磷酸化细胞内相关信号蛋白Smad1/5/8, 磷酸化Smad1/5/8进而结合Smad4转移至细胞核并诱导下游靶基因表达。本实验利用BMP-7 I 型受体的持续性活化突变基因真核表达载体pcDNA3-HASL-ALK3(QD)转染大鼠HSCs株(HSC-T6), 建立稳定高表达持续活化型BMP-7 I 型受体ALK3细胞株。无需BMP-7刺激, 持续活化型ALK3即可激活下游信号通路, 探讨持续活化型ALK3对HSC-T6的影响, 探讨活化BMP-7信号通路抗肝纤维化分子机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 大鼠HSCs、DH5 $\alpha$ 大肠杆菌为三峡大学肝病研究所保存; 真核表达载体pcDNA3-HASL-ALK3(QD)质粒由日本东京大学宫园浩平教授惠赠; 限制性核酸内切酶、Taq DNA聚合酶、dNTP、RevertAid<sup>TM</sup> M-MuLV逆转录试剂盒购自美国Fermentas公司; DNA纯化试剂盒为QIAGEN公司产品; Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000和Trizol试剂为美国Invitrogen公司产品; 小鼠Samd1单克隆抗体、兔抗山羊P-Smad1多克隆抗体、山羊抗兔E-cadherin多克隆抗体、兔抗山羊col1A2多克隆抗体均为Santa Cruz Biotechnology公司产品; 小鼠 $\alpha$ -SMA单克隆抗体为Sigma公司产品; 辣根过氧化物酶标记兔抗山羊、山羊抗兔、羊抗小鼠IgG购自北京中杉金桥公司; ECL化学发光检测试剂为GE Healthcare公司产品, MTT及培养基DMEM购自美国Sigma公司; 寡聚核苷酸引物由上海生工技术服务有限公司合成。

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养及传代:** 本实验所用的细胞株大鼠HSCsHSC-T6置于含10%小牛血清及1%青霉素/链霉素的培养液DMEM, 37 °C 5% CO<sub>2</sub>培养箱中培养。细胞传代方法: 弃去旧的培养液, 用3 mL PBS洗2次后, 每瓶500  $\mu$ L 1%胰蛋白酶消化细胞1 min; 用3 mL细胞完全培养液终止消化并将细胞悬液转入15 mL离心管中, 800 rpm离心3 min, 弃上清液; 细胞用培养液重悬后, 以1:3的比例传代。

**1.2.2 重组质粒鉴定:** 用重组质粒pcDNA3-HASL-ALK3转化E.coli DH5 $\alpha$ 感受态细胞, 用含0.1 g/L氨苄青霉素的琼脂糖培养平板进行筛选, 挑取阳性单克隆菌落扩增培养, 提取质粒并用EcoRI/XhoI进行双酶切鉴定。酶切鉴定正确的质粒纯化后送上海生工生物工程有限公司测序。测序结果用DNAMAN与GenBank序列比对无误。

**1.2.3 建立稳定高表达持续活化型ALK3受体的HSC-T6细胞株:** 大鼠HSC-T6在转染前1 d传代, 长至细胞融合约80%, 转染前1 h换为无血清无双抗的DMEM培养液孵育。应用Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000试剂法用纯化的重组质粒pcDNA3-HASL-ALK3转染HSC-T6细胞, 同时转染空载质粒pcDNA3.1作为对照。37 °C 5% CO<sub>2</sub>培养箱孵育4-6 h后更换为DMEM完全培养液培养, 培养24 h后换为浓度800  $\mu$ g/mL Neomycin的完全培养液进行筛选, 2-3 d更换一次培养液, 待细胞克隆形成后, 挑取单克隆细胞进行扩大培养。

**1.2.4 RT-PCR法筛选稳定表达持续活化型ALK3的HSC-T6细胞株:** 分别收集稳定转染重组质粒pcDNA3-HASL-ALK3及空载质粒pcDNA3.1的HSC-T6细胞, 提取

细胞总RNA, 经DU730紫外分光光度仪检测在260 nm处的吸光度值, A260nm/A280nm比值均介于1.8-2.0之间, RNA琼脂糖凝胶电泳28 S、18 S和5 S条带清晰可见, 表明抽提的RNA较完整, 未见明显降解。提取的总RNA经逆转录合成cDNA第一链, 并以合成的cDNA为模板进行PCR反应。col1A2上游引物: 5'-TGGTCTTACTGGGA ACTTTG-3', 下游引物: 5'-CCGTTTGTCCGGGCTCAC CA-3'; col3A1上游引物: 5'-GTTCTGTAATATGGAAAC CGGAG-3', 下游引物: 5'-CAAGGACATCTTCAGGAA GATC-3'; col4A2上游引物: 5'-CTGGACCCAAAGGAC AACC-3', 下游引物: 5'-ACGGGTCCAGGGTCTCCT-3'; E-cadherin上游引物: 5'-CTCGTGGCTTTGTCAGCA-3', 下游引物: 5'-GACCCAGTCTCGTTTCTG-3',  $\alpha$ -SMA上游引物: 5'-GTGTGAAGAGGAAGACAG-3'下游引物: 5'-TTGGCCTTAGGGTTCAGC-3', 以GAPDH为内参照, 上游引物: 5'-TGGCACCCAGCACAATGAA-3', 下游引物: 5'-CTAAGTCATAGTCCGCCTAGAAGCA-3', PCR循环条件: 94 °C 5 min, 94 °C 30 s, 55 °C 30 s, 72 °C 30 s, 30个循环后, 72 °C 5 min结束扩增。PCR产物于1%琼脂糖凝胶电泳鉴定并在凝胶扫描仪下观察记录结果。获得稳定高表达持续活化型ALK3的细胞株命名为CA-ALK3-T6, 稳定转染空载体质粒细胞株命名为Vector-T6。

**1.2.5 Western blotting法检测稳定表达持续活化型ALK3对HSC-T6细胞的影响:** 收集并裂解细胞提取总蛋白, 用BCA试剂盒蛋白定量后进行SDS-PAGE分离蛋白, 采用湿转法将蛋白质转移至PVDF膜上, 1%脱脂奶粉封闭过夜后, 分别用小鼠Samd1单克隆抗体(1:800稀释)、兔抗山羊P-Smad1多克隆抗体(1:800稀释)、山羊抗兔E-cadherin多克隆抗体(1:1000稀释)、兔抗山羊col1A2多克隆抗体(1:800稀释); 小鼠 $\alpha$ -SMA单克隆抗体(1:1000稀释)和小鼠抗大鼠 $\beta$ -actin单克隆抗体(1:4000稀释)孵育2 h, TBST洗膜10 min/次3次, 再分别用辣根过氧化物酶(HRP)标记的山羊抗兔IgG(1:4000稀释), 兔抗山羊IgG(1:8000稀释)和羊抗小鼠IgG(1:5000稀释)孵育1 h, TBST洗膜3次(10 min/次), 采用ECL增强化学发光法检测结果。

**1.2.6 MTT法检测稳定表达持续活化型ALK3对HSC-T6细胞株增殖的影响:** 以 $2 \times 10^4$ 个/ml的细胞密度, 接种于96孔板中, 100  $\mu$ L/孔; 待细胞完全贴壁后, 加入MTT(200  $\mu$ g/mL, 无血清DMEM培养基配制), 37 °C继续孵育4 h, 去除培养基后每孔加入150  $\mu$ L的DMSO, 室温摇床振荡充分溶解结晶, 全自动酶标仪570 nm波长测定各孔吸光度(OD)值, 并以此检测时间点为0 h。用同样的方法测定细胞培养24、48、72 h各时间点的OD值, 以各时间点的

OD值与0 h OD值的比值反映细胞增殖的速度。

**统计学处理** 应用SPSS 13.0进行分析, 数据以mean ± SD表示, 样本均数比较采用*t*检验, 同一药物不同浓度组间采用单因素方差分析进行比较,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 稳定表达持续活化型ALK3受体对HSC-T6细胞形态的影响** 倒置相差显微镜下, 对照组Vector-T6细胞呈单层生长, 细胞间连接疏松, 细胞伪足多呈星形, 胞质薄而透明, 核椭圆; 而CA-ALK3-T6细胞连接紧密, 细胞成多角形或蝌蚪形, 胞质饱满, 核圆大(图1)。

**2.2 稳定表达持续活化型ALK3受体对HSC-T6细胞生长增殖的影响** 为观察稳定表达持续活化型ALK3受体后对HSC-T6细胞生长增殖的影响, 我们采用MTT法检测了稳定表达持续活化型ALK3对HSC-T6细胞增殖的影响(图2)。与0 h相比, 当培养24 h CA-ALK3-T6细胞和Vector-T6细胞增殖倍数分别为1.5和2.6倍; 当培养48 h, 对Vector-T6细胞增殖倍数为4.3倍, 而CA-ALK3-T6细胞为1.7倍( $P < 0.05$ ); 随着时间的延长, CA-ALK3-T6细胞增殖速度较对照细胞要慢( $P < 0.05$ )。因此稳定表达持续活化型ALK3受体后可抑制HSC-T6细胞的活化增殖, 并且具有时间依赖性。

**2.3 半定量RT-PCR检测稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞 $\alpha$ -SMA、col1A2等基因表达水平** 分别收集CA-ALK3-T6细胞和Vector-T6细胞, 提取总RNA, 经逆转录合成cDNA, 并以其作为模板进行RT-PCR反应。PCR产物经1%琼脂糖凝胶电泳后在凝胶成像仪下观察记录结果(图3)。电泳结果显示, 与阴性对照组Vector-T6细胞相比, CA-ALK3-T6细胞株 $\alpha$ -SMA、col1A2、col3A1、col4A2 mRNA表达水平明显下调, 而E-cadherin水平上调。

**2.4 Western blotting检测稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞BMP信号转导相关蛋白** 我们进一步检测了稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞BMP信号转导及纤维化相关蛋白表达, 培养CA-ALK3-T6细胞和Vector-T6细胞, 分别收集细胞并提取细胞总蛋白, 进行Western blotting分析。与阴性对照细胞株Vector-T6相比, CA-ALK3-T6细胞P-Smad1磷酸化水平明显上升、E-cadherin表达水平上调,  $\alpha$ -SMA, col1A2蛋白表达下降, Smad1蛋白水平未见明显改变。以 $\beta$ -actin作为内参照, 凝胶成像系统成像(图4)。

## 3 讨论

肝纤维化是各种慢性肝病发展至肝硬化的必经阶段,

是由各种致病因子引起肝脏损伤和炎症, 产生多种细胞因子刺激多种细胞发生上皮-间充质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT), 产生大量细胞外基质(extracellular matrix, ECM)并在肝脏沉积, 近年来, EMT参与肝纤维化被日渐提出, 但肝脏中EMT的发生机制尚不完全明确。肝纤维化过程中发生EMT的最主要细胞为HSCs, HSCs活化增殖是肝纤维化发生发展的中心环节<sup>[3]</sup>。Yu等<sup>[4]</sup>也提出HSCs的激活是肝纤维化的一个关键事件, 被认为是EMT过程。EMT主要表现为细胞间粘附削弱, E-cadherin等上皮细胞分子标记表达下调, 间质细胞标志分子如 $\alpha$ -SMA表达上调, 典型的细胞外基质成份如I、III、VI型胶原蛋白分泌增加<sup>[5]</sup>。因此如何抑制上皮间质转化是治疗肝纤维化重要策略之一。

TGF- $\beta$ 参与HSCs发生EMT, 直接或间接引起肝肌成纤维细胞的增加<sup>[6]</sup>。BMP-7是一分子大小35KD的分泌性同源二聚体蛋白, 属于TGF- $\beta$ 超家族成员之一<sup>[7]</sup>。BMP-7受体是一种跨膜丝/苏氨酸激酶受体, BMP-7首先与II型受体结合, II型受体的蛋白激酶被激活, 再与I型受体结合, 形成异源二聚体, 催化I型受体GS区的丝氨酸和苏氨酸残基磷酸化。I型受体被激活后, 作用于Smad1、Smad5或Smad8的C端SSXS模体, 使其磷酸化, 再与Smad4形成复合物, 进入核内与多种转录因子相互作用发挥基因调控作用<sup>[8]</sup>。BMP-7基因表达不足也是纤维化进展的重要原因之一<sup>[9]</sup>。Zeisberg等<sup>[7]</sup>在慢性肾纤维化小鼠模型中高表达BMP-7能有效拮抗TGF- $\beta$ 1诱导的上皮间质转化。研究还显示, BMP-7通过影响TGF- $\beta$ 1信号通路的下游蛋白—Smads蛋白来阻断其信号转导<sup>[10]</sup>。

本文运用真核表达载体pcDNA3-HASL-ALK3(QD)建立稳定表达持续活化型ALK3受体的大鼠HSCs株(CA-ALK3-T6)。实验结果显示, 持续活化型ALK3高表达可使大鼠HSCs形态趋向静止化, 抑制大鼠HSCs活化增殖, 进一步观察发现, BMP7信号通路下游信号分子Smad1磷酸化增加、上皮细胞标志分子E-Cadherin表达水平上调; 同时, 间质细胞标志物 $\alpha$ -SMA以及I型胶原mRNA及蛋白表达水平下降, III、IV型胶原蛋白的mRNA水平下降。说明在大鼠HSCs中BMP-7信号通路的持续活化可逆转HSCs活化, 抑制TGF- $\beta$ 1诱导的上皮间质转化和肌成纤维细胞增殖; 减少ECM的分泌, 从而改善肝纤维化。Yu等<sup>[4]</sup>研究发现, 在肝纤维化过程中, MEG3在体内和体外均有降低, MEG3过表达导致肝纤维化的抑制, 减少 $\alpha$ -SMA和I型胶原蛋白。MEG3过表达通过EMT抑制HSC激活, 与上皮标记物增加和间充质标记物减少有关。由此可见EMT是HSC激活致肝纤维化过程的关键环节。王丽惠等<sup>[11]</sup>研究发现TGF- $\beta$ 1刺激HSC-T6后细胞形态发生变化, 伪足增多呈星形, 细胞



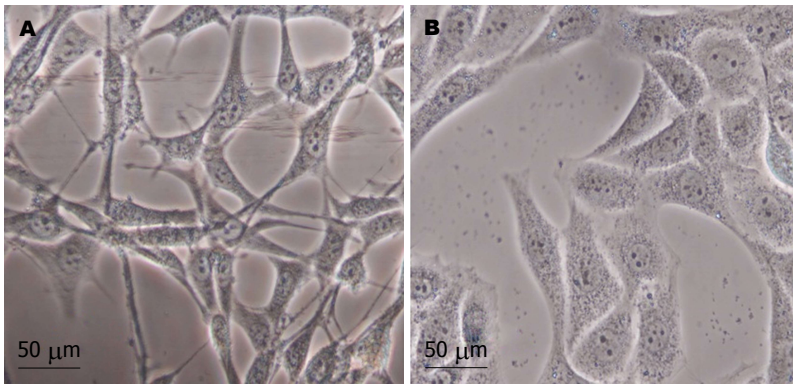


图 1 倒置相差显微镜下观察细胞形态. A: Vector-T6细胞; B: CA-ALK3-T6细胞( $\times 400$ ).

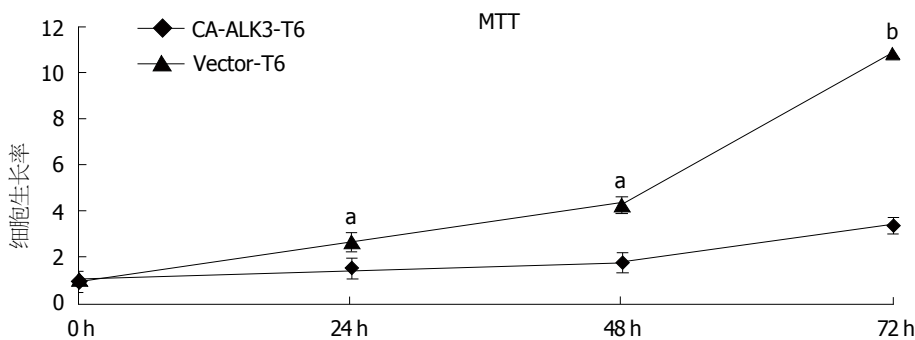


图 2 MTT法检测稳定表达持续活化型ALK3受体对HSC-T6细胞增殖的影响(mean  $\pm$  SD,  $n = 3$ ). <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.001$ , 与CA-ALK3-T6对比.

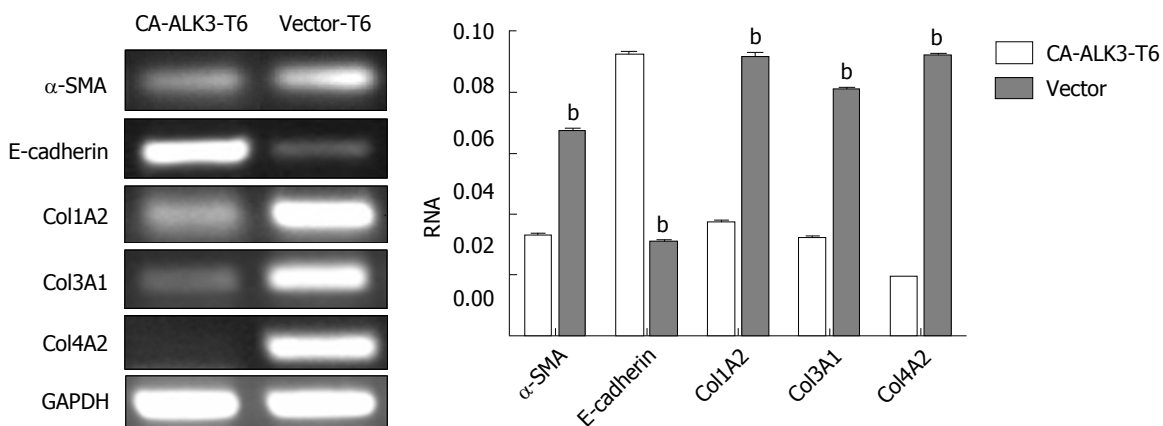


图 3 RT-PCR检测稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞相关基因表达. CA-ALK3-T6: 稳定表达持续活化型ALK3受体HSC-T6细胞株; Vector-T6: 转染pcDNA3.1空质粒HSC-T6细胞株. <sup>b</sup> $P < 0.001$ , 与CA-ALK3-T6比较.

间连接呈疏松状态, 呈现活化生物学特征. 本实验研究通过倒置显微镜观察发现, BMP-7信号通路持续活化导致大鼠HSCs的形态学失去活化形态特征而趋向静止化变化.

肝纤维化传统上被认为是一个不可逆转的过程, 但以上本研究显示了BMP-7信号转导可抑制TGF- $\beta$ 1信号通路的致纤维化效应, 为BMP-7成为治疗肝纤维化的关键靶点奠定基础. 有望以激活BMP-7信号转导为靶点来探索、开发抗肝纤维化药物并应用到临床.

## 文章亮点

### 实验背景

虽然随着人们生活水平的提高及乙肝疫苗接种, 我国乙型肝炎发病率逐年降低, 但是酒精性及丙型肝炎引起的肝硬化却并不少见, 研究数据显示, 感染人员就诊者不足1/3, 简直是冰山一角, 长期不管理的结果便是肝硬化甚至迅速进展至肝癌, 肝硬化是各种慢性肝病的晚期阶段, 治疗效果差, 且耗费大量资源, 慢性乙型病毒性肝炎

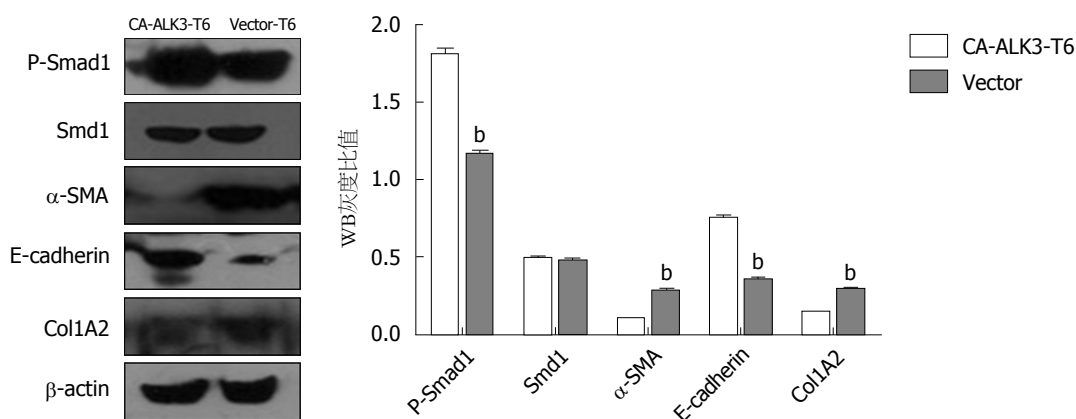


图 4 Western blotting方法检测相关蛋白水平表达。CA-ALK3-T6: HSC-T6转染重组质粒pcDNA3-HSAL-ALK3稳定表达细胞; Vector-T6: HSC-T6转染空载质粒对照细胞株。<sup>b</sup> $P < 0.001$ , 与CA-ALK3-T6比较。

临床治愈(珠峰)工程项目、国家“十二五”传染病重大专项等课题对于肝硬化的研究及治疗有巨大的贡献,但目前仍未研究出并适用临床的有效逆转肝硬化方法。

### 实验动机

拟通过探讨肝硬化分子发生机制找到逆转的肝硬化关键靶点。

### 实验目标

本实验观察到通过研究BMP7及下游信号通路抑制肝纤维化与肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)能逆转肝硬化核心细胞HSCs。

### 实验方法

倒置相差显微镜、MTT、半定量PCR、western-blotting。

### 实验结果

本文实验研究达到我们预期的结果,印证了肝纤维化分子发生发展机制,我们观察到持续活化的HSCs增殖受到抑制,并且向未活化方向逆转,探索了其中的分子机制,磷酸化的smad1水平显著升高,α-SMA和I型胶原蛋白表达下调,而E-cadherin表达上调。本研究提示BMP7有望成为肝纤维化的分子治疗靶点。

### 实验结论

本研究采用持续活化型ALK3的新方法,进一步探索了肝纤维化分子发病机制,观察到肝纤维化关键细胞HSCs活化有逆转,进一步印证BMP7有望成为肝纤维化分子治疗靶点,为将来肝纤维化的治疗提供新的契机。

### 展望前景

本实验采取成熟的实验方法,提出了我们的观点,但通过评审专家的意见确实有些忽略之处,会吸取经验教训,使实验更加严谨,本研究未来研究方向是动物模型的研究,未来研究方法的最佳方法仍主要以分子生物学研究方法为主。

### 4 参考文献

- Friedman SL. Molecular regulation of hepatic fibrosis, an integrated cellular response to tissue injury. *J Biol Chem* 2000; 275: 2247-2250 [PMID: 10644669 DOI: 10.1074/jbc.275.4.2247]
- Yue HY, Yin C, Hou JL, Zeng X, Chen YX, Zhong W, Hu PF, Deng X, Tan YX, Zhang JP, Ning BF, Shi J, Zhang X, Wang HY, Lin Y, Xie WF. Hepatocyte nuclear factor 4alpha attenuates hepatic fibrosis in rats. *Gut* 2010; 59: 236-246 [PMID: 19671543 DOI: 10.1136/gut.2008.174904]
- Gressner AM, Weiskirchen R. Modern pathogenetic concepts of liver fibrosis suggest stellate cells and TGF-beta as major players and therapeutic targets. *J Cell Mol Med* 2006; 10: 76-99 [PMID: 16563223 DOI: 10.1111/j.1582-4934.2006.tb00292.x]
- Yu F, Geng W, Dong P, Huang Z, Zheng J. LncRNA-MEG3 inhibits activation of hepatic stellate cells through SMO protein and miR-212. *Cell Death Dis* 2018; 9: 1014 [PMID: 30282972 DOI: 10.1038/s41419-018-1068-x]
- Weiskirchen R, Meurer SK, Gressner OA, Herrmann J, Borkham-Kamphorst E, Gressner AM. BMP-7 as antagonist of organ fibrosis. *Front Biosci (Landmark Ed)* 2009; 14: 4992-5012 [PMID: 19482601 DOI: 10.2741/3583]
- Fabregat I, Caballero-Díaz D. Transforming Growth Factor-β-Induced Cell Plasticity in Liver Fibrosis and Hepatocarcinogenesis. *Front Oncol* 2018; 8: 357 [PMID: 30250825 DOI: 10.3389/fonc.2018.00357]
- Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, Mammoto T, Charytan D, Strutz F, Kalluri R. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med* 2003; 9: 964-968 [PMID: 12808448 DOI: 10.1038/nm888]
- Wrana JL, Attisano L, Wieser R, Ventura F, Massagué J.

- Mechanism of activation of the TGF- $\beta$  receptor. *Nature* 1994; 37: 341-347 [PMID: 8047140 DOI: 10.1038/370341a0]
- 9 Zeisberg M. Bone morphogenic protein-7 and the kidney: current concepts and open questions. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 568-573 [PMID: 16373388 DOI: 10.1093/ndt/gfk010]
- 10 Wang S, Hirschberg R. Bone morphogenetic protein-7 signals opposing transforming growth factor beta in mesangial cells. *J Biol Chem* 2004; 279: 23200-23206 [PMID: 15047707 DOI: 10.1074/jbc.M311998200]
- 11 王丽惠, 程变巧, 朱琪, 林伟国. TGF- $\beta$ 1诱导大鼠肝星状细胞系HSC-T6活化及上皮间质转换. *基础医学与临床* 2017; 37: 1257-1262 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2017.09.12]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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



# 长链非编码RNA MALAT1在大肠癌中的表达及其临床意义: 基于多基因表达数据库分析

倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博

倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博, 天津市人民医院检验科 天津市 300121

倪雅懿, 主管技师, 主要从事结直肠癌临床检验工作与研究。

**作者贡献分布:** 此课题由倪雅懿与朱广博设计; 研究过程由倪雅懿、薛丽华及张培操作完成; 数据分析由倪雅懿与薛丽华完成; 本论文写作由倪雅懿及广博完成。

**通讯作者:** 朱广博, 主任技师, 300121, 天津市红桥区芥园道190号, 天津市人民医院检验科. 3529769795@qq.com  
电话: 022-27557516

收稿日期: 2019-04-03

修回日期: 2019-06-05

接受日期: 2019-06-25

在线出版日期: 2019-07-08

## MALAT1 gene expression in colorectal cancer and its clinical significance: Data mining based on multiple gene expression databases

Ya-Yi Ni, Li-Hua Xue, Pei Zhang, Guang-Bo Zhu

Ya-Yi Ni, Li-Hua Xue, Pei Zhang, Guang-Bo Zhu, Clinical Laboratory, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China

**Corresponding author:** Guang-Bo Zhu, Chief Technician, Clinical Laboratory, Tianjin People's Hospital, 190 Jieyuan Road, Hongqiao District, Tianjin 300121, China. 3529769795@qq.com

Received: 2019-04-03

Revised: 2019-06-05

Accepted: 2019-06-25

Published online: 2019-07-08

## Abstract

### BACKGROUND

Colorectal cancer (CRC) is the most common malignant tumor of the digestive system. Long-chain non-

coding RNAs (lncRNAs) play an important role in the occurrence, development, invasion and metastasis of CRC. MALAT1 is a newly discovered lncRNA, and its role in CRC and its relationship with prognosis are not completely clear.

### AIM

To explore the differential expression of the lncRNA MALAT1 in CRC and its clinical significance by using bioinformatics data mining technology.

### METHODS

BioGPS database was used to analyze the expression of MALAT1 in normal intestinal epithelium. Oncomine was used to meta-analyze the differential expression of MALAT1 in CRC tissue and normal intestinal epithelium tissue, and to analyze the difference of survival time between patients with high and low expression of MALAT1. Protein interaction network analysis was performed based on the STRING database to analyze the proteins that potential interact with MALAT1.

### RESULTS

The relative expression of MALAT1 in normal colorectal tissues was low. In Oncomine database, there were eight studies on differential expression of CRC, six of which suggested high expression of MALAT1 in CRC and two suggested low expression. The microarray data of 18 CRC and matched normal tissues were compared. The expression of MALAT1 in CRC tissues was significantly higher than that in normal tissues ( $P = 0.027$ ). There was no significant difference in MALAT1 expression between colon cancer and normal tissues ( $P = 0.149$ ), but the expression of MALAT1 in rectal cancer was significantly higher than that in normal tissues ( $P = 1.04 \times 10^{-5}$ ). Kaplan-Meier Plotter analysis demonstrated that the overall survival time of the high and low MALAT1 expression

groups was 41.93 months and 52.2 months, respectively, with no significant difference ( $HR = 0.64$ ,  $95\%CI: 0.29-1.39$ ,  $P = 0.25$ ). The possible interaction proteins of MALAT1 were analyzed based on the String database. The results showed that MALAT1 interacts with TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, etc. Co-expression analysis showed that MALAT1 protein was co-expressed with EZH2, TP53, SRSF1, and other genes, suggesting that these genes may have similar functions.

## CONCLUSION

The expression level of MALAT1 gene in CRC tissues is significantly up-regulated, but there is no correlation between MALAT1 expression and the prognosis of patients. MALAT1 interacts with TP53, SUZ12, CDK4, and KDMA proteins. These interacting proteins include Polycomb-group proteins, cyclin-dependent protein kinase and so on, which are related to gene expression control, transcriptional regulation, and cell division.

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

Key Words: Breast cancer; MALAT1 gene expression; Data mining; Bioinformatics

Ni YY, Xue LH, Zhang P, Zhu GB. MALAT1 gene expression in colorectal cancer and its clinical significance: Data mining based on multiple gene expression databases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 814-821

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/814.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.814>

## 摘要

### 背景

结直肠癌(colorectal cancer, CRC)是临床中最为常见的消化系统恶性肿瘤, 近年来长链非编码RNA(long-chain non-coding RNA, lncRNA)在CRC发生、发展及侵袭转移中发挥重要作用. MALAT1为新近发现的lncRNA, 其在CRC中的作用及与患者预后的关系并不十分清楚.

### 目的

应用生物信息数据挖掘技术探讨lncRNA MALAT1在大肠癌中的差异表达及其临床意义.

### 方法

应用BioGPS数据库分析正常肠上皮中MALAT1的表达情况. 在肿瘤芯片表达数据库Oncomine中荟萃分析大肠癌组织与正常肠上皮组织MALAT1的差异表达并分析MALAT1高、低表达与患者生存期是否存在相关性. 在STRING数据库中应用蛋白相互作用网络分析与MALAT1相互作用及共表达的相关蛋白.

## 结果

MALAT1在正常大肠癌组织中的相对表达量较低. Oncomine数据库中, 大肠癌差异表达的研究8项, 其中6项在大肠癌中高表达, 2项低表达. 比较大肠癌与对应正常组织的相关芯片数据为18个. 大肠癌组织中MALAT1表达水平显著高于正常组织( $P = 0.027$ ). 按结肠癌与直肠癌进亚组分析, 结肠癌组织与正常组织MALAT1表达水平无统计学差异( $P = 0.149$ ), 而直肠癌组织中MALAT1表达水平明显高于对应正常组织( $P = 1.04 \times 10^{-5}$ ). 在Kaplan-Meier Plotter数据平台中分析MALAT1高、低表达组总生存期分别为41.93 mo和52.2 mo, 差异无统计学意义( $HR = 0.64$ ,  $95\%CI: 0.29-1.39$ ,  $P = 0.25$ ). String数据库中分析与MALAT1可能相互作用的蛋白, 结果显示MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, 等具有相互作用关系. 共表达分析显示MALAT1与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系, 提示这些基因在功能上可能具有相似性.

## 结论

大肠癌组织中MALAT1基因表达水平明显上调, 但MALAT1表达水平与患者预后并无相关性. MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA蛋白相互作用, 上述相互作用蛋白包括多梳蛋白家族, 周期蛋白依赖性蛋白激酶等, 与肿瘤的基因表达、转录调控及细胞分裂有关.

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

关键词: 大肠癌; MALAT1基因; 差异表达; 预后; 生物信息; 数据挖掘

**核心提要:** 本文通过生物信息学数据深入挖掘, 初步探讨并明确了长链非编码RNA MALAT1在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中表达水平、相关信号通路及其与患者预后的关系. 研究认为, MALAT1在CRC患者癌组织中的表达水平明显高于癌旁正常组织. MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA等具有相互作用关系且MALAT1与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系, 提示这些基因在功能上可能具有相似性. 但由于样本量、检测方法等原因, 研究结果并未发现MALAT1表达水平与CRC患者预后有关. 因此, MALAT1表达水平与CRC患者预后的关系有待进一步研究.

倪雅懿, 薛丽华, 张培, 朱广博. 长链非编码RNA MALAT1在大肠癌中的表达及其临床意义: 基于多基因表达数据库分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 814-821

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/814.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.814>

## 0 引言

大肠癌是全世界范围内最为常见的消化系统恶性肿瘤之一,也是肿瘤相关死亡的重要原因。2015年我国常见肿瘤的流行病学调查显示,当年我国大肠癌新发病例为376300例,因大肠癌死亡的人数为19100例,大肠癌已成为我国居民死亡的重要原因之一<sup>[1]</sup>。随着环境和饮食习惯的改变,我国结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的发病率和死亡率分布具有以下特点:男性高于女性,城市高于农村,发病率和死亡率均随年龄增长而上升。大肠癌患者早期行根治术,预后较好,5年生存率较高,而晚期已发生转移的患者预后较差。因此,探寻CRC侵袭、转移的分子机制及预后预测指标成为研究热点。

近年来大量文献报道,长链非编码RNA(long-chain non-coding RNA, lncRNA)在剂量补偿效应、表观遗传调控、细胞周期调控、细胞分化、细胞凋亡衰老及肿瘤发生、发展调控方面发挥重要作用<sup>[2,3]</sup>。lncRNA MALAT1(metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1)是近年来研究的较多的肿瘤转移相关因子。其在肺腺癌中高表达并与肺腺癌细胞侵袭转移能力有关。而MALAT1在大肠癌中的表达情况及其临床意义鲜有报道。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** MALAT1为近年来发现的lncRNA,既往研究认为其与肿瘤的转移有关。我们首先在BioGPS(<http://biogps.org/#goto=welcome>)数据库中分析人类正常肠上皮组织中MALAT1的表达情况;然后在肿瘤基因表达芯片数据库Oncomine(<https://www.oncomine.org/>)中分析大肠癌组织与正常肠上皮是否存在MALAT1的差异表达(荟萃分析多个基因芯片数据);同时根据高、低表达分为2组,并计算MALAT1高表达与低表达组有无生存期差异,数据来源与Kaplan-Meier Plotter(<http://kmplot.com/analysis/>);最后应用蛋白相互作用数据库STRING(<https://string-db.org/cgi/input.pl>)预测MALAT1可能相互作用的蛋白及共表达情况。

### 1.2 方法

**1.2.1 BioGPS数据库:**在BioGPS数据库中输入MALAT1,检索出人体大部分组织中MALAT1的相对表达量。

**1.2.2 Oncomine数据库:**Oncomie数据库检索MALAT1基因,分析MALAT1基因在人体肿瘤与对应的正常组织中的相对表达情况。设置条件为:(1)大肠癌(colorectal carcinoma/colon cancer/rectal cancer);(2)标本来源为手术切除标本;(3)组织对比为大肠癌组织与正常肠上皮组织;(4)数据类型为mRNA;(5)显著性 $P$ 值 $<0.0001$ ;(6)表达差异为基因上调或下调大于2倍;(7)基因排序为前

10%。

**1.2.2 Kaplan-Meier Plotter数据库:**在该数据总根据MALAT1在癌及正常组织中的总体中位表达水平分为高、低表达组。应用生存曲线,分析两组的总生存有无差异。

**1.2.3 String 数据库蛋白相互作用分析:**在该数据库中,对MALAT1蛋白相关的蛋白网络进行分析,筛选条件为相关性大于0.9。同时进行共表达分析,绘制共表达和相关网络图。

**统计学处理** 数据分析采用STATA 10.0软件完成,计量资料应用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示,应用 $t$ 检验;计数采用率表示,应用chi-square检验;生存分析首先绘制生存曲线,并采用log-rank检验, $P < 0.05$ 为存在统计学差异。

## 2 结果

**2.1 MALAT1基因mRNA在肿瘤与正常组织差异表达** BioGPS数据库分析正常结直肠组织中MALAT1的相对表达情况。MALAT1在正常结直肠组织中的相对表达量较低(图1)。Oncomine数据库中, lncRNA MALAT1基因mRNA肿瘤:正常组织表达研究220项,其中高表达13项,低表达13项。大肠癌中差异表达的研究8项,其中6项在肠癌中高表达,2项低表达(图2A和表1)。比较大肠癌与对应正常组织的相关芯片数据为18个(来自9项研究<sup>[4-12]</sup>),整体分析显示,大肠癌组织中MALAT1表达水平显著高于正常组织( $P = 0.027$ )(图2B)。按结肠癌与直肠癌进展亚组分析,结肠癌组织与正常组织MALAT1表达水平无统计学差异( $P = 0.149$ )(图2C)。而直肠癌组织中MALAT1表达水平明显高于对应正常组织( $P = 1.04 \text{ E-}5$ )(图2D)。

**2.2 MALAT1 mRNA表达与患者预后关系** 在Kaplan-Meier Plotter数据平台中分析大肠癌患者MALAT1高低表达与患者生存期的关系, MALAT1高、低表达组总生存期分别为41.93 mo和52.2 mo,差异无统计学意义( $\text{HR} = 0.64$ , 95%CI: 0.29-1.39,  $P = 0.25$ )(图3)。

**2.3 MALAT1可能相互作用蛋白网络** 在String数据库中分析与MALAT1可能相互作用的蛋白,结果显示MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, 等具有相互作用关系(图4)。上述相互作用蛋白包括多梳蛋白家族,周期蛋白依赖性蛋白激酶等,与肿瘤的基因表达控制、转录调控及细胞分裂有关。共表达分析显示MALAT1蛋白与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系(图5),提示这些基因在功能上可能具有相似性。

## 3 讨论

lncRNA是一类长度大于200nt的非编码RNA转录本,曾



表 1 MALAT1基因mRNA在大肠癌组织与正常组织差异表达

分组	研究数(n)	高表达数(n)	Median Rank	P值
结直肠肿瘤	18	5	6460.0	0.027
结肠肿瘤	12	1	8049.0	0.149
直肠肿瘤	6	4	563.0	1.04 E-5

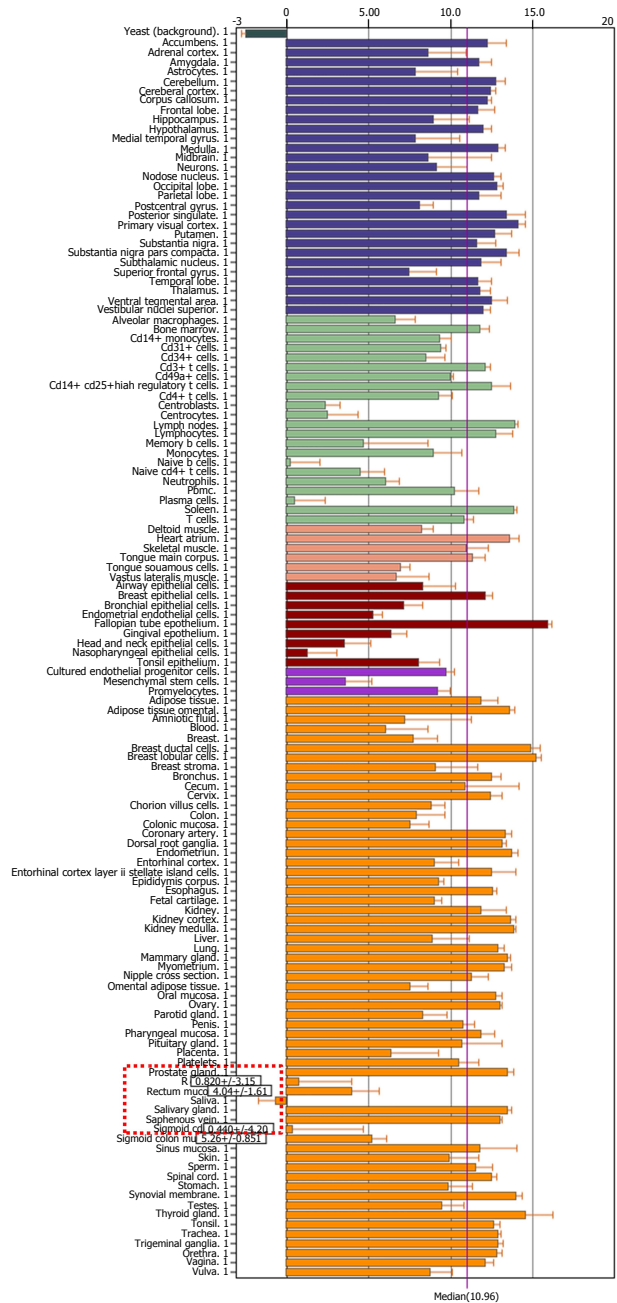


图 1 BioGPS数据库分析正常结直肠组织中MALAT1的相对表达情况.

被认为是转录“噪音”. 最初被认为由于其不具备开放阅读框ORF无法被进一步翻译成蛋白质而无生物学功

能, 是转录过程中的副产品. 然而随着研究的深入, 越来越多的报道认为lncRNA可参与调控许多重要的生物学过程, 包括细胞分化、增殖、凋亡、多能干细胞重编程等<sup>[13]</sup>. 目前认为lncRNA的作用机制主要有: 转录并招募相关因子干扰蛋白质编码基因的表达; 通过组蛋白修饰等介导染色质重构, 从而影响下游基因的表达; 通过与mRNA形成互补双链对转录后的mRNA进行选择性的剪接; 作为内源性siRNA发挥作用; 通过与相关蛋白相互作用, 调节其定位和/或其分子结构从而影响其活性<sup>[14-17]</sup>.

MALAT1是较早发现的一类与转录本加工有关的lncRNA. 2003年Ji等<sup>[18]</sup>在对非小细胞肺癌患者的组织标本进行研究时发现, 在转移患者的组织中MALAT1表达水平明显高于非转移组织. 此后的功能学研究显示, MALAT1由DNA转录后的3'端加工而来, 其主要位于剪切斑点附近<sup>[19]</sup>. MALAT1可与丝氨酸/精氨酸(Ser/Arg)剪接因子间存在相互作用, 并还通过调控剪接因子在剪接斑点中的分布和磷酸化水平, 使mRNA前体的选择性剪接模式发生改变从而达到调控转录本剪接模式的分子生物学功能. MALAT1被认为是与肺癌转移相关的重要lncRNA. 在肺癌转移病灶中, MALAT1的表达水平显著增高, 因而推测其与肺癌的发生转移有关.

MALAT1在肺癌中的研究较多, 且大多数研究认为MALAT1高表达与肺癌的恶性生物学行为及预后不良有关<sup>[20-22]</sup>. 但MALAT1在肠癌中的表达情况及其与患者的预后关系报道并不多见, 且各研究的结论也并不完全一致. 杨孜欢等<sup>[23]</sup>人分析了LncRNA MALAT1表达与CRC侵袭和转移的关系, 结果认为MALAT1低表达与CRC侵袭和转移密切相关, 并且这一相关性是通过调控Rac1b的表达实现的. 而姚坤厚等<sup>[24]</sup>人的研究认为CRC中异常高表达的MALAT1可促进细胞迁移侵袭, 该功能可能是通过调节上皮-间充质转化实现的. 上述两个研究在MALAT1在肠癌中的表达水平方面得出了相反的结论. 因此, 在本研究中, 我们对多个数据库中关于MALAT1在肠癌中的表达情况及临床意义进行了深入挖掘, 以期明确MALAT1在肠癌中的真实表达情况. 研究结果认为, 大肠癌组织中MALAT1基因表达水平明显上调, 但MALAT1表达水平与患者预后并无相关性. MALAT1蛋白与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA蛋白相互作用, 上述相互作用蛋白包括多梳蛋白家族, 周期蛋白依赖性蛋白激酶等, 与肿瘤的基因表达控制、转录调控及细胞分裂有关. 本研究为进一步分析MALAT1在肠癌中的表达、生物学功能及与其他基因相互作用的信号通路提供了依据. 同时也在一定程度上证实MALAT1作

Disease summary for MALAT1

Analysis type by cancer	Cancer vs. Normal
Bladder cancer	
Brain and CNS cancer	
Breast cancer	
Cervical cancer	
Colorectal cancer	
Esophageal cancer	
Gastric cancer	
Head and neck cancer	
Kidney cancer	
Leukemia	
Liver cancer	
Lung cancer	
Lymphoma	
Melanoma	
Myeloma	
Other cancer	
Ovarian cancer	
Pancreatic cancer	
Prostate cancer	
Sarcoma	
Significant unique analyses	13 13
Total unique analyses	220



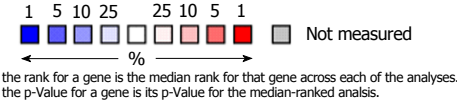
A

Comparison of MALAT1 across 18 analyses  
Over-expression

Median rank	P-Value	Gene
6460.0	0.027	MALAT1

Legend

1. Rectal adenocarcinoma vs. Normal  
*Gaedcke colorectal, Genes Chromosomes Cancer, 2010*
2. Colorectal adenoma epithelia vs. Normal  
*Gaspar colon, Am J Pathol, 2008*
3. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Gaudens colon, Genome Biol, 2006*
4. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Hong colorectal, Clin Exp Metastasis, 2010*
5. Colon adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
6. Rectal adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
7. Rectal mucinous adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
8. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
9. Colon adenoma vs. Normal  
*Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007*
10. Rectal adenoma vs. Normal  
*Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007*
11. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
12. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
13. Colon adenoma epithelia vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
14. Colon adenoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
15. Colon carcinoma epithelia vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
16. Colon carcinoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
17. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal  
*TCGA colorectal, No Associated Paper, 2011*
18. Colon carcinoma vs. Normal  
*Zou colon, Oncogene, 2002*



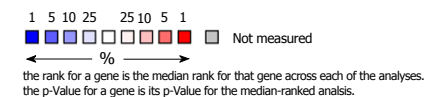
B

Comparison of MALAT1 across 12 analyses  
Over-expression

Median rank	P-Value	Gene
8049.0	0.149	MALAT1

Legend

1. Colorectal adenoma epithelia vs. Normal  
*Gaspar colon, Am J Pathol, 2008*
2. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Gaudens colon, Genome Biol, 2006*
3. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Hong colorectal, Clin Exp Metastasis, 2010*
4. Colon adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
5. Colon adenoma vs. Normal  
*Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007*
6. Colorectal adenocarcinoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
7. Colorectal carcinoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal, PLoS One, 2010*
8. Colon adenoma epithelia vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010*
9. Colon adenoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010*
10. Colon carcinoma epithelia vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010*
11. Colon carcinoma vs. Normal  
*Skrzypczak Colorectal 2, PLoS One, 2010*
12. Colon carcinoma vs. Normal  
*Zou colon, Oncogene, 2002*



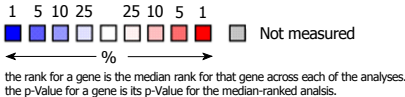
C

Comparison of MALAT1 across 6 analyses  
Over-expression

Median rank	P-Value	Gene
563.0	1.04E-5	MALAT1

Legend

1. Rectal adenocarcinoma vs. Normal  
*Gaedcke colorectal, Genes Chromosomes Cancer, 2010*
2. Rectal adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
3. Rectal mucinous adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
4. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal  
*Kaiser colon, Genome Biol, 2007*
5. Rectal adenoma vs. Normal  
*Sabates-bellver colon, Mol Cancer Res, 2007*
6. Rectosigmoid adenocarcinoma vs. Normal  
*TCGA colorectal, No Associated Paper, 2011*



D

图 2 MALAT1 mRNA在大肠癌与正组织中的差异表达荟萃分析。A: MALAT1 mRNA常见肿瘤组织与对应正常组织中的表达; B: 大肠癌组织与对应正常组织MALAT1 mRNA表达比较; C: 结肠癌组织与对应正常组织MALAT1 mRNA表达比较; D: 直肠癌组织与对应正常组织MALAT1 mRNA表达比较。

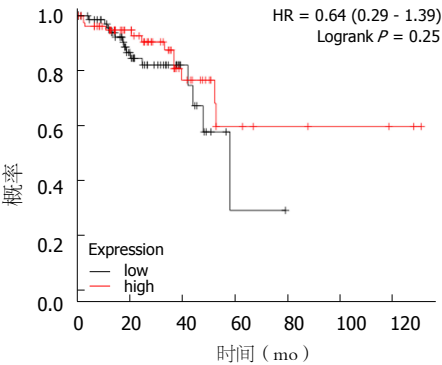


图 3 MALAT1基因表达水平与大肠癌患者预后的生存曲线。

为大肠癌预后分子标志物的可行性不强。

### 文章亮点

### 实验背景

长链非编码RNA(Long-chain non-coding RNA, LncRNA)在肿瘤中的作用为近年研究热点, MALAT1在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中的表达及其相关分子生物学功能不清. 其与患者预后关系仍存在争议. 因此, 我们采用生物信息学方法, 探讨MALAT1在CRC患者癌组织和癌旁组织中的差异表达、相关信号通路及与患者的关系。

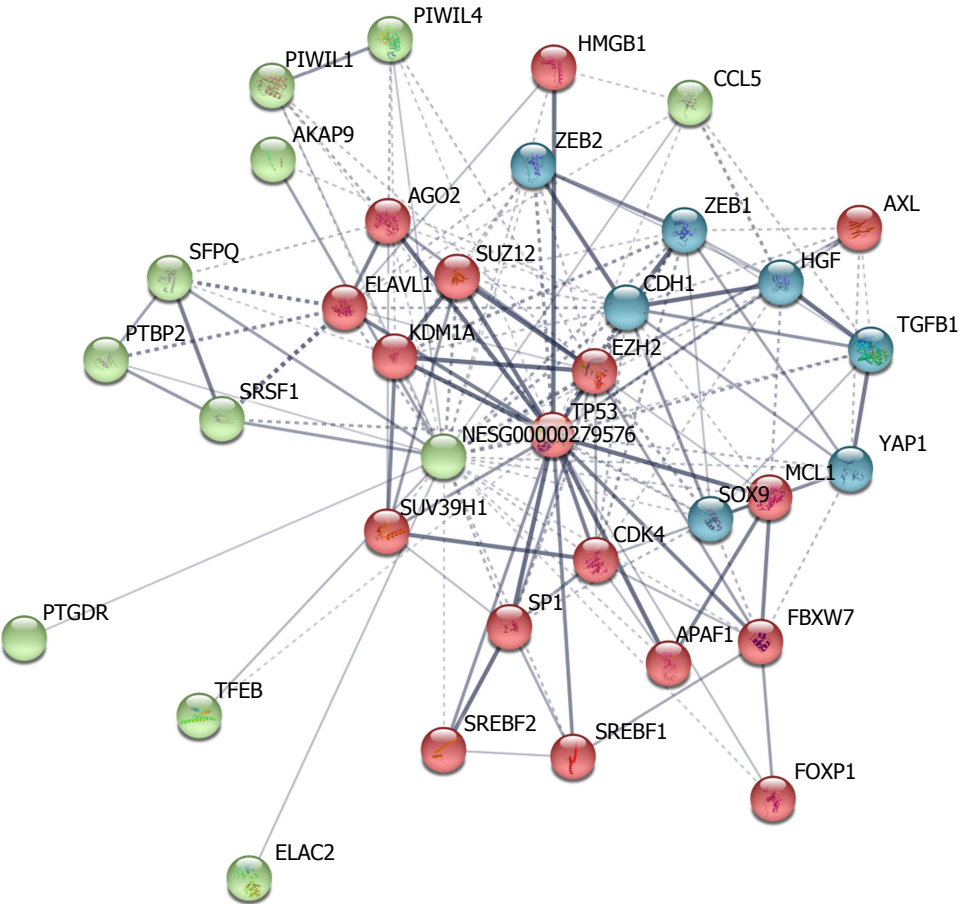


图 4 MALAT1与-蛋白相互作用网络图.

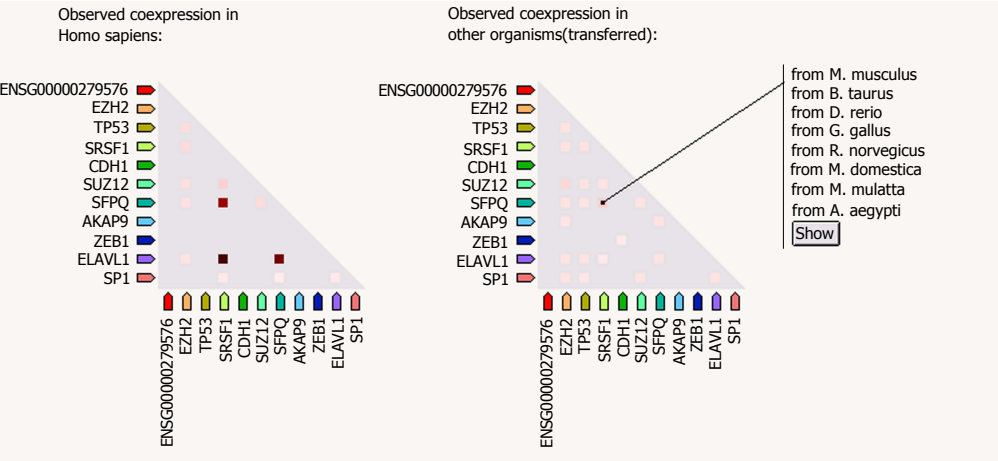


图 5 MALAT1基因共表达情况.



## 实验动机

本文通过分析基因芯片表达数据库中关于MALAT1表达与CRC的关系, 明确其在CRC患者组织中的表达、相关信号通路及与预后的相关性。

## 实验目标

明确LncRNA在肠癌中的差异表达, MALAT1在肠癌发生中的信号通路相关蛋白及其在患者预后评价中的作用。

## 实验方法

BioGPS数据库分析正常肠上皮中MALAT1的表达情况。然后再Oncomine数据库中综合分析大肠癌组织与正常肠上皮组织MALAT1的差异表达, 并分析MALAT1高、低表达与患者生存期是否存在相关性。应用STRING数据库中蛋白相互作用网络分析与MALAT1相互作用及共表达的相关信号通路蛋白。

## 实验结果

大肠癌组织中MALAT1表达水平显著高于正常组织。MALAT1高、低表达组总生存期无统计学差异。MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA, 等具有相互作用关系而与EZH2, TP53, SRSF1等基因具有共表达关系。

## 实验结论

CRC患者癌组织中MALAT1基因表达水平明显上调, 但与患者预后并无明显相关性。MALAT1与TP53, SUZ12, CDK4, KDMA蛋白相互作用并与细胞的转录调控及分裂有关。

## 展望前景

MALAT1高低表达是否有肠癌患者预后相关仍存有争议, 需要高质量前瞻性研究进行证实。MALAT1具体调控肠癌细胞发生、发展和侵袭转移的分子机制有待相关分子生物学研究进一步验证。

## 4 参考文献

- 1 Chen W, Zheng R, Baade PD, Zhang S, Zeng H, Bray F, Jemal A, Yu XQ, He J. Cancer statistics in China, 2015. *CA Cancer J Clin* 2016; 66: 115-132 [PMID: 26808342 DOI: 10.3322/caac.21338]
- 2 Deniz E, Erman B. Long noncoding RNA (lincRNA), a new paradigm in gene expression control. *Funct Integr Genomics* 2017; 17: 135-143 [PMID: 27681237 DOI: 10.1007/s10142-016-0524-x]
- 3 Bink DI, Lozano-Vidal N, Boon RA. Long Non-Coding RNA in Vascular Disease and Aging. *Noncoding RNA* 2019; 5 [PMID: 30893946 DOI: 10.3390/ncrna5010026]
- 4 Kaiser S, Park YK, Franklin JL, Halberg RB, Yu M, Jessen WJ, Freudenberg J, Chen X, Haigis K, Jegga AG, Kong S, Sakthivel B, Xu H, Reichling T, Azhar M, Boivin GP, Roberts RB, Bissahoyo AC, Gonzales F, Bloom GC, Eschrich S, Carter SL, Aronow JE, Kleimayer J, Kleimayer M, Ramaswamy V,

- Settle SH, Boone B, Levy S, Graff JM, Doetschman T, Groden J, Dove WF, Threadgill DW, Yeatman TJ, Coffey RJ Jr, Aronow BJ. Transcriptional recapitulation and subversion of embryonic colon development by mouse colon tumor models and human colon cancer. *Genome Biol* 2007; 8: R131 [PMID: 17615082 DOI: 10.1186/gb-2007-8-7-r131]
- 5 National Cancer Institute. The Cancer Genome Atlas - Colon and Rectum Adenocarcinoma Gene Expression Data. Available from: <http://tcga-data.nci.nih.gov/tcga/>
- 6 Zou TT, Selaru FM, Xu Y, Shustova V, Yin J, Mori Y, Shibata D, Sato F, Wang S, Olaru A, Deacu E, Liu TC, Abraham JM, Meltzer SJ. Application of cDNA microarrays to generate a molecular taxonomy capable of distinguishing between colon cancer and normal colon. *Oncogene* 2002; 21: 4855-4862 [PMID: 12101425 DOI: 10.1038/sj.onc.1205613]
- 7 Gaspar C, Cardoso J, Franken P, Molenaar L, Morreau H, Möslin G, Sampson J, Boer JM, de Menezes RX, Fodde R. Cross-species comparison of human and mouse intestinal polyps reveals conserved mechanisms in adenomatous polyposis coli (APC)-driven tumorigenesis. *Am J Pathol* 2008; 172: 1363-1380 [PMID: 18403596 DOI: 10.2353/ajpath.2008.070851]
- 8 Graudens E, Boulanger V, Mollard C, Mariage-Samson R, Barlet X, Grémy G, Couillault C, Lajémi M, Piatier-Tonneau D, Zaborski P, Eveno E, Auffray C, Imbeaud S. Deciphering cellular states of innate tumor drug responses. *Genome Biol* 2006; 7: R19 [PMID: 16542501 DOI: 10.1186/gb-2006-7-3-r19]
- 9 Hong Y, Downey T, Eu KW, Koh PK, Cheah PY. A 'metastasis-prone' signature for early-stage mismatch-repair proficient sporadic colorectal cancer patients and its implications for possible therapeutics. *Clin Exp Metastasis* 2010; 27: 83-90 [PMID: 20143136 DOI: 10.1007/s10585-010-9305-4]
- 10 Sabates-Bellver J, Van der Flier LG, de Palo M, Cattaneo E, Maake C, Rehauer H, Laczko E, Kurowski MA, Bujnicki JM, Menigatti M, Luz J, Ranalli TV, Gomes V, Pastorelli A, Faggiani R, Anti M, Jiricny J, Clevers H, Marra G. Transcriptome profile of human colorectal adenomas. *Mol Cancer Res* 2007; 5: 1263-1275 [PMID: 18171984 DOI: 10.1158/1541-7786.MCR-07-0267]
- 11 Gaedcke J, Grade M, Jung K, Camps J, Jo P, Emons G, Gehoff A, Sax U, Schirmer M, Becker H, Beissbarth T, Ried T, Ghadimi BM. Mutated KRAS results in overexpression of DUSP4, a MAP-kinase phosphatase, and SMYD3, a histone methyltransferase, in rectal carcinomas. *Genes Chromosomes Cancer* 2010; 49: 1024-1034 [PMID: 20725992 DOI: 10.1002/gcc.20811]
- 12 Skrzypczak M, Goryca K, Rubel T, Paziewska A, Mikula M, Jarosz D, Pachlewski J, Oledzki J, Ostrowski J. Modeling oncogenic signaling in colon tumors by multidirectional analyses of microarray data directed for maximization of analytical reliability. *PLoS One* 2010; 5 [PMID: 20957034 DOI: 10.1371/journal.pone.0013091]
- 13 Pan Y, Li C, Chen J, Zhang K, Chu X, Wang R, Chen L. The Emerging Roles of Long Noncoding RNA ROR (lincRNA-ROR) and its Possible Mechanisms in Human Cancers. *Cell Physiol Biochem* 2016; 40: 219-229 [PMID: 27855392 DOI: 10.1159/000452539]
- 14 Lu S, Su Z, Fu W, Cui Z, Jiang X, Tai S. Altered expression of long non-coding RNA GAS5 in digestive tumors. *Biosci Rep* 2019; 39 [PMID: 30606744 DOI: 10.1042/BSR20180789]
- 15 D'Angelo E, Agostini M. Long non-coding RNA and extracellular matrix: the hidden players in cancer-stroma cross-talk. *Noncoding RNA Res* 2018; 3: 174-177 [PMID: 30533566 DOI: 10.1016/j.ncrna.2018.08.002]
- 16 Li L, Wang Y, Zhang X, Huang Q, Diao Y, Yin H, Liu H. Long non-coding RNA HOXD-AS1 in cancer. *Clin Chim Acta* 2018;

- 487: 197-201 [PMID: 30290157 DOI: 10.1016/j.cca.2018.10.002]
- 17 Li S, Li J, Chen C, Zhang R, Wang K. Pan-cancer analysis of long non-coding RNA NEAT1 in various cancers. *Genes Dis* 2017; 5: 27-35 [PMID: 30258932 DOI: 10.1016/j.gendis.2017.11.003]
  - 18 Ji P, Diederichs S, Wang W, Böing S, Metzger R, Schneider PM, Tidow N, Brandt B, Buerger H, Bulk E, Thomas M, Berdel WE, Serve H, Müller-Tidow C. MALAT-1, a novel noncoding RNA, and thymosin beta4 predict metastasis and survival in early-stage non-small cell lung cancer. *Oncogene* 2003; 22: 8031-8041 [PMID: 12970751 DOI: 10.1038/sj.onc.1206928]
  - 19 Wang J, Su L, Chen X, Li P, Cai Q, Yu B, Liu B, Wu W, Zhu Z. MALAT1 promotes cell proliferation in gastric cancer by recruiting SF2/ASF. *Biomed Pharmacother* 2014; 68: 557-564 [PMID: 24857172 DOI: 10.1016/j.biopha.2014.04.007]
  - 20 Guo F, Jiao F, Song Z, Li S, Liu B, Yang H, Zhou Q, Li Z. Regulation of MALAT1 expression by TDP43 controls the migration and invasion of non-small cell lung cancer cells in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* 2015; 465: 293-298 [PMID: 26265046 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.08.027]
  - 21 Guo F, Yu F, Wang J, Li Y, Li Y, Li Z, Zhou Q. Expression of MALAT1 in the peripheral whole blood of patients with lung cancer. *Biomed Rep* 2015; 3: 309-312 [PMID: 26137228 DOI: 10.3892/br.2015.422]
  - 22 Shen L, Chen L, Wang Y, Jiang X, Xia H, Zhuang Z. Long noncoding RNA MALAT1 promotes brain metastasis by inducing epithelial-mesenchymal transition in lung cancer. *J Neurooncol* 2015; 121: 101-108 [PMID: 25217850 DOI: 10.1007/s11060-014-1613-0]
  - 23 杨孜欢, 冯杏芝, 方乐莹, 黄丹丹, 汪建平. 长链非编码RNA MALAT1调控Rac1 b表达与结直肠癌侵袭和转移的关系. *中国病理生理杂志* 2015; 1417-1421 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-4718.2015.08.012]
  - 24 姚坤厚, 魏伦收, 马万里, 胡军红, 孟继明. 肺腺癌转移相关转录本1调控结直肠癌细胞迁移侵袭的机制. *中华实验外科杂志* 2016; 33: 1646-1648 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.06.065]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



# 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑胃镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响分析

李新鹏, 王世民

李新鹏, 王世民, 天津市宁河区医院麻醉科 天津市 301500

李新鹏, 主治医师, 研究方向为临床麻醉研究工作(胃、肠镜等).

作者贡献分布: 此课题设计、研究过程及研究所用新试剂与分析均由李新鹏与王世民完成; 本论文写作由李新鹏完成.

通讯作者: 李新鹏, 主治医师, 301500, 天津市宁河区芦台镇沿河路23号, 天津市宁河区医院麻醉科. fhihf06@163.com

收稿日期: 2019-04-01

修回日期: 2019-05-27

接受日期: 2019-06-17

在线出版日期: 2019-07-08

## Effect of anesthesia with propofol plus remifentanyl vs etomidate plus remifentanyl on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia treated by gastroscopy

Xin-Peng Li, Shi-Min Wang

Xin-Peng Li, Shi-Min Wang, Department of Anesthesiology, Ninghe District Hospital, Tianjin 30150, China

Corresponding author: Xin-Peng Li, Attending Physician, Department of Anesthesiology, Ninghe District Hospital, 23 Yanhe Road, Lutai Town, Ninghe District, Tianjin 30150, China. fhihf06@163.com

Received: 2019-04-01

Revised: 2019-05-27

Accepted: 2019-06-17

Published online: 2019-07-08

## Abstract

### BACKGROUND

With the development of society and the advancement

of science and technology, the patient's requirements for comfort during gastroscopy are constantly increasing, and more attention has been paid to the possible adverse reactions. More and more patients choose to undergo painless gastroscopy. Elderly patients have vascular tolerance, significant organ function decline, and higher requirements for anesthetic drugs due to age and degenerative changes. Therefore, it is important to choose the correct anesthetic drugs during gastroscopy in elderly patients.

### AIM

To compare the effects of anesthesia with propofol plus remifentanyl and etomidate plus remifentanyl on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia.

### METHODS

A total of 200 elderly patients (aged 62-73 years) with esophageal leukoplakia who underwent painless gastroscopy at the Endoscopy Center of our hospital from April 2018 to October 2018 were enrolled. The patients were randomly divided into either a control group or a study group, with 100 patients in each group. The control group was anesthetized with propofol and remifentanyl, and the study group was anesthetized with etomidate and remifentanyl. Serum oxygen saturation (SPO<sub>2</sub>) and stress hormones (adrenocorticotrophic hormone, glucocorticoid, and angiotensin) before and at the end of treatment were compared between the two groups. Hemodynamics during treatment, adverse reactions during treatment, and the difference in time to recovery of spontaneous breathing time were also compared.

### RESULTS

Serum levels of stress hormones in the two groups were comparable before treatment. At the end of treatment,



serum levels of stress hormones (adrenocorticotrophic hormone, glucocorticoid, and angiotensin) in the study group were significantly lower than those in the control group ( $P < 0.05$ ). Hemodynamics was more stable in the study group ( $P < 0.05$ ).  $\text{SPO}_2$  was significantly higher in the study group than in the control group ( $P < 0.05$ ). The rate of adverse reactions was significantly reduced in the study group ( $P < 0.05$ ). However, the time to recovery of spontaneous breathing was significantly shorter in the control group than in the study group ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Compared with anesthesia with propofol plus remifentanyl, etomidate plus remifentanyl in elderly patients with esophageal leukoplakia can reduce inflammatory factors and stress hormones more significantly, maintain hemodynamics and intraoperative blood oxygenation saturation more stably, and have fewer adverse reactions, but is associated with longer time to recovery of spontaneous breathing.

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

**Key Words:** Propofol; Etomidate; Remifentanyl; Old age; Esophageal leukoplakia; Gastroscopy; Respiratory function

Li XP, Wang SM. Effect of anesthesia with propofol plus remifentanyl vs etomidate plus remifentanyl on respiratory function and stress in elderly patients with esophageal leukoplakia treated by gastroscopy. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 822-827 URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/822.htm> DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.822>

## 摘要

### 背景

随着社会发展和科技进步, 患者对胃镜的舒适度要求不断提高, 且更加关注其可能造成的不良反应, 越来越多的患者要求行无痛胃镜的检查和治疗。老年患者由于年龄增长及机体退行性改变, 出现血管耐受性、重要脏器功能下降, 对麻醉药物的要求更高, 因此选择正确的麻醉药物十分重要。

### 目的

对比观察异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑内镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响。

### 方法

选取2018-04/2018-10间在天津市宁河区医院内镜中心行无痛胃镜下治疗的200例老年食管白斑患者, 年龄为62-73岁, 采用随机数表法分为对照组和研究组, 每组100例患者, 对照组采用异丙酚复合瑞芬太尼麻醉, 研究组采用依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉。对比两组患者治疗前、治疗结束时血清中血氧饱和度

(oxygen saturation,  $\text{SPO}_2$ )、应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素), 治疗时血流动力学, 治疗时不良反应及停止麻醉后恢复自主呼吸时间的差异。

## 结果

治疗前两组血清中应激激素水平基本一致, 治疗结束时研究组患者血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)的水平明显低于对照组( $P < 0.05$ ); 研究组术中血流动力学更加稳定( $P < 0.05$ ); 研究组术中 $\text{SPO}_2$ 也明显高于对照组( $P < 0.05$ ); 出现不良反应的次数也明显减少( $P < 0.05$ ); 但对照组恢复自主呼吸时间明显短于研究组( $P < 0.05$ )。

## 结论

依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉较异丙酚复合瑞芬太尼麻醉在老年食管白斑患者行胃镜治疗中炎症因子、应激激素减少, 血流动力学更加稳定, 且术中 $\text{SPO}_2$ 维持好, 不良反应发生少, 可以在老年食管白斑患者行胃镜治疗中推荐使用, 但异丙酚复合瑞芬太尼麻醉术后恢复自主呼吸较快。

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

**关键词:** 异丙酚; 依托咪酯; 瑞芬太尼; 老年; 食管白斑; 胃镜; 呼吸功能

**核心提要:** 异丙酚或依托咪酯复合瑞芬太尼为目前常用无痛胃镜麻醉方式, 本研究发现在老年食管白斑无痛胃镜治疗中, 依托咪酯复合瑞芬太尼组患者, 应激激素水平较低、血流动力学更稳定、术中血氧饱和度维持较好且不良反应发生少; 异丙酚复合瑞芬太尼组术后恢复自主呼吸较快。

李新鹏, 王世民. 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑内镜下治疗患者呼吸功能及应激的影响分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(13): 822-827 URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/822.htm> DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.822>

## 0 引言

食管白斑多见于老年男性患者, 其主要临床表现为食管黏膜上出现白色斑块, 多为长期持续性刺激因素(如烈性烟酒、辛辣食物、过热饮食等)黏膜角化过度引起的<sup>[1]</sup>。对病变面积扩大或经久不愈的患者采用胃镜治疗。胃镜是目前重要的消化系统疾病诊断和治疗方法, 在其检查和治疗过程中会对机体产生较大刺激, 引起患者不适感受或不良影响, 甚至诱发严重心脑血管及呼

吸系统疾病<sup>[2,3]</sup>。随着社会发展和科技进步, 患者对胃镜的舒适度要求不断提高, 且更加关注其可能造成的不良反应, 越来越多的患者要求行无痛胃镜的检查和治疗<sup>[4]</sup>。老年患者由于年龄增长及机体退行性改变, 出现血管耐受性、重要脏器功能下降, 对麻醉药物的要求更高, 因此选择正确的麻醉药物十分重要<sup>[5,6]</sup>。本研究对两组患者分别采用异丙酚或依托咪酯复合瑞芬太尼两种麻醉方式, 对比观察内镜下治疗患者血清中炎症因子、血氧饱和度(oxygen saturation,  $\text{SPO}_2$ )、应激激素、血流动力学、术中不良反应, 及停止麻醉后恢复自主呼吸时间的差异, 以期寻找适当的麻醉药物组合指导临床应用。现将报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2018-04/2018-10天津市宁河区医院内镜中心行无痛胃镜治疗的200例老年食管白斑患者, 年龄62-73岁, 采用随机数表法分为两组, 所有患者均已知情两种不同的麻醉方式及风险, 且均自愿参与本研究。对照组年龄59-73岁, 平均年龄62.5岁 $\pm$ 6.8岁; 研究组年龄61-69岁, 平均年龄63.8岁 $\pm$ 5.2岁。纳入标准: (1)患者符合无痛胃镜下治疗的标准; (2)年龄60-80岁; (3)患者治疗前3 mo未进行胃镜检查; (4)患者治疗前6 mo未进行全身静脉麻醉。排除标准: (1)对异丙酚、依托咪酯和瑞芬太尼过敏; (2)合并严重器质性病变者; 合并全身感染性疾病; (3)有精神、心理障碍病史; (4)术前美国麻醉协会分级大于3级; (5)近期使用过激素、抗焦虑、抗抑郁及镇静催眠药物。

**1.2 方法** 所有患者检查前均禁食6 h、禁水4 h, 进入内镜室后连续监测无创血压、心电、 $\text{SPO}_2$ 。取左侧卧位、开放左上肢静脉通路, 并在医生指导下调整体位。两组患者均先静脉注射瑞芬太尼(批号6170312, 宜昌人福药业)0.5  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , 随后缓慢静脉滴注异丙酚1.0-2.0  $\text{mg}/\text{kg}$ (对照组)或依托咪酯0.15-0.3  $\text{mg}/\text{kg}$ (研究组), 待麻醉平稳后, 开始行内镜下白斑治疗。治疗过程中密切监测患者生命体征, 若出现干呕、身体活动时, 对照组追加异丙酚15  $\text{mg}$ , 研究组追加依托咪酯7.5  $\text{mg}$ ; 若血压下降至基础血压70%以下时, 根据情况给予10  $\text{mg}$ 麻黄碱升高血压; 心率下降至50次/分以下时, 根据情况给予0.5  $\text{mg}$ 阿托品提升心率;  $\text{SPO}_2$ 长时间下降至90%以下时给予手动氧气面罩正压给氧。所有患者在治疗前、治疗结束时分别留取静脉血检测血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)水平并记录; 同时记录治疗时血流动力学情况(血压、心率、呼吸频率)、 $\text{SPO}_2$ 、不良反应(心律异常、血压过低、干呕、体动、 $\text{SPO}_2$ 过低)出现次数及停止麻醉后恢复自主呼吸时间,

所有患者的基本资料见表1。

比较两组治疗前、治疗结束时血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)水平; 比较两组治疗时血压、心电和 $\text{SPO}_2$ ; 对比两组患者不良反应出现次数及停止麻醉后恢复自主呼吸时间。

**统计学处理** 采用SPSS 21.0软件对获得的数据进行处理分析, 其中计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 以%表示, 计量资料采用 $t$ 检验, 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 检验水准设定为 $\alpha = 0.05$ , 当 $P < 0.05$ 时, 差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 血清应激激素水平的比较** 两组患者在接受治疗前的血清中应激激素(促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素)水平基本一致, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。两组患者治疗结束时血清中应激激素水平较治疗前均大幅度提高, 且研究组患者治疗结束时应激激素水平较对照组明显偏低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表2。

**2.2 治疗时血流动力学和 $\text{SPO}_2$ 的比较** 治疗前两组患者在血流动力学情况(血压、心率、呼吸频率)基本相同, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。在治疗时对照组患者收缩压、舒张压均大幅度低于研究组患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 同时对照组患者治疗时 $\text{SPO}_2$ 也明显较研究组患者偏低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 但两组患者治疗时呼吸频率、心率基本一致, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 见表3。

**2.3 两组不良反应发生率** 两组患者均有不良反应的发生, 其中研究组患者治疗时明显患者较对照组平稳, 不良反应发生的次数明显少于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表4。

**2.4 停止麻醉后恢复自主呼吸时间** 对照组患者停止麻醉后恢复自主呼吸明显较快, 时间上大幅度低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 见表5。

## 3 讨论

近年来, 胃镜检查对临床医生的诊断帮助越来越大, 但有些患者因不能忍受检查时的不适及不良反应而拒绝, 导致病情的拖延<sup>[7,8]</sup>。胃镜技术发展迅速, 无痛胃镜逐渐被更多人接受, 不再局限于上消化道系统疾病的检查和诊断, 内镜治疗越来越受到关注且拥有广阔的发展空间<sup>[9]</sup>, 本文旨在研究在胃镜下治疗老年食管白斑时适合老年患者的最佳麻醉方式。

瑞芬太尼是新研发出的阿片 $\mu$ 受体激动剂, 经静脉注射入人体后可在60 s左右血液浓度达到峰值, 极快的被机体水解吸收, 因此见效快、易被机体清除、无残留、对肝肾功能要求较低、麻醉苏醒时间短等特点<sup>[10,11]</sup>。异

表 1 患者的基本资料 ( $n = 100$ , mean  $\pm$  SD)

分组	对照组	研究组
平均年龄(岁)	62.5 $\pm$ 6.8	63.8 $\pm$ 5.2
平均病程(年)	3.74 $\pm$ 1.02	3.63 $\pm$ 1.35
平均体质量(kg)	78.26 $\pm$ 7.91	77.64 $\pm$ 9.04
ASA分级	1.89 $\pm$ 0.21	1.95 $\pm$ 0.19
治疗前		
促肾上腺皮质激素(pg/mL)	11.28 $\pm$ 1.78	11.25 $\pm$ 1.65
糖皮质激素(pg/mL)	7.40 $\pm$ 0.84	7.43 $\pm$ 0.79
血管紧张素(pg/mL)	11.03 $\pm$ 1.66	10.98 $\pm$ 1.79

表 2 血清应激激素水平的比较 ( $n=100$ , mean  $\pm$  SD)

分组	对照组	研究组	$t$ 值	$P$ 值
促肾上腺皮质激素(pg/mL)	31.46 $\pm$ 3.01	22.44 $\pm$ 2.36	23.58	0.00
糖皮质激素(pg/mL)	16.92 $\pm$ 2.15	12.83 $\pm$ 1.94	14.12	0.00
血管紧张素(pg/mL)	24.57 $\pm$ 2.71	18.23 $\pm$ 1.89	19.19	0.00

表 3 治疗时血流动力学和血氧饱和度的比较 (mean  $\pm$  SD)

分组	$n$	SpO <sub>2</sub> (%)	心率 (次/min)	收缩压 (mmHg)	舒张压 (mmHg)	呼吸频率 (次/min)
对照组	100	95.12 $\pm$ 4.62	75.43 $\pm$ 10.96	89.51 $\pm$ 15.99	58.26 $\pm$ 14.52	16.12 $\pm$ 9.89
研究组	100	97.29 $\pm$ 2.42	76.21 $\pm$ 13.25	99.23 $\pm$ 23.02	67.95 $\pm$ 16.02	15.82 $\pm$ 3.67
$t$ 值		3.2985	0.4536	3.4679	4.4817	0.2844
$P$ 值		0.0012	0.6506	0.0006	0.0000	0.7764

表 4 两组不良反应发生率,  $n$  (%)

分组	例数	合计	心律失常	血压过低	干呕	体动	血氧饱和度过低
对照组	100	75 (75.00)	8 (10.67)	2 (2.67)	1 (1.33)	43 (57.33)	21 (28.00)
研究组	100	50 (50.00)	5 (10.00)	1 (2.00)	1 (2.00)	31 (62.00)	12 (24.00)
$\chi^2$		3.2523					
$P$ 值		0.0023					

表 5 停止麻醉后恢复自主呼吸时间 (min)

分组	对照组	研究组	$t$ 值	$P$ 值
$n$	100	100		
恢复自主呼吸时间	10.05 $\pm$ 4.54	19.86 $\pm$ 6.13	12.8603	0.0000

丙酚是一种快速强效的静脉全身麻醉药, 主要依靠肝脏迅速代谢清除, 其临床特点是起效快, 持续时间短, 苏醒快且完全, 可引起收缩压、舒张压下降, 并明显抑制呼吸<sup>[12]</sup>. 依托咪酯系一种的催眠性静脉全麻药, 不影响机体的压力感受器功能、外周血管舒缩功能和心肌收缩

力, 具有稳定的血清动力学; 且对呼吸系统影响较小, 可以较好的保持机体的自主呼吸<sup>[13,14]</sup>. 异丙酚复合瑞芬太尼和依托咪酯复合瑞芬太尼是目前最主要的两种无痛内镜麻醉方式<sup>[6]</sup>.

胃镜对消化道黏膜的刺激使机体产生应激反应, 引



发机体应激反应系统分泌大量应激激素入血<sup>[15]</sup>。促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素是目前发现的典型应激反应激素<sup>[16]</sup>。在机体受到感染、创伤、手术等应激源刺激时, 这类应激激素水平迅速上升, 能够激发机体免疫力、减少不必要炎症反应, 通过改变心率、血压、每搏心输出量、呼吸频率等提高机体对应激源的能力。但在无痛胃镜治疗中, 胃镜的侵入性操作成为应激源, 刺激机体做出应激反应, 造成了麻醉过程中出现血流动力学不稳定、炎症因子大量表达, 影响麻醉深度及效果, 增加患者不适感。在依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉组中, 治疗后应激激素水平增加幅度较低, 说明该法能有效抑制胃镜检查过程中的全身应激反应。与张华等<sup>[17]</sup>研究结果一致。

在无痛胃镜麻醉过程中麻醉药物对呼吸及循环系统的抑制作用是对老年患者另一个重要的危险因素。临床一线希望获得一种麻醉深度合适且可控、不影响呼吸机循环系统、苏醒快的麻醉方式, 复合麻醉应运而生。本研究中依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉组, 患者血压水平稳定且维持在相对较高水平, 有利于组织灌注。在不良反应发生方面, 依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉组心律失常、血压过低、干呕、体动、 $\text{SPO}_2$ 过低等不良反应的发生次数明显较少, 说明依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉对循环系统抑制作用明显要优于异丙酚复合瑞芬太尼的麻醉方式。与郭波<sup>[18]</sup>等研究结果一致。而在呼吸系统抑制方面, 本研究发现异丙酚复合瑞芬太尼组的自主呼吸恢复时间明显较短, 对呼吸系统抑制作用较小。

总之, 依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑患者胃镜下治疗时更适合, 患者情况更加平稳, 能有效减少对患者呼吸功能和应激系统的不良影响, 使患者治疗时不良反应的发生次数减少, 更利于患者的预后。但也有所不足, 可以通过改进麻醉剂量、药物维持剂量等<sup>[19]</sup>。通过这次研究, 认为依托咪酯复合瑞芬太尼较异丙酚复合瑞芬太尼更具有优势, 可以在临床上推广使用。

## 文章亮点

### 实验背景

异丙酚或依托咪酯复合瑞芬太尼为目前常用无痛胃镜麻醉方式。老年患者无痛胃镜治疗风险较高且缺乏临床实验数据,

### 实验动机

实际临床应用中, 因老年患者无痛胃镜麻醉风险较高, 对普通胃镜耐受程度较低, 给一线临床工作带来了两难的问题, 本文拟比较老年食管白斑患者无痛胃镜常用麻

醉方式, 以期能为临床老年患者无痛胃镜麻醉选择提供依据。

### 实验目标

比较异丙酚、依托咪酯复合瑞芬太尼对老年食管白斑胃镜下治疗患者血流动力学、呼吸功能及应激激素水平的影响。以期能为临床老年患者无痛胃镜麻醉选择提供依据。

### 实验方法

所有入选患者根据随机数字表法分为两组, 分别应用异丙酚复合瑞芬太尼和依托咪酯复合瑞芬太尼两种方式进行麻醉, 在术前及术后留取患者血液标本检测当时应激激素水平(包括: 促肾上腺皮质激素、糖皮质激素、血管紧张素); 记录术中血流动力学指标(血压、心率等)级血氧饱和度(oxygen saturation,  $\text{SPO}_2$ ); 记录术中及术后不良反应(如: 心律失常、血压过低、干呕、体动、 $\text{SPO}_2$ 过低等)发生情况; 记录术后患者恢复自主呼吸时间。

### 实验结果

依托咪酯复合瑞芬太尼麻醉在无痛胃镜治疗时, 患者血流动力学更加平稳、应激激素水平更低、 $\text{SPO}_2$ 更稳定、不良反应发生更少, 但其术后自主呼吸恢复时间较长。异丙酚复合瑞芬太尼仅在自主呼吸恢复时间上有优势。

### 实验结论

依托咪酯复合瑞芬太尼在对老年患者血流动力学、应激激素水平、 $\text{SPO}_2$ 影响较少, 不良反应发生少, 较异丙酚符合瑞芬太尼更具有优势值得推广使用。

### 展望前景

本研究样本量较小, 高龄老年患者比例较少, 需要进一步扩大研究人群以便得到更普适的结论。

## 4 参考文献

- 曹玲. 丙泊酚联合瑞芬太尼静脉麻醉在骨科老年患者手术中的应用效果分析. 基层医学论坛 2019; 23: 1549-1550 [DOI: 10.19435/j.1672-1721.2019.11.048]
- Kessler U, Bjorke-Bertheussen J, Soreide E, Hunderi PA, Bache-Mathiesen L, Oedegaard KJ, Sartorius A, Schoeyen H. Remifentanyl as an adjunct to anaesthesia for electroconvulsive therapy fails to confer long-term benefits. *Br J Anaesth* 2018; 121: 1282-1289 [PMID: 30442255 DOI: 10.1016/j.bja.2018.07.011]
- 陈其虎, 吴晋, 房栩丞. 瑞芬太尼复合丙泊酚在无痛胃镜检查中的临床应用. 中国社区医师 2019; 35:137-138 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-614x.2019.04.090]
- 张丽, 王敏, 董鹏, 田鸣. 依托咪酯复合麻醉用于老年患者无痛膀胱镜检查的临床效果比较. 临床和实验医学杂志 2018; 17: 1897-1900 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2018.17.031]
- Darracq M, Sleight J, Banks MI, Sanders RD. Characterising

- the effect of propofol on complexity and stability in the EEG power spectrum. *Br J Anaesth* 2018; 121: 1368-1369 [PMID: 30442267 DOI: 10.1016/j.bja.2018.09.006]
- 6 Suhitharan T, Subramani S, Win MTM, Sulaiman WB, Johar NB, Chi OB. Effect of remifentanyl on the recovery profile after head and neck surgeries: A prospective study. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2018; 34: 307-313 [PMID: 30386011 DOI: 10.4103/joacp.JOACP\_337\_16]
- 7 韦家新. 依托咪酯用于老年患者无痛胃镜检查的有效剂量. *医药报* 2018; 37: 712-714 [DOI: 10.3870/j.issn.1004-0781.2018.06.014]
- 8 Hulsman N, Hollmann MW, Preckel B. Newer propofol, ketamine, and etomidate derivatives and delivery systems relevant to anesthesia practice. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 2018; 32: 213-221 [PMID: 30322461 DOI: 10.1016/j.bpa.2018.08.002]
- 9 严明, 周薇, 李祖阁, 李清. 七氟烷复合瑞芬太尼对腹腔镜胆囊切除术患者应激、血流动力学和认知功能影响. *陕西医学杂志* 2018; 47: 1181-1184 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2018.09.025]
- 10 张伟, 田明静, 高成杰. BIS靶控输注丙泊酚或依托咪酯复合瑞芬太尼对子宫切除术麻醉效果的分析. *中国妇幼健康研究* 2017; 28: 932-934 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-5293.2017.08.014]
- 11 Sang HM, Cao JL, Soyfoo MD, Zhang WM, Jiang JX, Xu SF. Endoscopic and Histopathology Characteristics in Patients with Esophageal High-Grade Intraepithelial Neoplasia. *Dig Surg* 2018; 1-10 [PMID: 29945127 DOI: 10.1159/000490112]
- 12 Sindwani G, Suri A, Shamim R. Oral gastroscope-guided bougie insertion and endotracheal intubation. *Indian J Anaesth* 2018; 62: 478-479 [PMID: 29962535 DOI: 10.4103/ija.IJA\_64\_18]
- 13 杨卫玉, 武瑞涛, 贾丽. 瑞芬太尼用于老年患者无痛胃镜检查的安全有效剂量研究. *山西医药杂志* 2018; 47: 2039-2041 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9926.2018.17.017]
- 14 Sanri E, Karacabey S, Akoglu H, Kaya B, Guneyse O. Comparison of ketamine/propofol (ketofol) and etomidate/fentanyl (etofen) combinations for procedural sedation and analgesia in the emergency department: An observational study. *Turk J Emerg Med* 2017; 17: 89-94 [PMID: 28971155 DOI: 10.1016/j.tjem.2017.01.003]
- 15 Ryu KH, Kim JA, Ko DC, Lee SH, Choi WJ. Desflurane reduces intraoperative remifentanyl requirements more than sevoflurane: comparison using surgical pleth index-guided analgesia. *Br J Anaesth* 2018; 121: 1115-1122 [PMID: 30336856 DOI: 10.1016/j.bja.2018.05.064]
- 16 Saliminia A, Azimaraghi O, Javadi A, Abdoulahpoor M, Movafegh A. Comparison of granisetron and lidocaine on reducing injection pain of etomidate: a controlled randomized study. *Rev Bras Anesthesiol* 2017; 67: 615-618 [PMID: 28826968 DOI: 10.1016/j.bjan.2017.04.027]
- 17 张华, 张联. 瑞芬太尼联合异丙酚或依托咪酯用于无痛胃镜检查对炎症应激反应的影响. *海南医学院学报* 2018; 24: 2086-2089 [DOI: 10.13210/j.cnki.jhmu.20181010.001]
- 18 郭波, 汤伟. 异丙酚和依托咪酯复合瑞芬太尼对老年无痛胃镜患者的呼吸循环系统影响的比较. *重庆医学* 2017; 46: 628-631 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.05.017]
- 19 夏勇军, 郑凌, 白永峰. 丙泊酚复合依托咪酯辅助表面麻醉在老年高血压患者无痛胃镜检查中的临床观察. *武警医学* 2011; 22: 1087-1089 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-3594.2011.12.028]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## 嗜酸性粒细胞性食管炎诊疗进展

郑璞, 谭煌英

郑璞, 北京医院急诊科 北京市 100005

谭煌英, 中日友好医院中西医结合肿瘤内科 北京市 100029

郑璞, 住院医师, 医学硕士, 主要从事消化及急诊内科的临床研究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, No. 81673763.

作者贡献分布: 本文综述由郑璞完成; 谭煌英审校.

通讯作者: 谭煌英, 教授, 主任医师, 100029, 北京市朝阳区樱花东路2号, 中日友好医院中西医结合肿瘤内科. [tanhuangying@263.net](mailto:tanhuangying@263.net)  
电话: 010-53236555

收稿日期: 2019-05-06

修回日期: 2019-06-08

接受日期: 2019-07-03

在线出版日期: 2019-07-08

### New developments in diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis

Pu Zheng, Huang-Ying Tan

Pu Zheng, Department of Emergency Medicine, Beijing Hospital, Beijing 100005, China

Huang-Ying Tan, Department of Integrative Oncology, China-Japan Friendship Hospital, Beijing 100029, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81673763.

Corresponding author: Huang-Ying Tan, Professor, Chief Physician, Department of Integrative Oncology, China-Japan Friendship Hospital, 2 Yinghuadong Street, Chaoyang District, Beijing 100029, China. [tanhuangying@263.net](mailto:tanhuangying@263.net)

Received: 2019-05-06

Revised: 2019-06-08

Accepted: 2019-07-03

Published online: 2019-07-08

### Abstract

Eosinophilic esophagitis (EoE) is a chronic, allergen-driven, immune mediated disease of the esophagus that progresses to esophageal fibrostenosis if not well treated. The aim of this review is to provide an update on recent clinical advances in the development of diagnostic and therapeutic approaches for EoE. At present, the diagnosis and disease monitoring for EoE rely on repetitive endoscopic evaluations and esophageal tissue acquisition for histopathologic analysis. Recent advancements in EoE diagnosis include transnasal endoscopy, endoscopic functional lumen imaging probe, and the emergence of non-invasive diagnostic tools including cytosponge, esophageal string test, and mucosal impedance probe. Biomarkers for EoE have not yet proven their clinical utility. The current treatment modalities for EoE are topical corticosteroid, proton-pump inhibitors, elimination diet, and dilation. Promising results from clinical trials are emerging for biologic agents that target the interleukin (IL)-13 and the IL-4/IL-13 receptor, specifically, RPC4046 and dupilumab. Especially, dupilumab is promising to become the orphan drug of EoE.

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

Key Words: Eosinophilic esophagitis; Allergy; Endoscopy

Zheng P, Tan HY. New developments in diagnosis and treatment of eosinophilic esophagitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 828-834

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/828.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.828>

### 摘要

嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)



是一种慢性的、由过敏原驱动的、免疫介导的相对少见食道疾病, 如果未经有效的治疗, 会发展为严重食道纤维狭窄。本综述的目的是提供对该疾病研究的一些最新进展, 包括临床诊断和治疗方法。当前对疾病的诊断和疾病监测方案过度依赖于反复的内镜评价和食管活检进行组织病理学分析。最新的EoE诊断进展包括内镜下管腔功能成像探头、经鼻内镜, 以及非侵入性诊断工具的出现, 包括细胞海绵、食管管柱测试和黏膜阻抗探针, 目前, EoE的生物标志物尚未证明其临床应用价值。主要的治疗方式为局部皮质类固醇、质子泵抑制剂、饮食剔除治疗和内镜下食管扩张等。针对白细胞介素(interleukin, IL)-13受体的RPC4046和IL-4/IL-13受体的Dupilumab, 这些生物制剂RPC4046和Dupilumab的临床试验取得了一些有意义的结果, 尤其是Dupilumab可能成为该疾病的所谓孤儿药物。

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

关键词: 嗜酸性粒细胞性食管炎; 过敏; 内镜

**核心提要:** 嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)是一种相对少见的食管疾病, 本文详述了该病的诊疗及其进展以提高认识。除了局部皮质类固醇、质子泵抑制剂、饮食剔除疗法和内镜下食管扩张等治疗, 针对白细胞介素(interleukin, IL)-4/IL-13受体的新药Dupilumab, 取得了令人振奋的研究结果, 有望成为该疾病的所谓孤儿药物。

郑璞, 谭煌英. 嗜酸性粒细胞性食管炎诊疗进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 828-834

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/828.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.828>

## 0 引言

嗜酸性粒细胞性食管炎(eosinophilic esophagitis, EoE)是一种慢性的、由过敏原驱动的、免疫介导的食道疾病<sup>[1,2]</sup>。在欧美国家男性: 女性患病率之比约为3:1, 总患病率在10-57例/10万人之间, 在有相关症状的患者中更高<sup>[3,4]</sup>。国内尚未见到该病在中国病流行病学的相关报导。其基本发病机制是: 持续未被控制的食管慢性炎症逐渐引发食管运动障碍、组织顺应性降低及纤维狭窄, 从而引起吞咽困难及食物嵌塞的临床表现<sup>[5,6]</sup>。儿童主要表现为固态食物吞咽困难、食物嵌塞及因上述原因继发的发育不良<sup>[5]</sup>。成年人多表现为进食困难、胸痛、食物反流、食物嵌塞<sup>[7]</sup>。尽管我们对EoE的理解和认识在逐步改善, 但从症状出现到明确诊断仍有明显延迟<sup>[8]</sup>。诊断的延迟会

给患者带来不良后果, 因为食管狭窄形成的风险随着诊断的延迟每年都在增加<sup>[5]</sup>。这篇综述的目的是提供一些关于EoE的诊断及治疗的新进展, 以助于我们对EoE有一个更好的认识。

## 1 诊断

根据美国胃肠病学院EoE临床指南2013版诊断标准: EoE是一种临床-病理疾病, 诊断时必须同时考虑临床和病理信息, 二者不可分割。EoE的诊断标准: (1)食管功能紊乱相关的症状; (2)食管活检显示以嗜酸性粒细胞为主的炎症, 其特征是嗜酸性粒细胞 $\geq 15/\text{HPF}$ ; (3)黏膜嗜酸性粒细胞增多局限于食管, 质子泵抑制剂(proton-pump inhibitors, PPI)试验治疗后持续存在; (4)除外食管嗜酸性粒细胞增多的继发原因; (5)治疗(饮食剔除、局部皮质激素)有效支持诊断, 但非必需<sup>[9]</sup>。

### 1.1 可视化检查

**1.1.1 普通内镜:** 通过内镜直接观察食管管腔和黏膜不仅提供有用的诊断信息, 而且使医生能够获得食管活检, 以便明确诊断和疾病分层, 确诊后以EoE内镜镜参考评分来量化疾病分层。其主要评估指标是: 食管的水肿程度、渗出物多少、环状裂隙及纵行裂隙数量、食管狭窄程度<sup>[10-12]</sup>。目前的研究表明有42%的食管活检中没有足够的固有层, 导致明确是否存在上皮下纤维化困难, 因此, 建议最少取七块中远段食管片段以明确是否存在食管上皮下纤维化。

**1.1.2 经鼻内镜(transnasal endoscopy, TNE):** TNE是一种最新的诊断工具, 由于其安全性、成本效益、可行性和患者的偏好, 临床医师可能会倾向于广泛采用它<sup>[13]</sup>。TNE在只使用表面麻醉的情况下可取得近端食道的活检组织。在对中老年患者进行的研究中表明, 与使用标准内镜钳进行内镜检查的同一受试者相比, 黏膜活检的总表面积没有显著差异<sup>[13]</sup>。超过一半的患者更喜欢这种方法, 但对诊断的准确率上是否与普通内镜镜相似, 需要在更大的队列中进行进一步的验证。

**1.1.3 食道造影:** 可以通过吞咽造影剂及X线检查检测EoE中的纤维狭窄变化<sup>[14]</sup>。然而, 因该病相对少见, 需要寻找对该病熟悉的影像医生对图像进行解读, 这可能存在一定困难。

**1.1.4 内镜下管腔功能成像探针(endoscopic functional lumen imaging probe, FLIP):** 评价EoE患者食管口径和扩张性的一种新的、被广泛接受的内镜方法。FLIP使用高分辨率阻抗平面测量法来确定沿轴向食管横截面的压力和几何变化<sup>[15,16]</sup>。食管扩张性降低也是小儿EoE病变的特征<sup>[6]</sup>, 其对早期诊断EoE并及时治疗以防止病理性

的组织重塑有积极意义, 因此FLIP确立了其在EoE严重程度评估、疾病分层和治疗反应评估中的重要性。

1.2 侵入性较小的检查 由于反复内镜取活检具有侵入性, 因此国外发明了一些诊断EoE和评估疾病活动的微创方法。

1.2.1 细胞海绵(Cytosponge): 是一种被压缩在可溶解的明胶胶囊中的绳球形网状海绵, 患者吞下后, 再通过绳子从口中取出。该方法制备的食管组织标本安全、耐受性好, 可用于组织病理学分析。细胞反应性和组织学活性的敏感性和特异性分别为75%和86%<sup>[17,18]</sup>。

1.2.2 食管管柱试验: 类似于Cytosponge的操作方法, 可捕获粘附的管腔分泌物, 但主要分析其中含有的嗜酸性粒细胞衍生的蛋白质, 可反映EoE中的黏膜炎症<sup>[19]</sup>。

1.2.3 食道刷洗: 包括内镜下食道刷洗和经鼻胃管盲性食道刷洗<sup>[20,21]</sup>, 检测刷洗液中嗜酸性粒细胞衍生神经毒素(esophageal levels of eosinophil-derived neurotoxin EDN)的水平, 对该病病情检测同样有一定意义。

1.2.4 食管黏膜电阻抗: 测量食管黏膜表面的电阻抗是评估EoE疾病活动的另一种新方法<sup>[22,23]</sup>。黏膜阻抗探针检测阻抗变化, 被认为与食管屏障功能缺陷有关。黏膜阻抗与食管嗜酸性粒细胞计数和EoE的严重程度成反比, 从而能够快速确定和监测EoE的活动<sup>[24]</sup>。

1.3 潜在的生物标志物 血清EoE相关细胞因子、趋化因子和血清蛋白等尚未证明其作为EoE的血清学生物标志物的临床实用性<sup>[25-27]</sup>。研究发现EoE患者的外周血绝对嗜酸性粒细胞计数(AEC)升高, 而血清嗜酸粒细胞过氧化物酶水平、血清嗜酸粒细胞过氧化物酶水平与AEC的比值较低, 与食管嗜酸性粒细胞密度呈负相关, 因此被认为是潜在的生物标志物<sup>[28]</sup>。多个食物特异性血清IgE抗体相关物与非特异性胃肠道症状的EoE儿童相关, 可能有希望用于EoE患者的分层<sup>[29]</sup>。血清食管上皮特异性自身抗体, 包括抗桥粒芯糖蛋白3(desmoglein, DSG3)IgG4和抗胶原XVII(anti-collagen XVII, NC16A)IgG4, 在EoE患者明显升高, 其中抗NC16A IgG4, 在接受局部皮质类固醇治疗后较前降低<sup>[30]</sup>。这些新兴的生物标记物虽然有希望成为诊断的重要标记物, 但还需要更加详实的证据进行验证。

## 2 治疗

目前还没有被美国食品药品监督管理局批准专门针对EoE治疗的药物。当前EoE的治疗主要是综合性的治疗包括: 长期皮质类固醇治疗、PPI、饮食剔除治疗、生活方式改变以及定期复查的内镜诊断和疗效评估, 必要时可通过内镜扩张改善症状<sup>[31,32]</sup>。还有一些生物制剂正在进行临床研究, 包括dupilumab, 一种针对白细胞介素

(interleukin, IL)-13和IL-4受体 $\alpha$ 链的单克隆抗体<sup>[33]</sup>。

2.1 皮质激素 口服局部皮质类固醇控制炎症是EoE治疗的主要方法之一<sup>[31]</sup>。在美国, 氟替卡松作为雾化吸入制剂和口服布地奈德粘性制剂是两种最常用的治疗EoE的局部皮质类固醇<sup>[34]</sup>。大量研究证明, 局部应用皮质类固醇可抑制食管上皮性炎症, 改善黏膜屏障完整性和组织学重塑, 从而改善食管直径、扩张性和食物嵌塞率<sup>[35,36]</sup>。口服粘性布地奈德治疗在儿童和青少年EoE中比丙酸氟替卡松有更好的内镜和组织学改善; 这可能是由于口服粘性皮质类固醇制剂有更好的食管黏膜沉积<sup>[37]</sup>。在患有EoE的儿童中, 长期维持剂量的雾化和吞咽氟替卡松被发现是安全的, 并在组织炎症、固有层纤维化、内镜特征和临床症状方面取得了改善<sup>[36]</sup>。最近, 关于治疗EoE的一项诱导-维持性皮质类固醇方案被提出<sup>[38]</sup>。在本方案中, 对于成人EoE患者, 1 d两次给予1 mg布地奈德诱导治疗2-4 wk, 达到临床疗效后, 予以1 d两次0.25 mg的维持治疗, 如果患者持续6 mo以上深度缓解, 包括临床症状改善、内镜下炎症缓解(完全没有白色渗出物和水肿)、组织学炎症缓解(嗜酸性粒细胞计数峰值小于5个嗜酸性粒细胞每高倍视野), 则可停止使用皮质类固醇, 使用该方案, 只有9.4%的成年EoE患者在89 wk时获得了深度缓解, 同时有81.8%的患者在中位22.4 wk后出现EoE临床反复。在另一项研究中, 成人EoE患者每隔1 d一次布地奈德0.25 mg维持剂量是无效<sup>[39]</sup>。这些研究表明, EoE可能需要更高的皮质类固醇维持治疗剂量。在药物不良反应方面: 在接受局部吞咽皮质类固醇治疗的患者中, 约20%(0%-26%)出现无症状的食管念珠菌病<sup>[40]</sup>; 还有研究表明, 大剂量吞咽局部丙酸氟替卡松或口服粘性布地奈德的儿童会出现肾上腺功能不全<sup>[41,42]</sup>, 所以定期监测患者的肾上腺功能是有必要的。

2.2 PPI PPI是目前广泛认可的EoE一线治疗药物, PPI治疗除了抑制酸性环境外, 还能调节食管炎症<sup>[43]</sup>。最近一项33项研究的荟萃分析, 包括619名有症状的EoE患者, 证明PPI治疗使60.8%患者获得临床症状的缓解, 50.5%的患者获得组织学的缓解<sup>[44]</sup>。一项包括57名患儿的研究提示, 初始接受1 mg/kg(最多40 mg)剂量1 d两次, 持续8 wk, 之后每天1 mg/kg(最多40 mg)剂量1 d一次维持一年后, 其中86%和70.1%的儿童分别获得了临床缓解和组织学缓解, 且具有足够的安全性<sup>[45]</sup>。同一亚组中的12名儿童中的11名(91.6%)在第二个12 mo期间埃索美拉唑维持剂量进一步降低至0.5 mg/kg每日一次的治疗, 其组织学缓解持续2年。虽然PPI存在一些副作用, 包括腹泻、腹痛、头痛和荨麻疹, 但也是相对轻微和罕见的<sup>[45]</sup>。目前认为在初始治疗时可能需要大剂量的诱导治疗, 以达到炎症调节和黏膜屏障恢复的治疗效果, 之后将维持剂量



减至最低有效剂量, 尽量减少药物不良反应。

**2.3 饮食剔除治疗** 剔除食物源性抗原刺激对于实现EoE患者的组织学和临床缓解是非常有效的<sup>[46]</sup>, 但患者的治疗依从性是一个重大的挑战。有研究表明, 要素饮食(包括人体所需易于消化的营养要素的化学精制食品)4 wk改善了88%的临床症状, 71%的患者获得了组织学变化, 黏膜屏障完整性得到改善, 关键细胞因子如IL-13、IL-5和胸腺基质淋巴生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)的基因表达显著降低<sup>[47,48]</sup>。还有研究表明, 通过要素饮食疗法, 88%的EoE患者的食管炎症得到改善; 通过六种饮食剔除(Six food rejection diets, TFED), (不包括牛奶、小麦、鸡蛋、大豆、坚果和海鲜), 74%的食管炎症得到改善; 通过四种饮食剔除(four food rejection diets, TFED), (不包括牛奶、小麦、鸡蛋和坚果)策略, 64%的食管炎症得到改善<sup>[49,50]</sup>。一项包括1128名儿童和189名成年EoE患者进行的33项研究的荟萃分析表明, 要素饮食对90.8%的病例有效, SFED为72.1%, 过敏试验指导下的饮食对45.5%的病例有效<sup>[46]</sup>。通过皮肤刺试验和变应原贴片试验进行的过敏试验指导的选择性饮食在成人EoE中的疗效并不理想, 因此通常并不推荐<sup>[51]</sup>。虽然要素饮食, SFED或FFED被证明是有效的, 但可能导致不必要的饮食限制, 所以近期提出了一种新的饮食剔除策略。在一项多中心前瞻性临床试验中, EoE患者实施2-4-6逐步饮食剔除策略, 尽早确定了EoE的食物触发因素, 从而避免了不必要的饮食限制<sup>[52]</sup>。简单地说, 患者首先开始两种食物剔除饮食(two food rejection diets, TFED)排除了牛奶和含谷物的麸质。无应答者按顺序增加到FEED, 额外排除了鸡蛋和豆类, 最终进入SFED, 排除了坚果、鱼类。每次饮食剔除治疗持续6 wk, 有43%的TFED组、60%同时接受TFED和FFED患者以及79%的接受三级饮食剔除治疗的患者最终实现了EoE缓解<sup>[53]</sup>。但也有人认为, 在6 wk试验后宣布饮食剔除治疗失败过早, 当饮食剔除治疗延长到平均10 wk时, 组织学上最终可以观察到饮食剔除治疗的食管良性变化<sup>[53]</sup>。

**2.4 相关生物疗法** QAX576, 一种抗IL-13单克隆抗体, 降低了食管嗜酸性粒细胞和EoE相关基因的表达, 但没有显著改善临床症状<sup>[31]</sup>。RPC4046, 同样是抗IL-13的单克隆抗体, 降低了食管嗜酸细胞计数, 同时改善了EoE患者的内镜特征和吞咽困难, 特别是类固醇难治性EoE患者<sup>[31]</sup>。Dupilumab, 一种针对IL-13和IL-4受体 $\alpha$ 链的抗体, 最有可能成为EoE的所谓的孤儿药物, 在一项为期12周的II期随机双盲安慰剂对照临床试验中, 对47例中度至重度EoE的成人患者进行了600 mg皮下注射负荷剂量的Dupilumab, 随后每周300 mg皮下注射, 治疗第10 wk时, Straumann吞咽困难评分降低了3点(45%改善率), 安

慰剂组的降低了1.3点(19%改善率), 治疗组的组织学缓解(总的上皮内嗜酸细胞峰值计数ORE)较治疗前降低了93%, 而安慰剂组的ORE增加了14%, 且治疗组较安慰剂组食管扩张性明显改善<sup>[33]</sup>。

**2.5 内镜下扩张治疗** 如出现纤维狭窄、有吞咽困难症状的EoE可以通过缓慢、渐进的内镜下扩张治疗来缓解, 且患者耐受性良好<sup>[54]</sup>。在对845名接受了1820次扩张的EoE患儿和成人进行的荟萃分析中, 临床有效率为95%, 并发症发生率非常低(穿孔0.38%, 出血0.05%, 住院0.67%)<sup>[55]</sup>。重复多次扩张的预测因素是一个较小的食道直径基线值, 这些患者通常会在一年内进行第二次扩张治疗<sup>[54]</sup>。

### 3 结论

EoE的最新研究进展正在不断改善我们的诊断和治疗方法。目前的诊断仍然依赖于内镜下食管活检的组织采集和组织病理学分析。建议内镜活检需要更加深取一些, 尽量包括固有层, 才能更准确地描述EoE严重程度。当然目前也在研究一些相对无创性的诊断方法。目前被业界认可的治疗策略, 包括利用饮食剔除以排除抗原刺激、皮质类固醇以及PPI的治疗, 以控制组织炎症和病理组织重塑, 根据病情轻重可选择单一或联合治疗, 建议由饮食剔除治疗开始逐步联合PPI和/或激素治疗。对于存在食管纤维狭窄的病人, 内镜下扩张治疗可以有不错的疗效及安全性, 但通过合适的药物和去敏饮食疗法是可以避免进展到这一步的。Dupilumab是一种新兴的治疗EoE的药物, 有望获得孤儿药物地位。鉴于EoE患者治疗方案的复杂性且需要频繁的随访, 我们需要一种多模式、多学科合作的管理方法来为患者提供更好的服务。

### 4 参考文献

- 1 Dellon ES, Hirano I. Epidemiology and Natural History of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 319-332.e3 [PMID: 28774845 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.06.067]
- 2 O'Shea KM, Aceves SS, Dellon ES, Gupta SK, Spergel JM, Furuta GT, Rothenberg ME. Pathophysiology of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 333-345 [PMID: 28757265 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.06.065]
- 3 Moawad FJ. Eosinophilic Esophagitis: Incidence and Prevalence. *Gastrointest Endosc Clin N Am* 2018; 28: 15-25 [PMID: 29129296 DOI: 10.1016/j.giec.2017.07.001]
- 4 Shaheen NJ, Mukkada V, Eichinger CS, Schofield H, Todorova L, Falk GW. Natural history of eosinophilic esophagitis: a systematic review of epidemiology and disease course. *Dis Esophagus* 2018; 31 [PMID: 29617744 DOI: 10.1093/dote/doy015]
- 5 Warners MJ, Oude Nijhuis RAB, de Wijkerslooth LRH, Smout AJPM, Bredenoord AJ. The natural course of eosinophilic esophagitis and long-term consequences of undiagnosed disease in a large cohort. *Am J Gastroenterol* 2018; 113: 836-844 [PMID: 29700481 DOI: 10.1038/s41395-018-0052-5]



- 6 Menard-Katcher C, Benitez AJ, Pan Z, Ahmed FN, Wilkins BJ, Capocelli KE, Liacouras CA, Verma R, Spergel JM, Furuta GT, Muir AB. Influence of Age and Eosinophilic Esophagitis on Esophageal Distensibility in a Pediatric Cohort. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1466-1473 [PMID: 28508868 DOI: 10.1038/ajg.2017.131]
- 7 Falk GW. Clinical presentation of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: 231-242 [PMID: 24813512 DOI: 10.1016/j.gtc.2014.02.009]
- 8 Reed CC, Koutlas NT, Robey BS, Hansen J, Dellon ES. Prolonged Time to Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis Despite Increasing Knowledge of the Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; 16: 1667-1669 [PMID: 29374615 DOI: 10.1016/j.cgh.2018.01.028]
- 9 Dellon ES, Gonsalves N, Hirano I, Furuta GT, Liacouras CA, Katzka DA; American College of Gastroenterology. ACG clinical guideline: Evidence-based approach to the diagnosis and management of esophageal eosinophilia and eosinophilic esophagitis (EoE). *Am J Gastroenterol* 2013; 108: 679-692; quiz 693 [PMID: 23567357 DOI: 10.1038/ajg.2013.71]
- 10 Hirano I, Moy N, Heckman MG, Thomas CS, Gonsalves N, Achem SR. Endoscopic assessment of the esophageal features of eosinophilic esophagitis: validation of a novel classification and grading system. *Gut* 2013; 62: 489-495 [PMID: 22619364 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301817]
- 11 Dellon ES, Cotton CC, Gebhart JH, Higgins LL, Beitia R, Woosley JT, Shaheen NJ. Accuracy of the Eosinophilic Esophagitis Endoscopic Reference Score in Diagnosis and Determining Response to Treatment. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 31-39 [PMID: 26404868 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.08.040]
- 12 Wechsler JB, Bolton SM, Amsden K, Wershil BK, Hirano I, Kagalwalla AF. Eosinophilic esophagitis reference score accurately identifies disease activity and treatment effects in children. *Neurol Neurocir Psiquiatr* 1977; 18: 1-608 [PMID: 29248 DOI: 10.116/j.cqh.2017.12.019]
- 13 Hameed I, Hussain F. Proximate and elemental analysis of five selected medicinal plants of family Solanaceae. *Pak J Pharm Sci* 2015; 28: 1203-1215 [PMID: 26142511 DOI: 10.1016/j.gie.2015.05.044]
- 14 Nelson MJ, Miller FH, Moy N, Zalewski A, Gonsalves N, Gregory DL, Hirano I. Comparison of endoscopy and radiographic imaging for detection of esophageal inflammation and remodeling in adults with eosinophilic esophagitis. *Gastrointest Endosc* 2018; 87: 962-968 [PMID: 28989006 DOI: 10.1016/j.gie.2017.09.037]
- 15 Hirano I, Pandolfino JE, Boeckstaens GE. Functional Lumen Imaging Probe for the Management of Esophageal Disorders: Expert Review From the Clinical Practice Updates Committee of the AGA Institute. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 325-334 [PMID: 28212976 DOI: 10.1016/j.cgh.2016.10.022]
- 16 Ahuja NK, Clarke JO. The Role of Impedance Planimetry in the Evaluation of Esophageal Disorders. *Curr Gastroenterol Rep* 2017; 19: 7 [PMID: 28220362 DOI: 10.1007/s11894-017-0544-2]
- 17 Katzka DA, Smyrk TC, Alexander JA, Geno DM, Beitia RA, Chang AO, Shaheen NJ, Fitzgerald RC, Dellon ES. Accuracy and Safety of the Cytosponge for Assessing Histologic Activity in Eosinophilic Esophagitis: A Two-Center Study. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1538-1544 [PMID: 28809387 DOI: 10.1038/ajg.2017.244]
- 18 Katzka DA, Geno DM, Ravi A, Smyrk TC, Lao-Sirieix P, Miremadi A, DeBiram I, O'Donovan M, Kita H, Kephart GM, Kryzer LA, Camilleri M, Alexander JA, Fitzgerald RC. Accuracy, safety, and tolerability of tissue collection by Cytosponge vs endoscopy for evaluation of eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2015; 13: 77-83.e2 [PMID: 24997328 DOI: 10.1016/j.cgh.2014.06.026]
- 19 Furuta GT, Kagalwalla AF, Lee JJ, Alumkal P, Maybruck BT, Fillon S, Masterson JC, Ochkur S, Protheroe C, Moore W, Pan Z, Amsden K, Robinson Z, Capocelli K, Mukkada V, Atkins D, Fleischer D, Hosford L, Kwatia MA, Schroeder S, Kelly C, Lovell M, Melin-Aldana H, Ackerman SJ. The esophageal string test: a novel, minimally invasive method measures mucosal inflammation in eosinophilic esophagitis. *Gut* 2013; 62: 1395-1405 [PMID: 22895393 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303171]
- 20 Kern E, Lin D, Larson A, Yang GY, Taft T, Zalewski A, Gonsalves N, Hirano I. Prospective assessment of the diagnostic utility of esophageal brushings in adults with eosinophilic esophagitis. *Dis Esophagus* 2016; 29: 48-53 [PMID: 25515533 DOI: 10.1111/dote.12304]
- 21 Smadi Y, Deb C, Bornstein J, Safder S, Horvath K, Mehta D. Blind esophageal brushing offers a safe and accurate method to monitor inflammation in children and young adults with eosinophilic esophagitis. *Dis Esophagus* 2018; 31 [PMID: 29905784 DOI: 10.1093/dote/doy056]
- 22 Patel DA, Vaezi MF. Utility of esophageal mucosal impedance as a diagnostic test for esophageal disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2017; 33: 277-284 [PMID: 28437259 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000367]
- 23 Choksi Y, Lal P, Slaughter JC, Sharda R, Parnell J, Higginbotham T, Vaezi MF. Esophageal Mucosal Impedance Patterns Discriminate Patients With Eosinophilic Esophagitis From Patients With GERD. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; 16: 664-671.e1 [PMID: 29248733 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.12.020]
- 24 Lowry MA, Vaezi MF, Correa H, Higginbotham T, Slaughter JC, Acra S. Mucosal Impedance Measurements Differentiate Pediatric Patients With Active Versus Inactive Eosinophilic Esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 67: 198-203 [PMID: 29543695 DOI: 10.1097/MPG.]
- 25 Ishihara S, Shoda T, Ishimura N, Ohta S, Ono J, Azuma Y, Okimoto E, Izuhara K, Nomura I, Matsumoto K, Kinoshita Y. Serum Biomarkers for the Diagnosis of Eosinophilic Esophagitis and Eosinophilic Gastroenteritis. *Intern Med* 2017; 56: 2819-2825 [PMID: 28943560 DOI: 10.2169/internalmedicine.8763-16]
- 26 Dellon ES, Rusin S, Gebhart JH, Covey S, Higgins LL, Beitia R, Speck O, Woodward K, Woosley JT, Shaheen NJ. Utility of a Noninvasive Serum Biomarker Panel for Diagnosis and Monitoring of Eosinophilic Esophagitis: A Prospective Study. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 821-827 [PMID: 25781367 DOI: 10.1038/ajg.2015.57]
- 27 Dellon ES, Higgins LL, Beitia R, Rusin S, Woosley JT, Veerappan R, Selitsky SR, Parker JS, Genta RM, Lash RH, Aranda R, Peach RJ, Grimm M. Prospective assessment of serum periostin as a biomarker for diagnosis and monitoring of eosinophilic esophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 44: 189-197 [PMID: 27193351 DOI: 10.1111/apt.13672]
- 28 Wright BL, Ochkur SI, Olson NS, Shim KP, Jacobsen EA, Rank MA, Dellon ES, Lee JJ. Normalized serum eosinophil peroxidase levels are inversely correlated with esophageal eosinophilia in eosinophilic esophagitis. *Dis Esophagus* 2018; 31 [PMID: 29228243 DOI: 10.1093/dote/dox139]
- 29 Erwin EA, Rhoda DA, Redmond M, Ly JB, Russo JM, Hill ID, Platts-Mills TAE. Using Serum IgE Antibodies to Predict Esophageal Eosinophilia in Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017; 65: 520-525 [PMID: 28981449 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001553]
- 30 Dellon ES, Lin L, Beitia R, Moran TP, Qian Y. Serum autoantibodies against epithelial cell adhesion molecules as

- disease biomarkers of eosinophilic esophagitis. *Clin Exp Allergy* 2018; 48: 343-346 [PMID: 29193433 DOI: 10.1111/cea.13070]
- 31 Straumann A, Katzka DA. Diagnosis and Treatment of Eosinophilic Esophagitis. *Gastroenterology* 2018; 154: 346-359 [PMID: 28756235 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.05.066]
  - 32 Nhu QM, Aceves SS. Medical and dietary management of eosinophilic esophagitis. *Ann Allergy Asthma Immunol* 2018; 121: 156-161 [PMID: 29753831 DOI: 10.1016/j.anaai.2018.05.006]
  - 33 Sastre J, Dávila I. Dupilumab: A New Paradigm for the Treatment of Allergic Diseases. *J Invest Allergol Clin Immunol* 2018; 28: 139-150 [PMID: 29939132 DOI: 10.18176/jiaci.0254]
  - 34 Butz BK, Wen T, Gleich GJ, Furuta GT, Spergel J, King E, Kramer RE, Collins MH, Stucke E, Mangeot C, Jackson WD, O'Gorman M, Abonia JP, Penttiuk S, Putnam PE, Rothenberg ME. Efficacy, dose reduction, and resistance to high-dose fluticasone in patients with eosinophilic esophagitis. *Gastroenterology* 2014; 147: 324-333.e5 [PMID: 24768678 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.04.019]
  - 35 Simon D, Page B, Vogel M, Bussmann C, Blanchard C, Straumann A, Simon HU. Evidence of an abnormal epithelial barrier in active, untreated and corticosteroid-treated eosinophilic esophagitis. *Allergy* 2018; 73: 239-247 [PMID: 28712126 DOI: 10.1111/all.13244]
  - 36 Andrae DA, Hanna MG, Magid MS, Malerba S, Andrae MH, Bagiella E, Chehade M. Swallowed Fluticasone Propionate Is an Effective Long-Term Maintenance Therapy for Children With Eosinophilic Esophagitis. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 1187-1197 [PMID: 27325220 DOI: 10.1038/ajg.2016.238]
  - 37 Fable JM, Fernandez M, Goodine S, Lerer T, Sayej WN. Retrospective Comparison of Fluticasone Propionate and Oral Viscous Budesonide in Children With Eosinophilic Esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 66: 26-32 [PMID: 28489670 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001626]
  - 38 Greuter T, Bussmann C, Safroneeva E, Schoepfer AM, Biedermann L, Vavricka SR, Straumann A. Long-Term Treatment of Eosinophilic Esophagitis With Swallowed Topical Corticosteroids: Development and Evaluation of a Therapeutic Concept. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1527-1535 [PMID: 28719593 DOI: 10.1038/ajg.2017.202]
  - 39 Alexander JA. Steroid treatment of eosinophilic esophagitis in adults. *Gastroenterol Clin North Am* 2014; 43: 357-373 [PMID: 24813521 DOI: 10.1016/j.gtc.2014.02.001]
  - 40 Hsu S, Wood C, Pan Z, Rahat H, Zeitler P, Fleischer D, Menard-Katcher C, Furuta GT, Atkins D. Adrenal Insufficiency in Pediatric Eosinophilic Esophagitis Patients Treated with Swallowed Topical Steroids. *Pediatr Allergy Immunol Pulmonol* 2017; 30: 135-140 [PMID: 29062584 DOI: 10.1089/ped.2017.0779]
  - 41 Philpott H, Dougherty MK, Reed CC, Caldwell M, Kirk D, Torpy DJ, Dellon ES. Systematic review: adrenal insufficiency secondary to swallowed topical corticosteroids in eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2018; 47: 1071-1078 [PMID: 29508432 DOI: 10.1111/apt.14573]
  - 42 Cheng E, Zhang X, Huo X, Yu C, Zhang Q, Wang DH, Spechler SJ, Souza RF. Omeprazole blocks eotaxin-3 expression by oesophageal squamous cells from patients with eosinophilic oesophagitis and GORD. *Gut* 2013; 62: 824-832 [PMID: 22580413 DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302250]
  - 43 Lucendo AJ, Arias Á, Molina-Infante J. Efficacy of Proton Pump Inhibitor Drugs for Inducing Clinical and Histologic Remission in Patients With Symptomatic Esophageal Eosinophilia: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 13-22.e1 [PMID: 26247167 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.07.041]
  - 44 Gutiérrez-Junquera C, Fernández-Fernández S, Cilleruelo ML, Rayo A, Echeverría L, Borrell B, Román E. Long-term Treatment With Proton Pump Inhibitors Is Effective in Children With Eosinophilic Esophagitis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2018; 67: 210-216 [PMID: 29509636 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001952]
  - 45 Arias A, González-Cervera J, Tenias JM, Lucendo AJ. Efficacy of dietary interventions for inducing histologic remission in patients with eosinophilic esophagitis: a systematic review and meta-analysis. *Gastroenterology* 2014; 146: 1639-1648 [PMID: 24534634 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.02.006]
  - 46 Warners MJ, Vlieg-Boerstra BJ, Verheij J, van Hamersveld PHP, van Rhijn BD, Van Ampting MTJ, Harthoorn LF, de Jonge WJ, Smout AJPM, Bredenoord AJ. Esophageal and Small Intestinal Mucosal Integrity in Eosinophilic Esophagitis and Response to an Elemental Diet. *Am J Gastroenterol* 2017; 112: 1061-1071 [PMID: 28417991 DOI: 10.1038/ajg.2017.107]
  - 47 Warners MJ, Vlieg-Boerstra BJ, Verheij J, van Rhijn BD, Van Ampting MT, Harthoorn LF, de Jonge WJ, Smout AJ, Bredenoord AJ. Elemental diet decreases inflammation and improves symptoms in adult eosinophilic oesophagitis patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 45: 777-787 [PMID: 28112427 DOI: 10.1111/apt.13953]
  - 48 Kagalwalla AF, Wechsler JB, Amsden K, Schwartz S, Makhija M, Olive A, Davis CM, Manuel-Rubio M, Marcus S, Shaykin R, Sulkowski M, Johnson K, Ross JN, Riffle ME, Groetch M, Melin-Aldana H, Schady D, Palac H, Kim KA, Wershil BK, Collins MH, Chehade M. Efficacy of a 4-Food Elimination Diet for Children With Eosinophilic Esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2017; 15: 1698-1707.e7 [PMID: 28603055 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.05.048]
  - 49 Kagalwalla AF, Sentongo TA, Ritz S, Hess T, Nelson SP, Emerick KM, Melin-Aldana H, Li BU. Effect of six-food elimination diet on clinical and histologic outcomes in eosinophilic esophagitis. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 1097-1102 [PMID: 16860614 DOI: 10.1016/j.cgh.2006.05.026]
  - 50 Molina-Infante J, Martin-Noguerol E, AlvaradoArenas M, Porcel-Carreño SL, Jimenez-Timon S, Hernandez-Arbeiza FJ. Selective elimination diet based on skin testing has suboptimal efficacy for adult eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1200-1202 [PMID: 22867695 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.06.027]
  - 51 Molina-Infante J, Martin-Noguerol E, Alvarado-Arenas M, Porcel-Carreño SL, Jimenez-Timon S, Hernandez-Arbeiza FJ. Selective elimination diet based on skin testing has suboptimal efficacy for adult eosinophilic esophagitis. *J Allergy Clin Immunol* 2012; 130: 1200-1202 [PMID: 22867695 DOI: 10.1016/j.jaci.2012.06.027]
  - 52 Molina-Infante J, Arias Á, Alcedo J, Garcia-Romero R, Casabona-Frances S, Prieto-Garcia A, Modolell I, Gonzalez-Cordero PL, Perez-Martinez I, Martin-Lorente JL, Guarner-Argente C, Masiques ML, Vila-Miravet V, Garcia-Puig R, Savarino E, Sanchez-Vegazo CT, Santander C, Lucendo AJ. Step-up empiric elimination diet for pediatric and adult eosinophilic esophagitis: The 2-4-6 study. *J Allergy Clin Immunol* 2018; 141: 1365-1372 [PMID: 29074457 DOI: 10.1016/j.jaci.2017.08.038]
  - 53 Philpott H, Dellon E. Histologic improvement after 6 weeks of dietary elimination for eosinophilic esophagitis may be insufficient to determine efficacy. *Asia Pac Allergy* 2018; 8: e20 [PMID: 29732296 DOI: 10.5415/apallergy.2018.8.e20]
  - 54 Runge TM, Eluri S, Cotton CC, Burk CM, Woosley JT, Shaheen NJ, Dellon ES. Outcomes of Esophageal Dilation in Eosinophilic Esophagitis: Safety, Efficacy, and Persistence

of the Fibrostenotic Phenotype. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 206-213 [PMID: 26753894 DOI: 10.1038/ajg.2015.399]  
55 Moawad FJ, Molina-Infante J, Lucendo AJ, Cantrell SE, Tmanova L, Douglas KM. Systematic review with meta-

analysis: endoscopic dilation is highly effective and safe in children and adults with eosinophilic oesophagitis. *Aliment Pharmacol Ther* 2017; 46: 96-105 [PMID: 28513085 DOI: 10.1111/apt.14123]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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



## 基于膳食结构的非酒精性脂肪性肝病动物模型

曾庆敏, 李嘉

曾庆敏, 天津医科大学研究生院 天津市肝病医学研究所 天津市 300070

曾庆敏, 李嘉, 天津市第二人民医院肝病科 天津市肝病医学研究所 天津市 300192

曾庆敏, 硕士研究生, 主要从事肝病的临床与研究.

作者贡献分布: 查阅文献与撰写文章由曾庆敏完成; 审阅与修改文章由李嘉完成.

通讯作者: 李嘉, 教授, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤南路7号, 天津市第二人民医院肝病科, 天津市肝病医学研究所. 18622663700@163.com  
电话: 022-27468230

收稿日期: 2019-04-26

修回日期: 2019-06-05

接受日期: 2019-07-02

在线出版日期: 2019-07-08

### Diet-induced animal models of nonalcoholic fatty liver disease

Qing-Min Zeng, Jia Li

Qing-Min Zeng, Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin Institute of Hepatology, Tianjin 300070, China

Qing-Min Zeng, Jia Li, Department of Hepatology, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Institute of Hepatology, Tianjin 300192, China

Corresponding author: Jia Li, Professor, Chief Physician, Department of Hepatology, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Institute of Hepatology, 7 Sudi South Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. 18622663700@163.com

Received: 2019-04-26

Revised: 2019-06-05

Accepted: 2019-07-02

Published online: 2019-07-08

### Abstract

Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), mainly characterized by excessive lipid accumulation in hepatocytes, is a metabolically-stressed liver injury that is closely related to insulin resistance and genetic

susceptibility. The spectrum of NAFLD includes non-alcoholic simple hepatic steatosis, non-alcoholic steatohepatitis (NASH), cirrhosis, and hepatocellular carcinoma. With changes in lifestyle and dietary patterns, the prevalence of NAFLD has increased significantly, paralleling the prevalence of obesity, type 2 diabetes, and metabolic syndrome. To date, no specific drugs have been recommended for routine treatment of NASH. Therefore, it is of great significance to establish high-quality animal models that simulate the histopathology and pathophysiology of various stages of human NAFLD for exploring the pathogenesis of NAFLD and guiding drug intervention. Considering that high-calorie dietary patterns and sedentary lifestyle are the main risk factors for NAFLD, this review summarizes diet-induced NAFLD models.

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

Key Words: Non-alcoholic fatty liver disease; Animal model; Pathogenesis; Diet

Zeng QM, Li J. Diet-induced animal models of nonalcoholic fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(13): 835-841  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/835.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.835>

### 摘要

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一种与胰岛素抵抗和遗传易感密切相关的代谢应激性肝损伤,以肝细胞内脂质大量累积为主要特征,疾病谱包括非酒精性单纯性肝脂肪变、非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)、肝硬化和肝细胞癌。随着生活方式及膳食结构的改变,NAFLD患病率显著升高,与肥胖症、2型糖尿病和代谢综合征流行趋势平行。至今尚缺乏特异性的药物推荐用于NASH的常

规治疗。因此, 建立高质量的模拟人类NAFLD各阶段组织病理学和病理生理学的动物模型, 对于探讨NAFLD的发病机制及指导药物干预研究具有重大意义。基于高热量膳食结构与久坐少动的生活方式是NAFLD的主要危险因素, 本文将主要对饮食诱导的NAFLD动物模型作一综述。

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

关键词: 非酒精性脂肪性肝病; 动物模型; 发病机制; 饮食

**核心提要:** 本文主要总结饮食诱导的非酒精性脂肪性肝病动物模型, 基于膳食结构的改变在脂肪肝发生发展过程中扮演重要角色。本文主要从各饮食模型可能涉及的机制、饮食构成谱、病理改变、模型复制时间、优缺点、适用方向、影响因素等方面进行阐述。

曾庆敏, 李嘉. 基于膳食结构的非酒精性脂肪性肝病动物模型. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 835-841

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/835.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.835>

## 0 引言

非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是全球最常见的慢性肝病<sup>[1]</sup>。目前NAFLD的确切发病机制尚未阐明, 除Day等<sup>[2]</sup>的“二次打击”理论外, 认为其可能还与肠道菌群失调<sup>[3]</sup>、固有免疫调节紊乱<sup>[4]</sup>、自噬<sup>[5]</sup>及表观遗传学<sup>[6]</sup>等有关。改善饮食结构、减轻体重是预防和治疗NAFLD及其并发症最为重要的治疗措施<sup>[7]</sup>。临床上尚缺乏针对NAFLD的特异性治疗方案, 当前主要集中在二甲双胍、维生素E、他汀类药物等胰岛素抵抗(insulin resistance, IR)、抗氧化应激及降脂治疗<sup>[8]</sup>。因此针对发病机制和相关治疗药物的研究是目前NAFLD急需攻破的难题。

针对NAFLD疾病谱的不同阶段, 可建立相应的动物模型以模拟其病理生理变化及发病机制。迄今为止, 已成功构建的NAFLD动物模型包括鼠、兔、鹌鹑、斑马鱼等<sup>[9]</sup>, 综合经济效益、可操作性等因素, 鼠模型使用最多, C57BL/6小鼠、Wistar大鼠、Sprague Dawley大鼠这三种株系运用最为广泛。由于膳食结构及生活方式的改变对NAFLD的发生发展有深远影响, 本文拟对不同饮食结构建立的NAFLD动物模型作一综述。

## 1 高脂饮食诱导的NAFLD模型

膳食脂肪摄入过多, 致循环游离脂肪酸(free fatty acids, FFA)含量增加, 当肝脏摄取脂肪酸比例超过其分解及输出时, 肝内甘油三酯(triglycerides, TG)堆积, 从而导致肝脏脂肪变性。NAFLD患者较健康人群显示明显升

高的循环FFA及肝内脂质沉积<sup>[10]</sup>。微粒体甘油三酯转运蛋白(microsomal triglyceride transfer protein, MTP), 存在于肝细胞、肠上皮细胞内质网及微粒体内的脂质转运蛋白<sup>[11]</sup>, 参与甘油三酯的转运及极低密度脂蛋白(very low density lipoprotein, VLDL)的装配与分泌<sup>[12]</sup>。研究发现高脂饮食(high fat diet, HFD)喂养的NAFLD大鼠肝脏中MTP表达减少, 导致肝内TG转运通路障碍, VLDL分泌减少, 促进肝脏内TG沉积, 从而导致肝细胞脂肪变性<sup>[13]</sup>。HFD可通过ATP合成减少与线粒体DNA氧化损伤介导的氧化磷酸化缺陷<sup>[14]</sup>和肠道菌群改变与肠黏膜屏障功能障碍介导的全身慢性低度炎症反应<sup>[15]</sup>诱导NAFLD。同时, 对NAFLD小鼠肝脏蛋白组学分析发现与脂肪酸 $\beta$ -氧化、脂肪酸转运及碳水化合物合成相关的蛋白表达增加, 而与胆固醇合成及尿素循环相关的蛋白表达下调<sup>[16]</sup>。基于以上原理构建HFD模型, 即饮食配方中脂肪含量占比高(约占膳食总能量的30%-71%)。经典HFD饮食由脂肪(71%), 碳水化合物(11%)和蛋白质(18%)组成<sup>[17]</sup>。Lau等<sup>[17]</sup>予C57BL/6小鼠HFD(45%)12 wk即出现肝脏脂质沉积和肝细胞脂肪变性等脂肪肝表现。而Eccleston等<sup>[18]</sup>予C57BL/6小鼠经典HFD(71%)16 wk, 即出现IR、肥胖、脂变、气球样变、Mallory小体形成等非酒精性脂肪性肝炎(non-alcoholic steatohepatitis, NASH)病理改变。Ichimura等<sup>[19]</sup>予SD大鼠9 wk HFD(30%)诱导轻度脂肪肝出现, 18 wk时可见轻度炎症, 无纤维化<sup>[20]</sup>; 而Lieber等<sup>[21]</sup>予SD大鼠经典HFD饮食3 wk即可表现脂变及小叶内炎症。因此, 大鼠较小鼠能更快诱导NAFLD形成; 同时, 脂肪构成及比例不同, 造模表现也有差异。反式脂肪酸较猪油诱导更严重的NAFLD病生及病理表现<sup>[22,23]</sup>。饲喂HFD可观察到明显的肥胖和IR, 模拟人类NAFLD的组织病理学和发病机制; 但造模时间过长, 肝组织炎症较轻, 纤维化不易形成。Tian等<sup>[24]</sup>发现HFD饮食饲养的C57BL/6J小鼠在30℃热中性环境较22℃正常环境, 能加速脂肪组织炎症的发展<sup>[25]</sup>。Zarrinpar等<sup>[26]</sup>发现限制进食时间(夜间进食)可通过改善肠道菌群的周期性波动防止代谢性疾病的进展。因此, 饲养环境、喂养方式等也会影响造模结果, 实验期间应注意保证以上干扰因素的均衡一致性。

## 2 高胆固醇饮食诱导的NAFLD模型

大量研究表明, 体内胆固醇代谢紊乱与NAFLD的发生发展有关。胆固醇在肝内转化为胆汁酸是胆固醇体内代谢的主要途径, 当膳食胆固醇摄入增加或代谢减少时, 肝内胆固醇堆积。过载的胆固醇可通过破坏线粒体谷胱甘肽的完整性和改变内质网质膜胆固醇-磷脂的比率来触发氧化应激与脂质过氧化<sup>[27]</sup>。Qian等<sup>[28]</sup>予Wistar大鼠

高胆固醇饮食(high cholesterol diet, HCD)(2%)6 wk即可诱导肝细胞脂肪变性. Matsuzawa等<sup>[29]</sup>予C57BL/6小鼠HCD(1.25%)12 wk可见肝细胞气球样变. Savard等<sup>[30]</sup>予C57BL/6小鼠HCD(1%)30 wk, 表现出轻至中度大泡性脂变及轻度炎症, 无纤维化形成, 而体重质量较对照组无明显变化.高胆盐(0.5%)的补充加重脂变及炎症的进展. 综上, 尽管高胆固醇模型能诱导肝脂变及炎症出现, 但对体重质量影响不显著, 不能形成明显的肥胖及IR, 用于模拟人类NAFLD病理生理变化存在一定局限性.

### 3 高脂高胆固醇饮食诱导的NAFLD模型

临床与动物实验关于高胆固醇饮食与动脉粥样硬化性心血管疾病关系的研究较为广泛, 最近几项研究提出膳食胆固醇在人类与动物NAFLD中促进肝脏炎症和NASH进展<sup>[30-32]</sup>. Serviddio等<sup>[33]</sup>予Wistar大鼠高脂(60%)高胆固醇(1.25%)饮食(high fat, high cholesterol diet, HFHC)6 wk即表现出肝内脂质沉积、肝指数及肝酶水平增加, 同时伴大泡性脂变、重度肝细胞气球样变及弥漫性炎症浸润. Matsuzawa等<sup>[29]</sup>予C57BL/6小鼠高脂(60%)高胆固醇(1.25%)饮食24 wk可见肝细胞气球样变、炎症及纤维化. Savard等<sup>[30]</sup>发现HFHC饮食较HFD或HCD, 表现出更高的体重质量增加与肝脂质堆积、更明显的ALT升高和脂联素减少, 脂肪组织与肝脏炎症更严重, 同时出现一定程度窦周纤维化, 与Matsuzawa等<sup>[29]</sup>观点一致. Savard等<sup>[30]</sup>认为膳食高胆固醇的补充通过减少胆汁酸的合成、VLDL的分泌及脂肪酸的 $\beta$ 氧化从而促进肝内脂质超载. 有学者提出胆固醇能通过Toll样受体(toll-like receptor, TLR)-4依赖性途径激活肝星状细胞引发纤维化<sup>[27]</sup>. HFHC饮食模型, 结合高脂与高胆固醇的优劣, 既诱导肥胖与IR, 又表现出脂变、炎症、纤维化等病理变化, 同时与我们人类饮食习惯较为一致, 较拟合人类NAFLD的疾病谱, 在动物实验研究中应用最为广泛.

### 4 高果糖饮食诱导的NAFLD模型

既往流行病学及临床研究提示, NAFLD患者果糖摄入量高于健康对照组, 且增加的果糖摄入量与肝细胞气球样变加重、肝脏炎症及纤维化形成相关<sup>[34]</sup>. 果糖的两个主要来源是蔗糖(由50%果糖和50%葡萄糖组成的二糖)和具有不同果糖含量的高果糖玉米糖浆<sup>[35]</sup>. Bergheim等<sup>[36]</sup>予30%葡萄糖、果糖、蔗糖等不同糖水喂养C57BL/6小鼠, 体重质量仅在葡萄糖与蔗糖组明显增加, 果糖组增加不明显, 而表现出更多的肝内脂质沉积、更显著的脂质过氧化及更严重的炎症. 同时只有果糖组显示门静脉内毒素水平高, 他们认为果糖可通过增加细菌内毒素的肠易位促进4-羟基壬烯醛、 $\text{I}\kappa\text{B}$ 及 $\text{TNF}\alpha$ 等细胞因子的表达. Schultz等<sup>[37]</sup>分析单纯高脂或高果糖以

及两混合饮食对肝脏的影响, 发现果糖在未导致肥胖的情况下仍能诱导血脂异常、IR、坏死性炎症等NASH表现. Nigro等<sup>[38]</sup>比较饱和脂肪和果糖对肝脏促炎及抗氧化反应的影响, 发现果糖较饱和脂肪更快加速NAFL向NASH进展. 以上研究提示高果糖摄入能促进NAFLD向NASH发展, 同时诱导纤维化形成, 需要注意该模型不能诱导明显肥胖出现, 使其在肥胖型NAFLD动物模型中的运用受到限制.

### 5 高脂高果糖饮食诱导的NAFLD模型

膳食高脂与高果糖在NAFLD发生发展中的协同促进作用已得到广泛证实. 果糖主要由果糖激酶代谢, 果糖激酶存在两种亚型: 果糖激酶C和果糖激酶A. 果糖激酶C主要存在于肝脏中, 是一种快速磷酸化剂, 迅速消耗ATP<sup>[39]</sup>, 与果糖激酶A相比, 与肝脂变关系更为密切<sup>[34]</sup>. Ishimoto等<sup>[39]</sup>予野生及己酮糖激酶(KHK-A/C)敲除C57BL/6小鼠分别饲喂低脂(11%)、高脂(36%)、高脂高蔗糖(36%/30%)饮食15 wk, 发现高糖的补充能加重高脂诱导的肝细胞脂肪变性, 同时加速其向NASH及纤维化发展, 并指出果糖主要依赖于果糖激酶而发挥以上作用. Kohli等<sup>[40]</sup>予C57BL/6小鼠HFD或高脂高果糖饮食(high fat, high fructose diet, HFHF)饮食, 发现果糖消耗是肝脂质沉积向肝纤维化进展的必需环节, 尽管体重质量增加、IR与肝脂变程度在两组相似, 但HFHF组小鼠表现出肝脏氧化应激增强、 $\text{TGF-}\beta$ 与肝 $\text{CD11b}^+\text{F4/80}^+\text{Gr1}^+$ 巨噬细胞数增加以及胶原沉积增多. 同时还指出不同剂型果糖与不同类别脂肪酸的组合将产生不同的肝损结果. Tsuchiya等<sup>[41]</sup>予C57BL/6小鼠HFHF饮食2 wk时即发现肝脏铁含量及氧化应激的增加, 早于4 wk时出现的肝内脂质沉积与肝脂变, 认为HFHF饮食导致的肝铁离子超载可能与肝脂肪变性和IR相关. 以上研究提示HFHF协同促进NAFLD的发生发展, 且较高脂模型能更快诱导肝纤维化出现且纤维化程度更重, 表明果糖是促进纤维化形成的启动因子. Liu等<sup>[42]</sup>发现喂食野生型TLR4(C3H/HeN WT)小鼠HFHF饮食4 wk、8 wk和16 wk依次出现单纯脂肪变性、脂肪性肝炎和肝纤维化. 因此运用该模型时需密切关注造模时间, 准确掌握药物干预时机, 避免造模时间过长导致肝损程度过重从而影响早期干预效果.

### 6 高脂高胆固醇高果糖饮食诱导的NAFLD模型

西方饮食或快餐饮食, 由脂肪、胆固醇及果糖组成, 被认为是导致肥胖的危险因素. Kanuri等<sup>[43]</sup>以高脂(25%)高胆固醇(0.2%)高果糖(50%)饮食喂养C57BL/6小鼠6 wk即出现肝细胞脂肪变性、内毒素水平增加及明显炎症反应. Charlton等<sup>[44]</sup>予C57BL/6小鼠快餐饮食(40%脂肪+2%胆固醇+果糖)6 mo, 表现出肥胖、IR、内质网氧化



表 1 非酒精性脂肪性肝病饮食动物模型

模型	饮食构成	机制	IR	肥胖	脂变	炎症	纤维化
高脂饮食	脂肪占总能量的30%–71%	FFA增多及肠道菌群改变等	明显	明显	明显	明显	不易
高胆固醇饮食	胆固醇占总能量的1%–2%, 伴或不伴0.5%胆盐	线粒体和内质网氧化应激	不明显	不明显	明显	明显	不易
高脂高胆固醇饮食	脂肪占总能量15%–60%, 伴1.25%胆固醇	肝星状细胞激活及细胞因子表达增加	明显	明显	明显	明显	造模时间较长
高果糖饮食	果糖占总能量30%–50%	内毒素水平增加、Kupffer细胞激活	不明显	不明显	明显	明显	较易
高脂高果糖饮食	–	氧化应激、TGF- $\beta$ 1增加及胶原沉积	明显	明显	明显	明显	易
高脂高胆固醇高果糖饮食	–	氧化应激、脂质过氧化、内毒素增加	明显	明显	明显	明显, 较快出现	易, 较高脂高果糖饮食时间更短
蛋氨酸-胆碱缺乏饮食	饮食含10%脂肪和40%蔗糖, 缺乏胆碱和蛋氨酸	VLDL合成与分泌减少、脂质过氧化、氧化应激	无	体重下降	明显	明显, 短时间出现且严重	易, 较短时间
胆碱缺乏性左旋氨基酸饮食	胆碱缺乏饮食中蛋白质被L-氨基酸混合物取代	与MCD相似	无	体重减轻	明显	明显, 较MCD稍长	易, 较MCD稍长

IR: 胰岛素抵抗; FFA: 游离脂肪酸; VLDL: 极低密度脂蛋白; MCD: 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食。

应激、明显气球样变与炎症以及进展性纤维化。高脂高胆固醇高果糖饮食, 现代都市人群喜食膨化食品和喜饮碳酸饮料的体现, 模拟西方饮食结构, 诱导肥胖与IR出现的同时, 较前几种模型诱导炎症与纤维化出现的时间更短、更迅速, 范围更广、更严重。运用该模型探索NAFLD的发病机制显示出较好的优势, 但用于寻找药物治疗靶点时应严格把握饲喂时间, 避免造模时间过长导致的不可逆性肝损害。

## 7 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食诱导的NAFLD模型

基于“二次打击”学说, 蛋氨酸-胆碱缺乏饮食(methionine and choline deficient diet, MCD)模型已被广泛用于NASH与纤维化等NAFLD严重表型的研究。MCD饮食包含蔗糖(40%)与脂肪(10%), 但缺乏蛋氨酸与胆碱。蛋氨酸与胆碱是磷脂酰胆碱的前体<sup>[12]</sup>, 作为合成VLDL的原料, 饮食蛋氨酸与胆碱的缺乏将影响VLDL的合成与分泌, 从而导致肝内脂质堆积、脂质过氧化、肝脂肪变性、氧化应激损伤、坏死性炎症等。Sahai等<sup>[45]</sup>以MCD喂养A/J小鼠, 1 wk即出现肝脂变, 2 wk即可见炎症, 8 wk时纤维化已形成。Weltman等<sup>[46]</sup>以MCD喂养Wistar大鼠, 4 wk即出现大泡性脂变与炎症浸润。与其他饮食模型相比, 在相同喂养时间内, MCD喂养SD大鼠<sup>[47]</sup>、Wistar大鼠<sup>[48]</sup>或C57BL/6小鼠<sup>[49]</sup>表现出更高水平的ALT与细胞因子数, 更严重的脂变、气球样变、炎症坏死及

纤维化, 更活跃的内质网及线粒体氧化应激。且不同物种、种系<sup>[43]</sup>及性别<sup>[50]</sup>对MCD的反应也不同。MCD模型诱导NAFLD演变进展较高脂或其它模型更快更严重, 且更能模仿人类严重的NASH的病理学改变<sup>[17]</sup>。然而, MCD模型虽在短时间内即可诱导NASH等严重表型的出现, 但尚未表现外周IR及肥胖<sup>[51]</sup>, 反而出现严重体质量下降、恶病质及低血清胰岛素、瘦素和甘油三酯水平, 与人类NAFLD代谢谱明显不同, 因此该模型的应用存在一定程度局限性, 当前主要用于NASH炎症与纤维化形成机制的探讨与治疗药物的筛选研究。

## 8 胆碱缺乏性左旋氨基酸饮食诱导的NAFLD模型

胆碱缺乏性左旋氨基酸(choline-Deficient l-Amino-Defined Diet, CDAA)饮食与MCD饮食相似, 均缺乏胆碱; 与胆碱缺乏饮食除蛋白质被等量L-氨基酸混合物取代外, 其余总体组成相同<sup>[52]</sup>。CDAA饮食可诱导小鼠形成肝细胞脂变、炎症及纤维化, 所需时间较MCD饮食稍长<sup>[53]</sup>。与MCD饮食相似, CDAA饮食喂养的小鼠不能出现IR与肥胖<sup>[54]</sup>, 因此, 用于研究代谢性特征尚存在缺陷。遂有学者提出CDAA饮食与HFD饮食结合的高脂型CDAA饮食, 然而, HFD的添加仍未诱导C57BL/6J和A/J两种小鼠出现代谢相关特征, 但发现6 wk即可诱导C57BL/6J纤维化形成<sup>[55]</sup>。此外, 长时间的CDAA饮食可用于构建肝脏恶性肿瘤模型<sup>[56]</sup>(表1)。



## 9 结论

基于膳食结构对NAFLD的影响, 本文主要探讨饮食诱导的NAFLD模型, 包括高脂、高胆固醇、高果糖以及MCD. 构建单纯脂肪肝模型, 高脂或高胆固醇饮食尚可, 而NASH及肝纤维化等模型的建立, 尚需考虑胆固醇、果糖和胆碱或MCD. 上述饮食动物模型尚不能单独用于模拟完整的NAFLD疾病发展谱, 因在不同生理或病理方面各模型间各有优势, 优势互补, 对探索NAFLD的发病机制及寻找药物治疗靶点仍具有重要指导意义. 同时, 尚需关注造模时间、动物种系等因素的影响. 不同实验设计方案下针对性地选择最合适的动物模型用于NAFLD发病机制与药物靶点的研究至关重要.

## 10 参考文献

- Younossi ZM, Koenig AB, Abdelatif D, Fazel Y, Henry L, Wymer M. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease-Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. *Hepatology* 2016; 64: 73-84 [PMID: 26707365 DOI: 10.1002/hep.28431]
- Day CP, James OF. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? *Gastroenterology* 1998; 114: 842-845 [PMID: 9547102]
- Leung C, Rivera L, Furness JB, Angus PW. The role of the gut microbiota in NAFLD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 412-425 [PMID: 27273168 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.8]
- Tosello-Trampont AC, Krueger P, Narayanan S, Landes SG, Leitinger N, Hahn YS. NKp46(+) natural killer cells attenuate metabolism-induced hepatic fibrosis by regulating macrophage activation in mice. *Hepatology* 2016; 63: 799-812 [PMID: 26662852 DOI: 10.1002/hep.28389]
- Ueno T, Komatsu M. Autophagy in the liver: functions in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 170-184 [PMID: 28053338 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.185]
- Lee J, Kim Y, Friso S, Choi SW. Epigenetics in non-alcoholic fatty liver disease. *Mol Aspects Med* 2017; 54: 78-88 [PMID: 27889327 DOI: 10.1016/j.mam.2016.11.008]
- Romero-Gómez M, Zelber-Sagi S, Trenell M. Treatment of NAFLD with diet, physical activity and exercise. *J Hepatol* 2017; 67: 829-846 [PMID: 28545937 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.05.016]
- Rinella ME, Sanyal AJ. Management of NAFLD: a stage-based approach. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2016; 13: 196-205 [PMID: 26907882 DOI: 10.1038/nrgastro.2016.3]
- Willebrords J, Pereira IV, Maes M, Crespo Yanguas S, Colle I, Van Den Bossche B, Da Silva TC, de Oliveira CP, Andraus W, Alves VA, Cogliati B, Vinken M. Strategies, models and biomarkers in experimental non-alcoholic fatty liver disease research. *Prog Lipid Res* 2015; 59: 106-125 [PMID: 26073454 DOI: 10.1016/j.plipres.2015.05.002]
- Maximos M, Bril F, Portillo Sanchez P, Lomonaco R, Orsak B, Biernacki D, Suman A, Weber M, Cusi K. The role of liver fat and insulin resistance as determinants of plasma aminotransferase elevation in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology* 2015; 61: 153-160 [PMID: 25145475 DOI: 10.1002/hep.27395]
- 张林彬, 高鑫. 微粒体甘油三酯转运蛋白与非酒精性脂肪性肝病的研究进展. *中华内分泌代谢杂志* 2014; 1: 76-78 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2014.01.020]
- Imajo K, Yoneda M, Kessoku T, Ogawa Y, Maeda S, Sumida Y, Hyogo H, Eguchi Y, Wada K, Nakajima A. Rodent models of nonalcoholic fatty liver disease/nonalcoholic steatohepatitis. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 21833-21857 [PMID: 24192824 DOI: 10.3390/ijms141121833]
- Nozaki Y, Fujita K, Yoneda M, Wada K, Shinohara Y, Takahashi H, Kirikoshi H, Inamori M, Kubota K, Saito S, Mizoue T, Masaki N, Nagashima Y, Terauchi Y, Nakajima A. Long-term combination therapy of ezetimibe and acarbose for non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2009; 51: 548-556 [PMID: 19596472 DOI: 10.1016/j.jhep.2009.05.017]
- García-Ruiz I, Solís-Muñoz P, Fernández-Moreira D, Grau M, Colina F, Muñoz-Yagüe T, Solís-Herruzo JA. High-fat diet decreases activity of the oxidative phosphorylation complexes and causes nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Dis Model Mech* 2014; 7: 1287-1296 [PMID: 25261569 DOI: 10.1242/dmm.016766]
- Duan Y, Zeng L, Zheng C, Song B, Li F, Kong X, Xu K. Inflammatory Links Between High Fat Diets and Diseases. *Front Immunol* 2018; 9: 2649 [PMID: 30483273 DOI: 10.3389/fimmu.2018.02649]
- Soltis AR, Kennedy NJ, Xin X, Zhou F, Ficarro SB, Yap YS, Matthews BJ, Lauffenburger DA, White FM, Marto JA, Davis RJ, Fraenkel E. Hepatic Dysfunction Caused by Consumption of a High-Fat Diet. *Cell Rep* 2017; 21: 3317-3328 [PMID: 29241556 DOI: 10.1016/j.celrep.2017.11.059]
- Lau JK, Zhang X, Yu J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. *J Pathol* 2017; 241: 36-44 [PMID: 27757953 DOI: 10.1002/path.4829]
- Eccleston HB, Andringa KK, Betancourt AM, King AL, Mantena SK, Swain TM, Tinsley HN, Nolte RN, Nagy TR, Abrams GA, Bailey SM. Chronic exposure to a high-fat diet induces hepatic steatosis, impairs nitric oxide bioavailability, and modifies the mitochondrial proteome in mice. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 447-459 [PMID: 20919931 DOI: 10.1089/ars.2010.3395]
- Ichimura M, Kawase M, Masuzumi M, Sakaki M, Nagata Y, Tanaka K, Suruga K, Tamaru S, Kato S, Tsuneyama K, Omagari K. High-fat and high-cholesterol diet rapidly induces non-alcoholic steatohepatitis with advanced fibrosis in Sprague-Dawley rats. *Hepatol Res* 2015; 45: 458-469 [PMID: 24827559 DOI: 10.1111/hepr.12358]
- Ichimura M, Masuzumi M, Kawase M, Sakaki M, Tamaru S, Nagata Y, Tanaka K, Suruga K, Tsuneyama K, Matsuda S, Omagari K. A diet-induced Sprague-Dawley rat model of nonalcoholic steatohepatitis-related cirrhosis. *J Nutr Biochem* 2017; 40: 62-69 [PMID: 27863346 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2016.10.007]
- Lieber CS, Leo MA, Mak KM, Xu Y, Cao Q, Ren C, Ponomarenko A, DeCarli LM. Model of nonalcoholic steatohepatitis. *Am J Clin Nutr* 2004; 79: 502-509 [PMID: 14985228 DOI: 10.1093/ajcn/79.3.502]
- Longhi R, Almeida RF, Machado L, Duarte MM, Souza DG, Machado P, de Assis AM, Quincozes-Santos A, Souza DO. Effect of a trans fatty acid-enriched diet on biochemical and inflammatory parameters in Wistar rats. *Eur J Nutr* 2017; 56: 1003-1016 [PMID: 26754301 DOI: 10.1007/s00394-015-1148-y]
- Zhao X, Shen C, Zhu H, Wang C, Liu X, Sun X, Han S, Wang P, Dong Z, Ma X, Hu K, Sun A, Ge J. Trans-Fatty Acids Aggravate Obesity, Insulin Resistance and Hepatic Steatosis in C57BL/6 Mice, Possibly by Suppressing the IRS1 Dependent Pathway. *Molecules* 2016; 21 [PMID: 27248994 DOI: 10.3390/molecules21060705]
- Tian XY, Ganeshan K, Hong C, Nguyen KD, Qiu Y, Kim J, Tangirala RK, Tontonoz P, Chawla A. Thermoneutral Housing Accelerates Metabolic Inflammation to Potentiate Atherosclerosis but Not Insulin Resistance. *Cell Metab* 2016; 23: 165-178 [PMID: 26549485 DOI: 10.1016/j.cmet.2015.10.003]
- Maher JJ. Modeling fatty liver disease in animals: Is there an

- optimal approach, and is the effort worthwhile? *Hepatology* 2016; 64: 1398-1400 [PMID: 27639263 DOI: 10.1002/hep.28823]
- 26 Zarrinpar A, Chaix A, Yooseph S, Panda S. Diet and feeding pattern affect the diurnal dynamics of the gut microbiome. *Cell Metab* 2014; 20: 1006-1017 [PMID: 25470548 DOI: 10.1016/j.cmet.2014.11.008]
- 27 Musso G, Gambino R, Cassader M. Cholesterol metabolism and the pathogenesis of non-alcoholic steatohepatitis. *Prog Lipid Res* 2013; 52: 175-191 [PMID: 23206728 DOI: 10.1016/j.plipres.2012.11.002]
- 28 Qian W, Hasegawa J, Cai X, Yang J, Ishihara Y, Ping B, Tsuno S, Endo Y, Matsuda A, Miura N. Components of Boiogito Suppress the Progression of Hypercholesterolemia and Fatty Liver Induced by High-Cholesterol Diet in Rats. *Yonago Acta Med* 2016; 59: 67-80 [PMID: 27046953]
- 29 Matsuzawa N, Takamura T, Kurita S, Misu H, Ota T, Ando H, Yokoyama M, Honda M, Zen Y, Nakanuma Y, Miyamoto K, Kaneko S. Lipid-induced oxidative stress causes steatohepatitis in mice fed an atherogenic diet. *Hepatology* 2007; 46: 1392-1403 [PMID: 17929294 DOI: 10.1002/hep.21874]
- 30 Savard C, Tartaglione EV, Kuver R, Haigh WG, Farrell GC, Subramanian S, Chait A, Yeh MM, Quinn LS, Ioannou GN. Synergistic interaction of dietary cholesterol and dietary fat in inducing experimental steatohepatitis. *Hepatology* 2013; 57: 81-92 [PMID: 22508243 DOI: 10.1002/hep.25789]
- 31 Ray K. Liver: Dietary cholesterol and fat synergistically fuel the development of NASH in experimental models. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 303 [PMID: 22565096 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.90]
- 32 Tomita K, Teratani T, Suzuki T, Shimizu M, Sato H, Narimatsu K, Okada Y, Kurihara C, Irie R, Yokoyama H, Shimamura K, Usui S, Ebinuma H, Saito H, Watanabe C, Komoto S, Kawaguchi A, Nagao S, Sugiyama K, Hokari R, Kanai T, Miura S, Hibi T. Free cholesterol accumulation in hepatic stellate cells: mechanism of liver fibrosis aggravation in nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Hepatology* 2014; 59: 154-169 [PMID: 23832448 DOI: 10.1002/hep.26604]
- 33 Serviddio G, Bellanti F, Villani R, Tamborra R, Zerbinati C, Blonda M, Ciacciarelli M, Poli G, Vendemiale G, Iuliano L. Effects of dietary fatty acids and cholesterol excess on liver injury: A lipidomic approach. *Redox Biol* 2016; 9: 296-305 [PMID: 27639112 DOI: 10.1016/j.redox.2016.09.002]
- 34 Jensen T, Abdelmalek MF, Sullivan S, Nadeau KJ, Green M, Roncal C, Nakagawa T, Kuwabara M, Sato Y, Kang DH, Tolan DR, Sanchez-Lozada LG, Rosen HR, Lanasma MA, Diehl AM, Johnson RJ. Fructose and sugar: A major mediator of non-alcoholic fatty liver disease. *J Hepatol* 2018; 68: 1063-1075 [PMID: 29408694 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.019]
- 35 Ventura EE, Davis JN, Goran MI. Sugar content of popular sweetened beverages based on objective laboratory analysis: focus on fructose content. *Obesity (Silver Spring)* 2011; 19: 868-874 [PMID: 20948525 DOI: 10.1038/oby.2010.255]
- 36 Bergheim I, Weber S, Vos M, Krämer S, Volynets V, Kaserouni S, McClain CJ, Bischoff SC. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. *J Hepatol* 2008; 48: 983-992 [PMID: 18395289 DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.035]
- 37 Schultz A, Neil D, Aguila MB, Mandarim-de-Lacerda CA. Hepatic adverse effects of fructose consumption independent of overweight/obesity. *Int J Mol Sci* 2013; 14: 21873-21886 [PMID: 24196354 DOI: 10.3390/ijms141121873]
- 38 Nigro D, Menotti F, Cento AS, Serpe L, Chiazza F, Dal Bello F, Romaniello F, Medana C, Collino M, Aragno M, Mastrocola R. Chronic administration of saturated fats and fructose differently affect SREBP activity resulting in different modulation of Nrf2 and Nlrp3 inflammasome pathways in mice liver. *J Nutr Biochem* 2017; 42: 160-171 [PMID: 28189916 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2017.01.010]
- 39 Ishimoto T, Lanasma MA, Rivard CJ, Roncal-Jimenez CA, Orlicky DJ, Cicerchi C, McMahan RH, Abdelmalek MF, Rosen HR, Jackman MR, MacLean PS, Diggle CP, Asipu A, Inaba S, Kosugi T, Sato W, Maruyama S, Sánchez-Lozada LG, Sautin YY, Hill JO, Bonthron DT, Johnson RJ. High-fat and high-sucrose (western) diet induces steatohepatitis that is dependent on fructokinase. *Hepatology* 2013; 58: 1632-1643 [PMID: 23813872 DOI: 10.1002/hep.26594]
- 40 Kohli R, Kirby M, Xanthakos SA, Softic S, Feldstein AE, Saxena V, Tang PH, Miles L, Miles MV, Balistreri WF, Woods SC, Seeley RJ. High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. *Hepatology* 2010; 52: 934-944 [PMID: 20607689 DOI: 10.1002/hep.23797]
- 41 Tsuchiya H, Ebata Y, Sakabe T, Hama S, Kogure K, Shiota G. High-fat, high-fructose diet induces hepatic iron overload via a hepcidin-independent mechanism prior to the onset of liver steatosis and insulin resistance in mice. *Metabolism* 2013; 62: 62-69 [PMID: 22854109 DOI: 10.1016/j.metabol.2012.06.008]
- 42 Liu J, Zhuang ZJ, Bian DX, Ma XJ, Xun YH, Yang WJ, Luo Y, Liu YL, Jia L, Wang Y, Zhu ML, Ye DW, Zhou G, Lou GQ, Shi JP. Toll-like receptor-4 signalling in the progression of non-alcoholic fatty liver disease induced by high-fat and high-fructose diet in mice. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2014; 41: 482-488 [PMID: 24739055 DOI: 10.1111/1440-1681.12241]
- 43 Kanuri G, Bergheim I. In vitro and in vivo models of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). *Int J Mol Sci* 2013; 14: 11963-11980 [PMID: 23739675 DOI: 10.3390/ijms140611963]
- 44 Charlton M, Krishnan A, Viker K, Sanderson S, Cazanave S, McConico A, Masuoko H, Gores G. Fast food diet mouse: novel small animal model of NASH with ballooning, progressive fibrosis, and high physiological fidelity to the human condition. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 301: G825-G834 [PMID: 21836057 DOI: 10.1152/ajpgi.00145.2011]
- 45 Sahai A, Malladi P, Melin-Aldana H, Green RM, Whittington PF. Upregulation of osteopontin expression is involved in the development of nonalcoholic steatohepatitis in a dietary murine model. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G264-G273 [PMID: 15044174 DOI: 10.1152/ajpgi.00002.2004]
- 46 Weltman MD, Farrell GC, Liddle C. Increased hepatocyte CYP2E1 expression in a rat nutritional model of hepatic steatosis with inflammation. *Gastroenterology* 1996; 111: 1645-1653 [PMID: 8942745]
- 47 Chen J, Fan X, Zhou L, Gao X. Treatment with geraniol ameliorates methionine-choline-deficient diet-induced non-alcoholic steatohepatitis in rats. *J Gastroenterol Hepatol* 2016; 31: 1357-1365 [PMID: 26695085 DOI: 10.1111/jgh.13272]
- 48 Mu YP, Ogawa T, Kawada N. Reversibility of fibrosis, inflammation, and endoplasmic reticulum stress in the liver of rats fed a methionine-choline-deficient diet. *Lab Invest* 2010; 90: 245-256 [PMID: 19949375 DOI: 10.1038/labinvest.2009.123]
- 49 Chen R, Wang Q, Song S, Liu F, He B, Gao X. Protective role of autophagy in methionine-choline deficient diet-induced advanced nonalcoholic steatohepatitis in mice. *Eur J Pharmacol* 2016; 770: 126-133 [PMID: 26593434 DOI: 10.1016/j.ejphar.2015.11.012]
- 50 Lee YH, Kim SH, Kim SN, Kwon HJ, Kim JD, Oh JY, Jung YS. Sex-specific metabolic interactions between liver and adipose tissue in MCD diet-induced non-alcoholic fatty liver disease. *Oncotarget* 2016; 7: 46959-46971 [PMID: 27409675 DOI: 10.18632/oncotarget.10506]
- 51 Rinella ME, Green RM. The methionine-choline deficient dietary model of steatohepatitis does not exhibit insulin

- resistance. *J Hepatol* 2004; 40: 47-51 [PMID: 14672613]
- 52 Van Herck MA, Vonghia L, Francque SM. Animal Models of Nonalcoholic Fatty Liver Disease-A Starter's Guide. *Nutrients* 2017; 9 [PMID: 28953222 DOI: 10.3390/nu9101072]
- 53 Miura K, Kodama Y, Inokuchi S, Schnabl B, Aoyama T, Ohnishi H, Olefsky JM, Brenner DA, Seki E. Toll-like receptor 9 promotes steatohepatitis by induction of interleukin-1beta in mice. *Gastroenterology* 2010; 139: 323-34.e7 [PMID: 20347818 DOI: 10.1053/j.gastro.2010.03.052]
- 54 Ibrahim SH, Hirsova P, Malhi H, Gores GJ. Animal Models of Nonalcoholic Steatohepatitis: Eat, Delete, and Inflammation. *Dig Dis Sci* 2016; 61: 1325-1336 [PMID: 26626909 DOI: 10.1007/s10620-015-3977-1]
- 55 Matsumoto M, Hada N, Sakamaki Y, Uno A, Shiga T, Tanaka C, Ito T, Katsume A, Sudoh M. An improved mouse model that rapidly develops fibrosis in non-alcoholic steatohepatitis. *Int J Exp Pathol* 2013; 94: 93-103 [PMID: 23305254 DOI: 10.1111/iep.12008]
- 56 Denda A, Kitayama W, Kishida H, Murata N, Tamura K, Kusuoka O, Tsutsumi M, Nishikawa F, Kita E, Nakae D, Konishi Y, Kuniyasu H. Expression of inducible nitric oxide (NO) synthase but not prevention by its gene ablation of hepatocarcinogenesis with fibrosis caused by a choline-deficient, L-amino acid-defined diet in rats and mice. *Nitric Oxide* 2007; 16: 164-176 [PMID: 16931074 DOI: 10.1016/j.niox.2006.07.002]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## 他克莫司治疗炎症性肠病的最新进展

王静静, 范一宏

王静静, 范一宏, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科 浙江省杭州市 310006

范一宏, 主任医师, 主要从事炎症性肠病和消化系统心身疾病的临床及研究工作.

作者贡献分布: 本文综述由王静静完成; 范一宏审校.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81473506; 浙江省自然科学基金, No. LY17H290009; 浙江省中医药科技计划项目, Nos. 2018ZB046, 2019ZA056.

通讯作者: 范一宏, 教授, 主任医师, 310006, 浙江省杭州市上城区邮电路54号, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科. yhfansjr@163.com

收稿日期: 2019-03-26

修回日期: 2019-05-23

接受日期: 2019-06-17

在线出版日期: 2019-07-08

### Advances in research of tacrolimus for treatment of inflammatory bowel disease

Jing-Jing Wang, Yi-Hong Fan

Jing-Jing Wang, Yi-Hong Fan, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81473506; Natural Science Foundation of Zhejiang Province, No. LY17H290009; Zhejiang TCM Science and Technology Project, No. 2018ZB046 and No. 2019ZA056.

Corresponding author: Yi-Hong Fan, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital of Zhejiang Chinese Medical University, 54 Youdian Road, Shangcheng District, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China. yhfansjr@163.com

Received: 2019-03-26

Revised: 2019-05-23

Accepted: 2019-06-17

Published online: 2019-07-08

### Abstract

Traditional drugs for inflammatory bowel disease (IBD) include aminosalicic acid preparations, glucocorticoids, and immunosuppressive agents such as thiopurine and cyclosporine. In recent ten years, the application of anti-tumor necrosis factor (anti-TNF) drugs has greatly improved the clinical remission of patients with IBD, but there are still some problems, such as no response, intolerance, and recurrence after withdrawal. In recent years, tacrolimus, as a new powerful immunosuppressive agent, has been used as a second-line therapeutic drug for IBD. At present, the tacrolimus induced short-term remission effect in IBD is relatively obvious, and it has been gradually used for treatment of IBD refractory to traditional drugs or anti-TNF drugs. A few studies have found that tacrolimus can be used safely for a long time under proper monitoring. However, there is little evidence of long-term efficacy and safety. In this paper, we review the latest advances in the treatment of IBD with tacrolimus and make a comparison with anti-TNF drugs.

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

Key Words: Tacrolimus; Ulcerative colitis; Crohn's disease; Anti-tumor necrosis factor agents

Wang JJ, Fan YH. Advances in research of tacrolimus for treatment of inflammatory bowel disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2019; 27(13): 842-850

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/842.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i13.842>

### 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的传统用药包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫抑制



剂如硫嘌呤类、环孢素等药物。近十多年来, 抗肿瘤坏死因子药物(anti-tumor necrosis factor, anti-TNF)的应用使IBD患者的临床缓解方面取得了显著进展, 但其仍然存在无反应、无法耐受和停用后复发等问题。近些年来发现, 他克莫司, 一种新型强效免疫抑制剂, 作为治疗IBD的二线治疗药物被使用。目前, 他克莫司的短期诱导缓解作用相对明显, 被逐渐应用在传统药物难治或者anti-TNF难治的IBD中。少数研究发现, 在适当的监测下, 他克莫司可以长期安全地使用。但其长期疗效和长期使用安全性的证据还比较少。本文就他克莫司在IBD中的治疗最新进展及其与anti-TNF的比较作一综述。

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

关键词: 他克莫司; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; 抗肿瘤坏死因子

**核心提要:** 本文是一篇关于他克莫司在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)中的最新治疗进展的文献综述, 总结了目前他克莫司在溃疡性结肠炎和克罗恩病中的治疗效果、与抗肿瘤因子药物疗效的比较以及对他克莫司的安全性评价, 有助于了解他克莫司这一新型免疫抑制剂的应用, 增加了临床上IBD患者的药物选择。

王静静, 范一宏. 他克莫司治疗炎症性肠病的最新进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(13): 842-850

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i13/842.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i13.842>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种以复发和缓解为病程特点的肠道慢性免疫失调性疾病, 包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD)。IBD目前的用药有氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、硫嘌呤类药物、抗肿瘤坏死因子药物(anti-tumor necrosis factor, anti-TNF)如英夫利西单抗(infliximab, IFX)、阿达木单抗(adalimumab, ADA)和维多利单抗(vedolizumab, VED)、钙调磷酸酶抑制剂等<sup>[1-4]</sup>。近年来研究发现相当一部分患者是激素抵抗或者激素依赖性IBD, anti-TNF药物显著增加了这类难治性IBD患者治疗的选择<sup>[5,6]</sup>。60%-80%的IBD患者对其显示出良好的初始反应。然而, 三分之一的缓解期患者在停用anti-TNF治疗后1年左右复发<sup>[7]</sup>。同时, 据报道, 长期anti-TNF治疗中有增加淋巴瘤和机会性感染包括肺结核等严重不良反应的风险<sup>[1,8]</sup>。钙调磷酸酶抑制剂, 包括环孢素和

他克莫司(tacrolimus, TAC), 已被用作激素难治性IBD的二线治疗药物<sup>[3,5]</sup>, 环孢素可以有效诱导缓解, 但由于其不良反应和长期治疗的失败率, 它的长期使用是受限的<sup>[9,10]</sup>。同时环孢素在肠道吸收少且不稳定, 因此, 口服环孢素很难达到最佳血清谷浓度<sup>[3,11]</sup>。TAC为大环内酯类免疫抑制剂, 可通过抑制T细胞激活和增殖以及抑制炎症因子反应起免疫抑制作用, 控制肠道炎症反应。虽然其免疫调节作用与环孢素相似, 但其体内免疫抑制活性为环孢素的10-20倍, 且肠道炎症对其口服吸收影响较小。鉴于TAC的这些特点, 在激素难治性IBD中, TAC的使用可能比环孢素更安全<sup>[12,13]</sup>。本文拟从TAC在IBD中的治疗最新进展进行作一综述。

## 1 在UC治疗中的应用

1.1 短期疗效 Ogata等<sup>[14]</sup>的双盲安慰剂对照研究表明, 口服TAC治疗2 wk时, 高谷浓度值组(10-15 ng/mL)、低谷浓度值组(5-10 ng/mL)和安慰剂组的临床反应率分别为68.4%、38.1%和10.0%, TAC诱导缓解治疗难治性UC是有效的且呈剂量依赖性, 研究还显示他克莫司的最佳谷浓度范围为10-15 ng/mL, 两周治疗效果较好。Ogata等<sup>[15]</sup>在一项包括激素耐药性UC患者的随机对照试验中进一步探究了口服TAC的疗效, 结果表明, 在2 wk时, TAC组的临床反应率为50.0%, 安慰剂组为13.3%。黏膜愈合率TAC组为43.8%, 安慰剂组为13.3%。这些结果表明, 口服TAC治疗激素耐药性UC患者, 可以缩短急性期, 并有助于黏膜愈合。已知在治疗UC中TAC的靶谷浓度建议在最初2 wk为10-15 ng/mL, 后期为5-10 ng/mL, 在最近的一项观察性研究中<sup>[16]</sup>, 激素耐药性UC患者接受了口服TAC治疗, 初始剂量为0.1 mg/kg/d。剂量调整以维持较高的血清谷浓度(10-15 ng/mL)。结果表明, 前7 d时, 93.5%的患者维持10-15 ng/mL的谷浓度值。2 wk时临床反应率为73.1%, 临床缓解率为31.4%, 4 wk时临床缓解率为75.6%。这说明口服TAC的快速诱导治疗缩短了达到合适谷浓度值的时间, 是治疗难治性UC的有效方法。Yamada等<sup>[17]</sup>的前瞻性队列研究中评估了快速达到TAC靶谷浓度对UC的临床疗效和安全性的影响, TAC的初始负荷剂量从0.05 mg/kg/d增加到0.1-0.2 mg/kg/d, 通过与实测血药浓度的比例计算确定维持剂量为12.5 ng/mL, 以达到靶谷浓度。结果显示, 与剂量调整前相比, 剂量调整后的初始剂量明显增加( $P < 0.001$ )。通过剂量调整, 达到10 ng/mL以上的目标谷浓度所需的时间明显缩短( $P = 0.048$ )。表明增加初始负荷剂量可使达到目标谷浓度时间缩短。此外, 剂量调整前和剂量调整后的临床缓解率分别为16.6%(2/12)和50.0%(7/14)( $P = 0.114$ )。在不影响

不良事件发生率的情况下, 剂量调整后大便频率评分显著提高. 研究表明, 快速达到TAC目标谷浓度对于改善UC患者的临床症状是有效的且相对安全. TAC在UC中的短期疗效研究情况见表1.

这些结果表明TAC短期诱导缓解治疗难治性UC, 可以缩短急性期, 有助于黏膜愈合, 且疗效呈剂量依赖性. 对于短期诱导难治性UC患者的缓解, TAC的最佳血谷浓度范围为10-15 ng/mL. 还发现TAC的快速诱导治疗可以缩短达到合适谷浓度值的时间, 对于改善难治性UC患者的临床症状是有效的且相对安全.

**1.2 长期疗效** 一般而言, 在UC中, 超过3 mo的他克莫司治疗视为长期. 钙调磷酸酶抑制剂在难治性UC中通常作为硫嘌呤类药物长期维持治疗的桥梁药物<sup>[18,19]</sup>. 然而, 一些患者因为不能耐受硫嘌呤类药物必须停药. 在这种情况下, 我们必须考虑硫嘌呤类药物的替代药物<sup>[20]</sup>. TAC长期治疗已被广泛应用于器官移植患者. 因此, TAC理论上可用于UC的维持治疗<sup>[11]</sup>.

已有研究证明TAC治疗难治性UC是有益的. 如果进行适当的监测, 可以长期安全地继续治疗<sup>[21,22]</sup>. Ikeya等<sup>[23]</sup>对TAC在难治性UC的中远期疗效进行了评估, 结果显示, 在临床缓解的患者中, 黏膜愈合率为60.9%. 结果表明, 黏膜愈合与较好的缓解维持时间有关. 结果还显示, 12 mo和24 mo无复发生存率分别为56%和50%, 而治疗4 mo以上者无复发生存率较高, 说明中、长期TAC治疗难治性UC是有益的. Landy等<sup>[9]</sup>评价TAC维持治疗在难治性UC的疗效. TAC治疗的平均时间为9 mo. 结果显示, 6 mo时临床反应率为52%, 缓解率为44%. 平均MTW评分明显下降. 24 mo时无结肠切除的累积生存率为80%. 这些结果表明, TAC的长期维持缓解治疗是有效的, 并有较高的一年内无结肠切除术的生存率. 此外, Mayo内镜评分明显降低, 提示长期使用TAC可促进黏膜愈合. Olmedo等<sup>[22]</sup>的研究表明, 在平均随访54 mo时, 无结肠切除术的比率为75%. 53%的患者出现不良反应, 无一例停药. 研究表明, TAC长期维持治疗是有效和相对安全的. 此外, 对于预后, Nishida等<sup>[24]</sup>评价了接受TAC治疗的UC患者的预处理中性粒细胞与淋巴细胞比(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)作为预后因素的临床意义. 结果显示, 多变量Cox回归分析提示预处理NLR是TAC治疗UC患者的独立预后因素.

以上研究显示, TAC维持缓解治疗在难治性UC是有益的, 且TAC可以改善黏膜愈合, 降低结肠切除率. 在适当的监测下, TAC治疗可以长期安全使用. 还发现, 预处理NLR是TAC治疗UC患者的独立预后因素. 目前尚缺乏长期维持治疗的随机对照试验, 且不清楚TAC的最

佳治疗时间和维持治疗的最佳TAC浓度.

**1.3 TAC与anti-TNF药物的比较、转换和联合治疗** 对于短期疗效的比较, 荟萃分析<sup>[6]</sup>发现IFX是治疗难治性UC最有效的药物, 其次是TAC和安慰剂. 而IFX和TAC之间的差异很小, 表明两种药物的疗效相当. 另一荟萃分析<sup>[25]</sup>中对TAC和IFX作为中重度和激素难治性UC患者的抢救药物进行了比较, 共纳入了6项研究. 分析显示, TAC组的短期临床有效率、临床缓解率和3 mo结肠切除率分别为72.1%、52.4%和10.1%, IFX组分别为76.9%、48.8%和12.4%. 都没有显著差异. 但在TAC组中不良事件发生率更高. 提示TAC和IFX作为抢救治疗药物对中重度活动性UC和激素难治性UC的是有效. 另一研究<sup>[18]</sup>中得到了相似的结论. 在10 wk时, TAC组与IFX组临床缓解率分别为67%与86%, 临床反应率分别为76%与92%. 均无严重的不良反应发生, TAC组不良反应发生率更高. 提示TAC和IFX对中重度UC患者的短期诱导缓解疗效是相同有效且相对安全的. Yamamoto等<sup>[26]</sup>回顾性研究发现结果提示在中重度活动性UC的治疗中TAC和anti-TNF都是有效且安全的, 且TAC倾向于治疗重度活动性UC患者.

对于长期疗效的差异, Matsumoto等<sup>[27]</sup>回顾性研究中纳入了激素难治性活动期UC患者. 结果显示, 在一月、六月和十二月累计的无事件发生率(复发、住院和手术)在TAC组分别为65.5%、39.4%和39.4%, 在anti-TNF组分别为95.7%、77.2%和71.7%( $P = 0.0037$ ), 提示当转为维持治疗时, anti-TNF组疗效更好. Otsuka等<sup>[28]</sup>的回顾性观察研究中比较了IFX与TAC治疗中重度UC的远期疗效. 结果显示, 在52 wk时, IFX组患者临床疗效和临床缓解率分别达到76.5%和70.6%. TAC组临床有效率和临床缓解率为50.0%. Kaplan-Meier曲线分析发现IFX组的无复发和无结肠切除生存率明显优于TAC组( $P < 0.05$ ). 表明, 与TAC相比, IFX产生更好的长期结果, 尤其是在避免结肠切除术的情况下. 另有研究显示<sup>[13]</sup>在118 mo(从2-118 mo)时TAC组免除结肠切除率为77.3%, 在79 mo(从0.5-79 mo)时IFX组免除结肠切除率为85.7%, 提示, TAC和IFX的长期治疗效果相似.

对于TAC与IFX的转换治疗, Endo等<sup>[19]</sup>评估了转换治疗的疗效. 结果显示, TAC治疗失败的患者转为IFX治疗是有意义的, 但是IFX治疗失败的患者转为TAC没有得到很好的治疗效果. Takeuchi等<sup>[29]</sup>总结了5篇比较TAC和IFX的研究, 提出IFX作为TAC治疗失败后的二线挽救治疗药物是有利的, 相反, TAC作为IFX治疗失败的药物治疗是有问题的. Minami等<sup>[13]</sup>回顾性研究探究了TAC或IFX治疗重度UC的疗效, 29例患者中13例(TAC组10例,

表 1 他克莫司在溃疡性结肠炎中的短期疗效

作者	年份	文章类型	UC严重程度	病例数	给药及起始剂量	疗程	临床反应/临床缓解率	目标谷浓度
Ogata等 <sup>[14]</sup>	2006	RCT	难治性UC	高剂量组19, 低剂量组21, 安慰剂组20	口服, 0.05 mg/kg, 每天2次	2 wk	临床反应率: 高剂量组68.4%; 低剂量组38.1%; 安慰剂组10.0%	高剂量组10–15 ng/mL, 低剂量组5–10 ng/mL
Ogata等 <sup>[15]</sup>	2012	RCT	激素耐药性UC	TAC组32, 安慰剂组30	口服, 2–5 mg/d	2 wk	临床反应率: TAC组50%; 安慰剂组13.3%	10–15 ng/mL
Kawakami等 <sup>[16]</sup>	2015	前瞻性观察队列研究	激素耐药性UC	49	口服, 0.1 mg/kg/d	4 wk	临床缓解率: 75.6%	10–15 ng/mL, 5–10 ng/mL
Yamada等 <sup>[17]</sup>	2019	前瞻性队列研究	轻中重度UC	剂量调整前组12, 剂量调整后组14	口服, 剂量调整前组0.05 mg/kg/d; 剂量调整后组0.1–0.2 mg/kg/d	2 wk	临床缓解率: 剂量调整前组16.6%; 剂量调整后组50.0%	10–15 ng/mL

UC: 溃疡性结肠炎; TAC: 他克莫司。

IFX组3例)在临床治疗中接受了转换治疗(TAC→IFX/IFX→TAC), 其中TAC组中6例以及IFX组中的3例通过转换治疗实现和维持缓解, 该研究提示在UC患者中, 初始TAC或者IFX治疗失败时, 转换治疗可以考虑实施。

事实上, 联合钙调磷酸酶抑制剂和anti-TNF疗法是相对禁忌的, 有严重感染的风险, 甚至死亡。然而, VED对免疫反应、最小副作用和感染风险的主要肠道选择性作用与其作为单一疗法的使用有关, 这意味着添加一种广泛免疫抑制作用的系统作用制剂可能不会产生比个别药物更大的感染和其他并发症。基于此, Christensen等<sup>[8]</sup>研究了钙调磷酸酶抑制剂和VED联合治疗难治性IBD的安全性和有效性, 纳入了9例CD和11例UC患者, 患者前12 mo接受钙调磷酸酶抑制剂(TAC和环孢菌素)和VED的联合治疗, 结果显示在14 wk时, 44%的CD患者和55%的UC患者实现了免除激素的临床缓解; 52 wk时, 33%的CD患者和45%的UC患者实现了免除激素的临床缓解。提示VED与环孢菌素或TAC的联合治疗诱导和维持IBD患者临床缓解是有效的。结果还显示开始对VED单独作用没有反应的患者, 在短疗程运用钙调磷酸酶抑制剂后有效。提示, 环孢菌素和TAC成功而迅速地诱导IBD的应答和缓解, 这一策略可以作为VED治疗的桥梁, 用于VED的起始治疗或在对VED有初始无反应的情况下。这种联合治疗的方案, 适用于中到重度IBD患者, 对于激素耐药或anti-TNF治疗失败的患者可能有效。

以上研究表明TAC与IFX在中重度UC的短期诱导疗效是相似的, 且TAC可能更倾向于重度活动性UC的治疗。与TAC相比, IFX可能产生更好的长期维持疗效。

但它们长期疗效的比较研究还很少。此外, TAC与IFX的转换治疗还存在争议, TAC与VED的联合治疗也还需要更多的研究来探讨。

1.4 个体化基因多态性优化TAC在UC中的治疗 与TAC代谢有关的细胞色素CYP3A5(P-450 3A5)和ABCB1(ATP binding cassette subfamily B member) (1)有几种基因多态性。Onodera等<sup>[30]</sup>研究了在严格剂量调整下, ABCB1和CYP3A5的基因多态性对TAC治疗UC疗效的影响。结果显示, ABCB1多态性对早期诱导阶段的药物动力学没有影响, 但ABCB1 1236 C>T显著影响12 wk时TAC治疗难治性UC的治疗结果, 并且多元逻辑回归分析显示它是与缓解有关的一个独立因素。结果还显示, CYP3A5基因型与治疗效果没有联系, 但CYP3A5多态性与TAC的药物动力学之间有强烈的联系。与不表达者相比, CYP3A5表达者需要更高的剂量达到足够的TAC血浓度。与表达者相比, CYP3A5不表达者在4 wk时临床病情活动度(p-DAI评分)显著降低, 提示为了实现快速诱导缓解, 使用CYP3A5基因型信息调整最初的TAC剂量优化治疗是可行的。Onodera等<sup>[31]</sup>在此基础上研究了预测CYP3A5多态性的因素。结果显示TAC治疗24 h后的谷浓度可以预测CYP3A5多态性。当24 h谷浓度≤2.6 ng/mL时, 患者为CYP3A5表达者。提示通过使用24 h谷浓度这种方便的参数, CYP3A5多态性可以特异性地被预测, 而不需要检测其基因分型, 并且在预测CYP3A5多态性基础上执行剂量的优化可以实现更早更安全的缓解诱导。最近一项研究中, Okabayashi等<sup>[32]</sup>探讨了在UC患者中应用CYP3A5多态性和TAC短期个体化治疗以达到目



标血谷浓度水平的可行性, 这是应用遗传药理学方法治疗UC的第一篇报道. 该研究对21例患者进行前瞻性治疗, 根据其CYP3A5状态调整初始剂量(CYP3A5\*3/\*3、CYP3A5\*1/\*3和CYP3A5\*1/\*1分别为0.1、0.15和0.2 mg/kg/d). 将其临床结果与固定剂量(0.1 mg/kg/d)治疗的患者进行比较. 结果显示, 在个体化剂量组中, CYP3A5表达者、CYP3A5\*1/\*3或CYP3A5\*1/\*1的第一个血清谷浓度和一周内达到目标血清谷浓度水平的总比率明显高于固定剂量组( $5.15 \pm 2.33$  ng/mL vs  $9.63 \pm 0.79$  ng/mL,  $P = 0.035$  and  $12.5\%$  vs  $66.7\%$ ,  $P = 0.01$ ). 结果提示, 个体化剂量治疗不仅增加了加速TAC疗效的可能性, 而且通过个体化初始剂量可以减少剂量调整次数, 提高TAC治疗UC的可行性, 特别是对于CYP3A5表达的患者. 结果还显示通过个体化的初始TAC剂量, CYP3A5表达者在2 wk时的临床缓解率与非表达者相当, 这支持了个体化治疗的应用. 该试验还发现在进行剂量调整后, 没有观察到CYP3A5多态性与肾功能不全的发生率有直接关系. 所有发生肾功能不全的患者在减少剂量或停药后均恢复到基线状态, 这表明个体化治疗并未增加副作用的风险.

## 2 在CD治疗中的应用

**2.1 肛周CD** 肛周疾病是一种常见的CD的表现形式, 通常表现为肛门直肠的脓肿、瘘管或裂隙<sup>[33]</sup>. 随着anti-TNF疗法的使用, CD的疗效有很大的提高, 降低了手术和住院的频率, 有助于黏膜愈合, 并且提高患者的生活质量<sup>[34]</sup>. 然而, 每年有10%到20%的患者失去对其的反应, 长期治疗中有些患者因为不耐受而停药. 因此, 当anti-TNF治疗失败, 我们要考虑其他药物治疗<sup>[35,36]</sup>. 有研究表明TAC可作为anti-TNF治疗无效时的替代用药, 尤其对肛周病变<sup>[33,37]</sup>.

Sandborn等<sup>[38]</sup>在随机对照试验中探讨了TAC在肛周CD治疗的疗效, 48例患者随机分为口服TAC 0.2 mg/kg/d或安慰剂10 wk. 结果显示TAC组与安慰剂组瘘管改善率分别为43%和8% ( $P = 0.004$ ), 瘘管缓解率分别为10%和8% ( $P = 0.86$ ), 提示在启动肛周瘘管的改善口服TAC是有效的, 但在实现瘘管缓解没有显著疗效. Hart等<sup>[39]</sup>随机对照试验中探讨了局部使用TAC在肛周克罗恩病中12 wk的疗效, 纳入了19例肛周CD的患者, 其中溃疡7例, 瘘管12例. 予以TAC 1 mg/g(1 g软膏, 2次/d)局部治疗或者安慰剂治疗. 结果显示, TAC组中, 4例溃疡患者3例得到了改善; 安慰剂组中, 3例溃疡患者均无改善. 而在肛周瘘管CD中, 局部使用TAC治疗不起作用. 提示局部TAC治疗在肛周或者肛门附近的溃疡CD中是有

效安全的, 但在肛周瘘管CD中的治疗并不理想. 前瞻性随机试验<sup>[40]</sup>纳入了20例肛周CD患者, 结果表明外用0.1%TAC软膏或抗菌栓剂联合激素软膏治疗肛周CD的患者都是有效的, 而且0.1%TAC软膏治疗可使PCDAI降低. McSharry等<sup>[41]</sup>总结了TAC治疗在CD中的疗效. 结果显示在口服或者静脉注射TAC治疗的肛周CD中, 28.6%(0%-64%)的患者实现缓解, 38.8%(0%-57%)的患者为部分反应. 两项局部使用TAC治疗肛周CD的研究中, 35.7%的患者实现了缓解, 28.6%的患者部分反应. 提示, 现在的研究证据支持了TAC在肛周CD中的应用.

这些研究表明, TAC治疗肛周CD是有益的. 口服或者静脉注射TAC在肛周瘘管的改善是有效的. 局部TAC治疗在肛周溃疡CD中是有效安全的, 但在肛周瘘管CD治疗中不是有利的, 可能的原因是瘘管的解剖形态和渗出物的流出导致的吸收障碍<sup>[42]</sup>.

**2.2 难治性CD** 在儿科难治性CD中, 研究表明, TAC被建议作为其他药物的替代药物或在等待其他药物发挥作用时作为短期过渡药物, 但在治疗过程中需要监测相关的副作用<sup>[43,44]</sup>. Gerich等<sup>[45]</sup>对anti-TNF难治的重度CD患者进行了口服TAC的回顾性研究. 24例患者接受TAC治疗, 平均治疗时间为4 mo. 结果表明, 临床反应率为67%, 缓解率为21%. 此外, 当仅分析TAC谷浓度值为10-15 ng/mL的患者时, 结果显示, 临床有效率和缓解率分别为86%和57%, 与其他患者相比, 该组患者可延迟手术时间. 这些结果表明, 口服TAC治疗anti-TNF难治的重度CD是有效的, 尤其是在谷浓度为10-15 ng/mL的情况下. Tamaki等<sup>[46]</sup>研究了TAC在常规药物难治性CD的疗效, 包括强的松龙、硫唑嘌呤和IFX. 结果表明, 所有患者在治疗40 d后均有明显改善或缓解. 4 mo时, 64%的患者获得缓解, 14%的患者有明显改善. 这些结果表明TAC治疗对常规治疗无效的CD患者是有效的. 试验结果还表明TAC具有节省类固醇的作用. 特别的是TAC在治疗肛周瘘管、内瘘、肠管狭窄和脓肿等并发症方面也有一定的作用. Ierardi等<sup>[47]</sup>在一项早期前瞻性研究中报告了口服TAC对激素难治性CD的长期疗效. 13例患者接受了平均27.3 mo的治疗. 结果显示, 13例患者中有11例在6 mo时CDAI评分明显下降, 13例患者中有9例在一年内明显下降. 这项研究表明长期TAC治疗激素难治性CD是有效的.

以上研究表明, 小儿难治性CD可考虑口服TAC, 但一般作为短期过渡药物, 在治疗过程中需严格监测相关副作用. TAC疗法在传统药物(包括anti-TNF)治疗成人难治性CD方面是有效的, 特别是在10-15 ng/mL的谷浓度下. 此外, 长期TAC治疗激素难治性CD是有效的, 但是

TAC治疗难治性CD的远期疗效和安全性还有待进一步研究。

**2.3 皮肤CD** 皮肤CD是相对常见的, 发生率在11%和44%之间, 该病严重影响生活质量。常见的类型有肛周疾病, 典型的脓皮病坏疽等, 不常见的有转移性的CD(MCD)<sup>[42]</sup>。研究表明当局部使用TAC时可以抑制T细胞的激活和增殖, 改善皮肤炎症。TAC可通过表皮屏障很好地吸收, 而且即使药物应用于皮肤或黏膜, 血清水平仍然很低或检测不到。与局部皮质激素治疗相比, TAC并不影响胶原蛋白合成, 因此不引起皮肤萎缩<sup>[48]</sup>。Shah等<sup>[48]</sup>报道了一例面部皮肤损伤的22岁CD患者, 予以1 d两次0.1%的TAC软膏治疗后, 病灶减小, 超过12 mo的TAC治疗进一步改善了皮肤损伤, 口腔内的特征消失, 全沟深度重新建立, 说明了局部使用TAC治疗CD皮肤表现是有效的。有研究发现1例术后复发的阴茎MCD患者, 在ADA治疗效果不佳时, 外用TAC治疗有助于病灶的治愈。提示MCD患者经历生物制剂治疗效果不佳时, 外用TAC可以是一个选择<sup>[49]</sup>。Satake等<sup>[50]</sup>发现1例UC行直肠切除术后顽固性坏疽性脓皮病的患者经口服TAC治疗后所有皮肤溃疡都成了疤痕, 回肠袋内多处溃疡也得到改善, 提示口服TAC治疗对于患有难治性坏疽性脓皮病和袋腺炎的UC患者是一个有价值的治疗选择。Rice等<sup>[42]</sup>探讨了局部使用0.1%的TAC软膏在侵犯皮肤的CD中的作用, 纳入了20例多种表现形式的皮肤CD患者, 予以1 d一次0.1%的TAC软膏治疗12 wk。结果显示17例患者完成了12 wk的治疗。在12 wk时15例得到临床改善, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽, 其中1例实现了治愈, 4例显示明显的改善(51%-75%), 10例表现出轻度(1%-25%)或中度改善(25%-50%)。12 mo时, 有11例患者仍在治疗中, 9例得到改善, 1例治愈, 1例则没有改变, 该研究表明在治疗皮肤CD时0.1%的TAC软膏是有效的, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽, 但它很少治愈损伤。整个研究中TAC血清水平无法检测到, 提示0.1%的TAC长期应用于破损的皮肤和黏膜是安全的。

这些研究表明TAC治疗皮肤CD是有效且安全的, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽。但还需要更多的试验来研究TAC治疗皮肤CD的复发情况。

### 3 安全性评价

一项系统回顾和荟萃分析<sup>[51]</sup>评估了TAC作为活动期UC的一种补救疗法的安全性。在随机对照试验的研究中, 结果显示, 与安慰剂治疗相比, TAC的总体不良事件发生率更高, 但TAC不会增加严重不良事件的风险。此外, 在14项观察性研究中, 结果表明, TAC治疗不良事件发

生率低, 其中治疗持续时间为3.75-11 mo。这些发现支持了它的长期安全性。在所有观察到的研究中, 随着TAC剂量的降低或停药, 严重不良事件有所改善。这些发现表明TAC治疗UC是相对安全的。此外, 一项系统性回顾<sup>[41]</sup>研究了TAC治疗CD的安全性, 结果表明, 主要的不良反应是轻微的, 包括震颤、感觉异常、头痛、腹泻和钾代谢紊乱等。未观察到严重或者危及生命的不良反应。值得注意的是, 16%的患者出现了可逆性肾毒性, 没有报道长期肾损伤的病例, 检测血清肌酐和调整TAC的使用是重要的措施。这项研究表明, 在治疗过程中仔细监测的情况下, 服用TAC的不良反应是可以控制的。局部TAC治疗中最常见的不良事件是局部烧灼感或瘙痒, 两者均以轻至中度强度出现, 并可瞬间消失。此外, 局部治疗TAC的不良事件通常发生在开始的几天内, 并可随着时间的推移而减少<sup>[48]</sup>。

研究发现, 与TAC相关的肾功能障碍可以通过减少TAC的剂量来减轻。但所有研究中没有患者接受过肾活检评估, 也没有说明何时观察到肾功能障碍<sup>[12]</sup>。已知TAC可引起急、慢性肾毒性。急性肾毒性被认为是由于血管收缩传入的小动脉, 似乎是可逆的。但慢性肾毒性的组织学改变被认为是不可逆的<sup>[52]</sup>。最近, Hosoi等<sup>[43]</sup>回顾性研究了儿童肾损害的临床和组织学特征, 发现在较高的谷浓度水平进行长期TAC治疗与肾毒性有关。研究表明, 仔细监测肾小球滤过率, 并在某些情况下, 肾活检, 在长期TAC治疗时是重要的。

这些研究表明, 尽管TAC药物不良事件多, 但大多数较轻微, 而且可随剂量的减少而恢复。但是长期使用可能会造成不可逆的肾损伤, 使用过程中需监控肾小球滤过率。关于TAC长期使用的安全性, 还需要进一步的研究。

### 4 结论

在UC方面, TAC用于短期诱导缓解治疗难治性UC, TAC的最佳血谷浓度范围为10-15 ng/mL, 且其快速诱导治疗对于改善难治性UC患者的临床症状是有效的; TAC维持缓解治疗在难治性UC是有益的, 在适当的监测下, TAC治疗可以长期安全使用; TAC在中重度UC的短期诱导疗效与IFX是相似的; 还发现在特异性预测CYP3A5多态性基础上执行TAC的个体化剂量优化可以使UC患者达到更早更安全的缓解诱导。在CD方面, 口服或静脉注射TAC可用于治疗肛周瘘管CD。外用TAC治疗肛周溃疡CD是安全有效的, 但对肛周瘘管CD疗效不佳; 对于难治性CD, TAC疗法是有效的, 特别是在10-15 ng/mL的谷浓度下。长期TAC治疗激素难治性CD

可能是有效的; TAC治疗皮肤CD是有效且安全的, 尤其是会阴疾病和脓皮病坏疽. 尽管TAC药物不良事件多, 但大多数较轻微, 而且可随剂量的减少而消失或减轻.

总之, TAC在IBD中的治疗中发挥着越来越重要的作用, 但还需要更多的研究来探讨TAC在IBD中的长期疗效和安全性, 而且, 尚不清楚TAC最优的长期治疗疗程以及作为长期维持治疗最佳的浓度. TAC与IFX的转换治疗, TAC与VED的联合治疗还需要更多的研究证明其有效性和安全性. 基于基因多态性的个体化治疗也需要进一步的临床研究. 从目前取得的成效来看, 其优越性较为显著, 存在广阔的应用前景, 有望可以在临床上掀起新潮流.

## 5 参考文献

- Osada T, Watanabe S. Current Treatment Options for Inflammatory Bowel Diseases and Future Perspectives. *Juntendo Med J* 2015; 61: 588-596 [DOI: 10.14789/jmj.61.588]
- Tanida S, Mizoshita T, Ozeki K, Katano T, Kataoka H, Kamiya T, Joh T. Advances in refractory ulcerative colitis treatment: A new therapeutic target, Annexin A2. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 8776-8786 [PMID: 26269667 DOI: 10.3748/wjg.v21.i29.8776]
- Ahmad H, Kumar VL. Pharmacotherapy of ulcerative colitis - current status and emerging trends. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2018; 29: 581-592 [PMID: 30089097 DOI: 10.1515/jbcpp-2016-0014]
- Damiao AOMC, de Azevedo MFC, Carlos AS, Wada MY, Silva TVM, Feitosa FC. Conventional therapy for moderate to severe inflammatory bowel disease: A systematic literature review. *World J Gastroenterol* 2019; 25: 1142-1157 [PMID: 30863001 DOI: 10.3748/wjg.v25.i9.1142]
- Renna S, Cottone M, Orlando A. Optimization of the treatment with immunosuppressants and biologics in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 9675-9690 [PMID: 25110407 DOI: 10.3748/wjg.v20.i29.9675]
- Komaki Y, Komaki F, Micic D, Yamada A, Suzuki Y, Sakuraba A. Pharmacologic therapies for severe steroid refractory hospitalized ulcerative colitis: A network meta-analysis. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 32: 1143-1151 [PMID: 27957761 DOI: 10.1111/jgh.13674]
- Gisbert JP, Marin AC, Chaparro M. The Risk of Relapse after Anti-TNF Discontinuation in Inflammatory Bowel Disease: Systematic Review and Meta-Analysis. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 632-647 [PMID: 27002797 DOI: 10.1038/ajg.2016.54]
- Christensen B, Gibson PR, Micic D, Colman RJ, Goeppinger SR, Kassim O, Yarur A, Weber CR, Cohen RD, Rubin DT. Safety and Efficacy of Combination Treatment With Calcineurin Inhibitors and Vedolizumab in Patients With Refractory Inflammatory Bowel Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2019; 17: 486-493 [PMID: 29751166 DOI: 10.1016/j.cgh.2018.04.060]
- Landy J, Wahed M, Peake ST, Hussein M, Ng SC, Lindsay JO, Hart AL. Oral tacrolimus as maintenance therapy for refractory ulcerative colitis--an analysis of outcomes in two London tertiary centres. *J Crohns Colitis* 2013; 7: e516-e521 [PMID: 23623737 DOI: 10.1016/j.crohns.2013.03.008]
- Boschetti G, Nancey S, Moussata D, Stefanescu C, Roblin X, Chauvenet M, Stroeymeyt K, Bouhnik Y, Flourié B. Tacrolimus induction followed by maintenance monotherapy is useful in selected patients with moderate-to-severe ulcerative colitis refractory to prior treatment. *Dig Liver Dis* 2014; 46: 875-880 [PMID: 25023007 DOI: 10.1016/j.dld.2014.06.005]
- Nakase H, Yoshino T, Matsuura M. Role in calcineurin inhibitors for inflammatory bowel disease in the biologics era: when and how to use. *Inflamm Bowel Dis* 2014; 20: 2151-2156 [PMID: 25029618 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000130]
- Matsuoka K, Saito E, Fujii T, Takenaka K, Kimura M, Nagahori M, Ohtsuka K, Watanabe M. Tacrolimus for the Treatment of Ulcerative Colitis. *Intest Res* 2015; 13: 219-226 [PMID: 26130996 DOI: 10.5217/ir.2015.13.3.219]
- Minami N, Yoshino T, Matsuura M, Koshikawa Y, Yamada S, Toyonaga T, Madian A, Honzawa Y, Nakase H. Tacrolimus or infliximab for severe ulcerative colitis: short-term and long-term data from a retrospective observational study. *BMJ Open Gastroenterol* 2015; 2: e000021 [PMID: 26462273 DOI: 10.1136/bmjgast-2014-000021]
- Ogata H, Matsui T, Nakamura M, Iida M, Takazoe M, Suzuki Y, Hibi T. A randomised dose finding study of oral tacrolimus (FK506) therapy in refractory ulcerative colitis. *Gut* 2006; 55: 1255-1262 [PMID: 16484504 DOI: 10.1136/gut.2005.081794]
- Ogata H, Kato J, Hirai F, Hida N, Matsui T, Matsumoto T, Koyanagi K, Hibi T. Double-blind, placebo-controlled trial of oral tacrolimus (FK506) in the management of hospitalized patients with steroid-refractory ulcerative colitis. *Inflamm Bowel Dis* 2012; 18: 803-808 [PMID: 21887732 DOI: 10.1002/ibd.21853]
- Kawakami K, Inoue T, Murano M, Narabayashi K, Nouda S, Ishida K, Abe Y, Nogami K, Hida N, Yamagami H, Watanabe K, Umegaki E, Nakamura S, Arakawa T, Higuchi K. Effects of oral tacrolimus as a rapid induction therapy in ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 1880-1886 [PMID: 25684955 DOI: 10.3748/wjg.v21.i6.1880]
- Yamada Y, Ohno Y, Niwa T, Kato-Hayashi H, Hayashi H, Ibuka T, Araki H, Sugiyama T, Shimizu M, Suzuki A. Rapid attainment of target trough concentrations of tacrolimus for early improvement of clinical symptoms in patients with ulcerative colitis. *J Clin Pharm Ther* 2019; 44: 409-414 [PMID: 30604428 DOI: 10.1111/jcpt.12800]
- Nuki Y, Esaki M, Asano K, Maehata Y, Umeno J, Moriyama T, Nakamura S, Matsumoto T, Kitazono T. Comparison of the therapeutic efficacy and safety between tacrolimus and infliximab for moderate-to-severe ulcerative colitis: a single center experience. *Scand J Gastroenterol* 2016; 51: 700-705 [PMID: 26818468 DOI: 10.3109/00365521.2016.1138239]
- Endo K, Onodera M, Shiga H, Kuroha M, Kimura T, Hiramoto K, Kakuta Y, Kinouchi Y, Shimosegawa T. A Comparison of Short- and Long-Term Therapeutic Outcomes of Infliximab-versus Tacrolimus-Based Strategies for Steroid-Refractory Ulcerative Colitis. *Gastroenterol Res Pract* 2016; 2016: 3162595 [PMID: 26904108 DOI: 10.1155/2016/3162595]
- Godat S, Fournier N, Safroneeva E, Juillerat P, Nydegger A, Straumann A, Vavricka S, Biedermann L, Greuter T, Fraga M, Abdelrahman K, Hahnloser D, Sauter B, Rogler G, Michetti P, Schoepfer AM; Swiss IBD Cohort Study Group. Frequency and type of drug-related side effects necessitating treatment discontinuation in the Swiss Inflammatory Bowel Disease Cohort. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2018; 30: 612-620 [PMID: 29384798 DOI: 10.1097/MEG.0000000000001078]
- Saifuddin A, Harris A. Tacrolimus therapy in moderate to subacute ulcerative proctocolitis: a large single-centre cohort study. *Frontline Gastroenterol* 2018; 9: 148-153 [PMID: 29588844 DOI: 10.1136/flgastro-2017-100888]
- Olmedo Martin RV, Amo Trillo V, González Grande R, Jimenez Perez M. Medium to long-term efficacy and safety of oral tacrolimus in moderate to severe steroid refractory ulcerative colitis. *Rev Esp Enferm Dig* 2017; 109: 559-565 [PMID: 28617029 DOI: 10.17235/reed.2017.4899/2017]
- Ikeya K, Sugimoto K, Kawasaki S, Iida T, Maruyama Y, Watanabe F, Hanai H. Tacrolimus for remission induction in



- ulcerative colitis: Mayo endoscopic subscore 0 and 1 predict long-term prognosis. *Dig Liver Dis* 2015; 47: 365-371 [PMID: 25682993 DOI: 10.1016/j.dld.2015.01.149]
- 24 Nishida Y, Hosomi S, Yamagami H, Sugita N, Itani S, Yukawa T, Otani K, Nagami Y, Tanaka F, Taira K, Kamata N, Tanigawa T, Watanabe T, Fujiwara Y. Pretreatment neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts clinical relapse of ulcerative colitis after tacrolimus induction. *PLoS One* 2019; 14: e0213505 [PMID: 30845259 DOI: 10.1371/journal.pone.0213505]
  - 25 Liu YJ, Fan H, Zhen WW, Yu X, Chen JT, Wang CD. Pooled analysis of the comparative efficacy between tacrolimus and infliximab for ulcerative colitis. *Medicine* (Baltimore) 2018; 97: e11440 [PMID: 30095612 DOI: 10.1097/MD.00000000000011440]
  - 26 Yamamoto T, Shimoyama T, Umegae S, Matsumoto K. Tacrolimus vs. anti-tumour necrosis factor agents for moderately to severely active ulcerative colitis: a retrospective observational study. *Aliment Pharmacol Ther* 2016; 43: 705-716 [PMID: 26762838 DOI: 10.1111/apt.13531]
  - 27 Matsumoto S, Kawamura H, Nishikawa T, Sagihara N, Miyatani H, Mashima H. Tacrolimus versus anti-tumor necrosis factor agents for steroid-refractory active ulcerative colitis based on the severity of endoscopic findings: a single-center, open-label cohort study. *Clin Exp Gastroenterol* 2017; 10: 249-258 [PMID: 29026326 DOI: 10.2147/CEG.S143224]
  - 28 Otsuka T, Ooi M, Tobimatsu K, Wakahara C, Watanabe D, Adachi S, Yasutomi E, Yamairi H, Ku Y, Yoshida M, Hoshi N, Kodama Y. Short-Term and Long-Term Outcomes of Infliximab and Tacrolimus Treatment for Moderate to Severe Ulcerative Colitis: Retrospective Observational Study. *Kobe J Med Sci* 2018; 64: E140-E148 [PMID: 30728340]
  - 29 Takeuchi K, Shimoyama T, Yamamoto T. Comparison of Safety and Efficacy of Tacrolimus versus Infliximab for Active Ulcerative Colitis. *Dig Dis* 2018; 36: 106-112 [PMID: 29050007 DOI: 10.1159/000481815]
  - 30 Onodera M, Endo K, Kakuta Y, Kuroha M, Kimura T, Hiramoto K, Kanazawa Y, Negoro K, Shiga H, Kinouchi Y, Shimosegawa T. ATP-binding cassette subfamily B member 1 1236C/T polymorphism significantly affects the therapeutic outcome of tacrolimus in patients with refractory ulcerative colitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 32: 1562-1569 [PMID: 28135009 DOI: 10.1111/jgh.13753]
  - 31 Onodera M, Endo K, Naito T, Moroi R, Kuroha M, Kanazawa Y, Kimura T, Shiga H, Kakuta Y, Negoro K, Kinouchi Y, Shimosegawa T. Tacrolimus Dose Optimization Strategy for Refractory Ulcerative Colitis Based on the Cytochrome P450 3A5 Polymorphism Prediction Using Trough Concentration after 24 Hours. *Digestion* 2018; 97: 90-96 [PMID: 29393157 DOI: 10.1159/000484227]
  - 32 Okabayashi S, Kobayashi T, Saito E, Toyonaga T, Ozaki R, Sagami S, Nakano M, Tanaka J, Yagisawa K, Kuronuma S, Takeuchi O, Hibi T. Individualized treatment based on CYP3A5 single-nucleotide polymorphisms with tacrolimus in ulcerative colitis. *Intest Res* 2019; 17: 218-226 [PMID: 30704156 DOI: 10.5217/ir.2018.00117]
  - 33 Ghazi LJ, Schwartz DA. Perianal Disease. *John Wiley Sons* 2016 [DOI: 10.1002/9781119127437.ch41]
  - 34 Renna S, Orlando A, Cottone M. Randomized controlled trials in perianal Crohn's disease. *Rev Recent Clin Trials* 2012; 7: 297-302 [PMID: 23092233 DOI: 10.2174/1574887111207040297]
  - 35 Allen PB, Peyrin-Biroulet L. Immunomodulators for the treatment of Crohn's disease in adults: optimal use and prospects for future drug treatments. *Expert Rev Clin Immunol* 2016; 12: 741-749 [PMID: 26900725 DOI: 10.1586/1744666X.2016.1154789]
  - 36 Lawrance IC. What is left when anti-tumour necrosis factor therapy in inflammatory bowel diseases fails? *World J Gastroenterol* 2014; 20: 1248-1258 [PMID: 24574799 DOI: 10.3748/wjg.v20.i5.1248]
  - 37 Schwartz DA, Ghazi LJ, Regueiro M, Fichera A, Zoccali M, Ong EM, Mortelet KJ; Crohn's & Colitis Foundation of America, Inc. Guidelines for the multidisciplinary management of Crohn's perianal fistulas: summary statement. *Inflamm Bowel Dis* 2015; 21: 723-730 [PMID: 25751066 DOI: 10.1097/MIB.0000000000000315]
  - 38 Sandborn WJ, Present DH, Isaacs KL, Wolf DC, Greenberg E, Hanauer SB, Feagan BG, Mayer L, Johnson T, Galanko J, Martin C, Sandler RS. Tacrolimus for the treatment of fistulas in patients with Crohn's disease: a randomized, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 125: 380-388 [PMID: 12891539 DOI: 10.1016/s0016-5085(03)00877-1]
  - 39 Hart AL, Plamondon S, Kamm MA. Topical tacrolimus in the treatment of perianal Crohn's disease: exploratory randomized controlled trial. *Inflamm Bowel Dis* 2007; 13: 245-253 [PMID: 17206671 DOI: 10.1002/ibd.20073]
  - 40 Nanaeva BA, Vardanyan AV, Khalif IL. Efficiency of tacrolimus therapy for perianal Crohn's disease. *Ter Arkh* 2015; 87: 83-87 [PMID: 26281201 DOI: 10.17116/terarkh201587683-87]
  - 41 McSharry K, Dalzell AM, Leiper K, El-Matary W. Systematic review: the role of tacrolimus in the management of Crohn's disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2011; 34: 1282-1294 [PMID: 21999607 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2011.04873.x]
  - 42 Rice SA, Woo PN, El-Omar E, Keenan RA, Ormerod AD. Topical tacrolimus 0.1% ointment for treatment of cutaneous Crohn's Disease. *BMC Res Notes* 2013; 6: 19 [PMID: 23331739 DOI: 10.1186/1756-0500-6-19]
  - 43 Hosoi K, Arai K, Matsuoka K, Shimizu H, Kamei K, Nakazawa A, Shimizu T, Tang J, Ito S. Prolonged tacrolimus for pediatric gastrointestinal disorder: Double-edged sword? *Pediatr Int* 2017; 59: 588-592 [PMID: 27935231 DOI: 10.1111/ped.13211]
  - 44 Truffinet O, Martinez-Vinson C, Guerriero E, Hugot JP, Viala J. Tacrolimus Exerts Only a Transient Effectiveness in Refractory Pediatric Crohn Disease: A Case Series. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2017; 64: 721-725 [PMID: 27429426 DOI: 10.1097/MPG.0000000000001338]
  - 45 Gerich ME, Pardi DS, Bruining DH, Kammer PP, Becker BD, Tremaine WT. Tacrolimus salvage in anti-tumor necrosis factor antibody treatment-refractory Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1107-1111 [PMID: 23518805 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318280b154]
  - 46 Tamaki H, Nakase H, Matsuura M, Inoue S, Mikami S, Ueno S, Uza N, Kitamura H, Kasahara K, Chiba T. The effect of tacrolimus (FK-506) on Japanese patients with refractory Crohn's disease. *J Gastroenterol* 2008; 43: 774-779 [PMID: 18958546 DOI: 10.1007/s00535-008-2229-y]
  - 47 Ierardi E, Principi M, Francavilla R, Pisani A, Rendina M, Ingrosso M, Guglielmi FW, Panella C, Francavilla A. Oral tacrolimus long-term therapy in patients with Crohn's disease and steroid resistance. *Aliment Pharmacol Ther* 2001; 15: 371-377 [PMID: 11207512 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2001.00938.x]
  - 48 Shah NP, Goel RM, Escudier M. Treatment of a Crohn's disease-related cutaneous facial lesion with topical tacrolimus. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol* 2014; 118: e71-e73 [PMID: 25151593 DOI: 10.1016/j.oooo.2014.05.018]
  - 49 Sanchez L, Cabanillas M, Alvarez JC, Echarri A. Topical tacrolimus for recurrent penile Crohn's disease. *J Crohns Colitis* 2014; 8: 1145-1146 [PMID: 24815787 DOI: 10.1016/j.crohns.2014.04.006]
  - 50 Satake M, Sakuraba H, Hiraga H, Tarakita N, Akemoto

- Y, Ota S, Hasui K, Nishiya D, Hayamizu S, Kikuchi H, Sawaya M, Chinda D, Mikami T, Shimoyama T, Fukuda S. Successful treatment with tacrolimus of refractory pyoderma gangrenosum with pouchitis after restorative proctocolectomy for ulcerative colitis. *Immunol Med* 2018; 41: 142-146 [PMID: 30618342 DOI: 10.1080/25785826.2018.1531194]
- 51 Komaki Y, Komaki F, Ido A, Sakuraba A. Efficacy and Safety of Tacrolimus Therapy for Active Ulcerative Colitis; A Systematic Review and Meta-analysis. *J Crohns Colitis* 2016; 10: 484-494 [PMID: 26645641 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv221]
- 52 Issa N, Kukla A, Ibrahim HN. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: a review and perspective of the evidence. *Am J Nephrol* 2013; 37: 602-612 [PMID: 23796509 DOI: 10.1159/000351648]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

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

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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



## 2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;



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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079



# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 7 月 28 日      第 27 卷      第 14 期      (Volume 27 Number 14)**



**14/2019**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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





### 述评

- 851 肠道血流的CT和MRI评估

任小军

### 基础研究

- 857 下调MiR-221对胃癌顺铂耐药细胞增殖及顺铂敏感性的影响及其相关机制

徐丽娜, 金莉娜

- 864 miR-567靶向TRPM8调控结直肠癌细胞增殖凋亡的分子机制

杨庆华, 陈栋

### 临床研究

- 872 CBX2蛋白在胃癌中的表达水平及临床意义

何怡岚, 张波

- 878 剪切波超声弹性成像测定脂肪肝患者颈动脉斑块硬度及其与血脂水平相关性

欧阳骏, 张心荣, 王小伟

- 883 抗*H. pylori*治疗对胆石症患者胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>活性及免疫功能的影响

朱蔓然, 宁雪莲, 姚卫民, 郭勇杭, 何丽娟, 卢如相

- 889 体部立体定向放射治疗结肠癌伴肺转移的临床特点Meta分析

刘海源, 雷鑫明

### 文献综述

- 898 泄泻肝气乘脾证的研究进展

刘娅薇, 惠华英, 谭周进

- 903 胆囊癌的分子基因学研究进展

杨敏丽, 戴树龙

- 907 肠道产丁酸菌防治炎症性肠病的机制研究进展

陈映宇, 毛联智, 刘华缓, 孙素霞

## 消 息

- 856 《世界华人消化杂志》栏目设置  
877 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
897 《世界华人消化杂志》外文字符标准  
902 《世界华人消化杂志》修回稿须知

## 封面故事

孔德润, 男, 教授, 博导. 安徽医科大学第一附属医院消化内科主任医师, 病区主任, 中华医学会介入与微创学组委员、中国医促会门静脉高压学组委员、徽省食管与胃静脉曲张学组副组长、安徽省医师协会消化病分会委员、安徽省学术与技术带头人、安徽省卫健委青年领军人才. 主要研究肝硬化食管胃静脉曲张出血内镜诊治技术、消化道早癌的内镜下诊治技术、TIPS治疗肝硬化门脉高压静脉曲张出血和顽固性腹水. 主持国家自然科学基金等科研课题10余项, 以第一作者或通讯作者在*Endoscopy*, *PLOS one*, *World J Gastroenterol*等发表论文100余篇.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-07-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 14 Jul 28, 2019

### EDITORIAL

- 851 CT and MRI assessment of intestinal blood flow

*Ren XJ*

### BASIC RESEARCH

- 857 Effect of down-regulation of miR-221 on cell proliferation and cisplatin sensitivity in cisplatin-resistant gastric cancer cells and underlying mechanism

*Xu LN, Jin LN*

- 864 MiR-567 regulates proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by targeting TRPM8

*Yang QH, Chen D*

### CLINICAL RESEARCH

- 872 Clinical significance of expression of CBX2 in gastric cancer

*He YL, Zhang B*

- 878 Assessment of carotid plaque hardness in patients with fatty liver by shear wave elastography: Correlation with blood lipid levels

*Ouyang J, Zhang XR, Wang XW*

- 883 Effect of anti-*Helicobacter pylori* therapy on bile *H. pylori* DNA and PLA<sub>2</sub> activity and immune function in patients with cholelithiasis

*Zhu MR, Ning XL, Yao WM, Guo YH, He LJ, Lu RX*

- 889 A meta-analysis of stereotactic radiotherapy for pulmonary oligometastases from colorectal cancer

*Liu HY, Lei XM*

### REVIEW

- 898 Progress in research of syndrome of diarrhea with Ganqi Chengpi

*Liu YW, Hui HY, Tan ZJ*

- 903 Advances in research of molecular genetics of gallbladder cancer

*Yang ML, Dai SL*

- 907 Mechanism of gut butyric acid producing bacteria for prevention and treatment of inflammatory bowel disease

*Chen YY, Mao LZ, Liu HH, Sun SX*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 14 Jul 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Kong de-run, male, professor, Ph.D, Chief Physician, Ward director. Department of Gastroenterology, The first Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Jixi Road 218, Hefei 230022, Anhui Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

#### PRINT SUBSCRIPTION

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

#### COPYRIGHT

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

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

## 肠道血流的CT和MRI评估

任小军

任小军, 陕西中医药大学附属西电集团医院放射科 陕西省西安市 710077

任小军, 副主任医师, 主要从事消化系统CT和MRI诊断研究.

作者贡献分布: 本文由任小军独立完成.

通讯作者: 任小军, 副主任医师, 710077, 陕西省西安市丰登路97号, 陕西中医药大学附属西电集团医院放射科. renxjun@163.com. 电话: 029-84225975

收稿日期: 2019-03-27

修回日期: 2019-05-06

接受日期: 2019-05-24

在线出版日期: 2019-07-28

### CT and MRI assessment of intestinal blood flow

Xiao-Jun Ren

Xiao-Jun Ren, Department of Radiology, Xidian Group Hospital Affiliated Shaanxi University of Chinese Medicine, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China

Corresponding author: Xiao-Jun Ren, Associate Chief Physician, Department of Radiology, Xidian Group Hospital Affiliated Shaanxi University of Chinese Medicine, 97 Fengdeng Road, Xi'an 710077, Shaanxi Province, China. renxjun@163.com

Received: 2019-03-27

Revised: 2019-05-06

Accepted: 2019-05-24

Published online: 2019-07-28

### Abstract

The accuracy of multi-slice computed tomography (CT) in the diagnosis of acute mesenteric ischemia is very high, however, it cannot demonstrate the small embolus of blood vessels and abnormal intestinal blood flow. The intestinal blood flow in chronic mesenteric ischemia decreases whereas there are few morphology changes, which leads to a high misdiagnosis rate of CT

and CT angiography. In addition, inflammatory bowel disease, intestinal tumors, and portal hypertension can be diagnosed definitely by conventional CT, but the hemodynamics and microcirculation in these conditions cannot be assessed, which affects the accuracy of clinical staging and the assessment of therapeutic effect. For intestinal diseases, especially mesenteric ischemia, therefore, it is needed not only to make CT morphologic diagnosis but also to further assess the abnormal intestinal blood flow. In recent years, more and more CT and magnetic resonance imaging (MRI)-related new techniques for assessing blood flow have emerged, including CT perfusion, spectral CT imaging, magnetic resonance perfusion imaging, and phase contrast MRI. This paper reviews the clinical application and progress of these techniques for assessing intestinal blood flow.

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

Key Words: Bowel; Blood flow perfusion; Computed tomography; Phase contrast magnetic resonance imaging

Ren XJ. CT and MRI assessment of intestinal blood flow. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 851-856

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/851.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i14.851>

### 摘要

多层计算机体层摄影(computed tomography, CT)诊断急性肠缺血的准确性高,但不能显示血管的微小栓子及肠道血流异常,慢性肠缺血的肠道血流量降低,而形态学改变少,CT及CT血管造影误诊率高.此外,炎症性肠病、肠道肿瘤和门静脉高压等疾病,常规CT虽然可以明确诊断,但无法评估病变血流动力学和微循环血流,影响临床对疾病的准确分期、治疗和评估疗效.因此,对肠道疾病,尤其是肠缺血,不但需要CT做出形态学诊断,更需要进一步评估肠道

血流异常. 近年, CT和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)评估血流的新技术日益增多, 包括CT和MRI灌注成像, CT能谱成像及相位对比MRI, 本文就其对肠道血流的评估研究和临床应用做一论述.

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

关键词: 肠; 血流灌注; 计算机体层摄影; 相位对比磁共振成像

**核心提要:** 肠缺血、炎症性肠病、肠道肿瘤和门静脉高压等疾病, 不但需要多层计算机体层摄影(computed tomography, CT)做出形态学诊断, 更需要评估病变血流动力学和微循环血流. CT和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)灌注成像对组织的微循环评估价值高, 但受肠道壁薄和蠕动限制. CT能谱成像, 用于肠道部分肿瘤和炎症性肠病的鉴别诊断, 尚未用于肠缺血研究. 相位对比MRI对肠系膜血流显示好, 尤其4D Flow MRI扫描范围大, 可显示任意平面内的血流和血管壁参数, 可能成为评估肠道血流和门静脉高压的新的发展方向, 但设备和技术复杂, 仍需要进一步研究缩短扫描时间、提高图像质量及在门静脉系统和肠道疾病的血流动力学开展广泛深入的研究.

任小军. 肠道血流的CT和MRI评估. 世界华人消化杂志 2019; 27(14): 851-856  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/851.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.851>

## 0 引言

随着后64排多层计算机体层摄影(computed tomography, CT)的快速发展, 其在肠道疾病的诊断中发挥着越来越重要的作用. 其诊断急性肠缺血的准确性高, 但不能显示血管的微小栓子及肠道血流异常, 导致部分急性肠缺血误诊<sup>[1-3]</sup>. 慢性肠缺血的肠道血流量(blood flow, BF)降低, 而形态学改变少, CT及CT血管造影(CT angiography, CTA)误诊率达30%-78%<sup>[4-7]</sup>. 此外, 炎症性肠病、肠道肿瘤和门静脉高压等疾病, 常规CT虽然可以明确诊断, 但无法评估病变血流动力学和微循环血流, 影响临床对疾病的准确分期、治疗和评估疗效. 因此, 对肠道疾病, 尤其是肠缺血, 不但需要CT及CTA做出形态学诊断, 更需要进一步评估肠道血流异常. 评估肠道血流的传统影像学方法为多普勒超声显像和数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA). 多普勒超声无射线辐射, 对婴幼儿肠道血流评估具有优势, 但易受肥胖、肠道胀气等因素影响, 肠系膜血管分支及远段病变易漏诊, 因此, 在肠道的临床应用受限. 肠系膜DSA检查有创、复杂、费时并对非血管病变诊断价值有限, 对肠缺血的诊

断已被快速发展的多层CT和CTA取代, 目前主要用于肠系膜血运重建的血管成形治疗. 近年, CT和磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)评估血流的新技术日益增多, 包括CT和MR灌注成像, CT能谱成像及相位对比MRI(phase contrast MRI, PC MRI), 本文就其对肠道血流的评估研究和临床应用做一论述.

## 1 CT对肠道血流的评估

传统CT通过增强后肠壁强化程度粗略反映肠壁的血流多少, 与正常肠壁比较, 肠壁强化增加反映BF增多, 强化减弱反映BF减少, 不能量化血流和对血流轻度改变做出准确评估. CTA可从形态上评估供应肠系膜血流的腹腔动脉、肠系膜上动脉和肠系膜下动脉三支血管有无狭窄和闭塞, 也无法准确评估BF的改变. 可评估肠道血流的CT检查技术有CT灌注成像(CT Perfusion, CTP)和CT能谱成像.

1.1 CTP 该技术是通过重复扫描感兴趣区, 测量静脉注射的对比剂在组织的瞬时分布, 采集形态学和功能灌注信息, 获得组织的多个血流参数: BF、血容量(blood volume, BV)、平均通过时间(mean transit time, MTT)和表面通透性(permeability surface, PS). 多层CT灌注扫描速度慢、范围小、辐射剂量大, 又由于受呼吸运动、肠道蠕动和肠壁较薄难以测量等因素的影响, 小肠CTP难度大, 临床研究和应用少, 仅限于实验研究. 近年, 由于动态容积CT(dynamic volume CT, 东芝640层CT, 西门子3代双源CT)的发展, 扫描速度显著加快, 覆盖范围增大, CTP射线剂量甚至低于传统CT三期增强扫描<sup>[8-10]</sup>, 可克服小肠CTP的一些难点检测肠道微循环血流, 尤其是对肠缺血的研究前景广阔. Shi等<sup>[11]</sup>应用128层CT在动物实验中对52头猪的肠系膜上动脉结扎后做小肠CTP研究, 均取得成功, 发现再灌注小肠的BF、BV、MTT在灌注损伤后显著降低, PS在灌注损伤后进行性降低, 并且缺血再灌注肠壁的BF和BV与肠壁组织的丙二醛显著负相关, 与超氧化物显著正相关. 因此, CTP的血流参数BF、BV、MTT可反映缺血肠壁的再灌注损伤程度.

结直肠位置相对固定, 肠壁较厚, CTP更易成功, 因此, CTP对结直肠血流的临床研究较多. Khan等<sup>[12]</sup>通过4层CT的CTP研究发现, 近端结肠(升结肠和横结肠)BF高于远端(降结肠、乙状结肠和直肠), 并且23%的结肠CTP不成功. 直肠癌化疗和放疗后可根据CTP的血流改变评估疗效<sup>[13]</sup>, 直肠癌较正常直肠的BF高, MTT短, 化疗和放疗有效的直肠癌的BF显著降低, MTT延长, 并且血流信息的改变出现在肿瘤形态改变之前, 而化疗和放疗无效的直肠癌的BF和MTT改变不明显. 术前CTP评估结直肠癌病理分级和微血管生成对判断疗效和预后



具有潜在价值. 高分化肿瘤的BF和BV值显著高于中、低分化的肿瘤, 但CT灌注参数与肿瘤生物学行为相关的微血管密度(microvessel density, MVD)之间无显著相关性<sup>[14-17]</sup>, 可能因为CT灌注测量的是肿瘤微循环量化的血流, 而MVD是形态学上的微血管计数. Kim等<sup>[17]</sup>对乙状结肠及直肠癌术前CTP研究发现不同的结果, 中分化结直肠癌的BF高于分化好和分化差的肿瘤, 而MTT低于分化好和分化差肿瘤, 分化差的肿瘤MVD最大, 认为CTP在区分肿瘤分化程度的价值有限. 多种结、直肠癌CTP研究结果不完全一致, 是由于CTP技术包括多种变量: CT灌注扫描方案、对比剂注射流速、肿瘤的异质性和分析软件, 这些技术不标准化, 可能导致灌注分析结果不同.

**1.2 CT能谱成像** CT能谱成像是采用单X线管瞬时切换技术或双X线管技术, 进行高低能量两组数据采集, 可以获得物质分离图像, 敏感识别CT增强后动脉期及静脉期局部组织中的碘浓度(iodine density, IC), 并计算出标准化碘浓度(normalized iodine density, NIC), 间接反映组织内动脉和静脉的BF, 非直接显示血流参数. CT能谱成像临床多用于肺栓塞和肝硬化的血流动力学研究<sup>[18-20]</sup>, 在肠道用于部分肿瘤和炎症性肠病的鉴别诊断<sup>[21-23]</sup>, 尚未用于肠缺血研究. CT能谱成像可敏感识别部分炎症和肿瘤或不同肿瘤之间IC的差异, 即动脉或动、静脉血流的差异, 对其进行鉴别诊断. 炎症性肠病反应性增生淋巴结在动脉期的碘含量高于结直肠癌转移性淋巴结的碘含量<sup>[21]</sup>, 小肠腺瘤动、静脉双期的IC和NIC均高于原发性小肠淋巴瘤<sup>[22]</sup>, 反映了炎性淋巴结与结直肠癌转移性淋巴结之间的动脉血流, 小肠腺瘤与原发性小肠淋巴瘤之间动、静脉双期的血流存在差异. 结肠腺瘤及肿块型腺癌CT难以鉴别, CT能谱成像在动脉期40 keV和50 keV下, 腺瘤的CT值低于肿块型腺癌, 而静脉期和平衡期无此差异, 反映了腺瘤的动脉供血低于肿块型腺癌, 利用动脉期IC值差异可对两者进行鉴别诊断<sup>[23]</sup>. 定量测定动、静脉双期的IC和NIC有助于评估结直肠癌的分化程度, 中、高分化结直肠癌的IC和NIC在动、静脉双期均低于低分化结直肠癌, 其中动脉期的NIC诊断价值最大<sup>[24,25]</sup>. 新辅助治疗前后肿瘤组织的微循环血流发生改变, 在CT能谱成像中表现为肿瘤组织的IC、有效原子序数等定量参数发生改变, 因此, CT能谱成像可以评估直肠癌新辅助治疗疗效<sup>[26]</sup>.

## 2 MRI对肠道血流的评估

### 2.1 PC MRI

**2.1.1 PC MRI原理及特点:** PC MRI包括二维相位对比(2D PC)、三维相位对比(3D PC)、电影相位对比(Cine

PC)和四维相位对比(4D PC, 四维流MRI, 4D Flow MRI)技术. PC MRI技术是通过流体相位编码, 利用血液流动产生的相位变化来测量血流速度, 既能显示血管解剖结构又能提供血流方向、速度及流量等血液动力学参数. 3D PC扫描时间长, 应用少. 2D PC及Cine PC应用最广, 但2D PC不足以评估复杂的三维血流动力学. 4D PC是随时间变化的三维方向PC MRI, 可回顾性分析任一位置、任一成像平面内的血流方向、流速大小, 能获得血管壁面剪切力(wall shear stress, WSS)和振动剪切指数(oscillatory shear index, OSI)等更多的血流动力学参数<sup>[27]</sup>, 扫描范围大, 图像质量好, 不同的操作者之间变异小, 最大流速、平均流速和BV的血流量化信息与Doppler超声具有显著相关性<sup>[28,29]</sup>. 近几年随着软件和技术的发展, 门静脉系统4D flow MRI扫描时间可从10-12 min减少到3-4 min, 联合应用高效螺旋采集和动态压缩感知加速技术的4D flow MRI, 可以一次屏气(18-25 s)综合评估腹部主要血管(门静脉系统、肠系膜动脉、脾动脉及肾动脉等)的血流动力学<sup>[30,31]</sup>.

**2.1.2 PC MRI在肠道的应用:** PC MRI主要用于测量肠系膜动脉和门静脉系统血流动力学. 肝硬化门静脉高压的准确评估需要侵入性测量肝静脉压力梯度, Palaniyappan等<sup>[32]</sup>及Gouya等<sup>[33]</sup>研究发现, 肝静脉压力梯度与肝脏MRI的T1弛豫时间、脾动脉和肠系膜上动脉流速以及奇静脉BF显著相关, 因此, 应用2D PC MRI检测脾动脉和肠系膜上动脉流速、奇静脉BF可以代替肝静脉压力梯度测量评估门静脉高压. Cine PC MRI对胃十二指肠动脉血流显示率达100%<sup>[34]</sup>, 在腹腔干狭窄时, 胃十二指肠动脉血流可能停滞或逆流, 胰十二指肠切除术或肝移植术前, 应用Cine PC MRI对胃十二指肠动脉血流动力学评估非常重要, 可避免无血流动力学意义的不必要的血管重建. 应用2D PC MRI, 在静脉注射促胰液素后测量胃肠道和胰腺的血流变化<sup>[35]</sup>, 以及对心脏病患者测量肝脏和肠道血流信息<sup>[36]</sup>, 以便临床对疾病准确评估并指导治疗.

4D flow MRI测得的血流参数可重复性强, 与2D PC测得的平均流速、峰值流速和净流量一致性好<sup>[37]</sup>. 应用4D flow MRI可发现餐后正常人和肝硬化门静脉高压患者的门静脉、SMV、SMA的BF增加, 肝动脉和脾静脉血流降低, 餐后儿童和年轻成人腹部总体BF增加30%, SMA的BF可增加三倍<sup>[38,39]</sup>, 肝硬化患者餐后肠系膜静脉血流增加较正常人减少, 其血流增加机制受损, 门静脉高压患者脾静脉内餐前的向肝性血流, 餐后可能转换为离肝性血流<sup>[40]</sup>, 这对准确评估门静脉系统血流动力学和门静脉高压具有重要意义. 应用4D flow MRI检测腹腔干狭窄或闭塞引起胃十二指肠动脉瘤患者, 不但可发

现胃十二指肠动脉和肝总动脉逆向血流, 还可发现胃十二指肠动脉BF增加, WSS和OSI分布不均匀, OSI显著增高<sup>[41]</sup>, 这些改变对研究血管壁动脉粥样硬化退变和动脉瘤形成机制具有重要价值. 门静脉高压TIPS术后, 4D flow MRI可监测TIPS支架内和门静脉系统的血流, 以评估疗效和随访<sup>[42]</sup>.

**2.2 磁共振灌注成像** 用于肠道的磁共振灌注成像为T1加权动态增强扫描, 即动态增强MRI(DCE-MRI), 是利用快速成像序列, 连续、重复扫描, 获取注入对比剂前后组织多个时期的一系列连续动态增强图像, 经过计算和分析, 获得反映组织微循环功能的多个参数. 常用参数有: 容量转移常数(Ktrans)、速率常数(Kep)、血管外细胞外间隙容积分数(Ve)等, 并可获得时间信号曲线(time signal curve, TIC). Ktrans代表对比剂从血管至组织间隙的过程, 反映了组织内毛细血管通透性及血浆流量, Ktrans越高表示组织内血管通透性及血浆流量越高. Kep表示对比剂返回到血管内廓清的过程. DCE-MRI可诊断CT和MRI难以诊断的慢性肠缺血. 空腹时, 正常人和慢性肠缺血患者DCE-MRI的肠壁最大强化值及信噪比(signal to noise ratio, SNR)无显著性差异; 餐后, 慢性肠缺血的肠壁最大强化值及SNR较正常肠壁显著降低, 反映了慢性肠缺血患者的肠壁血流储备能力下降<sup>[43]</sup>. 小肠克罗恩病DCE-MRI的参数与肠壁厚度和克罗恩病MRI活动分数显著相关, 对正常肠段和病变肠段的鉴别诊断具有重要价值<sup>[44,45]</sup>, 而Wilkens等<sup>[46]</sup>以病理的炎症活动性和纤维化为标准, 发现克罗恩病DCE-MRI参数与炎症活动性和纤维化无相关性, MRI不能鉴别克罗恩病炎症活动性和纤维化, 这可能与克罗恩病炎症活动性标准、扫描序列和技术标准不一致有关. DCE-MRI能反映直肠癌的微循环血流, Ktrans值及TIC可用于评价直肠癌的恶性程度, Ktrans值越高, 肿瘤分化程度越低, Dukes分期越高<sup>[47,48]</sup>. Sudarski等<sup>[8]</sup>比较直肠癌的3T磁共振灌注成像与三代双源容积CTP发现, 两者均可区分肿瘤与正常直肠壁, 而容积CT灌注参数变异更小.

### 3 其它影像学方法对肠道血流的评估

其它评估肠道血流的影像学方法除了多普勒超声和DSA外, 还有少量应用于临床的荧光血管造影(fluorescence angiography)、吲哚青绿荧光显像(indocyanine green fluorescence imaging)和近红外光谱分析(Near-infrared spectroscopy), 这些检测方法间接反映局部组织血供情况, 而不能量化血流. 荧光血管造影可评估结直肠切除术中吻合口的血流灌注情况, 成功率达99%, 在近端切缘时根据血流灌注可能改变手术计划, 避免吻合口瘘发生<sup>[49]</sup>. 吲哚青绿荧光显像可了解嵌顿疝外科术中嵌顿肠段是

否存在血流, 避免可恢复的嵌顿肠段被手术切除<sup>[50]</sup>. 近红外光谱分析(Near-infrared spectroscopy)可非侵入性检测局部组织氧合状态, 提示低循环血流和低灌注, 早产儿坏死性小肠结肠炎腹部近红外光谱值降低、变化值增大, 有助于坏死性小肠结肠炎的早期诊断和治疗<sup>[51,52]</sup>.

## 4 结论

肠缺血、炎症性肠病、肠道肿瘤和门静脉高压等疾病, 需要评估病变血流动力学和微循环血流, CT和MRI灌注成像对组织的微循环评估价值高, 但受肠道壁薄和蠕动限制. CT能谱成像, 用于肠道部分肿瘤和炎症性肠病的鉴别诊断, 尚未用于肠缺血研究. PC MRI对肠系膜血流显示好, 尤其4D Flow MRI扫描范围大, 可显示任意平面内的血流和血管壁参数, 可能成为评估肠道血流和门静脉高压的新的发展方向, 但设备和技术复杂, 仍需要进一步研究缩短扫描时间、提高图像质量及在门静脉系统和肠道疾病的血流动力学开展广泛深入的研究.

## 5 参考文献

- Hagspiel KD, Flors L, Hanley M, Norton PT. Computed tomography angiography and magnetic resonance angiography imaging of the mesenteric vasculature. *Tech Vasc Interv Radiol* 2015; 18: 2-13 [PMID: 25814198 DOI: 10.1053/j.tvir.2014.12.002]
- van den Heijkant TC, Aerts BA, Teijink JA, Buurman WA, Luyer MD. Challenges in diagnosing mesenteric ischemia. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 1338-1341 [PMID: 23538325 DOI: 10.3748/wjg.v19.i9.1338]
- Menke J. Diagnostic accuracy of multidetector CT in acute mesenteric ischemia: systematic review and meta-analysis. *Radiology* 2010; 256: 93-101 [PMID: 20574087 DOI: 10.1148/radiol.10091938]
- Lehtimäki TT, Kärkkäinen JM, Saari P, Manninen H, Paajanen H, Vanninen R. Detecting acute mesenteric ischemia in CT of the acute abdomen is dependent on clinical suspicion: Review of 95 consecutive patients. *Eur J Radiol* 2015; 84: 2444-2453 [PMID: 26413771 DOI: 10.1016/j.ejrad.2015.09.006]
- 任小军, 任雪会, 杨如武, 赵明增, 陈松, 杨雪丽. 急性肠缺血及其原发病的影像学特征. *中华消化外科杂志* 2014; 13: 902-905
- Björnsson S, Resch T, Acosta S. Symptomatic mesenteric atherosclerotic disease-lessons learned from the diagnostic workup. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 973-980 [PMID: 23307340 DOI: 10.1007/s11605-013-2139-z]
- Kärkkäinen JM, Acosta S. Acute mesenteric ischemia (part I) - Incidence, etiologies, and how to improve early diagnosis. *Best Pract Res Clin Gastroenterol* 2017; 31: 15-25 [PMID: 28395784 DOI: 10.1016/j.bpg.2016.10.018]
- Sudarski S, Henzler T, Floss T, Gaa T, Meyer M, Haubenreisser H, Schoenberg SO, Attenberger UI. Variability and Reproducibility of 3rd-generation dual-source dynamic volume perfusion CT Parameters in Comparison to MR-perfusion Parameters in Rectal Cancer. *Sci Rep* 2018; 8: 6868 [PMID: 29720622 DOI: 10.1038/s41598-018]
- Talakić E, Schaffellner S, Kniepeiss D, Mueller H, Stauber R, Quehenberger F, Schoellnast H. CT perfusion imaging of the liver and the spleen in patients with cirrhosis: Is there a correlation between perfusion and portal venous



- hypertension? *Eur Radiol* 2017; 27: 4173-4180 [PMID: 28321540 DOI: 10.1007/s00330-017-4788-x]
- 10 Gawlitza J, Haubenreisser H, Meyer M, Hagelstein C, Sudarski S, Schoenberg SO, Henzler T. Comparison of organ-specific-radiation dose levels between 70 kVp perfusion CT and standard tri-phasic liver CT in patients with hepatocellular carcinoma using a Monte-Carlo-Simulation-based analysis platform. *Eur J Radiol Open* 2016; 3: 95-99 [PMID: 27200404 DOI: 10.1016/j.ejro.2016.04.003]
  - 11 Shi H, Li R, Qiang J, Li Y, Wang L, Sun R. Computed Tomography Perfusion Imaging Detection of Microcirculatory Dysfunction in Small Intestinal Ischemia-Reperfusion Injury in a Porcine Model. *PLoS One* 2016; 11: e0160102 [PMID: 27458696 DOI: 10.1371/journal.pone.0160102]
  - 12 Khan S, Goh V, Tam E, Wellsted D, Halligan S. Perfusion CT assessment of the colon and rectum: feasibility of quantification of bowel wall perfusion and vascularization. *Eur J Radiol* 2012; 81: 821-824 [PMID: 21392915 DOI: 10.1016/j.ejrad.2011.02.033]
  - 13 Sahani DV, Kalva SP, Hamberg LM, Hahn PF, Willett CG, Saini S, Mueller PR, Lee TY. Assessing tumor perfusion and treatment response in rectal cancer with multisection CT: initial observations. *Radiology* 2005; 234: 785-792 [PMID: 15734934 DOI: 10.1148/radiol.2343040286]
  - 14 Sun H, Xu Y, Yang Q, Wang W. Assessment of tumor grade and angiogenesis in colorectal cancer: whole-volume perfusion CT. *Acad Radiol* 2014; 21: 750-757 [PMID: 24809317 DOI: 10.1016/j.acra.2014.02.011]
  - 15 Goh V, Halligan S, Daley F, Wellsted DM, Guenther T, Bartram CI. Colorectal tumor vascularity: quantitative assessment with multidetector CT--do tumor perfusion measurements reflect angiogenesis? *Radiology* 2008; 249: 510-517 [PMID: 18812560 DOI: 10.1148/radiol.2492071365]
  - 16 Dighe S, Blake H, Jeyadevan N, Castellano I, Koh DM, Orton M, Chandler I, Swift I, Brown G. Perfusion CT vascular parameters do not correlate with immunohistochemically derived microvessel density count in colorectal tumors. *Radiology* 2013; 268: 400-410 [PMID: 23592771 DOI: 10.1148/radiol.13112460]
  - 17 Kim JW, Jeong YY, Chang NK, Heo SH, Shin SS, Lee JH, Hur YH, Kang HK. Perfusion CT in colorectal cancer: comparison of perfusion parameters with tumor grade and microvessel density. *Korean J Radiol* 2012; 13 Suppl 1: S89-S97 [PMID: 22563293 DOI: 10.3348/kjr.2012.13.S1.S89]
  - 18 凌俊, 顾翔, 李洪梅, 孙俊, 姜伦, 王军. 宝石CT能谱成像技术在肺栓塞诊断中的价值. *临床放射学杂志* 2013; 32: 1110-1114
  - 19 石桥, 谢婷婷, 袁知东, 林兰英, 唐润辉, 成官迅. 双能量CT碘定量参数评估肝硬化患者肝脏血流灌注分布及肝功能的临床价值. *放射学实践* 2017; 32: 734-738 [DOI: 10.13609/J.cnki.1000-0313.2017.07.016]
  - 20 谢婷婷, 石桥, 张嘉瑜, 王成林, 成官迅. 采用双能量CT碘定量法研究肝硬化患者脾脏血流动力学变化. *中国CT和MRI* 2017; 9: 78-80
  - 21 张帆, 张隐笛, 郑冬, 雷静, 王元玲, 杨亚英. 双源CT鉴别诊断炎症性肠病反应性增生淋巴结与结直肠癌转移性淋巴结. *中国医学影像学杂志* 2017; 25: 662-665 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2017.09.007]
  - 22 杨创勃, 李新胜, 任成龙, 段海峰, 于勇, 张喜荣, 王海屹. 能谱CT在鉴别小肠腺癌和原发性小肠淋巴瘤中的临床价值. *中国医学影像学杂志* 2016; 24: 834-838 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-5185.2016.11.008]
  - 23 刘晓冬, 刘爱连, 孙美玉, 刘静红, 刘文军, 陈安良, 李焯, 田士峰, 浦仁旺. CT能谱成像对大肠腺瘤及肿块型腺癌的鉴别诊断价值. *中华放射学杂志* 2017; 51: 279-283 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2017.04.009]
  - 24 Gong HX, Zhang KB, Wu LM, Baigorri BF, Yin Y, Geng XC, Xu JR, Zhu J. Dual Energy Spectral CT Imaging for Colorectal Cancer Grading: A Preliminary Study. *PLoS One* 2016; 11: e0147756 [PMID: 26859405 DOI: 10.1371/journal.pone.0147756]
  - 25 Chuang-Bo Y, Tai-Ping H, Hai-Feng D, Yong-Jun J, Xi-Rong Z, Guang-Ming M, Chenglong R, Jun W, Yong Y. Quantitative assessment of the degree of differentiation in colon cancer with dual-energy spectral CT. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42: 2591-2596 [PMID: 28500383 DOI: 10.1007/s00261-017-1176-6]
  - 26 Al-Najami I, Drue HC, Steele R, Bastrup G. Dual energy CT - a possible new method to assess regression of rectal cancers after neoadjuvant treatment. *J Surg Oncol* 2017; 116: 984-988 [PMID: 28703886 DOI: 10.1002/jso.24761]
  - 27 胥巧丽, 张健康, 刘亚, 郑罡. 相位对比磁共振成像技术的原理及应用. *生物医学工程研究* 2017; 36: 387-391 [DOI: 10.19529/j.cnki.1672-6278.2017.04.23]
  - 28 Stankovic Z, Csatar Z, Deibert P, Euringer W, Jung B, Kreisel W, Geiger J, Russe MF, Langer M, Markl M. A feasibility study to evaluate splanchnic arterial and venous hemodynamics by flow-sensitive 4D MRI compared with Doppler ultrasound in patients with cirrhosis and controls. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2013; 25: 669-675 [PMID: 23411868 DOI: 10.1097/MEG.0b013e32835e1297]
  - 29 Stankovic Z, Csatar Z, Deibert P, Euringer W, Blanke P, Kreisel W, Abdullah Zadeh Z, Kallfass F, Langer M, Markl M. Normal and altered three-dimensional portal venous hemodynamics in patients with liver cirrhosis. *Radiology* 2012; 262: 862-873 [PMID: 22357888 DOI: 10.1148/radiol.11110127]
  - 30 Landgraf BR, Johnson KM, Roldán-Alzate A, Francois CJ, Wieben O, Reeder SB. Effect of temporal resolution on 4D flow MRI in the portal circulation. *J Magn Reson Imaging* 2014; 39: 819-826 [PMID: 24395121 DOI: 10.1002/jmri.24233]
  - 31 Dyvorne H, Knight-Greenfield A, Jajamovich G, Besa C, Cui Y, Stalder A, Markl M, Taouli B. Abdominal 4D flow MR imaging in a breath hold: combination of spiral sampling and dynamic compressed sensing for highly accelerated acquisition. *Radiology* 2015; 275: 245-254 [PMID: 25325326 DOI: 10.1148/radiol.14140973]
  - 32 Palaniyappan N, Cox E, Bradley C, Scott R, Austin A, O'Neill R, Ramjas G, Travis S, White H, Singh R, Thurley P, Guha IN, Francis S, Aithal GP. Non-invasive assessment of portal hypertension using quantitative magnetic resonance imaging. *J Hepatol* 2016; 65: 1131-1139 [PMID: 27475617 DOI: 10.1016/j.jhep.2016.07.021]
  - 33 Gouya H, Grabar S, Vignaux O, Saade A, Pol S, Legmann P, Sogni P. Portal hypertension in patients with cirrhosis: indirect assessment of hepatic venous pressure gradient by measuring azygos flow with 2D-cine phase-contrast magnetic resonance imaging. *Eur Radiol* 2016; 26: 1981-1990 [PMID: 26373753 DOI: 10.1007/s00330-015-3991-x]
  - 34 Haquin A, Sigovan M, Si-Mohamed S, Mabrut JY, Manichon AF, Bakir M, Rode A, Bousset L. Phase-contrast MRI evaluation of haemodynamic changes induces by a coeliac axis stenosis in the gastroduodenal artery. *Br J Radiol* 2017; 90: 20160802 [PMID: 28124567 DOI: 10.1259/bjr.20160802]
  - 35 Cox EF, Smith JK, Chowdhury AH, Lobo DN, Francis ST, Simpson J. Temporal assessment of pancreatic blood flow and perfusion following secretin stimulation using noninvasive MRI. *J Magn Reson Imaging* 2015; 42: 1233-1240 [PMID: 25787269 DOI: 10.1002/jmri.24889]
  - 36 Yoo SJ, Prsa M, Schantz D, Grosse-Wortmann L, Seed M, Kim TK, Wald R, Chaturvedi R. MR assessment of abdominal circulation in Fontan physiology. *Int J Cardiovasc Imaging* 2014; 30: 1065-1072 [PMID: 24752955 DOI: 10.1007/s10554-014-0424-x]
  - 37 Stankovic Z, Frydrychowicz A, Csatar Z, Panther E, Deibert P, Euringer W, Kreisel W, Russe M, Bauer S, Langer M, Markl M. MR-based visualization and quantification of three-dimensional flow characteristics in the portal venous system.



- J Magn Reson Imaging* 2010; 32: 466-475 [PMID: 20677279 DOI: 10.1002/jmri.22248]
- 38 Muthusami P, Yoo SJ, Chaturvedi R, Gill N, Windram J, Schantz D, Prsa M, Caro-Dominguez P, Seed M, Grosse-Wortmann L, Ling SC, Chavhan GB. Splanchnic, Thoracoabdominal, and Cerebral Blood Flow Volumes in Healthy Children and Young Adults in Fasting and Postprandial States: Determining Reference Ranges by Using Phase-Contrast MR Imaging. *Radiology* 2017; 285: 231-241 [PMID: 28530848 DOI: 10.1148/radiol.2017162114]
  - 39 Parekh K, Markl M, Rose M, Schnell S, Popescu A, Rigsby CK. 4D flow MR imaging of the portal venous system: a feasibility study in children. *Eur Radiol* 2017; 27: 832-840 [PMID: 27193778 DOI: 10.1007/s00330-016-4396-1]
  - 40 Roldán-Alzate A, Frydrychowicz A, Said A, Johnson KM, Francois CJ, Wieben O, Reeder SB. Impaired regulation of portal venous flow in response to a meal challenge as quantified by 4D flow MRI. *J Magn Reson Imaging* 2015; 42: 1009-1017 [PMID: 25772828 DOI: 10.1002/jmri.24886]
  - 41 Perdue Z, Bale JF Jr, Dunn VD, Bell WE. Magnetic resonance imaging in childhood disseminated encephalomyelitis. *Pediatr Neurol* 1985; 1: 370-374 [PMID: 3880423 DOI: 10.1016/j.ejvs.2013.06.011]
  - 42 Bannas P, Roldán-Alzate A, Johnson KM, Woods MA, Ozkan O, Motosugi U, Wieben O, Reeder SB, Kramer H. Longitudinal Monitoring of Hepatic Blood Flow before and after TIPS by Using 4D-Flow MR Imaging. *Radiology* 2016; 281: 574-582 [PMID: 27171019 DOI: 10.1148/radiol.2016152247]
  - 43 Lauenstein TC, Ajaj W, Narin B, Göhde SC, Kröger K, Debatin JF, Rühm SG. MR imaging of apparent small-bowel perfusion for diagnosing mesenteric ischemia: feasibility study. *Radiology* 2005; 234: 569-575 [PMID: 15601890 DOI: 10.1148/radiol.2342031002]
  - 44 Hectors SJ, Gordic S, Semaan S, Bane O, Hirten R, Jia X, Colombel JF, Taouli B. Diffusion and perfusion MRI quantification in ileal Crohn's disease. *Eur Radiol* 2019; 29: 993-1002 [PMID: 30019143 DOI: 10.1007/s00330-018-5627-4]
  - 45 Oto A, Kayhan A, Williams JT, Fan X, Yun L, Arkani S, Rubin DT. Active Crohn's disease in the small bowel: evaluation by diffusion weighted imaging and quantitative dynamic contrast enhanced MR imaging. *J Magn Reson Imaging* 2011; 33: 615-624 [PMID: 21563245 DOI: 10.1002/jmri.22435]
  - 46 Wilkens R, Hagemann-Madsen RH, Peters DA, Nielsen AH, Nørager CB, Glerup H, Krogh K. Validity of Contrast-enhanced Ultrasonography and Dynamic Contrast-enhanced MR Enterography in the Assessment of Transmural Activity and Fibrosis in Crohn's Disease. *J Crohns Colitis* 2018; 12: 48-56 [PMID: 28981627 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjx111]
  - 47 谢宗源, 徐香玖, 黄刚, 周星, 马小梅, 王治民, 铁萍, 张庆. 直肠癌DCE-MRI参数与病理特征的相关性研究. *磁共振成像* 2015; 34: 289-293
  - 48 沈雯怡, 徐香玖, 黄刚, 陈露芳, 常飞霞, 马小梅. 不同分化程度直肠癌磁共振成像ADC值与DCE-MRI定量参数的相关性. *磁共振成像* 2017; 56: 120-124
  - 49 Jafari MD, Wexner SD, Martz JE, McLemore EC, Margolin DA, Sherwinter DA, Lee SW, Senagore AJ, Phelan MJ, Stamos MJ. Perfusion assessment in laparoscopic left-sided/anterior resection (PILLAR II): a multi-institutional study. *J Am Coll Surg* 2015; 220: 82-92.e1 [PMID: 25451666 DOI: 10.1016/j.jamcollsurg.2014.09.015]
  - 50 Ryu S, Yoshida M, Ohdaira H, Tsutsui N, Suzuki N, Ito E, Nakajima K, Yanagisawa S, Kitajima M, Suzuki Y. Intestinal blood flow assessment by indocyanine green fluorescence imaging in a patient with the incarcerated umbilical hernia: Report of a case. *Ann Med Surg (Lond)* 2016; 8: 40-42 [PMID: 27257484 DOI: 10.1016/j.amsu.2016.04.020]
  - 51 Patel AK, Lazar DA, Burrin DG, Smith EO, Magliaro TJ, Stark AR, Brandt ML, Zamora IJ, Sheikh F, Akinkuotu AC, Olutoye OO. Abdominal near-infrared spectroscopy measurements are lower in preterm infants at risk for necrotizing enterocolitis. *Pediatr Crit Care Med* 2014; 15: 735-741 [PMID: 25068253 DOI: 10.1097/PCC.0000000000000211]
  - 52 Beck J, Loron G, Masson C, Poli-Merol ML, Guyot E, Guillot C, Bednarek N, François C. Monitoring Cerebral and Renal Oxygenation Status during Neonatal Digestive Surgeries Using Near Infrared Spectroscopy. *Front Pediatr* 2017; 5: 140 [PMID: 28660179 DOI: 10.3389/fped.2017.00140]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

**本刊讯** 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 下调MiR-221对胃癌顺铂耐药细胞增殖及顺铂敏感性的影响及其相关机制

徐丽娜, 金莉娜

徐丽娜, 金莉娜, 台州恩泽医疗中心(集团)台州医院药剂科 浙江省台州市 317000

徐丽娜, 主管药师, 主要从事临床药理学和基础药理方面的研究。

**作者贡献分布:** 此课题由徐丽娜与金莉娜设计; 研究过程由上述两人共同完成; 实验的具体操作由徐丽娜完成; 数据分析由金莉娜完成; 本论文写作由徐丽娜与金莉娜两人共同完成。

**通讯作者:** 徐丽娜, 主管药师, 317000, 浙江省台州市临海回浦路92号, 台州恩泽医疗中心(集团)台州医院药剂科. xulina362@163.com  
电话: 0576-85131150

收稿日期: 2019-04-16

修回日期: 2019-06-11

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-07-28

## Effect of down-regulation of miR-221 on cell proliferation and cisplatin sensitivity in cisplatin-resistant gastric cancer cells and underlying mechanism

Li-Na Xu, Li-Na Jin

Li-Na Xu, Li-Na Jin, Department of Pharmacy, Taizhou Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), Taizhou 317000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Li-Na Xu, Pharmacist-in-Charge, Department of Pharmacy, Taizhou Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), 92 Linhai Huipu Road, Luqiao District, Taizhou 317000, Zhejiang Province, China. xulina362@163.com

Received: 2019-04-16

Revised: 2019-06-11

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-07-28

## Abstract BACKGROUND

Patients with advanced gastric cancer (GC) usually undergo chemotherapy as the primary treatment. However, the effectiveness of chemotherapy is often limited by the development of drug resistance in GC cells. This study aimed to investigate the expression pattern, biological role, and potential mechanism of microRNA-221 (miR-221) in cisplatin (DDP)-resistant GC cells, in order to provide a reference for clinical treatment of this malignancy.

## AIM

To investigate the effect of down-regulation of miR-221 on cell proliferation and DDP sensitivity in DDP-resistant GC cells and to explore the underlying mechanism.

## METHODS

AGS and MGC-803 cells were screened for DDP-resistant cells (AGS/DDP and MGC-803/DDP). The expression levels of miR-221 in GC tissues, matched tumor adjacent tissues, DDP-sensitive tissues, DDP-resistant tissues, GC cells, and DDP-resistant GC cells were detected by RT-PCR. After AGS/DDP and MGC-803/DDP cells were transfected with LV-miR-221-shRNA, cell proliferation and DDP sensitivity in those cells were measured by MTT assay, cell apoptosis was detected by Annexin V-FITC/PI staining, and the mRNA and protein expression of CCND1 was detected by RT-qPCR and Western blot, respectively. The potential target genes of miR-221 were predicted by bioinformatics analysis.

## RESULTS

The expression of miR-221 was up-regulated in GC tissues and gastric cells, especially in DDP-resistant tissues and DDP-resistant GC cells. Down-regulation of miR-221 inhibited the proliferation of AGS/DDP and MGC-803/DDP cells, but increased their apoptosis and chemosensitivity to DDP. CCND1 was found to be a

direct target gene of miR-221. Transfection with LV-miR-221-shRNA inhibited the mRNA and protein expression of CCND1.

## CONCLUSION

Down-regulation of miR-221 can inhibit cell proliferation and promote chemosensitivity to DDP in DDP-resistant GC cells, which may be achieved by inhibiting the expression of its target gene CCND1.

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

Key Words: Gastric cancer; Proliferation; Cisplatin; Chemosensitivity

Xu LN, Jin LN. Effect of down-regulation of miR-221 on cell proliferation and cisplatin sensitivity in cisplatin-resistant gastric cancer cells and underlying mechanism. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 857-863  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/857.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.857>

## 摘要

### 背景

晚期胃癌(gastric cancer, GC)患者通常接受化疗作为主要治疗方法。然而, 化疗的有效性受到GC细胞耐药性的限制。本研究旨在探讨microRNA-221(miR-221)在顺铂(cisplatin, DDP)耐药GC细胞中的生物学作用和潜在机制, 以期为临床治疗提供参考。

### 目的

研究下调MiR-221对GC DDP耐药细胞增殖及DDP敏感性的影响及相关机制。

### 方法

采用AGS和MGC-803细胞构建出DDP耐药AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞。RT-qPCR检测GC及癌旁组织、DDP化疗敏感组织、DDP化疗耐药组织、GC细胞和GC DDP耐药细胞的miR-221表达水平; 用LV-miR-221-shRNA慢病毒转染AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞后, MTT检测细胞增殖以及对DDP的化学敏感性; Annexin V-FITC/PI染色检测细胞凋亡; 进行生物信息学分析以寻找miR-221的潜在靶基因, 应用RT-qPCR和Western blotting检测细胞中CCND1的mRNA和蛋白表达。

### 结果

在GC组织和GC细胞系中miR-221明显上调, 且DDP耐药组织和DDP耐药细胞中miR-221表达更高。下调miR-221抑制了AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞增殖, 促进了细胞凋亡和细胞对DDP的化学敏感性; CCND1是miR-221的直接靶基因, 转染LV-miR-221-shRNA抑制CCND1 mRNA和蛋白表达水平。

## 结论

下调miR-221可以抑制GC DDP耐药细胞增殖, 促进其对DDP的化学敏感性, 这一作用可能通过抑制靶基因CCND1表达来实现的。

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

关键词: 胃癌; 增殖; 顺铂; 化疗敏感性

**核心提要:** microRNA-221(miR-221)在胃癌(gastric cancer, GC)耐药组织和GC顺铂(cisplatin, DDP)耐药细胞中显著高表达。下调miR-221表达抑制GC耐药细胞增殖并促进其对DDP的化学敏感性。本研究发现, CCND1为GC中miR-221的直接靶基因, 下调miR-221通过抑制CCND1发挥逆转GC DDP耐药的作用, 为抗GC DDP化疗耐药的研究提供了参考。

徐丽娜, 金莉娜. 下调MiR-221对胃癌顺铂耐药细胞增殖及顺铂敏感性的影响及其相关机制. *世界华人消化杂志* 2019; 27(14): 857-863  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/857.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.857>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是世界上发病率第四高、死亡率第三高的常见癌症, 每年导致大量人死亡(占总数的9.5%)<sup>[1]</sup>。由于缺乏有效的早期诊断技术, 大多数GC患者被诊断出已是晚期<sup>[2]</sup>。化疗是晚期GC最常见的主要治疗方法。然而, 成功化疗的主要障碍是多药耐药(multi-drug resistance, MDR), 这是由于接触单一化疗药物后对多种化疗药物的耐药性的发展<sup>[3]</sup>。越来越多的证据表明, 细胞介导的MDR引起许多变化, 包括药物摄取和代谢、DNA合成和修复、细胞存活和凋亡, 以及其他细胞功能<sup>[4,5]</sup>。尽管目前学者对MDR发展的机制进行了广泛的研究, 但仍需要形成克服MDR的有效策略。

关于microRNA(miRNA)的研究有助于提高我们对化疗耐药性的理解。miRNA是一大类短的非编码单链RNA分子, 可以发挥重要的调节作用。异常的miRNA表达已在包括GC在内的几乎所有类型的人类恶性肿瘤中广泛报道<sup>[6-8]</sup>。因此, 靶向miRNA可能是治疗GC化学耐药性的新治疗策略。在本研究中, 我们研究了microRNA-221(miR-221)在顺铂(cisplatin, DDP)耐药性中的作用, 以期对GC细胞化疗敏感性提供参考。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 GC及癌旁组织收集: 收集台州医院2016/2018年经胃镜活检的20对GC及癌旁组织, 20例化疗敏感组织与



20例化疗耐药组织. 患者本人签署知情同意书, 且本研究通过台州恩泽医疗中心(集团)台州医院伦理委员会同意. 其中获取GC及癌旁组织的患者, 均首次发现, 未进行过抗癌等治疗; 获取的化疗敏感组织与化疗耐药组织患者, 均为患者进行DDP治疗方案的患者, 其中组织经病理科检验为化疗敏感组织与化疗耐药组织.

1.1.2 细胞培养和耐药株的筛选: (1)细胞获得与培养: GC细胞系, 包括AGS和MGC-803, 获自中国科学院生物化学与细胞生物学研究所(上海, 中国). 人胃上皮细胞系GES-1购自美国ATCC. 所有这些细胞系均在补充有10%胎牛血清(FBS), 100 U/mL青霉素和100 mg/mL链霉素的DMEM培养基中生长(Gibco, 美国). 所有细胞系在含有5%CO<sub>2</sub>的细胞培养箱中于37 °C培养. (2)筛选DDP耐药株: 采用反复刺激并逐渐增加DDP(Sigma, 美国)浓度刺激细胞的方法, 细胞贴壁后长至80%, DDP浓度为0.1 μg/mL DDP刺激48 h, 将细胞传代, 待细胞贴壁长至80%, 再用0.2 μg/mL DDP刺激48 h, 依次类推至DDP浓度达到1 μg/mL环境中稳定生长. 收集细胞用于后续实验.

## 1.2 方法

1.2.1 细胞转染: 上海吉玛公司设计合成的miR-221的shRNA序列(miR-221-shRNA: 5'-GGCATGAACCTGGC ATACAAT-3')和乱码的对照序列(NC-shRNA: 5'-TTCTC CGAACGTGTCACGT-3'), 并克隆至慢病毒载体上. 然后将事先筛选的AGS/DDP和MGC-803/DDP耐药株培养传代生长至约50%-60%融合后, 分别转染30 MOI的LV-miR-221-shRNA或LV-NC-shRNA, 并继续培养细胞48 h.

1.2.2 RT-qPCR实验: 根据制造商的说明, 使用TRIzol<sup>®</sup> Plus RNA纯化试剂盒(Invitrogen, 美国)从组织样本或细胞中分离总RNA. 为了检测miR-221表达, 使用TaqMan MicroRNA逆转录试剂盒(Applied Biosystems, 美国)进行逆转录以合成互补DNA(cDNA). 为了分析miR-221和CCND1 mRNA表达, 分别使用PrimeScript RT试剂盒(Takara Bio, 日本)和SYBR Premix Ex Taq<sup>™</sup>试剂盒(Takara Bio, 日本)进行RT-qPCR. U6和GAPDH分别用作miR-221和CCND1 mRNA的内源对照. 数据通过 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算.

1.2.3 MTT法测定细胞增殖: 收集转染的细胞, 并以每孔 $3 \times 10^3$ 个细胞的密度接种到96孔板中. 细胞培养24、48或72 h后, 根据制造商的说明书进行MTT测定, 将20 μL MTT溶液(5 mg/mL, Sigma, 美国)加入每个样品孔中, 温育4 h后, 将培养基替换为150 μL的DMSO并涡旋10 min. 然后, 使用自动多孔分光光度计(Bio-Rad Laboratories, 美国)在490 nm的波长下检测吸光度. 每个实验一式三孔进行, 并重复三次.

1.2.4 MTT法测定体外化学敏感性: 收集转染的细胞,

将细胞以每孔 $3 \times 10^3$ 个细胞的密度接种到96孔板中. 细胞贴壁后, 用0、20、40、60和80 μmol/L的DDP(Sigma, 美国)处理细胞. 在DDP施用48 h后, 使用MTT法测定进行体外化学敏感性, 并绘制剂量-反应曲线. 每个实验一式三孔进行, 并重复三次.

1.2.5 流式细胞术分析: 流式细胞术分析用于评估细胞凋亡. 将细胞以每孔 $8 \times 10^5$ 个细胞的密度接种在6孔板中. 转染48 h后, 用浓度为60 μmol/L的DDP处理细胞. 在37 °C, 含5%CO<sub>2</sub>中培养48 h后, 胰蛋白酶消化收集细胞并用PBS洗涤. 根据制造商的说明书, 用Annexin V-FITC细胞凋亡检测试剂盒(Invitrogen, 美国)测定细胞凋亡. 然后, 将细胞重悬于300 μL的结合缓冲液中, 然后在室温下在黑暗中用5 μL Annexin V和5 μL PI染色15 min. 使用流式细胞仪(Beckman Coulter, 美国)定量检测细胞凋亡. 每个测试进行重复三次.

1.2.6 双荧光素酶报告分析: 将含有miR-221的预测结合序列的野生型(WT) CCND1 3'-UTR和缺少miR-221结合序列的突变型(MUT)CCND1 3'-UTR的载体质粒使用Lipofectamine<sup>™</sup>2000辅助转染至细胞, 然后分别转染LV-miR-221-shRNA或LV-NC-shRNA. 在转染48 h后, 使用双荧光素酶报告分析系统(Promega Corporation, 美国)检测荧光素酶活性. Renilla荧光素酶活性用作内部参考.

1.2.7 Western Blotting分析: 使用裂解缓冲液(碧云天生物公司, 江苏)从细胞中提取总蛋白. 使用蛋白质测定试剂盒(碧云天生物公司, 江苏)检测总蛋白质的浓度后, 通过10%SDS-PAGE分离相同量的蛋白质, 并转移到PVDF膜(Millipore, 美国)上. 用含有吐温20的Tris缓冲液(TBST)中的5% 脱脂乳封闭1 h后, 将膜在4 °C下与抗CCND1的一抗(1:1000稀释; Santa Cruz, 美国)和β-actin(1:5000稀释; 碧云天生物公司, 江苏)孵育过夜. 用TBST洗涤三次后, 将膜与山羊抗小鼠辣根过氧化物酶偶联的二抗(1:5000稀释; 碧云天生物公司, 江苏)在室温下孵育2 h. 使用ECL化学发光法(Pierce Biotechnology, 美国)使蛋白质条带可视化. QuantityOne<sup>®</sup> 4.62软件(Bio-Rad, 美国)用于分析谱带强度.

**统计学处理** 计量资料的数值采用mean±SD的形式表示, 采用SPSS 20.0进行统计分析. 两组比较采用两独立样本t检验; 多组组间比较采用单因素方差分析后LSD检验; 当P<0.05时认为差异具有统计学意义.

## 2 结果

2.1 GC组织和细胞中miR-221表达 与癌旁组织相比, miR-221在GC组织中高表达(图1A, P<0.01). 与DDPGC化疗敏感组织相比, miR-221在DDPGC化疗耐药组织高表达(图1B, P<0.01). 与GES-1细胞相比, GC细胞(AGS

和MGC-803)中miR-221高表达, 而耐药株(AGS/DDP和MGC-803/DDP)中miR-221表达更高(图1C和D)。

**2.2 miR-221下调抑制GC耐药细胞增殖** 采用LV-miR-221-shRNA或LV-NC-shRNA慢病毒转染AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞, 使用RT-qPCR评估转染效率。结果显示, 与LV-NC-shRNA转染组相比, LV-miR-221-shRNA转染的AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞中miR-221的表达显著下调( $P<0.01$ )(图2A和2B)。随后, 采用MTT检测转染24、48、72 h后细胞增殖的情况。如图2C和2D所示, 与LV-NC-shRNA转染组相比, miR-221下调在转染24、48、72 h后均显著降低了AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞的增殖( $P<0.05$ ,  $P<0.05$ ,  $P<0.01$ )。

**2.3 miR-221的下调增加GCDDP耐药细胞对DDP的敏感性** 转染LV-miR-221-shRNA后, 采用MTT检测GCDDP耐药细胞对DDP的化学敏感性的变化。结果显示, 转染LV-miR-221-shRNA的AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞对DDP表现出增加敏感性( $P<0.01$ )(图3A和B)。为探索下调miR-221对GC细胞化疗敏感性影响的机制, 本研究进行了流式细胞术检测DDP诱导的GCDDP耐药细胞凋亡的情况。如图3C和3D所示, miR-221的下调增加了DDP诱导的AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞凋亡( $P<0.01$ )。

**2.4 CCND1是GC细胞中miR-221的直接靶基因** 采用生物信息学分析以寻找miR-221的潜在靶标并探索可能导致miR-221在GC细胞中起作用的机制。结果发现CCND1(图4A)可能是miR-221的潜在靶标。为进一步确认, 应用RT-qPCR和Western印迹分析检测转染miR-221模拟物或miR-NC的AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞中CCND1的mRNA和蛋白表达。结果显示, 转染LV-miR-221-shRNA降低了AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞中CCND1的mRNA水平( $P<0.01$ ) (图4B)和蛋白水平( $P<0.01$ )(图4C)。

### 3 讨论

大量研究表明, miRNA参与多种类型人类癌症对化疗的敏感性或耐药性<sup>[9,10]</sup>。因此, 全面了解化疗耐药相关miRNA在GC中的表达模式和生物学作用可能有助于开发新的治疗策略以提高GC的疗效。

在分子生物学中, miR-221是一种致癌microRNA<sup>[11]</sup>。它可以通过靶向CD117, 促进细胞迁移和增殖<sup>[12]</sup>。在肝癌中, miR-221诱导肿瘤血管生成<sup>[13]</sup>。然而, miR-221在GC中的表达模式、生物学功能和生物学机制仍不清楚。在这项研究中, 我们证实miR-221表达在GC组织和GC细胞中显著上调, 尤其是耐药组织和DDP耐药GC细胞。进一步研究发现, 下调miR-221能抑制AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞的增殖并增加它们对DDP的化学

敏感性。而miRNA通过以碱基配对方式与其靶基因的3'-非翻译区(3'-UTR)直接相互作用参与基因调控, 从而导致mRNA的重新调节或抑制翻译<sup>[14]</sup>。因此, 我们通过生物信息学对miR-221靶基因进行了预测, 发现CCND1为GC细胞中miR-221的直接靶标。位于染色体11q13的CCND1是在甲状腺癌<sup>[15]</sup>、乳腺癌<sup>[16]</sup>和肺癌<sup>[17]</sup>等多种肿瘤细胞中过表达的癌基因。在GC中, CCND1表达并与GC分化强弱相关<sup>[18]</sup>。且以往的研究表明CCND1在多种肿瘤中发挥抑癌及增加化疗敏感性的作用<sup>[19,20]</sup>。本研究发现下调miR-221靶向抑制CCND1表达在GC细胞生长和化学抗性中发挥肿瘤抑制作用, 这意味着miR-221可能被作为一种治疗靶点进行研究, 以快速阻断这种恶性肿瘤患者的肿瘤生长和化疗耐药。

总之, miR-221在GC DDP耐药组织和GC DDP耐药细胞中显著高表达。下调miR-221表达抑制GC耐药细胞增殖并促进其对DDP的化学敏感性。并且本研究发现, CCND1为GC中miR-221的直接靶基因, 下调miR-221可能通过抑制CCND1发挥逆转GC DDP耐药的作用。本研究为抗GC DDP化疗耐药的研究提供了参考。

### 文章亮点

#### 实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是常见的消化系统恶性肿瘤。化疗作为主要治疗方法, 但其有效性往往受到GC细胞耐药性发展的限制。

#### 实验动机

本研究旨在探讨microRNA-221(miR-221)在GC中的表达模式, 生物学作用和潜在机制, 以期为临床治疗提供参考。

#### 实验目标

研究的目的是探索下调MiR-221对GC顺铂(cisplatin, DDP)耐药细胞增殖及DDP敏感性的影响, 并探索其中的相关机制。

#### 实验方法

采用AGS和MGC-803细胞构建出DDP耐药AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞。使用RT-qPCR、慢病毒转染、MTT、Annexin V-FITC/PI染色等方法, 检测了GC及癌旁组织、化疗敏感组织、化疗耐药组织、GC细胞和GC DDP耐药细胞的miR-221表达水平; 检测细胞增殖以及对DDP的化学敏感性; 检测细胞凋亡并生物信息学分析以寻找miR-221的潜在靶基因。

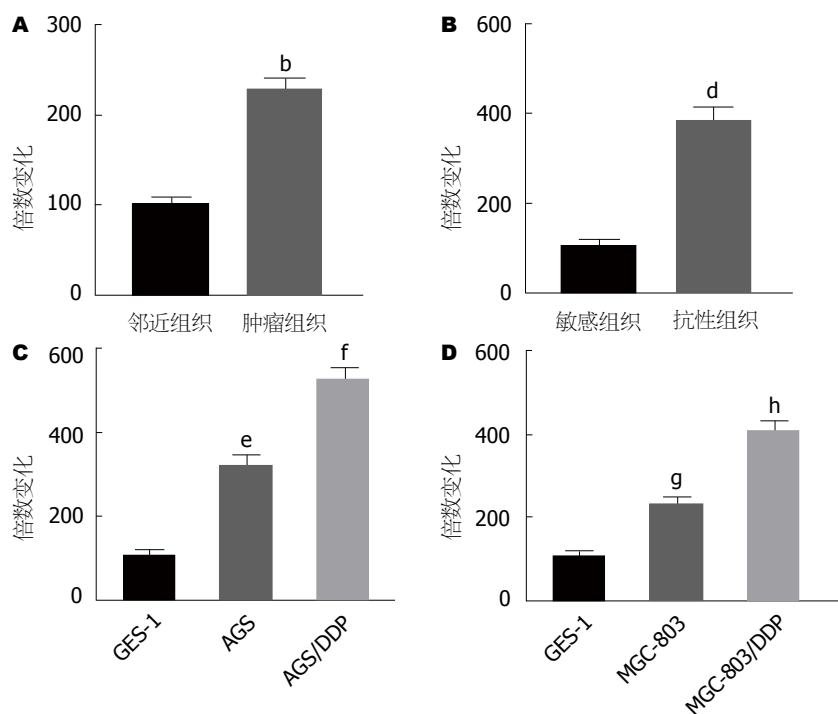


图1 RT-qPCR检测胃癌组织和细胞系中miR-221表达。A: 胃癌组织和匹配的癌旁组织中miR-221表达。n = 20,  $^bP < 0.01$ , 与正常组织比较; B: 敏感组织和耐药组织中miR-221表达。n = 20,  $^dP < 0.01$ , 与敏感组织组比较; C: 胃癌AGS细胞系及其AGS/DDP耐药细胞中miR-221表达。n = 3,  $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ , 与GES-1细胞比较; D: 胃癌MGC-803细胞系及其耐药MGC-803/DDP细胞中miR-221表达。n = 3,  $^gP < 0.05$ ,  $^hP < 0.01$ , 与GES-1细胞比较。

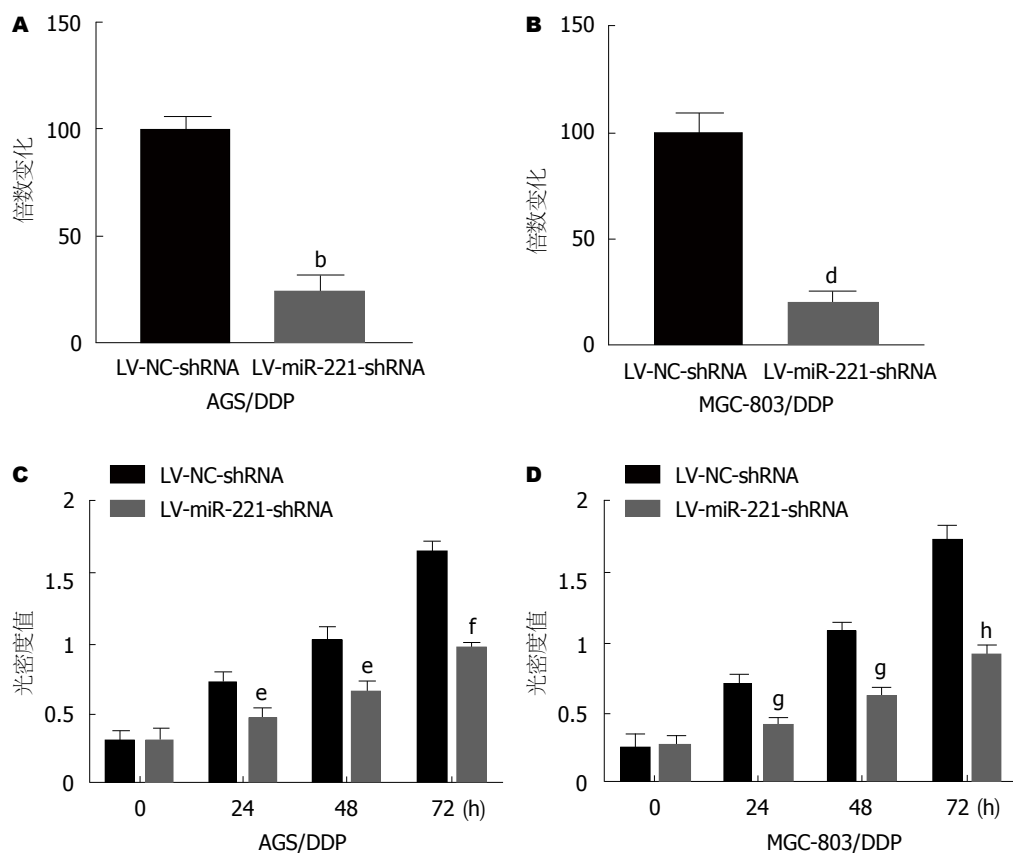


图2 miR-221的下调抑制胃癌DDP耐药细胞的增殖。A: RT-qPCR评估在AGS/DDP细胞中LV-miR-221-shRNA转染效率。n = 3,  $^bP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较; B: RT-qPCR评估在MGC-803/DDP细胞中LV-miR-221-shRNA转染效率。n = 3,  $^dP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较; C: LV-miR-221-shRNA转染后, MTT检测AGS/DDP细胞增殖。n = 3,  $^eP < 0.05$ ,  $^fP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较; D: LV-miR-221-shRNA转染后, MTT检测MGC-803/DDP细胞增殖。n = 3,  $^gP < 0.05$ ,  $^hP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较。



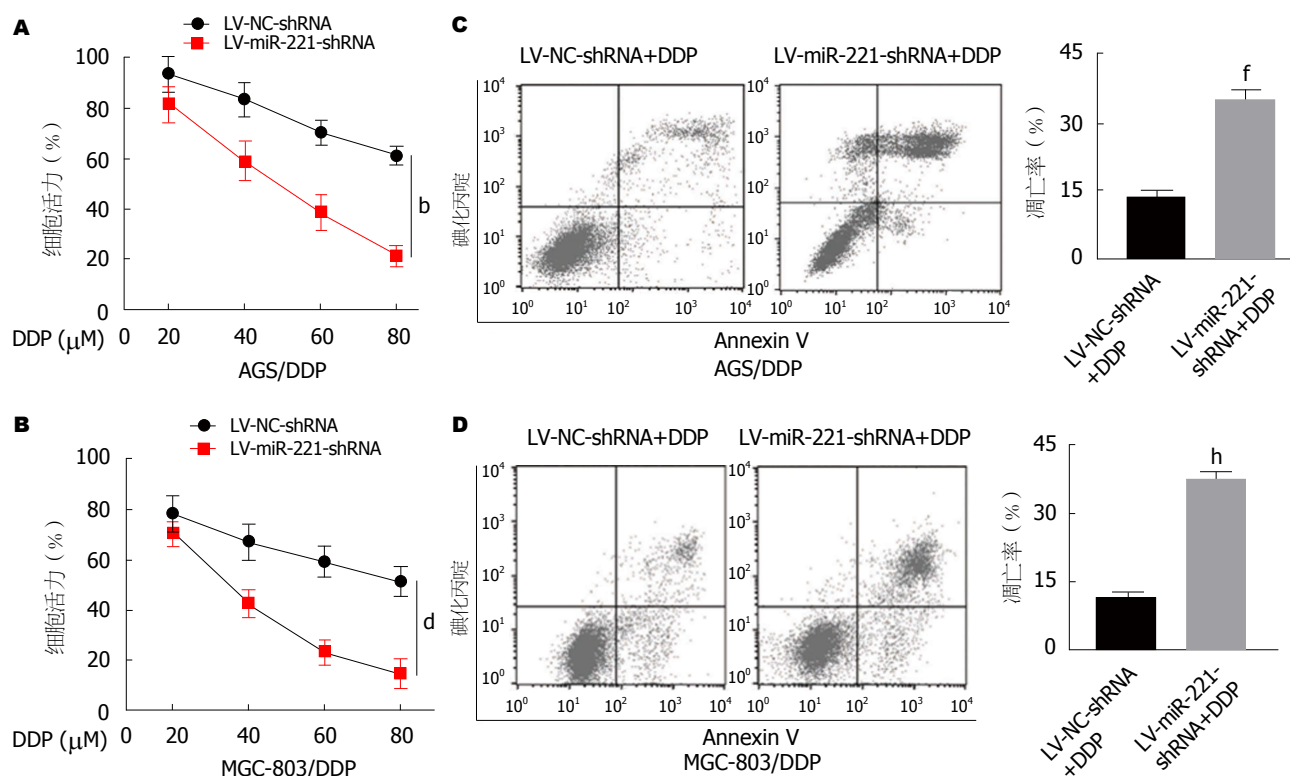


图 3 miR-221的下调增强胃癌DDP耐药细胞对DDP的化学敏感性。A: 下调miR-221表达增加AGS/DDP细胞对DDP的化学敏感性。  $n = 3$ ,  $^bP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较; B: 下调miR-221表达增加MGC-803/DDP细胞对DDP的化学敏感性。  $n = 3$ ,  $^dP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较; C: 下调miR-221表达促进DDP诱导AGS/DDP细胞凋亡。  $n = 3$ ,  $^fP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA+DDP组比较; D: 下调miR-221表达促进DDP诱导MGC-803/DDP细胞凋亡。  $n = 3$ ,  $^hP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA+DDP组比较。

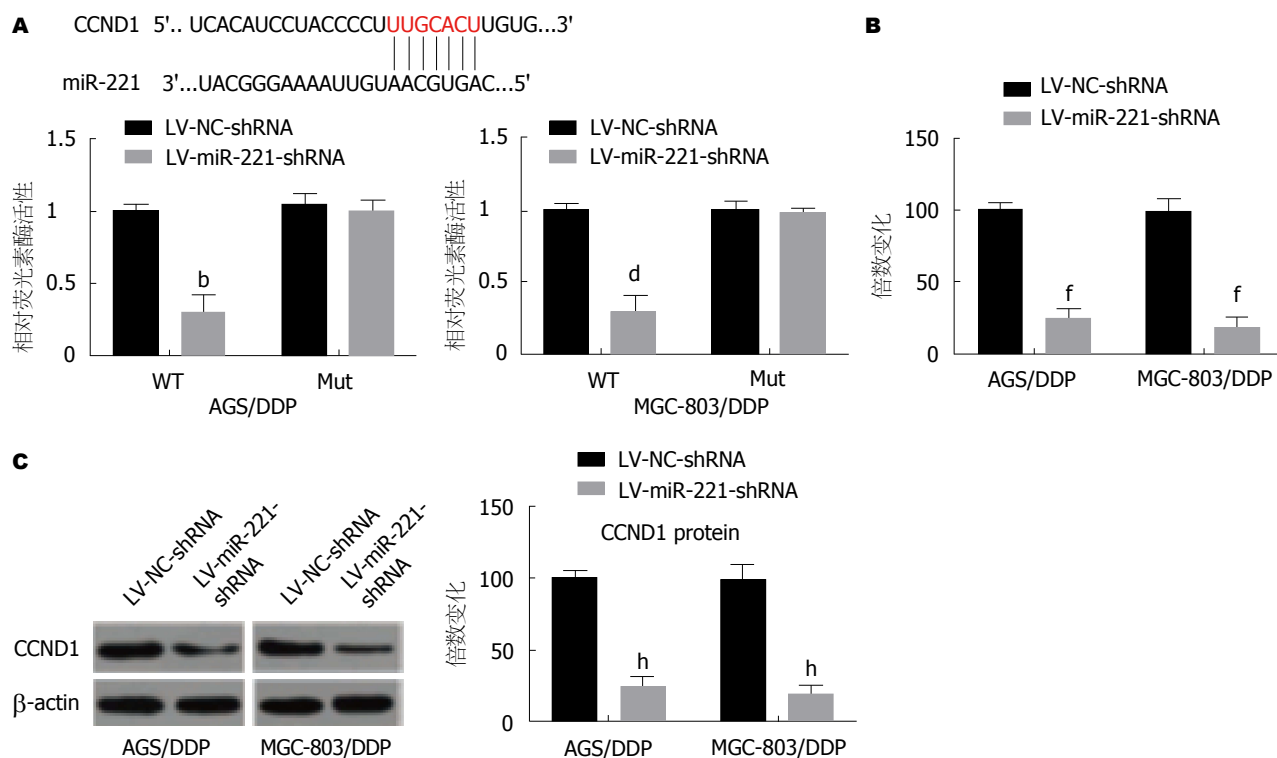


图 4 miR-221直接靶向胃癌细胞的CCND1。A: CCND1的3'非翻译区(3'-UTR)中的野生型(WT)和突变(MUT)miR-221结合序列。  $n = 3$ ,  $^bP < 0.01$ ,  $^dP < 0.01$ , 与WT+LV-NC-shRNA组比较; B: 采用RT-PCR法检测LV-miR-221-shRNA或LV-NC-shRNA转染的AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞中CCND1的mRNA水平。  $n = 3$ ,  $^fP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较; C: Western印迹检测LV-miR-221-shRNA或LV-NC-shRNA转染的AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞中CCND1的蛋白质水平。  $n = 3$ ,  $^hP < 0.01$ , 与LV-NC-shRNA组比较。

## 实验结果

GC组织和GC细胞中miR-221明显上调, 且耐药组织和DDP耐药细胞中miR-221表达更高. 下调miR-221抑制了AGS/DDP和MGC-803/DDP细胞增殖, 促进了细胞凋亡和细胞对DDP的化学敏感性; 我们报道了CCND1是miR-221的直接靶基因.

## 实验结论

下调miR-221可以抑制GC DDP耐药细胞增殖, 促进其对DDP的化学敏感性, 这一作用可能通过抑制靶基因CCND1表达来实现的.

## 展望前景

该研究提供了对作为GC细胞化学抗性基础的分子机制的重要见解. 这项研究的结果可能有助于开发一种新的GC治疗策略. 但是作为未来的临床治疗GC推广, 仍然需要深入的研究.

## 4 参考文献

- 1 Ferlay J, Colombet M, Soerjomataram I, Mathers C, Parkin DM, Piñeros M, Znaor A, Bray F. Estimating the global cancer incidence and mortality in 2018: GLOBOCAN sources and methods. *Int J Cancer* 2019; 144: 1941-1953 [PMID: 30350310 DOI: 10.1002/ijc.31937]
- 2 An Y, Zhang Z, Shang Y, Jiang X, Dong J, Yu P, Nie Y, Zhao Q. miR-23b-3p regulates the chemoresistance of gastric cancer cells by targeting ATG12 and HMGB2. *Cell Death Dis* 2015; 6: e1766 [PMID: 25996293 DOI: 10.1038/cddis.2015.123]
- 3 Szakács G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 219-234 [PMID: 16518375 DOI: 10.1038/nrd1984]
- 4 Rabik CA, Dolan ME. Molecular mechanisms of resistance and toxicity associated with platinating agents. *Cancer Treat Rev* 2007; 33: 9-23 [PMID: 17084534 DOI: 10.1016/j.ctrv.2006.09.006]
- 5 Johnstone RW, Ruefli AA, Lowe SW. Apoptosis: a link between cancer genetics and chemotherapy. *Cell* 2002; 108: 153-164 [PMID: 11832206 DOI: 10.1016/s0092-8674(02)00625-6]
- 6 Tao Y, Yang S, Wu Y, Fang X, Wang Y, Song Y, Han T. MicroRNA-216a inhibits the metastasis of gastric cancer cells by targeting JAK2/STAT3-mediated EMT process. *Oncotarget* 2017; 8: 88870-88881 [PMID: 29179483 DOI: 10.18632/oncotarget.21488]
- 7 Yoshino H, Yonezawa T, Yonemori M, Miyamoto K, Sakaguchi T, Sugita S, Osako Y, Tatarano S, Nakagawa M, Enokida H. Downregulation of microRNA-127a induces cell apoptosis through regulation of BMP1B in clear cell renal cell carcinoma. *Oncol Rep* 2018; 39: 173-181 [PMID: 29192325 DOI: 10.3892/or.2017.6098]
- 8 Yang X, Yang L, Ma Y, Zhao X, Wang H. MicroRNA-205 Mediates Proteinase-Activated Receptor 2 (PAR<sub>2</sub>)-Promoted Cancer Cell Migration. *Cancer Invest* 2017; 35: 601-609 [PMID: 28990808 DOI: 10.1080/07357907.2017.1378671]
- 9 Wang P, Li Z, Liu H, Zhou D, Fu A, Zhang E. MicroRNA-126 increases chemosensitivity in drug-resistant gastric cancer cells by targeting EZH2. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 479: 91-96 [PMID: 27622325 DOI: 10.1016/j.bbrc.2016.09.040]
- 10 Xu W, Jiang H, Zhang F, Gao J, Hou J. MicroRNA-330 inhibited cell proliferation and enhanced chemosensitivity to 5-fluorouracil in colorectal cancer by directly targeting thymidylate synthase. *Oncol Lett* 2017; 13: 3387-3394 [PMID: 28521444 DOI: 10.3892/ol.2017.5895]
- 11 Cha YJ, Lee JH, Han HH, Kim BG, Kang S, Choi YD, Cho NH. MicroRNA alteration and putative target genes in high-grade prostatic intraepithelial neoplasia and prostate cancer: STAT3 and ZEB1 are upregulated during prostate carcinogenesis. *Prostate* 2016; 76: 937-947 [PMID: 27017949 DOI: 10.1002/pros.23183]
- 12 Urbich C, Kuehnbacher A, Dimmeler S. Role of microRNAs in vascular diseases, inflammation, and angiogenesis. *Cardiovasc Res* 2008; 79: 581-588 [PMID: 18550634 DOI: 10.1093/cvr/cvn156]
- 13 Santhekadur PK, Das SK, Gredler R, Chen D, Srivastava J, Robertson C, Baldwin AS Jr, Fisher PB, Sarkar D. Multifunction protein staphylococcal nuclease domain containing 1 (SND1) promotes tumor angiogenesis in human hepatocellular carcinoma through novel pathway that involves nuclear factor κB and miR-221. *J Biol Chem* 2012; 287: 13952-13958 [PMID: 22396537 DOI: 10.1074/jbc.M111.321646]
- 14 Cortés-Sempere M, Ibáñez de Cáceres I. microRNAs as novel epigenetic biomarkers for human cancer. *Clin Transl Oncol* 2011; 13: 357-362 [PMID: 21680295 DOI: 10.1007/s12094-011-0668-z]
- 15 Brzezińska E, Cyniak-Magierska A, Sporny S, Pastuszek-Lewandoska D, Lewiński A. Assessment of cyclin D1 gene expression as a prognostic factor in benign and malignant thyroid lesions. *Neuro Endocrinol Lett* 2007; 28: 341-350 [PMID: 17693985]
- 16 Li X, Huo X, Li W, Yang Q, Wang Y, Kang X. Genetic association between cyclin D1 polymorphism and breast cancer susceptibility. *Tumour Biol* 2014; 35: 11959-11965 [PMID: 25399071 DOI: 10.1007/s13277-014-2489-5]
- 17 Betticher DC, Heighway J, Hasleton PS, Altermatt HJ, Ryder WD, Cerny T, Thatcher N. Prognostic significance of CCND1 (cyclin D1) overexpression in primary resected non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer* 1996; 73: 294-300 [PMID: 8562333 DOI: 10.1038/bjc.1996.52]
- 18 Shan YS, Hsu HP, Lai MD, Hung YH, Wang CY, Yen MC, Chen YL. Cyclin D1 overexpression correlates with poor tumor differentiation and prognosis in gastric cancer. *Oncol Lett* 2017; 14: 4517-4526 [PMID: 28943959 DOI: 10.3892/ol.2017.6736]
- 19 Yuan C, Zhu X, Han Y, Song C, Liu C, Lu S, Zhang M, Yu F, Peng Z, Zhou C. Elevated HOXA1 expression correlates with accelerated tumor cell proliferation and poor prognosis in gastric cancer partly via cyclin D1. *J Exp Clin Cancer Res* 2016; 35: 15 [PMID: 26791264 DOI: 10.1186/s13046-016-0294-2]
- 20 Wang L, Zhang Y, Zhao L, Liu S, Yu S, Ma Y, Sun G. MicroRNA-193b inhibits the proliferation, migration and invasion of gastric cancer cells via targeting cyclin D1. *Acta Histochem* 2016; 118: 323-330 [PMID: 27071318 DOI: 10.1016/j.acthis.2016.02.001]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



# miR-567靶向TRPM8调控结直肠癌细胞增殖凋亡的分子机制

杨庆华, 陈 栋

杨庆华, 义乌市中心医院肛肠科 浙江省义乌市 322000

陈栋, 浙江大学医学院附属第一医院肛肠外科 浙江省杭州市 310003

杨庆华, 主治医师, 研究方向为肛肠肿瘤分子生物学机制。

**作者贡献分布:** 此课题由杨庆华与陈栋设计; 研究过程、数据分析及论文写作由杨庆华与陈栋操作完成; 研究用试剂及分析工具由陈栋提供。

**通讯作者:** 杨庆华, 主治医师, 322000, 浙江省义乌市江东街道699号, 义乌市中心医院肛肠科. [eih93578995zhish@163.com](mailto:eih93578995zhish@163.com)  
电话: 0579-85209668

收稿日期: 2019-04-03

修回日期: 2019-05-29

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-07-28

## MiR-567 regulates proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by targeting TRPM8

Qing-Hua Yang, Dong Chen

Qing-Hua Yang, Department of Anorectal Surgery, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Dong Chen, Department of Anorectal Surgery, the First Affiliated Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Qing-Hua Yang, Chief Physician, Department of Anorectal Surgery, Yiwu Central Hospital, 699 Jiangdong Street, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. [eih93578995zhish@163.com](mailto:eih93578995zhish@163.com)

Received: 2019-04-03

Revised: 2019-05-29

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-07-28

## Abstract

### BACKGROUND

The role of miRNAs in cancer is increasingly becoming a hot research topic. There have been relatively few studies on miR-567 in cancer, and its functional role in colorectal cancer (CRC) is still little understood.

### AIM

To investigate the effect of miR-567 on proliferation and apoptosis of CRC cells and the underlying mechanism.

### METHODS

qRT-PCR was used to detect the expression of miR-567 and transient receptor potential melastatin 8 (TRPM8) in the CRC cell lines SW480, SW1116, and HT29 as well as in the normal colorectal epithelial cell line NCM460. SW480 cells were transfected with miR-NC, miR-567 mimic, si-NC, si-TRPM8, miR-567 + pcDNA, or miR-567 + pcDNA-TRPM8 by using the liposome method. Cell proliferation was detected by MTT assay; cell apoptosis was detected by flow cytometry; protein expression of TRPM8, CyclinD1, p21, p23, Bcl-2, Bax, and cleaved Caspase-3 was detected by Western blot; and the fluorescence activity was detected by double luciferase reporter gene assay.

### RESULTS

Compared with normal colonic epithelial cells (NCM460), the expression of miR-567 was significantly decreased in CRC cells, and the



expression of TRPM8 was significantly increased. Overexpression of miR-567 or inhibition of TRPM8 inhibited the proliferation and promoted apoptosis of SW480 cells. MiR-567 can inhibit the fluorescence activity of wild-type TRPM8 cells and negatively regulate the expression of TRPM8, while overexpression of TRPM8 reversed the proliferation inhibition and apoptosis-promoting effect of miR-567 overexpression in SW480 cells.

## CONCLUSION

MiR-567 can inhibit the proliferation of CRC cells and promote their apoptosis via a mechanism possibly related to the targeting of TRPM8. This finding will provide a new direction for the prevention and treatment of CRC.

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

Key Words: miR-567; TRPM8; Colorectal cancer; Proliferation; Apoptosis

Yang QH, Chen D. MiR-567 regulates proliferation and apoptosis of colorectal cancer cells by targeting TRPM8. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 864-871

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/864.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.864>

## 摘要

### 背景

miRNA在癌症中的作用日益成为研究的热点, miR-567在癌症中的研究相对较少, 其在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中的功能作用尚缺乏参考。

### 目的

研究miR-567对CRC细胞增殖、凋亡的影响及其机制。

### 方法

运用qRT-PCR法检测CRC细胞SW480、SW1116、HT29和正常结直黏膜上皮细胞NCM460中miR-567、瞬时受体电位8(transient receptor potential melastatin 8, TRPM8)的表达; 将miR-NC组(转染miR-NC)、miR-567组(转染miR-567 mimics)、si-NC组(转染si-NC)、si-TRPM8组(转染si-TRPM8)、miR-567+pcDNA组(共转染miR-567和pcDNA)、miR-567+pcDNA-TRPM8组(共转染miR-567和pcDNA-TRPM8), 用脂质体法转染至SW480细胞。MTT法检测细胞的增殖; 流式细胞术检测细胞的凋亡; Western blot检测细胞中TRPM8、CyclinD1、p21、p23、Bcl-2、Bax、Cleaved-caspase-3的蛋白表达; 双荧光素酶报告基因检测实验检测细胞的荧光活性。

## 结果

与正常结直黏膜上皮细胞NCM460相比, CRC细胞中miR-567的表达明显降低, TRPM8的表达明显升高; 过表达miR-567或抑制TRPM8均可抑制SW480细胞的增殖, 促进其凋亡; miR-567可抑制野生型TRPM8细胞的荧光活性, 并负向调控TRPM8的表达; 过表达TRPM8逆转了过表达miR-567对SW480细胞的增殖抑制和凋亡促进作用。

## 结论

miR-567可抑制CRC细胞的增殖, 促进凋亡, 其机制与靶向TRPM8有关, 将可为CRC的预防和治疗提供新方向。

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

关键词: miR-567; TRPM8; 结直肠癌; 增殖; 凋亡

**核心提要:** miR-567在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中具有抑制癌细胞增殖, 促进癌细胞凋亡的功能, 瞬时受体电位8(transient receptor potential melastatin 8, TRPM8)的敲减具有抑制CRC细胞增殖, 促进凋亡的功能, 二者之间具有miR-567靶向抑制TRPM8表达的关系。

杨庆华, 陈栋. miR-567靶向TRPM8调控结直肠癌细胞增殖凋亡的分子机制. *世界华人消化杂志* 2019; 27(14): 864-871

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/864.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.864>

## 0 引言

miRNA为长度在18-25个核苷酸之间的短链非编码内源性保守的微小RNA分子, 其参与人类的多种疾病的发生发展, 尤其是肿瘤<sup>[1]</sup>。目前发现大量miRNA参与结直肠癌(colorectal cancer, CRC)的恶性化进程, 但miR-567在CRC中的功能国内外研究甚少。瞬时受体电位(transient receptor potential, TRP)阳离子通道超家族在多种过程中起关键作用, 包括温度感知、疼痛转导、血管舒张、男性生育能力和肿瘤发生<sup>[2]</sup>。TRP是七个离子通道超家族中的家族之一, TRPM家族包括八个结构和功能多样化的通道。在TRPM亚科的所有成员中, TRPM8是最重要的成员<sup>[3]</sup>。许多文献已经证明, 瞬时受体电位8(transient receptor potential melastatin 8, TRPM8)由具有3312个核苷酸的开放阅读框的cDNA编码, 其编码1104个氨基酸的蛋白质, 分子量为128 kDa, 六通跨膜蛋白, 跨膜结构域S5和S6之间的长链段形成该四聚体蛋白的推定孔环<sup>[4,5]</sup>。TRPM8在多种肿瘤中广泛异常表

达, 调控肿瘤的增殖、凋亡、迁移、侵袭和转移等生物学行为<sup>[6]</sup>. 但其在CRC中的作用及调控机制尚未有人报道. 本研究拟以CRC细胞SW480为研究对象, 检测其中miR-567、TRPM8的表达, 观察过表达miR-567、抑制TRPM8对SW480细胞增殖、凋亡的影响, 揭示其机制与miR-567靶向调控TRPM8有关, 将为CRC的治疗研究提供新靶点.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** CRC细胞SW480(编号: CVCL\_0546)、SW1116(编号: CVCL\_0544)、HT29(编号: CVCL\_0320)和正常结直黏膜上皮细胞NCM460(编号: CVCL\_0460)购自ATCC; DMEM培养基、胎牛血清、MTT、胰蛋白酶均购自美国Selleck公司; Lipofectamine<sup>TM</sup>2000、BCA蛋白定量试剂盒、ECL发光液、RIPA蛋白裂解液、逆转录试剂盒购自大连Takara公司; 小鼠抗大鼠TRPM8、CyclinD1、p21、p23、Bcl-2、Bax、Cleaved-caspase-3单克隆抗体、碱性磷酸酶标记的山羊抗小鼠二抗购自北京中山生物公司; PVDF膜购自德国罗氏公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司; Annexin V-FITC/PI凋亡检测试剂盒购自北京索莱宝公司; 半干转膜仪购自美国BIO-RAD公司; ABI 7500型实时荧光定量PCR系统购自美国ABI公司; Genesys 10紫外分光光度计购自美国Thermo公司; 细胞培养箱购自美国Forma Scientific公司; PCR 仪购自美国BIO-RAD公司. miR-NC、miR-567 mimics、si-NC、si-TRPM8序列的设计和合成均由上海吉玛生物公司完成

### 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养:** 将CRC细胞SW480、SW1116、HT29和正常结直黏膜上皮细胞NCM460用含10%胎牛血清的DMEM培养基, 置于37℃, 5%CO<sub>2</sub>的恒温培养箱中常规培养, 待细胞生长至融合度75%左右, 用胰蛋白酶消化约1 min, 按照1:3的比例更换培养基, 每2 d传代一次.

**1.2.2 细胞转染与分组:** 将miR-NC、miR-567 mimics、si-NC、si-TRPM8、miR-NC+pcDNA、miR-567 mimics+pcDNA-TRPM8按照脂质体Lipofectamine<sup>TM</sup>2000的说明书转染至SW480细胞, 分别标记为miR-NC组、miR-567组、si-NC组、si-TRPM8组、miR-NC+pcDNA组、miR-567+pcDNA-TRPM8组, 转染6 h后, 更换为新鲜培养基继续培养48 h, 用qRT-PCR法检测转染效率. 转染成功后, 用于后续试验.

**1.2.3 qRT-PCR实验检测细胞中miR-567、TRPM8的表达:** 取适量对数生长期1.2.2各组细胞, 遵照RNA抽提试剂盒说明书要求操作提取RNA, 进行定量, 然后按逆转录试剂盒按照说明书操作合成cDNA. 最后按qRT-PCR

试剂盒说明书操作进行miR-567、TRPM8的检测. 以U6、GAPDH为内参, 用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-567、TRPM8的mRNA表达.

**1.2.4 Western blot实验检测细胞中TRPM8、CyclinD1、p21、p23、Bcl-2、Bax、Cleaved-caspase-3的蛋白表达:** 取适量对数生长期1.2.2各组细胞, RIPA裂解后用BCA进行定量, 变性离心后取上清进行蛋白上样. 按照Western blot实验常规操作流程进行电泳-转膜-封闭-I抗(TRPM8、CyclinD1、p21、p23、Bcl-2、Bax、Cleaved-caspase-3稀释倍数均为1:1000)孵育-II抗(TRPM8、CyclinD1、p21、p23、Bcl-2、Bax、Cleaved-caspase-3稀释倍数均为1:10000)孵育-显影曝光. Image J分析目的条带的灰度值, 以目的条带灰度值与GAPDH灰度值的比值表示目的蛋白的表达.

**1.2.5 MTT法检测细胞增殖:** 取适量细胞, 加入20  $\mu$ L 5 g/L的MTT溶液, 培养4 h, 然后弃去上清, 每孔加入150  $\mu$ L DMSO, 震荡, 使结晶溶解, 在490 nm波长下检测细胞吸光度(A). 每个样品做3个平行实验, 实验重复3次.

**1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡:** 用500  $\mu$ L的Binding Buffer悬浮细胞, 分别加入5  $\mu$ L的Annexin V-FITC避光反应20 min后再加入5  $\mu$ L的PI避光反应20 min, 用300目铜筛过滤, 最后在1 h内上流式细胞仪结束检测. 细胞的凋亡率(%)早期凋亡率+晚期凋亡率. 每个样品做3个平行实验, 实验重复3次.

**1.2.7 双荧光素酶报告基因检测实验检测细胞中miR-567与TRPM8的结合力:** 化学合成的目的基因序列(TRPM8-WT)和突变序列(TRPM8-MUT)的两端加上Xho I 和Not I 酶切位点, 由吉玛公司合成, 再将其克隆到PUC-T载体. 然后用Xho I 和Not I 酶切目的片段2 h, 进行琼脂糖凝胶电泳, 回收纯化酶切产物. psiCHECK-2载体也用同样的方法回收线性化的目的片段. 将连接目的序列与psiCHECK-2载体, 加入至冰浴的DH5 $\alpha$ 感受态细胞中, 42℃水浴热休克60 s, 快速将管转移至冰上, 静置3 min. 然后加入500  $\mu$ L LB液体培养基, 在37℃的摇床上200 r/min振荡培养1 h. 将菌液涂布在含氨苄青霉素的LB固体培养基上, 37℃培养过夜. 次日, 挑取单个菌落克隆, 再次进行电泳、测序鉴定, 保留所需克隆株, 并用含氨苄青霉素的LB液体培养基扩大培养, 提取质粒DNA. 取适量对数生长期的细胞, 遵照双荧光素酶报告基因检测试剂盒技术手册要求操作. psiCHECK2载体以萤火虫荧光素酶活性为内参, psiCHECK2-TRPM8-3' UTR WT和psiCHECK2-TRPM8-3' UTR MUT的表达为对照, 转染24 h后, 检测荧光强度. 海參荧光素酶的发光强度与萤火虫荧光素酶发光强度的比值即反应miR-567与TRPM8的结合力.

**统计学处理** 实验中所有数据均采用SPSS 21.0软件进行分析. 计量资料用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 多组间数据比较采用单因素方差分析, 两组比较采用 $t$ 检验, 以 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 miR-567和TRPM8在CRC SW480、SW1116、HT29细胞和正常结直肠黏膜上皮细胞NCM460中的表达** 结果如图1所示, 与NCM460组相比, SW480、SW1116、HT29组细胞中miR-567表达显著降低, TRPM8的mRNA和蛋白表达均显著升高( $P < 0.05$ ).

**2.2 miR-567过表达对CRC SW480细胞增殖的影响** 结果如图2所示, 与miR-NC组相比, miR-567组SW480细胞中miR-567表达显著升高, 细胞活性显著降低, 细胞中CyclinD1的蛋白表达量显著降低, p21、p23的蛋白表达量显著升高( $P < 0.05$ ).

**2.3 miR-567过表达对CRC SW480细胞凋亡的影响** 结果如图3所示, 与miR-NC组相比, miR-567组SW480细胞的凋亡率显著升高, 细胞中Bcl-2的蛋白表达量显著降低, Bax、Cleaved-caspase-3的蛋白表达量显著升高( $P < 0.05$ ).

**2.4 抑制TRPM8表达对CRC SW480细胞增殖和凋亡的影响** 结果如图4所示, 与si-NC组相比, si-TRPM8组SW480细胞中TRPM8蛋白表达量显著降低, 细胞活性显著降低, 细胞凋亡率显著升高, 细胞中CyclinD1、Bcl-2的蛋白表达量显著降低, p21、Bax的蛋白表达量显著升高( $P < 0.05$ ).

**2.5 miR-567靶向调控TRPM8的表达** 运用miRcode数据库预测到 miR-567与TRPM8 3'UTR存在结合位点(图5A); 双荧光素酶活性检测结果显示, 与miR-NC组相比, miR-567组WT-TRPM8细胞中荧光活性显著降低, MUT-TRPM8细胞中荧光活性不受影响(图5B); 与miR-NC组相比, miR-567组细胞中TRPM8表达显著降低, 与anti-miR-NC组相比, anti-miR-567组细胞中TRPM8表达显著升高(图5C和D,  $P < 0.05$ ).

**2.6 TRPM8过表达逆转了miR-567过表达对CRC SW480细胞增殖、凋亡的作用** 结果如图6所示, 与miR-NC组相比, miR-567组SW480细胞中TRPM8的蛋白表达量显著降低, 细胞活性显著降低, 细胞凋亡率显著升高, 细胞中CyclinD1、Bcl-2的蛋白表达量显著降低, p21、Bax的蛋白表达量显著升高; 与miR-NC+pcDNA组相比, miR-567+pcDNA-TRPM8组SW480细胞中TRPM8的蛋白表达量显著升高, 细胞活性显著升高, 细胞凋亡率显著降低, 细胞中CyclinD1、Bcl-2的蛋白表达量显著升高, p21、Bax的蛋白表达量显著降低( $P < 0.05$ ).

## 3 讨论

miRNA在肿瘤领域的研究已成为热点, 其通过抑制靶基因的转录或蛋白翻译, 参与肿瘤的发生发展调控<sup>[7]</sup>. miR-567在癌症中的作用研究甚少, 目前仅在胰腺癌和乳腺癌中报道发挥抑制肿瘤进一步恶化的作用<sup>[8]</sup>. 有研究报道, 在CRC的研究中采用回归模型来鉴定明显相关的miRNA, 其靶向通常涉及结肠直肠癌微卫星不稳定性及染色体不稳定性途径的候选基因发现, SMAD4与CRC组织中的miR-567呈正相关<sup>[9]</sup>, 而SMAD4在CRC中表达异常降低, 且与患者的预后差显著相关<sup>[10]</sup>, 因此推测miR-567在CRC中也呈低表达. El-Murr等<sup>[11]</sup>在CRC的研究中发现, hsa-miR-567在80%的CRC中发生双等位基因突变, 提示miR-567在结直肠中具有潜在的调控功能. 本研究通过qRT-PCR法检测了CRC细胞SW480、SW1116、HT29和正常结直肠黏膜上皮细胞NCM460中miR-567的表达发现, miR-567在CRC细胞中的表达均异常降低, 这与人体的研究和我们的推测均相一致, 正式报道, miR-567在CRC细胞中的异常表达; 进一步研究发现, 过表达miR-567可抑制CRC细胞增殖, 促进其增殖, 这揭示了miR-567对CRC细胞表型增殖、凋亡的抑制作用, 为体内研究miR-567对CRC生长的影响奠定基础. 深入研究, 通过生物信息学、双荧光素酶报告基因检测实验验证miR-567可靶向调控TRPM8, 为研究miR-567在CRC中的调控机制提供参考. 我们还推测miR-567的功能可能与SMAD4也存在一定的相关性.

TRPM8在脊椎动物和无脊椎动物中发挥多种功能, 其除了在冷感中众所周知的功能外, TRPM8还在各种生物系统中发挥作用, 包括体温调节, 癌症, 膀胱功能和哮喘<sup>[2,12]</sup>. 最近的研究表明, TRPM8对于肿瘤的发生和发展是必需的, 并且TRPM8的异常表达在多种肿瘤中发现, 例如前列腺肿瘤、黑色素瘤、乳腺癌、膀胱癌和结肠直肠癌, 使其成为一种新颖的分子靶标可能有助于癌症的诊断和治疗<sup>[13,14]</sup>. Borrelli等<sup>[15]</sup>在CRC的研究中发现, 通过电穿孔进行TRPM8的小发夹RNA-载体沉默具有与大麻素相同的在体内外抑制CRC细胞和肿瘤的生长功能, 提示TRPM8抑制剂具有治疗CRC的潜力. 本研究通过qRT-PCR和Western blot检测了CRC细胞中TRPM8的表达发现, TRPM8在CRC细胞中表达异常升高, 这与TRPM8在其他癌症中的高表达的验证结果相呼应, 证实了TRPM8在CRC细胞中的异常高表达; 进一步研究发现, 抑制TRPM8具有与过表达miR-567同样的抑制CRC细胞增殖, 促进其凋亡的作用, 深入研究发现, 过表达TRPM8可逆转过表达miR-567对CRC的增殖抑制和凋亡促进作用, 这不仅验证了miR-567可靶向负调控



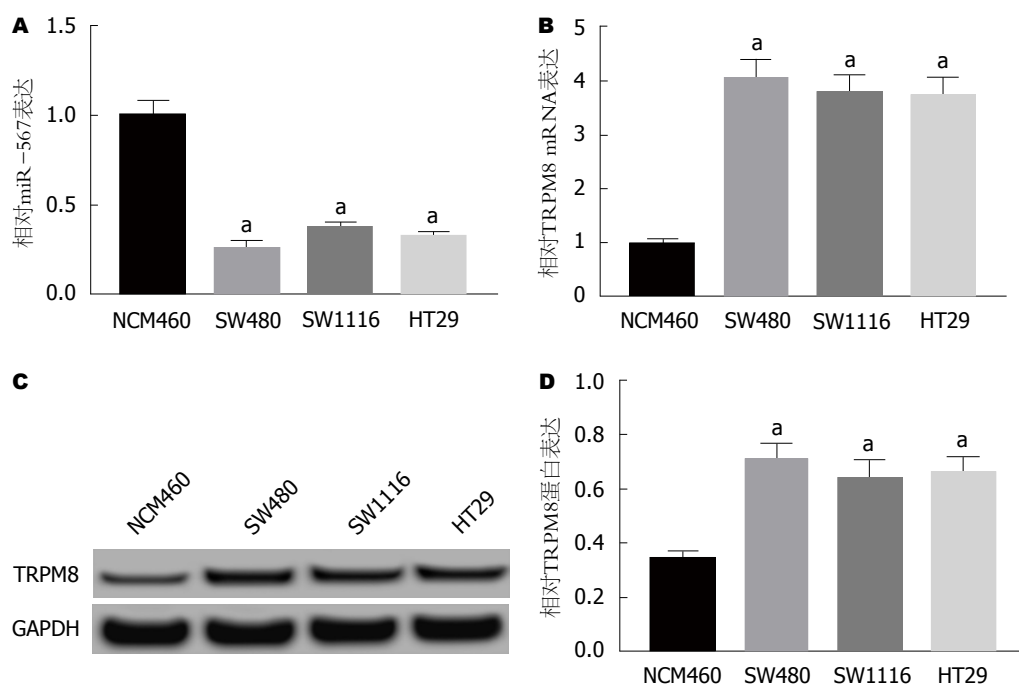


图 1 miR-567和TRPM8在结直肠癌细胞中的表达. A: miR-567在结直肠癌SW480、SW1116、HT29细胞和正常结直肠黏膜上皮细胞NCM460中的表达; B: TRPM8 mRNA在结直肠癌SW480、SW1116、HT29细胞和正常结直肠黏膜上皮细胞NCM460中的表达; C和D: TRPM8蛋白在结直肠癌SW480、SW1116、HT29细胞和正常结直肠黏膜上皮细胞NCM460中的表达. \* $P < 0.05$ , 与NCM460组相比.

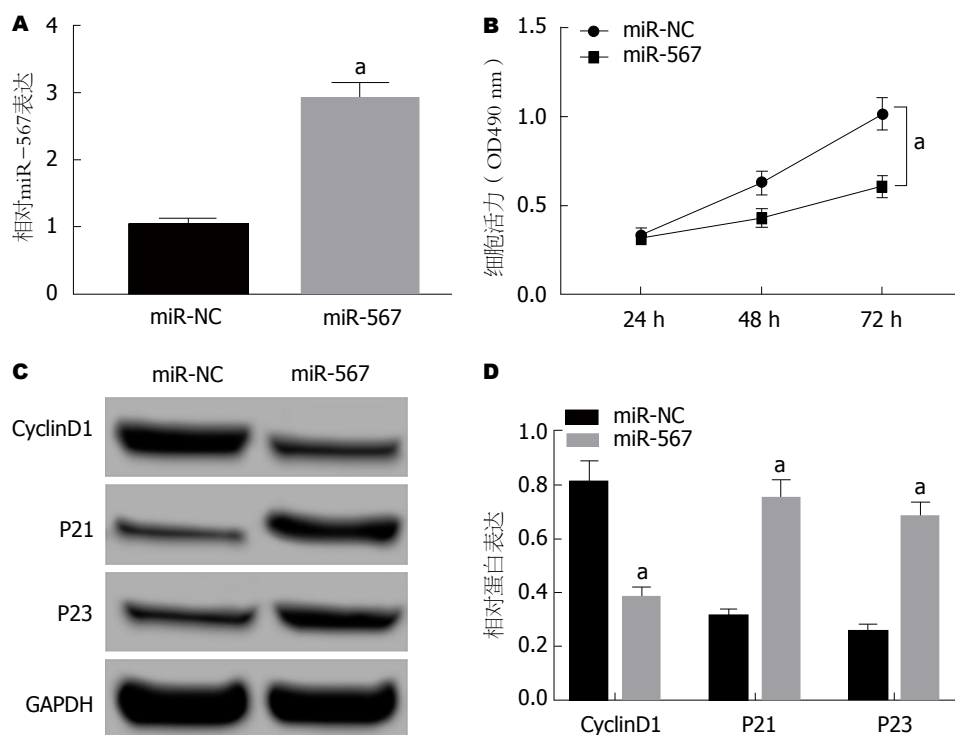


图 2 miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞增殖的影响. A: miR-567相对表达量; B: miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞增殖的影响; C和D: miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞增殖相关蛋白表达的影响. \* $P < 0.05$ , 与miR-NC组相比.

TRPM8, 反过来, TRPM8也可以负向调控miR-567的表达和功能. 这为miR-567在CRC中的功能机制的探索提供实验依据.

总之, miR-567可抑制CRC细胞的增殖, 促进凋亡, 其机制与靶向负调控TRPM8相关, 为CRC的治疗提供新靶点.

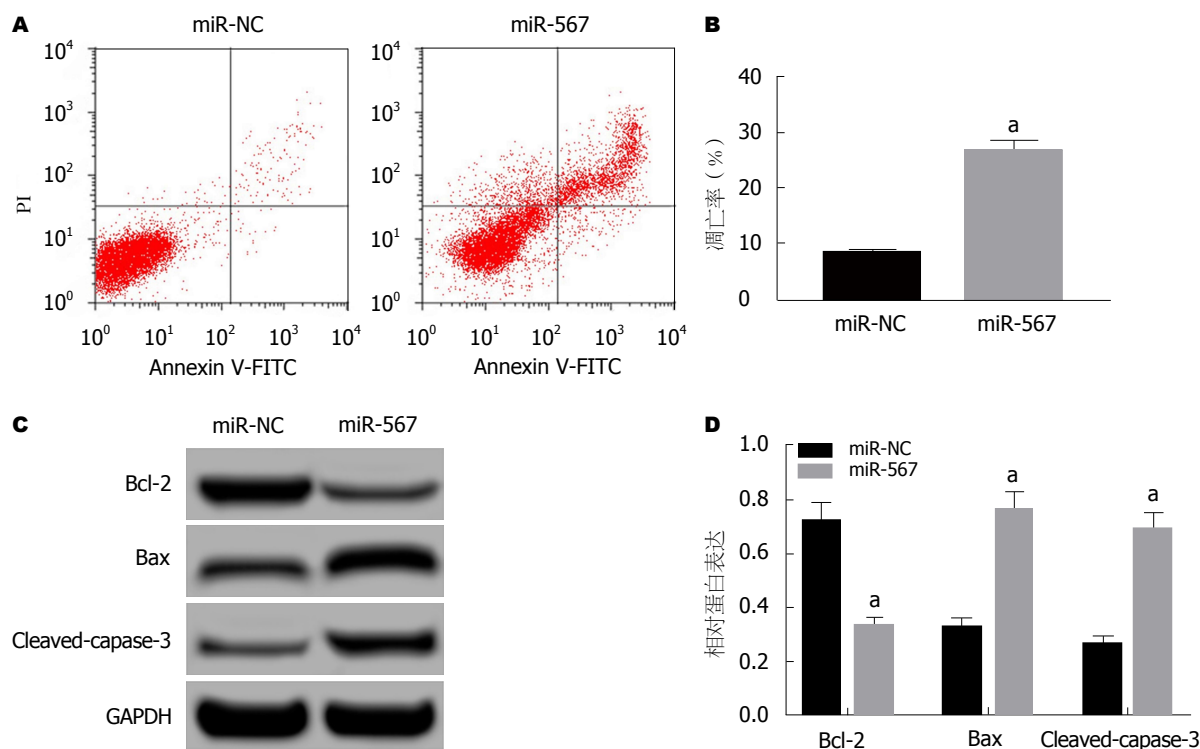


图 3 miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞凋亡的影响. A: 细胞凋亡流式图; B: miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞凋亡的影响; C和D: miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞凋亡相关蛋白表达的影响. \* $P < 0.05$ , 与miR-NC组相比.

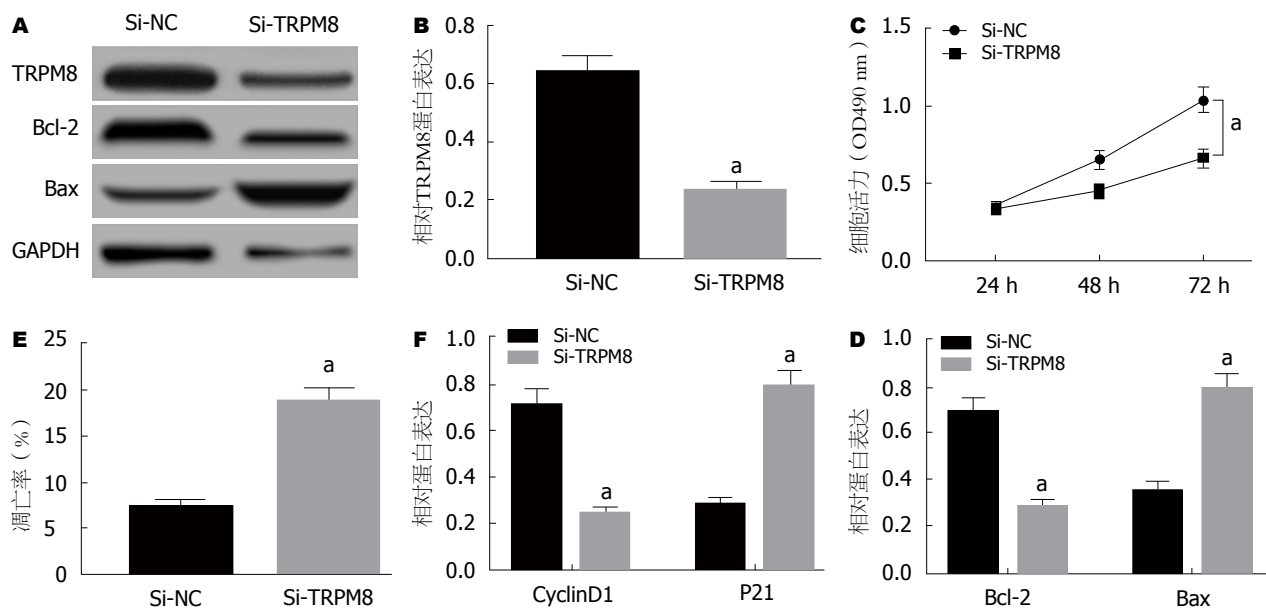


图 4 抑制TRPM8表达对结直肠癌SW480细胞增殖和凋亡的影响. A: 蛋白电泳图; B: TRPM8蛋白表达; C: 抑制TRPM8表达对结直肠癌SW480细胞增殖的影响; D: 抑制TRPM8表达对结直肠癌SW480细胞凋亡的影响; E: 抑制TRPM8表达对结直肠癌SW480细胞增殖相关蛋白表达的影响; F: 抑制TRPM8表达对结直肠癌SW480细胞凋亡相关蛋白表达的影响. \* $P < 0.05$ , 与si-NC组相比.

## 文章亮点

### 实验背景

近期miRNA通过靶向下游因子, 调节癌症细胞的细胞表型或肿瘤的恶化已成为研究的热点. 但miR-567对结

直肠癌(colorectal cancer, CRC)的作用机制国内外研究甚少.

### 实验动机

本研究旨在研究miR-567对CRC细胞增殖、凋亡的影

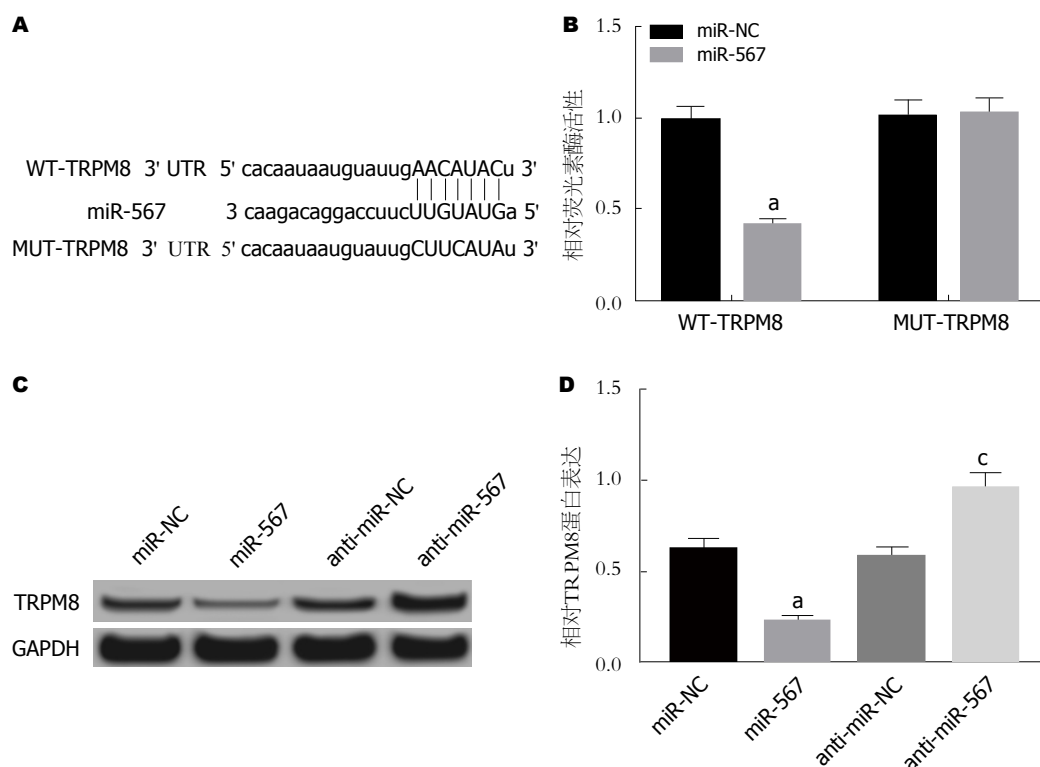


图 5 miR-567-3p靶向调控TRPM8的表达. A: TRPM8的3'UTR中含有与miR-567互补的核苷酸序列; B: 双荧光素酶报告实验; C和D: miR-567调控TRPM8蛋白的表达. \* $P < 0.05$ , 与miR-NC组相比, \* $P < 0.05$ , 与anti-miR-NC组相比.

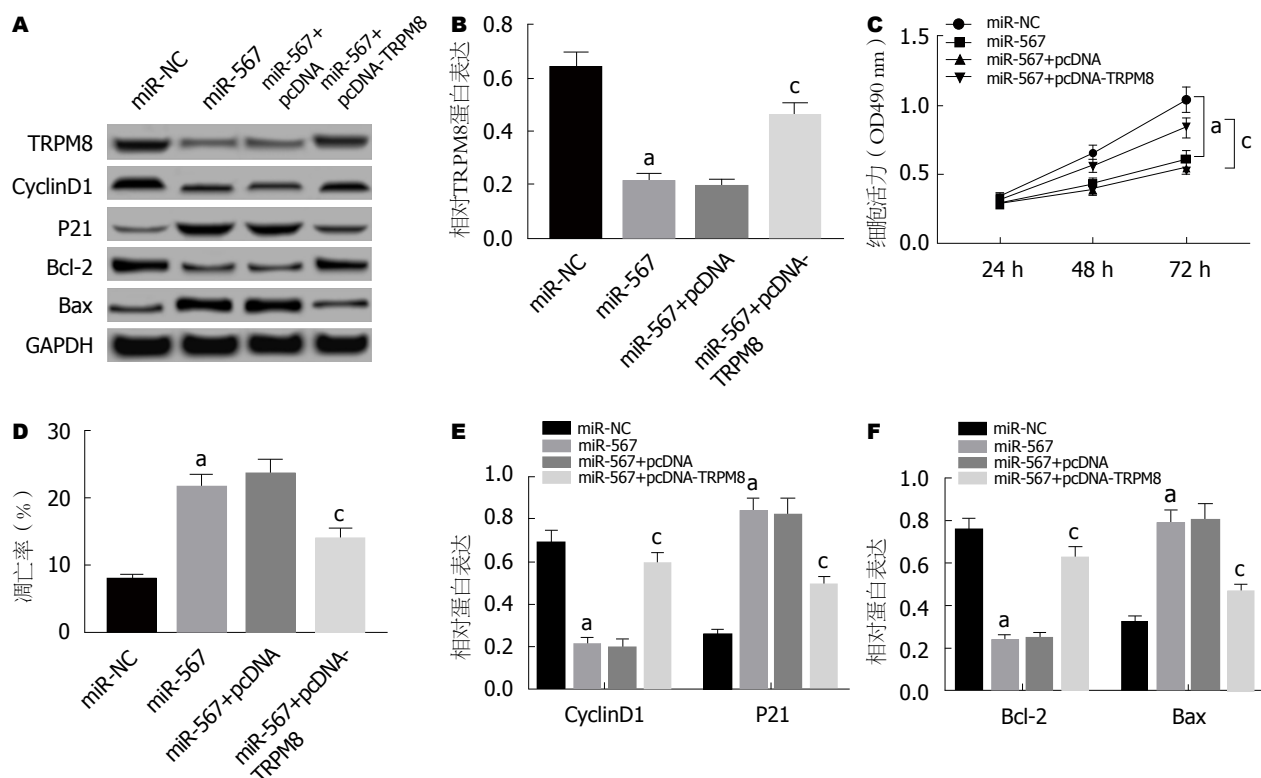


图 6 TRPM8过表达逆转了miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞增殖、凋亡的作用. A: 蛋白电泳图; B: TRPM8蛋白表达; C: TRPM8过表达逆转了miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞增殖的作用; D: TRPM8过表达逆转了miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞凋亡的作用; E: TRPM8过表达逆转了miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞增殖相关蛋白表达的作用; F: TRPM8过表达逆转了miR-567过表达对结直肠癌SW480细胞凋亡相关蛋白表达的作用. \* $P < 0.05$ , 与miR-NC组相比, \* $P < 0.05$ , 与miR-567+pcDNA组相比.



响, 并探讨其分子作用机制, 以期望为解决CRC靶向治疗的问题提供新线索.

### 实验目标

探讨miR-567抑制CRC细胞增殖, 促进凋亡的作用, 及其机制, 以期对CRC的治疗提供新方向.

### 实验方法

将CRC细胞SW480随机分成miR-NC组、miR-567组、si-NC组、si-瞬时受体电位8(transient receptor potential melastatin 8, TRPM8)组、miR-NC+pcDNA组、miR-567+pcDNA-TRPM8组, 用MTT法、流式细胞术分析miR-567对CRC细胞增殖、凋亡的影响, 双荧光素酶报告基因检测实验验证miR-567与TRPM8的靶向关系.

### 实验结果

本研究成功构建过表达miR-567和沉默TRPM8的CRC细胞发现, CRC细胞增殖能力减弱, 凋亡能力增强, 同时miR-567靶向调控TRPM8, 且回复TRPM8又能反向调控miR-567.

### 实验结论

miR-567可抑制CRC细胞的增殖, 促进凋亡, 其可能与靶向TRPM8有关, 提示miR-567可作为CRC细胞治疗的潜在靶点.

### 展望前景

本研究仅在体外研究miR-567对CRC细胞增殖、凋亡的调控, 后期还需增加miR-567在裸鼠体内对CRC肿瘤的生长对比实验, 以更清晰的展示miR-567对CRC细胞的治疗价值, 也为miR-567的靶向治疗提供更充分的理论依据.

## 4 参考文献

- 1 Vishnoi A, Rani S. MiRNA Biogenesis and Regulation of Diseases: An Overview. *Methods Mol Biol* 2017; 1509: 1-10 [PMID: 27826912 DOI: 10.1007/978-1-4939-6524-3\_1]
- 2 Abed E, Labelle D, Martineau C, Loghin A, Moreau R.

- Expression of transient receptor potential (TRP) channels in human and murine osteoblast-like cells. *Mol Membr Biol* 2009; 26: 146-158 [PMID: 19115145 DOI: 10.1080/09687680802612721]
- 3 Valero ML, Mello de Queiroz F, Stühmer W, Viana F, Pardo LA. TRPM8 ion channels differentially modulate proliferation and cell cycle distribution of normal and cancer prostate cells. *PLoS One* 2012; 7: e51825 [PMID: 23251635 DOI: 10.1371/journal.pone.0051825]
- 4 DeFalco J, Duncton MA, Emerling D. TRPM8 biology and medicinal chemistry. *Curr Top Med Chem* 2011; 11: 2237-2252 [PMID: 21671871 DOI: 10.2174/156802611796904933]
- 5 Asuthkar S, Velpula KK, Elustondo PA, Demirkhanyan L, Zakharian E. TRPM8 channel as a novel molecular target in androgen-regulated prostate cancer cells. *Oncotarget* 2015; 6: 17221-17236 [PMID: 25980497 DOI: 10.18632/oncotarget.3948]
- 6 Fiorio Pla A, Gkika D. Emerging role of TRP channels in cell migration: from tumor vascularization to metastasis. *Front Physiol* 2013; 4: 311 [PMID: 24204345 DOI: 10.3389/fphys.2013.00311]
- 7 Mishra S, Yadav T, Rani V. Exploring miRNA based approaches in cancer diagnostics and therapeutics. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 98: 12-23 [PMID: 26481951 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.10.003]
- 8 张婷, 赵顺玉, 孔双喜. miR-567在胰腺癌细胞中的表达及其作用机制. *中国普通外科杂志* 2017; 26: 1141-1147
- 9 Wang F, Wong SC, Chan LW, Cho WC, Yip SP, Yung BY. Multiple regression analysis of mRNA-miRNA associations in colorectal cancer pathway. *Biomed Res Int* 2014; 2014: 676724 [PMID: 24895601 DOI: 10.1155/2014/676724]
- 10 宋丹, 肖旷, 郑勇斌. Smad4在结直肠癌中的研究进展. *中国医药导报* 2017; 14: 28-31
- 11 El-Murr N, Abidi Z, Wanherdrick K, Svrcek M, Gaub MP, Fléjou JF, Hamelin R, Duval A, Lesuffleur T. MiRNA genes constitute new targets for microsatellite instability in colorectal cancer. *PLoS One* 2012; 7: e31862 [PMID: 22348132 DOI: 10.1371/journal.pone.0031862]
- 12 Andersson DA, Nash M, Bevan S. Modulation of the cold-activated channel TRPM8 by lysophospholipids and polyunsaturated fatty acids. *J Neurosci* 2007; 27: 3347-3355 [PMID: 17376995 DOI: 10.1523/JNEUROSCI.4846-06.2007]
- 13 Liu Z, Wu H, Wei Z, Wang X, Shen P, Wang S, Wang A, Chen W, Lu Y. TRPM8: a potential target for cancer treatment. *J Cancer Res Clin Oncol* 2016; 142: 1871-1881 [PMID: 26803314 DOI: 10.1007/s00432-015-2112-1]
- 14 黄维, 陈洁仪, 黄俊勇, 周成宇. TRPM8调控EMT促进人肾癌细胞A498迁移及侵袭的作用研究. *海南医学* 2015; 1: 18-21 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2015.01.0006]
- 15 Borrelli F, Pagano E, Romano B, Panzera S, Maiello F, Coppola D, De Petrocellis L, Buono L, Orlando P, Izzo AA. Colon carcinogenesis is inhibited by the TRPM8 antagonist cannabigerol, a Cannabis-derived non-psychotropic cannabinoid. *Carcinogenesis* 2014; 35: 2787-2797 [PMID: 25269802 DOI: 10.1093/carcin/bgu205]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



# CBX2蛋白在胃癌中的表达水平及临床意义

何怡岚, 张波

何怡岚, 杭州市余杭区第三人民医院肿瘤内科 浙江省杭州市 311115

张波, 浙江省肿瘤医院中西医结合肿瘤科 浙江省杭州市 310022

何怡岚, 主治医师, 研究方向肿瘤内科学。

**作者贡献分布:** 此课题由何怡岚与张波设计; 研究过程由何怡岚与张波操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由张波提供; 本论文写作由何怡岚与张波完成。

**通讯作者:** 何怡岚, 主治医师, 311115, 浙江省杭州市余杭区瓶窑镇华兴路232号, 杭州市余杭区第三人民医院肿瘤内科. rhjiv87@163.com

收稿日期: 2019-02-26

修回日期: 2019-05-05

接受日期: 2019-07-22

在线出版日期: 2019-07-28

## Clinical significance of expression of CBX2 in gastric cancer

Yi-Lan He, Bo Zhang

Yi-Lan He, Department of Oncology, Third People's Hospital of Yuhang District, Hangzhou 311115, Zhejiang Province, China

Bo Zhang, Department of Oncology, Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Zhejiang Cancer Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Yi-Lan He, Attending Physician, Department of Oncology, Third People's Hospital of Yuhang District, 232 Huaxing Road, Pingyao Town, Hangzhou 311115, Zhejiang Province, China. rhjiv87@163.com

Received: 2019-02-26

Revised: 2019-05-05

Accepted: 2019-07-22

Published online: 2019-07-28

## Abstract

### BACKGROUND

The incidence of gastric cancer (GC) is high in recent years and it is very urgent to explore new targets for the

diagnosis and treatment of GC.

### AIM

To investigate the expression and clinical significance of chromobox homolog 2 (CBX2) in GC cells and tissues.

### METHODS

The expression levels of CBX2 mRNA and protein in GC cells, normal gastric mucosal epithelial cells, GC tissues, and their adjacent normal tissues were detected by real-time fluorescent quantitative PCR and Western blot, respectively. The expression of CBX2 in 66 cases of GC and matched paracancerous tissues was detected by immunohistochemistry. The relationship between the expression of CBX2 and the clinicopathological features and prognosis of GC patients was analyzed.

### RESULTS

The expression of CBX2 mRNA in GC cells was higher than that in normal gastric mucosal epithelial cells ( $P < 0.05$ ). The expression of CBX2 mRNA and protein in GC tissues was higher than that in adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). The positive expression rate of CBX2 in GC tissues was 40.9% (27/66), and it was 12.1% (8/66) in normal tissues adjacent to cancer. CBX2 was positively expressed in GC tissues. The expression rate was higher than that of adjacent tissues ( $P < 0.05$ ). The expression of CBX2 protein was correlated with tumor metastasis ( $P < 0.05$ ).

### CONCLUSION

CBX2 is overexpressed in GC cells and tissues, and it has a certain degree of connection with the prognosis and outcome of patients with GC.

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

**Key Words:** Gastric cancer; Pigment frame homolog 2; Gene expression

He YL, Zhang B. Clinical significance of expression of CBX2 in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 872-877  
 URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/872.htm>  
 DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.872>

## 摘要

### 背景

胃癌(gastric cancer, GC)近年来的发病率居高不下, 发掘诊疗GC的新型靶点十分迫切。

### 目的

研究色素框同源物2(chromobox homolog 2, CBX2)在GC细胞及组织中的表达水平和临床意义。

### 方法

根据Western-blot和Real-Time荧光定量PCR法测定GC细胞、正常胃黏膜上皮细胞、GC组织及其配对的癌旁正常组织CBX2 mRNA和编码蛋白的表达水平; 采用免疫抗原抗体反应检测66例GC及其配对的癌旁组织中CBX2的表达状况; 分析CBX2的表达与GC患者的临床病理资料及生存预后情况的关系。

### 结果

GC细胞中CBX2 mRNA的表达量高于正常胃黏膜上皮细胞中的表达量( $P<0.05$ ); 同样GC组织中CBX2 mRNA及蛋白的表达量高于与其配对的癌旁组织中的表达量( $P<0.05$ ); CBX2在GC组织中的阳性表达率为40.9%(27/66), 在癌旁正常组织中的阳性表达率为12.1%(8/66), CBX2在GC组织中的阳性表达率高于癌旁组织( $P<0.05$ ); CBX2蛋白的表达与患者的肿瘤转移情况有关( $P<0.05$ )。

### 结论

GC细胞及组织中CBX2呈高表达状态, 并与GC患者的病情预后及转归存在一定程度的联系。

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

关键词: 胃癌; 色素框同源物2; 基因表达

**核心提要:** 色素框同源物2(chromobox homolog 2, CBX2)在胃癌(gastric cancer, GC)细胞中的表达量高于正常胃黏膜上皮细胞的表达量, GC组织中CBX2 mRNA及蛋白的表达量高于与其配对的癌旁组织并且CBX2在GC组织中的阳性表达率高于癌旁组织, 证明了CBX2蛋白的表达与GC患者的疾病转归存在联系。

何怡岚, 张波. CBX2蛋白在胃癌中的表达水平及临床意义. *世界华人消化杂志* 2019; 27(14): 872-877

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/872.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.872>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是世界上第四大常见恶性肿瘤, 也是继肺癌和肝癌后第三大最常见的癌症死亡原因<sup>[1]</sup>. GC是常见的消化道肿瘤, 其发生呈现早起隐匿性, 缺乏敏感有效的早期诊断标准<sup>[2]</sup>. 尽管目前国内外在GC的早起检测, 诊断和临床治疗方面取得了一定程度上的突破, 但仍旧无法改变GC患者的整体生存预后情况不容乐观的事实<sup>[3]</sup>. 各基因通路的相互作用以及原癌基因和抑癌基因功能的失调等因素与GC的疾病演变关系密不可分。

色素框同源物2(chromobox homolog 2, CBX2)是CBX蛋白家族的主要成员, 是调节染色质多梳抑制复合物(polycomb repressive complex PRC1)复合物的一个重要组成部分. CBX2蛋白是参与募集PRC1蛋白至有丝分裂染色体的主要成分<sup>[4]</sup>, 而表现出修饰组蛋白并抑制靶基因转录的酶活性. 研究证明, CBX2在多种癌症的演变, 疾病转归及预后中起到了至关重要的作用<sup>[5,6]</sup>. 例如, CBX2在乳腺癌中的表达明显升高, 高表达的CBX2与乳腺癌的转移及预后明显相关<sup>[7]</sup>. 然而, CBX2影响GC的发生发展机制尚不清楚, 本研究采用Western-blot法、Real-Time荧光定量PCR法和免疫组化法检测GC细胞系及组织中CBX2表达情况, 并分析CBX2的表达与GC患者的临床病理资料及生存预后情况的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2008-05/2012-06浙江省肿瘤医院中西医结合肿瘤科收治的66例GC患者的样本. 其中男性46例, 女性20例; 中位年龄为58.4岁. 同时收集3例GC患者手术标本, 保留GC组织和与其配对的癌旁组织共3对, 依次编号为T1(N1)、T2(N2)、T3(N3). 采集的标本标号放入EP管后, 立刻放入液氮中保存, 并封入-80℃冰箱保存. 患者临床随访资料完备, 术前未经化疗及放疗治疗, 术后病理组织经本院病理科确诊为GC无疑. 本研究通过浙江省肿瘤医院伦理委员会的审核批准, 标本的留取及研究均取得患者知情同意。

**细胞与实验试剂器材:** 正常胃黏膜上皮细胞CES-1及GC细胞株MGC-80, BGC-823以及MKN-45均购自美国模式菌种保藏中心. Anti-CBX2(ab80044)抗体购自艾博抗(上海), RPMI 1640培养液购自美国Gibco公司, 胎牛血清购自美国Gibco公司; 实时荧光定量测定PCR仪购自美国应用生物系统公司; 电热恒温水浴箱购自上海精宏实验设备有限公司; 台式离心机购自Thermo公司. 微量移液器: 型号10 μL, 100 μL和1000 μL购自德国Eppendorf公司. 紫外分光光度计: 型号Nanodrop2000购自Thermo公司; 其他: 如高压锅、冰箱、低温冰箱、Tip



头、386孔板等均购自上海鼎盛生物有限公司。

## 1.2 方法

1.2.1 免疫组织化学结果判定: 每张组织切片随机选取10个高倍镜视野, 平均每个视野需计数100个细胞, 根据细胞的染色强度和阳性比例得出实验结果。根据染色强度分级为0(无着色), 1(淡黄色), 2(棕黄色), 3(棕褐色)。根据显色的肿瘤细胞的百分比, 评分如下: 0(<10%)、1(10%-49%), 2( $\geq 50\%$ )。最终的结果为两项得分相乘, 阳性( $\geq 2$ 分)或阴性(<2分)。

1.2.2 Western blot检测: 收集对数生长期细胞并使用RIPA细胞裂解液提取细胞总蛋白, 使用BCA法测定蛋白浓度后置于-80℃条件下保存。将样本蛋白加入上样缓冲液后, 使用98℃干浴变性5 min。制备适当浓度的浓缩胶及分离胶后, 每孔50 μg定量上样, 使用110V恒压进行电泳, 250 mA横流进行湿转, 将蛋白转至合适大小的PVDF膜中。使用5%脱脂奶粉室温封闭2 h后, 加入溶有一抗的5%脱脂奶粉液, 置于4℃摇动孵育过夜, 一抗稀释比例为1:1000。在使用TBST溶液清洗PVDF膜后, 加入溶有适当比例二抗的5%脱脂奶粉液, 于室温下摇动孵育1 h。再次使用TBST溶液清洗膜, 使用ECL发光液于暗室进行化学发光检测。

1.2.3 实时荧光定量PCR检测: 按照说明书使用Trizol提取总RNA, 依据逆转录试剂盒说明进行逆转录反应。依据SYBR Green PCR说明书混合反应体系, 以GAPDH为参照系进行qRT-PCR检测。引物经由北京奥科鼎盛生物科技有限公司进行合成。通过上述方式进行RNA的提取。利用TaqMan™ Array Human MicroRNA A+B Cards Set v3.0试剂盒对提取后的样本进行扩增。利用7900HT荧光定量PCR系统, 以CES-1细胞mRNA表达量作为内参计算每个mRNA的相对表达量。

**统计学处理** 采用SPSS 19.0统计软件包(IBM公司, 美国)对所有数据进行统计学分析。运用 $\chi^2$ 检验来分析CBX2的表达与临床病理生理特征的关系。采用单变量和多变量Cox比例风险模型计算患者的危险比和95%CI。

## 2 结果

2.1 CBX2 mRNA在GC细胞, GC组织及其配对的癌旁组织中的表达情况 采用Real-time荧光定量PCR法检测GC细胞(MGC-80, BGC-823, MKN-45)中CBX2 mRNA的表达水平与正常胃黏膜上皮细胞CES-1中的表达水平相比, 结果显示(图1A), 三种不同的GC细胞中CBX2 mRNA的表达量均高于正常胃黏膜上皮细胞CES-1中的表达量( $P<0.05$ ); 而Western-blot法的检测结果(图1B)同样显示, 三种GC细胞(MGC-80, BGC-823, MKN-45)

中CBX2蛋白的表达量同样高于正常胃黏膜上皮细胞CES-1中的表达量( $P<0.05$ )。

我们采用上述两种方法来检测3例GC组织和与其配对的癌旁组织中CBX2的mRNA和蛋白表达量, 结果显示(图1A和B), GC组织中CBX2 mRNA及蛋白的表达量高于与其配对的癌旁组织中的表达量( $P<0.05$ )。

2.2 CBX2蛋白在GC组织及癌旁正常组织中的表达情况 采用免疫组织化学染色法检测66例GC组织及其配对的癌旁组织中CBX2蛋白的表达情况, 如图2所示, CBX2在GC组织中的阳性表达率为40.9%(27/66), 在癌旁正常组织中的阳性表达率为12.1%(8/66), CBX2在GC组织中的阳性表达率高于癌旁组织, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ )。

2.3 GC组织中CBX2表达与各临床病理参数之间的关系 根据66例GC患者中CBX2的表达情况, 分析其与各个临床病理参数之间的关系, 结果如表1所示, CBX2蛋白的表达与患者的肿瘤转移情况有关( $P<0.05$ ), 与患者的性别、年龄、吸烟史及TNM分期无关( $P>0.05$ )。

2.4 GC组织中CBX2的表达与患者生存期之间的关系 采用Kaplan-Meier法分析66例GC患者的CBX2表达情况与生存期的关系, 结果如图3显示, CBX2阳性表达患者的生存率与阴性表达患者的生存率无显著差异( $P>0.05$ )。

## 3 讨论

越来越多的证据表明, 包含RNA编辑的表现遗传学改变可能在转录后基因调控中发挥重要作用, 并可能控制各种癌症相关基因的表达<sup>[8]</sup>。而癌症相关基因的表达在癌症的发生发展及预后往往起到十分关键的作用<sup>[9]</sup>。PcG蛋白主要形成两种蛋白质复合物, 即PRC2和PRC1。而CBX2蛋白可通过蛋白质-蛋白质相互作用将PRC1的其他成分募集到染色质中<sup>[10]</sup>, 其在乳腺癌<sup>[7]</sup>, 前列腺癌<sup>[11]</sup>, 结肠癌<sup>[12]</sup>等多种肿瘤组织中均有表达, 参与促进细胞增殖、侵袭及肿瘤血管的形成。

在本研究中, 分别应用蛋白质免疫印迹法和Real-time荧光定量PCR法检测了GC细胞、正常胃黏膜上皮细胞、GC组织及其配对的癌旁正常组织中CBX2 mRNA和蛋白质的表达情况。结果发现, 在GC细胞和GC组织中, CBX2 mRNA和蛋白质的表达量均高于正常胃黏膜上皮细胞及配对的癌旁正常组织。本研究同时探讨了CBX2的表达与GC患者的病理参数之间的关系, 结果发现, CBX2蛋白的表达与患者的肿瘤转移情况有关; 但CBX2阳性表达患者的生存率与阴性表达患者的生存率无显著差异, 这可能与本实验所纳入研究的病例数过少有关。

表 1 CBX2的表达与临床病理因素的相关性

类别		CBX2		P值
		+	-	
总数	66	27 (40.9%)	39 (59.1%)	
性别				0.432
男性	46	20	26	
女性	20	7	13	
年龄				0.889
≤60	19	6	13	
>60	47	21	26	
稀盐酸				0.409
是	30	11	19	
否	36	16	20	
TNM分期				0.094
I – II	14	6	8	
III–IV	52	21	31	
转移与否				0.006
是	50	17	33	
否	16	10	6	

CBX2: 色素框同源物2.

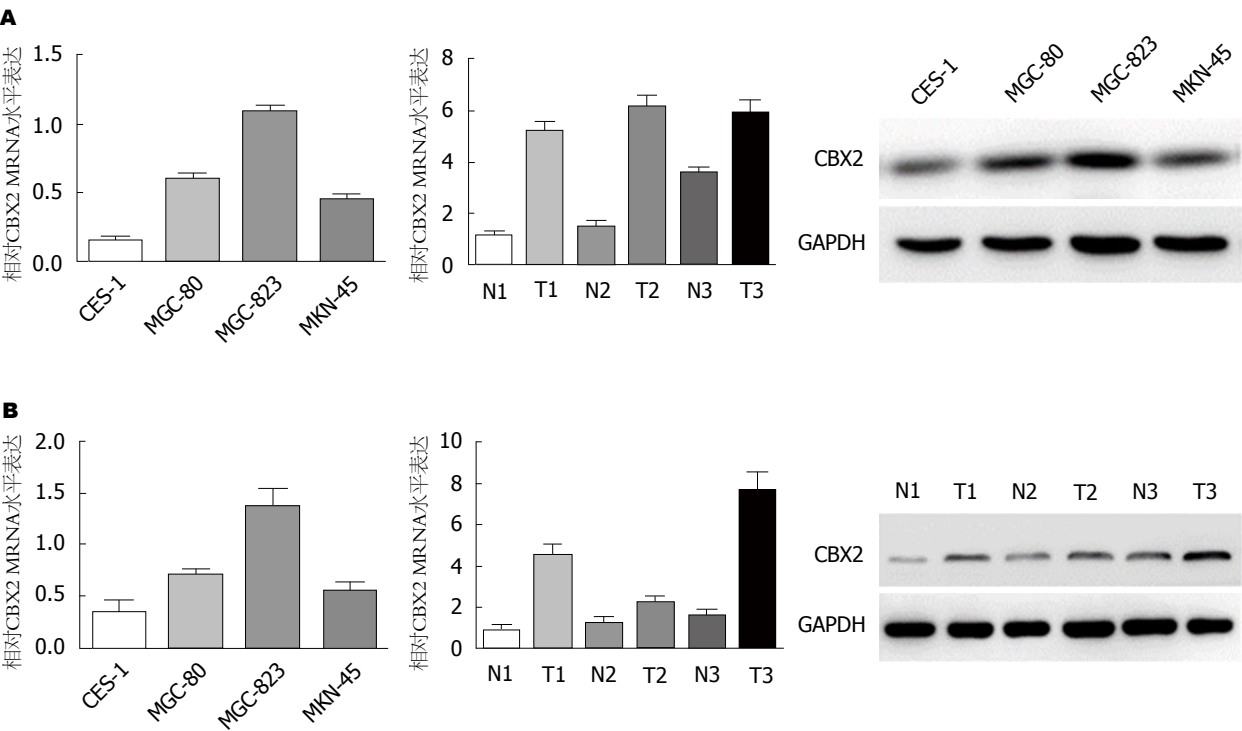


图 1 实时定量荧光PCR法和蛋白质印迹法检测. A: 胃癌细胞和正常胃黏膜上皮细胞中CBX2 mRNA和蛋白的表达量; B: 胃癌组织和与其配对的癌旁组织中CBX2 mRNA和蛋白的表达量.

总之, GC细胞及组织中CBX2呈高表达状态, 并与结直肠癌患者的病情预后及转归存在一定程度的联系, 目前国内外对于CBX2与GC的发生发展之间的联系研

究尚处于初始阶段, 本实验初步探讨了CBX2的生物学功能及其作用机制, 为今后的基础及临床研究提供了一个可能的研究方向.

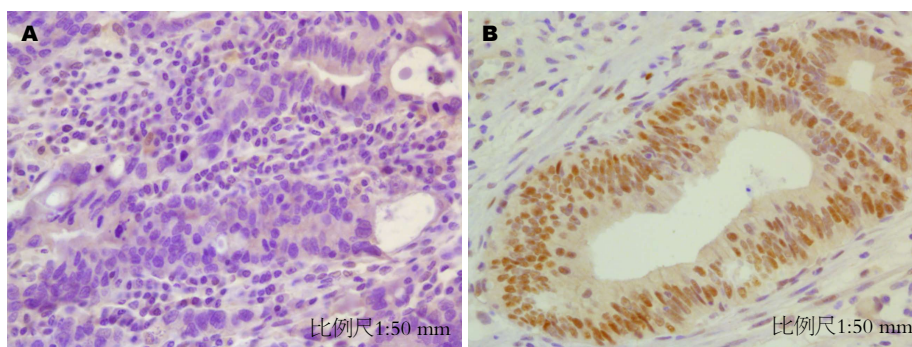


图 2 免疫组织化学检测法检测CBX2蛋白在癌旁正常组织及胃癌组织中的表达情况. A: 正常组织( $\times 400$ ); B: 癌旁组织( $\times 400$ ).

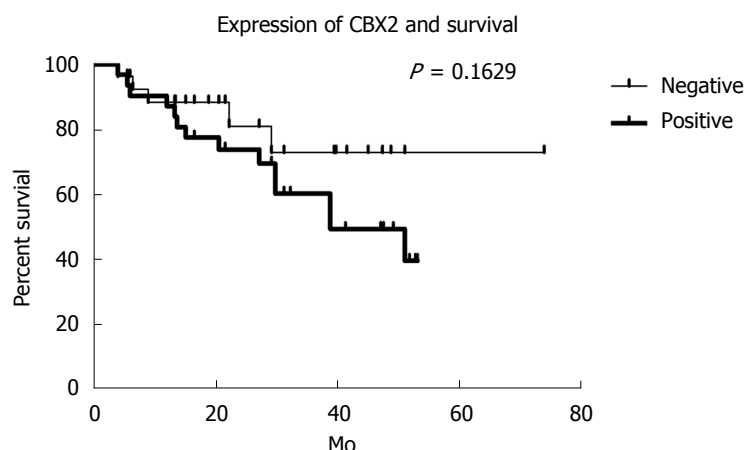


图 3 胃癌患者中CBX2的表达与患者生存期之间的关系.

## 文章亮点

### 实验背景

探究色素框同源物2(chromobox homolog 2, CBX2)蛋白在胃癌(gastric cancer, GC)患者中的表达及临床意义.

### 实验动机

GC的发病率近年来呈上升趋势, 目前对于GC的治疗前景不容乐观, 寻找新的GC治疗靶点刻不容缓.

### 实验目标

本文旨在寻找新的GC治疗靶点, 我们发现CBX2蛋白与GC的发生发展具有联系.

### 实验方法

本研究采用了Western-blot、Real-Time荧光定量PCR法、免疫组织化学染色法进行研究, 通过对病例临床资料的分析, 得到研究结果.

### 实验结果

本文证实了CBX2蛋白在GC细胞中的表达量高于正常

胃黏膜上皮细胞的表达量, GC组织中CBX2 mRNA及蛋白的表达量高于与其配对的癌旁组织并且CBX2在GC组织中的阳性表达率高于癌旁组织, 证明了CBX2蛋白的表达与GC患者的疾病转归存在联系.

### 实验结论

本研究发现CBX2蛋白与GC的发生发展存在了一定的联系, 未来可以进行更深入的研究CBX2是否可以作为GC治疗的有效靶点.

### 展望前景

下一步我们将寻找CBX2通过何种信号通路来影响GC的发生发展状况的.

## 4 参考文献

- 1 Eng OS, Kim JY, Ruel N, Raz DJ, Erhunmwunsee L, Melstrom LG, Chao J, Woo Y, Kim J, Sun V. Quality of Life, Symptoms, and Self-Management Strategies After Gastroesophageal Cancer Surgery. *J Pain Symptom Manage* 2018; 56: e4-e8 [PMID: 29753100 DOI: 10.1016/j.jpainsymman.2018.05.001]
- 2 Mazzei MA, Bagnacci G, Gentili F, Nigri A, Pelini V, Vindigni C, Mazzei FG, Baiocchi GL, Pittiani F, Morgagni P, Petrella E, Mura G, Verdelli B, Bencivenga M, Giacomuzzi S, Marrelli D,



- Roviello F, Volterrani L. Gastric Cancer Maximum Tumour Diameter Reduction Rate at CT Examination as a Radiological Index for Predicting Histopathological Regression after Neoadjuvant Treatment: A Multicentre GIRCG Study. *Gastroenterol Res Pract* 2018; 2018: 1794524 [PMID: 29736166 DOI: 10.1155/2018/1794524]
- 3 Takaya H, Kawaratani H, Kaneko M, Takeda S, Sawada Y, Kitade M, Moriya K, Namisaki T, Sawai M, Mito A, Yamao J, Yoshiji H. Gastric granular cell tumor in a youth excised by endoscopic submucosal dissection: A case report and literature review. *Acta Gastroenterol Belg* 2017; 80: 317-319 [PMID: 29560700]
- 4 Tardat M, Albert M, Kunzmann R, Liu Z, Kaustov L, Thierry R, Duan S, Brykczynska U, Arrowsmith CH, Peters AH. Cbx2 targets PRC1 to constitutive heterochromatin in mouse zygotes in a parent-of-origin-dependent manner. *Mol Cell* 2015; 58: 157-171 [PMID: 25801166 DOI: 10.1016/j.molcel.2015.02.013]
- 5 Gu X, Wang X, Su D, Su X, Lin L, Li S, Wu Q, Liu S, Zhang P, Zhu X, Jiang X. CBX2 Inhibits Neurite Development by Regulating Neuron-Specific Genes Expression. *Front Mol Neurosci* 2018; 11: 46 [PMID: 29541019 DOI: 10.3389/fnmol.2018.00046]
- 6 Clermont PL, Crea F, Chiang YT, Lin D, Zhang A, Wang JZ, Parolia A, Wu R, Xue H, Wang Y, Ding J, Thu KL, Lam WL, Shah SP, Collins CC, Wang Y, Helgason CD. Identification of the epigenetic reader CBX2 as a potential drug target in advanced prostate cancer. *Clin Epigenetics* 2016; 8: 16 [PMID: 26877821 DOI: 10.1186/s13148-016-0182-9]
- 7 Chen WY, Zhang XY, Liu T, Liu Y, Zhao YS, Pang D. Chromobox homolog 2 protein: A novel biomarker for predicting prognosis and Taxol sensitivity in patients with breast cancer. *Oncol Lett* 2017; 13: 1149-1156 [PMID: 28454227 DOI: 10.3892/ol.2016.5529]
- 8 Okugawa Y, Toiyama Y, Shigeyasu K, Yamamoto A, Shigemori T, Yin C, Ichikawa T, Yasuda H, Fujikawa H, Yoshiyama S, Hiro J, Ohi M, Araki T, Kusunoki M, Goel A. Enhanced AZIN1 RNA editing and overexpression of its regulatory enzyme ADAR1 are important prognostic biomarkers in gastric cancer. *J Transl Med* 2018; 16: 366 [PMID: 30563560 DOI: 10.1186/s12967-018-1740-z]
- 9 Luo W, Fedda F, Lynch P, Tan D. CDH1 Gene and Hereditary Diffuse Gastric Cancer Syndrome: Molecular and Histological Alterations and Implications for Diagnosis And Treatment. *Front Pharmacol* 2018; 9: 1421 [PMID: 30568591 DOI: 10.3389/fphar.2018.01421]
- 10 Camahort R, Cowan CA. Cbx proteins help ESCs walk the line between self-renewal and differentiation. *Cell Stem Cell* 2012; 10: 4-6 [PMID: 22226347 DOI: 10.1016/j.stem.2011.12.011]
- 11 Wheeler LJ, Watson ZL, Qamar L, Yamamoto TM, Post MD, Berning AA, Spillman MA, Behbakht K, Bitler BG. CBX2 identified as driver of anoikis escape and dissemination in high grade serous ovarian cancer. *Oncogenesis* 2018; 7: 92 [PMID: 30478317 DOI: 10.1038/s41389-018-0103-1]
- 12 祝梓原, 徐远东, 黎淑玲, 吴小兵, 刘学娟, 徐学虎. CBX2蛋白在结直肠癌中的表达水平及临床意义. *肿瘤* 2017; 37: 1056-1062

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 剪切波超声弹性成像测定脂肪肝患者颈动脉斑块硬度及其与血脂水平相关性

欧阳骏, 张心荣, 王小伟

欧阳骏, 张心荣, 王小伟, 浙江省德清县人民医院B超室 浙江省湖州市 313200

欧阳骏, 主治医师, 主要从事超声诊断工作.

基金项目: 浙江省医学会临床科研基金项目, No. 2017ZYC-A67.

作者贡献分布: 此课题由欧阳骏设计; 研究过程由欧阳骏、张心荣及王小伟共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由欧阳骏提供; 数据分析及论文写作由欧阳骏完成.

通讯作者: 张心荣, 主治医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇英溪南路120号, 浙江省德清县人民医院B超室. zhangxinrong2018@163.com  
电话: 0572-8067530

收稿日期: 2019-05-05

修回日期: 2019-06-11

接受日期: 2019-07-22

在线出版日期: 2019-07-28

## Assessment of carotid plaque hardness in patients with fatty liver by shear wave elastography: Correlation with blood lipid levels

Jun Ouyang, Xin-Rong Zhang, Xiao-Wei Wang

Jun Ouyang, Xin-Rong Zhang, Xiao-Wei Wang, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Supported by: Clinical Research Fund of Zhejiang Medical Association, No. 2017ZYC-A67.

Corresponding author: Xin-Rong Zhang, Chief Physician, Department of Ultrasonography, Deqing People's Hospital, 120 Yingxi South Road, Wukang Town, Deqing County, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. zhangxinrong2018@163.com

Received: 2019-05-05

Revised: 2019-06-11

Accepted: 2019-07-22

Published online: 2019-07-28

## Abstract

### BACKGROUND

Ultrasound plays an important role in carotid plaque screening, density structure determination, and stability evaluation. Shear wave elastography (SWE), as a new method of ultrasonic elastography, can quantitatively evaluate the elastic hardness of biological tissues by analyzing the propagation velocity of shear wave. Therefore, quantitative analysis of hardness characteristics of different types of carotid plaques by SWE can provide a valuable reference for clinical evaluation of plaque stability.

### AIM

To determine the hardness of different types of carotid plaques in patients with fatty liver by SWE, and to explore the correlation between the hardness and blood lipid levels.

### Methods

Clinical data of 130 fatty liver patients with single carotid plaque were retrospectively analyzed. According to the echo of plaque under conventional ultrasound, the patients were divided into three groups: soft plaque group (40 cases), mixed plaque group (52 cases), and hard plaque group (38 cases). All plaques were examined by SWE. The mean Young's modulus (mean YM) of each plaque was measured and its correlation with low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high density lipoprotein cholesterol (HDL-C) levels was analyzed.

### Results

The mean YM and HDL-C levels in the hard plaque group were significantly higher than those in the mixed plaque group and soft plaque group ( $P < 0.05$ ). The mean YM and HDL-C levels in the mixed plaque group were

significantly higher than those in the soft plaque group ( $P < 0.05$ ). The LDL-C level in the hard plaque group was significantly lower than that in the mixed plaque group and soft plaque group ( $P < 0.05$ ). The LDL-C level in the mixed plaque group was significantly lower than that in the soft plaque group ( $P < 0.05$ ). The mean YM of carotid plaque was negatively correlated with LDL-C ( $r = -0.71, P < 0.05$ ), and positively correlated with HDL-C ( $r = 0.75, P < 0.05$ ).

## Conclusion

SWE can quantitatively evaluate the hardness of different types of carotid plaques, and the mean YM is correlated with blood lipids levels. SWE can provide elastic hardness information for clinical evaluation of plaque stability.

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

Key words: Shear wave ultrasound elastography; Carotid plaque; Elastic hardness; Blood lipid level

Ouyang J, Zhang XR, Wang XW. Assessment of carotid plaque hardness in patients with fatty liver by shear wave elastography: Correlation with blood lipid levels. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 878-882

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/878.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.878>

## 摘要

### 背景

超声在颈动脉斑块筛查、密度结构判定、稳定性评估等方面发挥着重要作用。剪切波超声弹性成像(shear wave elastography, SWE)作为一种全新的超声弹性成像方法,可通过分析剪切波传播速度来定量评估生物组织的弹性硬度信息。因此,运用SWE定量分析不同类型颈动脉斑块的硬度特征,可为临床评估斑块稳定性提供有价值的参考。

### 目的

运用SWE测定脂肪肝患者不同类型颈动脉斑块硬度,探讨其与血脂水平相关性。

### 方法

回顾性分析130例存在颈动脉单一斑块的脂肪肝患者临床资料,共计130个斑块。根据常规超声下斑块回声不同分为3组:软斑块组(40例)、混合性斑块组(52例)、硬斑块组(38例)。对所有斑块行SWE检查,测量各斑块平均杨氏模量值,并分析其与低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)以及高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)水平的相关性。

### 结果

硬斑块组平均杨氏模量值、HDL-C水平明显高于混

合性斑块组及软斑块组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );混合性斑块组平均杨氏模量值、HDL-C水平明显高于软斑块组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );硬斑块组LDL-C水平明显低于混合性斑块组及软斑块组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );混合性斑块组LDL-C水平明显低于软斑块组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );颈动脉斑块平均杨氏模量值与LDL-C水平呈负相关性( $r = -0.71, P < 0.05$ ),与HDL-C水平呈正相关性( $r = 0.75, P < 0.05$ )。

## 结论

SWE能定量评估不同类型颈动脉斑块的软硬度,其平均杨氏模量值与血脂水平具有一定相关性,可为临床评估斑块稳定性提供硬度信息。

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

关键词: 剪切波超声弹性成像; 颈动脉斑块; 弹性硬度; 血脂水平

**核心提要:** 本研究运用剪切波超声弹性成像定量分析不同类型颈动脉斑块的硬度特征,探讨其与血脂水平的关联性,以期临床评估斑块稳定性提供有价值的参考。

欧阳骏, 张心荣, 王小伟. 剪切波超声弹性成像测定脂肪肝患者颈动脉斑块硬度及其与血脂水平相关性. *世界华人消化杂志* 2019; 27(14): 878-882

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/878.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.878>

## 0 引言

剪切波超声弹性成像(shear wave elastography, SWE)是一项能将影像学、生物力学以及病理学紧密相连,并量化反映生物组织硬度力学特征的超声新技术<sup>[1]</sup>。目前SWE已广泛应用于肝脏、甲状腺、前列腺、乳腺等脏器疾病诊治中,但其在颈动脉斑块方面的应用研究较少<sup>[2]</sup>。本研究运用SWE定量分析不同类型颈动脉斑块的硬度特征,探讨其与血脂水平的关联性,以期临床评估斑块稳定性提供有价值的参考。

## 1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2017-05/2019-03期间,来德清县人民医院就诊的存在颈动脉单一斑块的130例脂肪肝患者临床资料,其中男98例,女32例,年龄52-76岁,平均年龄66.75岁±6.12岁。纳入标准:1. 颈动脉单一斑块,2. 均为脂肪肝患者,3. 斑块均未曾使用过相关药物治疗。共计130个颈动脉斑块,根据常规超声下斑块回声不同分为3组:软斑块组(40例),男31例,女9例,年龄54-74岁,平均年龄65.74岁±6.66岁,斑块厚度1.5-5.2 mm,平均厚度



3.56 mm±1.01 mm; 混合性斑块组(52例), 男39例, 女13例, 年龄57-76岁, 平均年龄66.43岁±5.79岁, 斑块厚度1.5-5.4 mm, 平均厚度3.51 mm±1.06 mm; 硬斑块组(38例), 男28例, 女10例, 年龄52岁±73岁, 平均年龄68.24岁±5.87岁, 斑块厚度1.5-5.1 mm, 平均厚度3.49 mm±0.92 mm. 三组间年龄、性别以及斑块厚度比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ).

**1.2 方法** 使用Aixplorer型超声诊断仪(Supersonic Imagine公司), 配有L15-4线阵探头(频率为4-15 MHz), 内置Q-BOX分析系统(取样框面积为1.0 mm<sup>2</sup>). 嘱患者取平卧位, 平静呼吸, 充分暴露颈部. 首先采用常规超声检查颈动脉, 观察颈动脉斑块位置, 内部回声, 厚度等情况. 调整扫查角度清晰显示颈动脉长轴切面和斑块二维图像, 固定探头于斑块最厚处, 在不施压于探头条件下, 启动SWE模式. 嘱患者屏住呼吸, 静息3 s后获取稳定超声图像并储存. 超声弹性图像中不同组织的弹性大小采用彩色编码进行代表, 蓝色至红色代表组织硬度从“软”至“硬”. 使用内置Q-BOX分析系统测定并记录整个斑块的平均杨氏模量值(单位kPa). 见图1, 由一名副高以上职称且经验丰富的超声医生进行超声操作检查.

**1.2.1 血脂水平测定:** 清晨, 空腹状态, 采集肘部静脉血, 采用OLYMPUS AU 2700全自动生化仪测定患者的高密度脂蛋白胆固醇(high density lipoprotein cholesterol, HDL-C)、低密度脂蛋白胆固醇(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C).

**1.2.2 判定标准:** 软斑块: 常规超声下呈低弱回声或等回声斑块, 为不稳定性斑块; 混合性斑块: 常规超声下呈不均质回声斑块, 为不稳定性斑块; 硬斑块: 常规超声下呈强回声斑块, 为稳定性斑块. 颈动脉内-中膜厚度≥1.5 mm定义为颈动脉斑块<sup>[3]</sup>. 血脂异常诊断标准参照《中国成人血脂异常防治指南》<sup>[4]</sup>.

**统计学处理** 采用SPSS 20.0进行数据处理分析. 计数资料表示为(%), 组间比较用 $\chi^2$ 检验. 计量资料表示为(mean±SD), 多组间比较用单因素方差分析, 两两比较用LSD- $t$ 检验. 两变量间相关性采用Pearson直线相关分析. 以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 组间平均杨氏模量值比较** 硬斑块组平均杨氏模量值明显高于混合性斑块组及软斑块组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 混合性斑块组平均杨氏模量值明显高于软斑块组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(见表1).

**2.2 组间LDL-C、HDL-C水平比较** 硬斑块组HDL-C水平明显高于混合性斑块组及软斑块组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 混合性斑块组HDL-C水平明显高于软斑

块组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 硬斑块组LDL-C水平明显低于混合性斑块组及软斑块组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ); 混合性斑块组LDL-C水平明显低于软斑块组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ )(见表2).

**2.3 颈动脉斑块平均杨氏模量与LDL-C、HDL-C相关性** 颈动脉斑块平均杨氏模量与LDL-C水平呈负相关性( $r = -0.71, P<0.05$ ), 与HDL-C水平呈正相关性( $r = 0.75, P<0.05$ ).

## 3 讨论

脂肪肝患者存在血脂异常, 其颈动脉斑块发病率明显增加. 颈动脉斑块是导致心脑血管疾病的重要病因, 其稳定性与心脑血管疾病的发生发展密切相关<sup>[5]</sup>. 颈动脉斑块的稳定性不同, 临床治疗手段及后果截然不同. 对于不稳定性斑块即便体积较小也更容易发生破裂, 并导致严重的急性心脑血管事件, 因此早期发现不稳定性斑块有着重要临床意义<sup>[6]</sup>.

超声具有无创、简便、廉价等优点而被广泛应用于颈动脉斑块筛查中. 常规二维超声能观察斑块位置、形态结构以及回声特征, 虽可反映斑块密度与声阻抗, 但无法完全反映斑块软硬质地, 且主观性较强, 难以量化评估斑块稳定性<sup>[7]</sup>. SWE能弥补常规超声上述不足, 操作过程无需施压, 经验依赖性小, 且具有较好重复性及客观性. 其基本原理是通过超声探头向生物组织深度方向发射声辐射脉冲产生激励, 然后以高速成像方法分析剪切波的传播速度以获取生物组织的硬度属性信息, 并以数字形式量化表达, 实现了弹性硬度测量和成像目的<sup>[8]</sup>. 杨氏模量值是SWE的一项重要定量参数, 不仅能量化反映生物组织的弹性硬度, 而且经彩色编码可直观反映斑块内部组成和硬度分布特征. 本研究结果中, 硬斑块组平均杨氏模量值明显高于混合性斑块组及软斑块组( $P<0.05$ ), 而混合性斑块组平均杨氏模量值明显高于软斑块组( $P<0.05$ ). 提示运用SWE能准确反映不同类型颈动脉斑块间的硬度差异, 通过斑块的杨氏模量值可量化评估斑块本身的弹性硬度性质及稳定性, 即杨氏模量值越高, 斑块硬度越大, 稳定性越好. 这是由于不同类型斑块的病理组织成分存在差异<sup>[9]</sup>. 软斑块所含有的脂质成分较丰富, 而平滑肌成分以及胶原纤维组织含量较少, 属于不稳定性斑块, 表现为组织弹性硬度小, 反映在SWE上为平均杨氏模量值小; 硬斑块含有大量钙质成分以及胶原纤维组织, 而脂质成分缺乏, 无出血溃疡, 属于稳定性斑块, 表现为组织弹性硬度大, 反映在SWE上为平均杨氏模量值大; 混合性斑块存在出血溃疡, 其内含有钙化成分以及胶原纤维, 结构成分处于硬斑块和软斑块之间, 斑块趋于不稳定.

表 1 组间平均杨氏模量值比较

组别	软斑块组	混合性斑块组	硬斑块组	P值	P值
↑	40	52	38		
mean YM (kPa)	26.17 ± 9.88	47.66 ± 14.42 <sup>a</sup>	83.41 ± 16.32 <sup>bc</sup>	170.396	0.000

<sup>a</sup>P<0.05, vs软斑组; <sup>c</sup>P<0.05, vs混合性斑块组。

表 2 组间低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇水平比较

组别	软斑块组(n = 40)	混合斑块组(n = 52)	硬斑块组(n = 38)	P值	P值
LDL-C (mmol/L)	6.56 ± 1.30	4.83 ± 0.83 <sup>a</sup>	3.33 ± 0.70 <sup>bc</sup>	109.495	0.000
HDL-C (mmol/L)	1.14 ± 0.48	1.79 ± 0.61 <sup>a</sup>	2.58 ± 0.68 <sup>bc</sup>	57.588	0.000

<sup>a</sup>P<0.05, vs软斑组; <sup>c</sup>P<0.05, vs混合性斑块组。LDL-C: 低密度脂蛋白胆固醇; HDL-C: 高密度脂蛋白胆固醇。

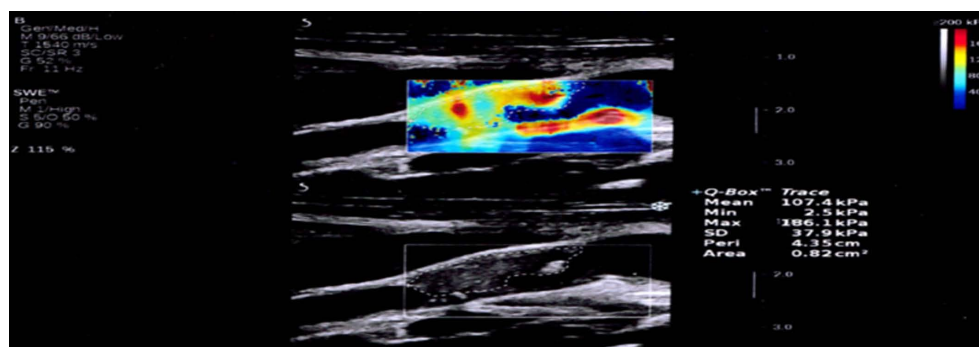


图 1 剪切波超声弹性成像检查示意图。剪切波超声弹性成像获得混合回声斑块的平均杨氏模量值为107.4 kPa。

血脂异常可引起血管内皮损伤, 血小板黏聚, 是导致动脉粥样硬化性疾病发生发展的必要因素。LDL-C是造成动脉粥样硬化的主要脂蛋白, 通过促进泡沫细胞形成导致动脉粥样硬化<sup>[10]</sup>。HDL-C水平反映了机体逆向转运胆固醇的能力, 通过胆固醇逆转机制可促进血液中脂蛋白与游离胆固醇结合并送至肝脏进行分解, 以维持组织细胞内胆固醇量稳定, 遏制动脉粥样硬化, 对斑块稳定性发挥保护作用<sup>[11]</sup>。本研究结果中, 硬斑块组HDL-C水平明显高于混合性斑块组及软斑块组( $P<0.05$ ), 混合性斑块组HDL-C水平明显高于软斑块组( $P<0.05$ ), 而硬斑块组LDL-C水平明显低于混合性斑块组及软斑块组( $P<0.05$ ), 混合性斑块组LDL-C水平明显低于软斑块组( $P<0.05$ )。提示监测患者的血脂水平有助于评估斑块的病理组分及稳定性。

本研究结果显示, 颈动脉斑块平均杨氏模量与LDL-C水平呈负相关性( $r = -0.71, P<0.05$ ), 与HDL-C水平呈正相关性( $r = 0.75, P<0.05$ )。提示随着LDL-C水平上升, 颈动脉斑块的平均杨氏模量值越小, 即斑块质地越软, 稳定性越差。颈动脉斑块平均杨氏模量与HDL-C呈

正相关, 提示随着HDL-C水平上升, 颈动脉斑块的平均杨氏模量值越大, 即斑块质地越硬, 稳定性越好。因此, 积极有效的血脂水平控制有利于颈动脉斑块趋于稳定。

总之, SWE能定量反映不同类型颈动脉斑块的软硬度, 其平均杨氏模量值与血脂水平具有一定相关性, 可为临床评估斑块稳定性提供弹性硬度信息, 有望成为临床评估斑块稳定性的可靠影像学技术。

## 文章亮点

### 实验背景

颈动脉斑块稳定性是心脑血管疾病发生发展的关键因素, 而斑块稳定性与其软硬度密切相关。剪切波超声弹性成像(shear wave elastography, SWE)可准确反映颈动脉斑块的软硬度信息, 为评价斑块稳定性提供了新途径。

### 实验动机

本篇论文研究的主题是运用SWE测定不同类型颈动脉斑块的平均杨氏模量值, 探讨其与血脂水平的相关性,

从而定量评估颈动脉斑块的稳定性。

### 实验目标

本篇论文研究的主要目标是探讨脂肪肝患者颈动脉斑块硬度及其与血脂水平相关性, 并证实了SWE能定量分析颈动脉斑块的软硬度, 有助于临床评估颈动脉斑块的稳定性。

### 实验方法

本篇论文为了达到目标采用了SWE技术, 该技术操作过程无需施压, 经验依赖性小, 且能定量分析生物组织的软硬度。

### 实验结果

本篇论文的研究达到了实验目标, 所取得的研究成果有: 硬斑块组平均杨氏模量值、HDL-C水平明显高于混合性斑块组及软斑块组, 而混合性斑块组明显高于软斑块组( $P<0.05$ ); 颈动脉斑块平均杨氏模量值与低密度脂蛋白胆固醇水平呈负相关性, 与高密度脂蛋白胆固醇水平呈正相关性。本研究结果证实了SWE能定量分析颈动脉斑块的软硬度, 可为临床评估斑块稳定性提供可靠的影像学方法。

### 实验结论

硬斑块的平均杨氏模量值>混合性斑块>软斑块。SWE能准确反映颈动脉斑块的软硬度。SWE能定量分析颈动脉斑块的软硬度, 其平均杨氏模量值与血脂水平相关性良好, 有助于临床评估斑块稳定性。SWE能定量分析颈动脉斑块的软硬度, 可为临床评估斑块稳定性提供参考依据。SWE能评估颈动脉斑块的硬度特征及稳定性。运用SWE定量分析脂肪肝患者颈动脉斑块硬度及其与血脂水平相关性。SWE的平均杨氏模量值与脂肪肝患者的血脂水平具有良好相关性。SWE有助于评估颈动脉斑块的硬度特征及稳定性。SWE可为临床评估颈动脉斑块软硬度及稳定性提供一种可靠的定量分析方法。

### 展望前景

嘱患者屏住呼吸, 静息3 s后以获取稳定可靠的超声图

像。运用SWE定量评估颈动脉斑块的临床疗效。SWE联合超声造影评估颈动脉斑块的性质。

### 4 参考文献

- 1 Sande JA, Verjee S, Vinayak S, Amersi F, Ghesani M. Ultrasound shear wave elastography and liver fibrosis: A Prospective Multicenter Study. *World J Hepatol* 2017; 9: 38-47 [PMID: 28105257 DOI: 10.4254/wjh.v9.i1.38]
- 2 Park SY, Choi JS, Han BK, Ko EY, Ko ES. Shear wave elastography in the diagnosis of breast non-mass lesions: factors associated with false negative and false positive results. *Eur Radiol* 2017; 27: 3788-3798 [PMID: 28168373 DOI: 10.1007/s00330-017-4763-6]
- 3 刘广彬, 夏光伟, 龚开政, 张振刚. 成人低密度脂蛋白亚型与颈动脉内膜中膜厚度的关系. *中国动脉硬化杂志* 2018; 26: 1154-1158 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-3949.2018.11.014]
- 4 诸骏仁, 高润霖, 赵水平, 陆国平, 赵冬, 李建军. 中国成人血脂异常防治指南(2016年修订版). *中国循环杂志* 2016; 16: 15-35 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-3614.2016.10.001]
- 5 吕静, 袁雪红, 黄晓新, 吕静. 颈动脉粥样硬化斑块的超声组织特征对2型糖尿病患者心脑血管事件预测的意义. *国际脑血管病杂志* 2018; 26: 533 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4165.2018.07.011]
- 6 杨红霞, 蒋恒波. 他汀类药物对老年颈动脉粥样硬化斑块的影响和对急性心脑血管事件的干预作用. *临床合理用药杂志* 2018; 12: 78-80 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2016.09.001]
- 7 刘建英, 陈立伟, 沈新天. 急性脑梗死病灶与颈动脉硬化斑块性质相关性的超声研究. *中国实用神经疾病杂志* 2018; 21: 6-10 [DOI: 10.12083/SYSJ.2018.10.262]
- 8 Skerl K, Vinnicombe S, Giannotti E, Thomson K, Evans A. Influence of region of interest size and ultrasound lesion size on the performance of 2D shear wave elastography (SWE) in solid breast masses. *Clin Radiol* 2015; 70: 1421-1427 [PMID: 26455652 DOI: 10.1016/j.crad.2015.08.010]
- 9 Pawluś A, Inglot M, Chabowski M, Szymańska K, Inglot M, Patyk M, Słonina J, Caseiro-Alves F, Janczak D, Zaleska-Dorobisz U. Shear wave elastography (SWE) of the spleen in patients with hepatitis B and C but without significant liver fibrosis. *Br J Radiol* 2016; 89: 20160423 [PMID: 27529729 DOI: 10.1259/bjr.20160423]
- 10 Hoogeveen RC, Gaubatz JW, Sun W, Dodge RC, Crosby JR, Jiang J, Couper D, Virani SS, Kathiresan S, Boerwinkle E, Ballantyne CM. Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34: 1069-1077 [PMID: 24558110 DOI: 10.1161/ATVBAHA.114.303284]
- 11 Kawakami R, Matsumoto I, Shiomi M, Kurozumi M, Miyake Y, Ishizawa M, Ishikawa K, Murakami K, Noma T, Takagi Y, Nishimoto N, Minamino T. Role of the Low-Density Lipoprotein-Cholesterol/High-Density Lipoprotein-Cholesterol Ratio in Predicting Serial Changes in the Lipid Component of Coronary Plaque. *Circ J* 2017; 81: 1439-1446 [PMID: 28458377 DOI: 10.1253/circj.CJ-16-1209]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红





## 抗*H. pylori*治疗对胆石症患者胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>活性及免疫功能的影响

朱蔓然, 宁雪莲, 姚卫民, 郭勇杭, 何丽娟, 卢如相

朱蔓然, 宁雪莲, 郭勇杭, 何丽娟, 卢如相, 粤北人民医院消化内科 广东省韶关市 512025

姚卫民, 广东医科大学附属医院临床研究中心 广东省湛江市 524000

朱蔓然, 主任医师, 研究方向胆石症、重症胰腺炎等胆胰疾病.

基金项目: 韶关市科技计划项目, No. 2014CX/K2.

作者贡献分布: 主要实验、数据分析及文章起草由朱蔓然完成; 病例选择、样本取材及临床资料整理何丽娟、卢如相及郭勇杭完成; PCR和免疫组化分析由姚卫民与宁雪莲完成; 课题设计、文章修改及审阅由朱蔓然完成.

通讯作者: 朱蔓然, 主任医师, 512025, 广东韶关市武江区惠民南路133号, 粤北人民医院消化内科. [zhumanran1975@163.com](mailto:zhumanran1975@163.com)  
电话: 0751-6913559

收稿日期: 2019-03-04

修回日期: 2019-06-19

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-07-28

### Effect of anti-*Helicobacter pylori* therapy on bile *H. pylori* DNA and PLA<sub>2</sub> activity and immune function in patients with cholelithiasis

Man-Ran Zhu, Xue-Liang Ning, Wei-Min Yao, Yong-Hang Guo, Li-Juan He, Ru-Xiang Lu

Man-Ran Zhu, Xue-Liang Ning, Yong-Hang Guo, Li-Juan He, Ru-Xiang Lu, Department of Gastroenterology, Yuebei People's Hospital, Shaoguan 512025, Guangdong Province, China

Wei-Min Yao, Clinical Research Center of Affiliated Hospital of Guangdong Medical University, Zhanjiang 524000, Guangdong Province, China

Supported by: Shaoguan Science and Technology Program, No. 2014CX/K256.

Corresponding author: Man-Ran Zhu, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Yuebei People's Hospital, 133 Huimin South

Road, Wujiang District, Shaoguan 512025, Guangdong Province, China. [zhumanran1975@163.com](mailto:zhumanran1975@163.com)

Received: 2019-03-04

Revised: 2019-06-19

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-07-28

### Abstract BACKGROUND

The pathogenesis of cholelithiasis is related to many factors including the dynamics of the biliary system, the change of bile content, the infection with bacteria like *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) and so on. *H. pylori* infection, on the one hand, may result in the increase of phospholipase A<sub>2</sub> (PLA<sub>2</sub>) in bile, which could promote cholesterol precipitation and later cause bile stone formation. On the other hand, *H. pylori* infection could stimulate the body's immune response and then lead to the decline of immune function. It is still unknown whether anti-*H. pylori* therapy in patients with cholelithiasis complicated with *H. pylori* infection could reduce PLA<sub>2</sub> activity and improve immune function. The objective of this study was to investigate the effect of anti-*H. pylori* therapy on bile *H. pylori* DNA and PLA<sub>2</sub> and immune function in patients with cholelithiasis.

### AIM

To investigate the effect of anti-*H. pylori* therapy on bile *H. pylori* DNA and PLA<sub>2</sub> and immune function in patients with cholelithiasis.

### METHODS

A total of 80 patients who were treated by endoscopic retrograde cholangiopancreatography choledocholithotomy plus endoscopic nasobiliary drainage for cholelithiasis or who underwent surgical bile duct

stone removal combined with T tube drainage and had *H. pylori* infection were selected. They were randomly divided into either a study group or a control group ( $n = 40$  each). The study group was treated with anti-*H. pylori* therapy, and the control group underwent proton pump inhibitor treatment. Changes in the negative conversion rate of bile *H. pylori* DNA, PLA<sub>2</sub> activity, and immune function were compared between the two groups.

## RESULTS

The negative conversion rate of bile *H. pylori* DNA in the study group was significantly higher than that in the control group (92.50% vs 67.50%,  $P < 0.05$ ). PLA<sub>2</sub> activity in bile in the study group was significantly lower than that in the control group after treatment ( $P < 0.05$ ), but there was no significant difference in immunoglobulin A or immunoglobulin M between the two groups ( $P > 0.05$ ). Immunoglobulin G was increased after treatment ( $P < 0.05$ ), and there was a significant difference in immunoglobulin G between the two groups ( $P < 0.05$ ). The levels of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in the study group were better than those the control group ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Anti-*H. pylori* therapy can improve the immune function in patients with cholelithiasis possibly by improving the negative conversion rate of *H. pylori* DNA and lowering the level of bile PLA<sub>2</sub>.

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

Key Words: Cholelithiasis; Anti-*H. pylori* therapy; Bile *H. pylori* DNA; Phospholipase A<sub>2</sub> activity; Immune function

Zhu MR, Ning XL, Yao WM, Guo YH, He LJ, Lu RX. Effect of anti-*Helicobacter pylori* therapy on bile *H. pylori* DNA and PLA<sub>2</sub> activity and immune function in patients with cholelithiasis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 883-888  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/883.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.883>

## 摘要

### 背景

胆石症发病与胆道系统动力学、胆汁成分改变、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染等因素有关。*H. pylori*感染一方面能引起胆汁中磷脂酶A<sub>2</sub>(phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>)释放增加,可促进胆固醇沉淀,引发结石;另一方面,*H. pylori*感染可对机体免疫反应产生刺激作用,导致免疫功能下降。胆石症合并*H. pylori*感染抗*H. pylori*治疗,能否降低PLA<sub>2</sub>活性、改善免疫功能,目前并不确切。本研究初步探讨抗*H. pylori*治疗与胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>、免疫功能关系。

## 目的

探讨胆石症患者实施抗*H. pylori*治疗对其胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>活性以及免疫功能的影响。

## 方法

选取粤北人民医院2014-06/2018-03因胆石症行经内镜逆行性胰胆管造影术胆总管取石+鼻胆管引流术或外科胆管取石行T管引流术合并*H. pylori*感染患者80例。通过随机数字法分为两组,40例予以抗*H. pylori*治疗者为研究组,40例常规施予质子泵抑制剂治疗者为对照组。回顾性对比分析两组胆汁*H. pylori* DNA转阴率、PLA<sub>2</sub>活性、免疫功能变化。

## 结果

研究组胆汁*H. pylori* DNA转阴率为92.50%,较对照组的67.50%高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ );研究组治疗后PLA<sub>2</sub>低于对照组,差异存在统计学意义( $P < 0.05$ );两组治疗后免疫球蛋白A、免疫球蛋白M差异无统计学意义( $P > 0.05$ );治疗后免疫球蛋白G较治疗前升高,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),且两组免疫球蛋白G差异有统计学意义( $P < 0.05$ );研究组CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平优于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 结论

抗*H. pylori*治疗可通过提升*H. pylori* DNA转阴率、降低胆汁PLA<sub>2</sub>水平,达到改善患者免疫功能。

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

关键词: 胆石症; 抗*H. pylori*治疗; 胆汁*H. pylori* DNA; 磷脂酶活性; 免疫功能

**核心提要:**胆石症患者存在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染时,可导致磷脂酶A<sub>2</sub>(phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>)活性增加、刺激免疫反应;促进胆固醇沉淀,引发结石。分析抗*H. pylori*治疗对胆汁*H. pylori* DNA转阴率、PLA<sub>2</sub>水平及免疫功能影响。明确抗*H. pylori*治疗对胆石症合并*H. pylori*感染患者是否带来益处。

朱蔓然, 宁雪莲, 姚卫民, 郭勇杭, 何丽娟, 卢如相. 抗*H. pylori*治疗对胆石症患者胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>活性及免疫功能的影响. *世界华人消化杂志* 2019; 27(14): 883-888

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/883.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.883>

## 0 引言

胆石症是常见胆道系统疾病的一种,发病与胆道系统动力学、胆汁成分改变、细菌感染等因素有关<sup>[1]</sup>。研究指出,胆石症患者胆汁幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*,

*H. pylori*)DNA与胃*H. pylori*呈正相关的关系, 胆石症患者被*H. pylori*感染后, 胆汁中磷脂酶A<sub>2</sub>(phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>)水平会升高, *H. pylori*感染可对机体免疫反应产生刺激作用, 导致免疫功能下降<sup>[2]</sup>. 此次研究对本院2014-06/2018-03收治的80例胆石症并*H. pylori*感染患者展开分组对比研究, 分别行抗*H. pylori*治疗与常规质子泵抑制剂治疗, 以进一步观察胆石症患者行抗*H. pylori*治疗的临床价值, 现将两组治疗情况分析如下.

## 1 材料和方法

1.1 材料 本次研究共纳入80例患者为对象, 均为患胆石症, 于2014-06/2018-03经内镜逆行性胰胆管造影术(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)胆总管取石+鼻胆管引流术或外科胆管取石行T管引流术患者, 均符合纳入标准: (1)合并胆道感染以及无其他部位感染, 均予以三代头孢抗生素抗炎, 术前14C-尿素呼气试验阳性; (2)引流前胆汁中*H. pylori* DNA阳性; (3)同意参与研究并已签署知情同意书者; (4)粤北人民医院医学伦理会支持此研究. 排除标准: (1)合并血液、免疫系统严重疾病或其他机体器官疾病者; (2)过敏体质者; (3)无法配合研究者. 通过随机数字法分为两组: 研究组40例(予以抗*H. pylori*治疗), 性别: 男22例(55.00%), 女18例(45.00%); 年龄: 33-75岁, 平均年龄53.63岁±6.42岁. 对照组40例(未行抗*H. pylori*治疗), 性别: 男23例(57.50%), 女17例(42.50%); 年龄: 32-75岁, 平均年龄53.62岁±6.37岁. 统计并对比两组以上资料, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 可比较.

1.2 方法 研究组行抗*H. pylori*治疗: 予以常规剂量质子泵抑制剂(奥美拉唑或兰索拉唑)+阿莫西林胶囊(剂量: 0.5 g, 珠海联邦制药股份有限公司, H44023994)1000 mg bid+克拉霉素片(剂量: 0.25 g, 金星制药有限公司, H20065652)0.50 g bid+果胶铋(剂量: 50 mg, 桂林华信制药有限公司, H20113216), 150 mg tid, 持续7 d. 对照组行常规剂量质子泵抑制剂(奥美拉唑或兰索拉唑), 持续7 d.

观察指标: (1)胆汁*H. pylori* DNA转阴情况. 两组均通过引流管留取引流第1 d、第7 d胆汁, 通过聚合酶链反应法测定胆汁*H. pylori* DNA, 观察治疗后两组胆汁*H. pylori* DNA转阴率<sup>[3]</sup>; (2)PLA<sub>2</sub>. 留取引流第1 d、7 d胆汁, 采用酸滴定法测定两组治疗前、治疗后7 d胆汁中PLA<sub>2</sub>水平<sup>[4]</sup>; (3)免疫功能. 分别于治疗前、治疗后应用通过酶联免疫吸附法测定两组患者免疫球蛋白A(immunoglobulin A, IgA)、免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)、免疫球蛋白M(immunoglobulin M, IgM)<sup>[5]</sup>. 同时, 以流式细胞仪测定两组T淋巴细胞亚群CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平.

统计学处理 本研究涉及数据均输入Excel表格进

行统计, 并通过SPSS 20.0软件展开分析, mean±SD/*t*表示与检验计量资料,  $n(\%)/\chi^2$ 表示与检验计数资料, 结果显示 $P<0.05$ , 表明有统计学意义.

## 2 结果

2.1 对比两组胆汁*H. pylori* DNA转阴率 研究组胆汁*H. pylori* DNA转阴率为92.50%, 对照组是67.50%, 两组比较, 研究组较高, 差异存在统计学意义( $P<0.05$ ), 见表1.

2.2 对比两组PLA<sub>2</sub>治疗前, 两组PLA<sub>2</sub>对比差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗后7 d, 两组PLA<sub>2</sub>均低于治疗前, 组间比较, 研究组更低, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表2.

2.3 对比两组免疫功能 治疗前, 两组IgA、IgG、IgM比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗后, 两组IgA、IgM与治疗前差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 但治疗后两组IgG较治疗前升高, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 且治疗后两组IgG差异有统计学意义( $P<0.05$ )见表3. 治疗前, 两组CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 治疗后, 两组CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平均较治疗前改善, 组间对比研究组优于对照组, 差异有统计学意义( $P<0.05$ ), 见表4.

## 3 讨论

3.1 胆石症与*H. pylori*感染 胆石症在我国发病率约7.0%-10.0%, 其形成机制表现出复杂性特征<sup>[6,7]</sup>. 近年来, 关于*H. pylori*感染与胆石症关联性逐渐受临床重视. 综合既往临床研究, *H. pylori*导致胆石症发生的机制可能如下: (1)PLA<sub>2</sub>活性增加. *H. pylori*是肠道感染性疾病的主要致病菌, 可逆流进入胆道, 其PLA<sub>2</sub>活性较其他细菌高, 也可导致PLA<sub>2</sub>释放增多, 而PLA<sub>2</sub>释放增多, 而PLA<sub>2</sub>可促进胆固醇沉淀, 引发结石<sup>[8,9]</sup>; (2)刺激机体免疫反应. *H. pylori*感染可对机体免疫反应产生刺激作用, 使相关抗体、促成核代谢物增多, 致使促、抗成核因子平衡性下降, 吸附胆固醇、钙盐, 进而形成结石<sup>[10]</sup>; (3)诱导局部炎症反应, 致使胆道系统局部发生慢性损伤, 导致胆汁淤结, 促使结石形成; (4)促使胆管上皮增殖. 胆管受*H. pylori*感染后, 引起上皮增殖, 导致胆管狭窄, 影响胆汁顺利流动, 致使胆汁淤结, 进而导致胆石发生<sup>[11,12]</sup>. 因此, 对胆石患者实施治疗时, 临床上逐渐将抗*H. pylori*治疗视作新方向.

3.2 胆石症患者行抗*H. pylori*治疗的临床价值 通常情况下, *H. pylori*于动物、人体的胃黏膜黏液层定植, 但近年来, 临床研究不断发现通过分子生物学技术可从胆石症患者胆汁中检出*H. pylori*的DNA<sup>[13,14]</sup>, 但未能从胆汁中培养出*H. pylori*. 同时, 随着胆石与*H. pylori*关联性的研究日渐深入, *H. pylori*在胆石发生、发展中的作用不断被重视, 且临床上逐渐将抗*H. pylori*治疗方案应用于胆石



表 1 两组胆汁幽门螺旋杆菌DNA转阴率对比

分组	例数( <i>n</i> )	转阴例数( <i>n</i> )	转阴率(%)
对照组	40	27	67.50
研究组	40	37	92.50 <sup>a</sup>
$\chi^2$	—	—	7.812
<i>P</i> 值	—	—	0.005

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与对照组比较.

表 2 两组治疗前后磷脂酶对比(mean ± SD, U/L)

分组	治疗前	治疗后7 d	<i>t</i> 值	<i>P</i> 值
对照组( <i>n</i> = 40)	479.31 ± 60.65	235.77 ± 47.08 <sup>a</sup>	21.680	0.000
研究组( <i>n</i> = 40)	477.73 ± 76.49	211.28 ± 42.11 <sup>ac</sup>	19.376	0.000
<i>t</i> 值	0.103	2.453	—	—
<i>P</i> 值	0.918	0.016	—	—

<sup>a</sup>*P* < 0.05, 与治疗前比较; <sup>c</sup>*P* < 0.05, 与对照组比较.

表 3 两组免疫功能对比(mean ± SD, U/L)

分组	IgA		IgG		IgM	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
对照组( <i>n</i> = 40)	1.59 ± 0.49	1.61 ± 0.52 <sup>a</sup>	10.72 ± 2.55	11.36 ± 2.30 <sup>a</sup>	1.46 ± 0.43	1.49 ± 0.41 <sup>a</sup>
研究组( <i>n</i> = 40)	1.64 ± 0.50	1.66 ± 0.47 <sup>ac</sup>	10.98 ± 2.38	12.41 ± 2.15 <sup>ac</sup>	1.49 ± 0.50	1.47 ± 0.49 <sup>ac</sup>
<i>t</i> 值	-0.434	-0.367	-0.456	-2.101	-0.278	0.245
<i>P</i> 值	0.665	0.715	0.649	0.039	0.782	0.807
<i>t</i> 值 <sup>1</sup>	-1.417		-8.648		-1.272	
<i>P</i> 值 <sup>1</sup>	0.164		0.000		0.211	
<i>t</i> 值 <sup>2</sup>	-0.679		-13.982		1.285	
<i>P</i> 值 <sup>2</sup>	0.501		0.000		0.206	

<sup>1</sup>为对照组治疗前后对比; <sup>2</sup>研究组治疗前后对比; <sup>a</sup>*P* < 0.05, 与IgG治疗前比较; <sup>c</sup>*P* < 0.05, 与对照组比较. Ig: 免疫球蛋白.

症患者<sup>[15]</sup>. 本次研究, 研究组施予抗*H. pylori*治疗, 对照组实施常规治疗, 结果显示, 研究组治疗后*H. pylori* DNA转阴率为92.50%, 较对照组的67.50%高, 差异有统计学意义, 提示抗*H. pylori*治疗可促进胆石症患者*H. pylori* DNA转阴. 本研究通过四联疗法展开抗*H. pylori*治疗, 可改变*H. pylori*生存环境, 并直接对*H. pylori*产生毒性作用, 四种药物共同发挥协同作用, 在杀灭*H. pylori*的同时, 可使*H. pylori*对抗生素的耐药性减少, 进而达到良好的抗*H. pylori*效果. 目前研究证实胆汁*H. pylori* DNA与胃内*H. pylori*感染呈正相关, 考虑胃肠道*H. pylori*逆流进入胆管有关. 通过四联法施予胆石症患者抗*H. pylori*治疗后, 其胃肠道及胆道系统中的*H. pylori*减少. *H. pylori*治疗后*H. pylori* DNA也随之减少, 但关于抗*H. pylori*治疗促进

*H. pylori* DNA转阴的机制尚不明确, 可能抗*H. pylori*治疗后根除胃内*H. pylori*, 导致逆流进入胆管*H. pylori*减少、消失有关, 并实现胆汁中*H. pylori* DNA转阴. 但尚未见此方面的临床报道.

相较于其他细菌,*H. pylori*的PLA<sub>2</sub>活性较高,*H. pylori*可经Oddis括约肌进入胆道系统中, 致使胆道中*H. pylori*增多, 并释放出大量的PLA<sub>2</sub><sup>[16]</sup>. 研究表明, 正常情况下, 胆汁中有少量的PLA<sub>2</sub>存在, 但无活性, 对胆石症患者胆汁实施检测, 可见PLA<sub>2</sub>高表达, 在一定程度上证实了胆石症发生存在*H. pylori*的作用<sup>[17]</sup>. 基于此, 对胆石症患者实施治疗时, 粤北人民医院尝试施予抗*H. pylori*方面的治疗. 本次研究, 研究组治疗后PLA<sub>2</sub>显著较对照组低, 差异有统计学意义, 提示抗*H. pylori*治疗可降低胆石症

表 4 两组治疗前后免疫功能对比(n = 40, mean ± SD, %)

组别	CD4 <sup>+</sup>		t值	P值	CD8 <sup>+</sup>		t值	P值
	治疗前	治疗后			治疗前	治疗后		
C对照组	29.87 ± 3.36	32.53 ± 1.21 <sup>a</sup>	4.962	0.045	31.19 ± 2.42	28.02 ± 1.03 <sup>a</sup>	4.854	0.046
研究组	29.88 ± 3.34	35.20 ± 2.15a <sup>c</sup>	11.427	0.039	31.20 ± 2.41	26.26 ± 1.24 <sup>ac</sup>	15.991	0.036
t值	-0.125	7.915	-	-	-0.018	8.152	-	-
P值	0.872	0.039	-	-	0.682	0.039	-	-

<sup>a</sup>P < 0.05, 与治疗前比较; <sup>c</sup>P < 0.05, 与对照组比较。

患者胆汁中的PLA<sub>2</sub>。胆石患者胆汁中PLA<sub>2</sub>一般来源于胃液反流、胆道内细菌分泌、胆囊黏膜分泌等,胆石患者大多伴有炎症,炎症因子可对胆囊黏膜产生刺激作用,促进其分泌大量的PLA<sub>2</sub>。而经抗*H. pylori*治疗后,药物对患者胃肠道*H. pylori*及其逆流胆汁中*H. pylori*产生杀灭作用。此外,PLA<sub>2</sub>来源于多种途径,四联方案不仅可以根除*H. pylori*,还可以杀灭其他产PLA<sub>2</sub>细菌。在控制*H. pylori*的基础上,胆道引流通畅,促使经胃液反流至胆汁中的PLA<sub>2</sub>减少、胆道黏膜炎症反应减轻对PLA<sub>2</sub>的释放量降低,进而降低PLA<sub>2</sub>水平及活性<sup>[18]</sup>。

*H. pylori*感染可对机体免疫反应产生刺激作用,导致免疫功能下降,进而致使胆道系统局部修复功能下降,胆结石患者大多存在免疫功能水平下降<sup>[19,20]</sup>。研究发现<sup>[21]</sup>,胆结石血清及胆汁*H. pylori*免疫印迹检测,均可检出4种主要*H. pylori*感染相关蛋白免疫球蛋白IgG、IgA、IgM, IgG更为密切相关。周玉宝等<sup>[22]</sup>研究发现胆石症取石术前、术后5 d测定CIC(循环免疫复合物)、Ig、T淋巴细胞亚群。结果与对照组比较,一方面胆结石患者术前IgG(g/L, 8.7 ± 2.0 vs 11.2 ± 3.2, P < 0.05),但术后恢复正常;另一方面, T淋巴细胞的活性被恢复, CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>恢复正常。因此,对胆石症患者实施治疗时,需重视对其免疫功能的及时改善,以促进胆道系统修复能力的提升,进而促进病情早日康复。一般而言,胆石症患者多需接受ERCP微创或外科手术治疗,本次研究,两组治疗前IgG偏低,治疗后IgG均能恢复正常, IgA、IgM治疗前后接近正常且变化不大;但我们发现实施抗*H. pylori*治疗后IgG恢复更明显。血清免疫复合物(circulating immune complex, CIC)中的抗体主要为IgG型, IgA及IgM关系不大。另外,本研究发现治疗后实验组CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平优于对照组。ERCP微创或外科手术取石治疗,经引流通畅及控制细菌感染后,胆道系统释放到血液中免疫复合物减少,且形成血液CIC减少。导致体内B细胞迅速增值分化,产生大量新抗体;随CIC减少,血液封闭因子减少,免疫耐受解除,体液免疫增强, IgG随之升高<sup>[21,22]</sup>并CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>恢复正常<sup>[22]</sup>。研究组因为实施抗*H. pylori*治

疗后,患者*H. pylori*减少, *H. pylori*感染相关蛋白免疫球蛋白IgG、IgA、IgM, 以IgG更为密切相关<sup>[23]</sup>。 *H. pylori*对免疫功能的抑制作用减弱,进而可能有助于改善患者IgG水平。

总之,对胆石患者,临床上可积极予以ERCP微创或外科手术取石治疗,抗*H. pylori*治疗,达到减少患者胆汁中*H. pylori* DNA、降低PLA<sub>2</sub>水平、改善患者IgG水平。但本次研究所选样本量不大,也未长期随访,尚需增加样本量、延长随访时间展开进一步探究。

## 文章亮点

### 实验背景

胆结石患者存在幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染因素,胆汁*H. pylori* DNA与胃内*H. pylori*感染呈正相关。*H. pylori*感染可刺激机体免疫反应及抑制局部正常的免疫调节和修复功能,促进结石形成。*H. pylori*具有高于其他细菌的磷脂酶A<sub>2</sub>(phospholipase A<sub>2</sub>, PLA<sub>2</sub>)活性。研究证实胆石症患者存在*H. pylori*感染时,胆汁中PLA<sub>2</sub>活性呈现增高表达,是*H. pylori*参与胆石症发生的重要机制之一。假设能确定抗*H. pylori*治疗后胆汁*H. pylori* DNA转阴率提高及PLA<sub>2</sub>活性下降明显,免疫功能改善。祛除胆石症形成因素之一,对胆石症预防及治疗均有意义。

### 实验动机

抗*H. pylori*治疗对胆石症胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>活性、免疫功能国内无相关性研究。需要探讨抗*H. pylori*治疗胆汁中*H. pylori* DNA阴转率、PLA<sub>2</sub>活性下降、免疫功能改善有无意义。

### 实验目标

探讨胆石症患者合并*H. pylori*感染实施抗*H. pylori*治疗对其胆汁*H. pylori* DNA、PLA<sub>2</sub>活性以及免疫功能的影响。进而为临床治疗胆石症合并*H. pylori*感染提供新的治疗靶点可能。

## 实验方法

选取行ERCP胆总管取石+鼻胆管引流术胆结石或外科胆管取石行T管引流术合并*H. pylori*感染患者, 随机平分两组. 研究组予以抗*H. pylori*治疗, 对照组常规给予质子泵抑制剂治疗. 对比分析两组胆汁*H. pylori* DNA转阴率、PLA<sub>2</sub>活性、免疫功能变化.

## 实验结果

抗*H. pylori*治疗对胆汁*H. pylori* DNA转阴率、PLA<sub>2</sub>下降、免疫球蛋白G改善、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>水平优于常规质子泵抑制剂治疗.

## 实验结论

胆结石患者合并*H. pylori*感染, 采用抗*H. pylori*治疗可提升*H. pylori* DNA转阴率、降低胆汁PLA<sub>2</sub>水平, 达到改善患者免疫功能. 建议临床采用.

## 展望前景

本次研究所选样本量不大, 也未长期随访, 尚需增加样本量、延长随访时间展开进一步探究.

## 4 参考文献

- 1 许松欣, 丁岩冰. 腹腔镜联合内镜治疗胆总管结石合并胆总管结石的诊治进展. 中国微创外科杂志 2015; 15: 376-379 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-6604.2015.04.027]
- 2 胡珍, 陈兰芳, 陈文生. 幽门螺杆菌与胆囊疾病关系的Meta分析. 重庆医学 2016; 45: 3817-3820 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2016.27.024]
- 3 Bie MJ, Yan J, Wang BN, Xie Y, Zhu J, Wang XT, Wang RH, Li MY, Yang J, Li YL. Establishment and application evaluation of quantitative detection method of *Helicobacter pylori* in oral cavity. *Medical Journal of West Chinese* 2017; 29: 17-21 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-3511.2017.01.00]
- 4 朱蔓然, 姚卫民, 卢如相, 朱剑华, 郭勇杭. 抗*H. pylori*治疗对胆结石胆汁*H. pylori* DNA及PLA<sub>2</sub>活性的影响. 现代消化及介入诊疗 2017; 22: 322-324 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2017.03.008]
- 5 尹乃宁, 冯彦蕊, 武文双. 抗线粒体抗体 II 型IgM与抗着丝点抗体IgG在原发性胆汁性肝硬化早期诊断中的意义. 中华风湿病学杂志 2015; 19: 389-391 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-7480.2015.06.007]
- 6 李帅, 张东. 胆管结石胆石的外科治疗进展. 医学综述 2015; 21: 1625-1627 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2015.09.033]
- 7 Mayer O Jr, Seidlerová J, Vaněk J, Kielbergerová L, Bruthans J, Filipovský J, Wohlfahrt P, Cifková R, Trefil L, Knapen MH, Drummen NE, Vermeer C. The association between

- uncarboxylated matrix Gla protein and lipoprotein-associated phospholipase A2. *Maturitas* 2015; 80: 82-88 [PMID: 25458708 DOI: 10.1016/j.maturitas.2014.10.003]
- 8 关春迪, 高孝忠. 幽门螺杆菌与胆结石的相关性. 临床消化病杂志 2015; 27: 312-314 [DOI: 10.3870/lcxh.j.issn.1005-541X.2015.05.18]
- 9 胡伏莲. 幽门螺杆菌研究聚焦和进展. 胃肠病学 2015; 20: 705-707 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2015.12.001]
- 10 Xu XD, Liu ZS, Sun Q, Zhang L. *Helicobacter pylori* and hepatolithiasis. *Inter J Surg* 2015; 42: 785-786 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4203.2015.11.021]
- 11 魏薇, 王舰. 幽门螺杆菌感染与全身各系统疾病的研究最新进展. 微生物学杂志 2015; 35: 86-91 [DOI: 10.3696/j.issn.1005-7021.2015.03.016]
- 12 Sumi-Akamaru H, Beck G, Kato S, Mochizuki H. Neuroaxonal dystrophy in PLA2G6 knockout mice. *Neuropathology* 2015; 35: 289-302 [PMID: 25950622 DOI: 10.1111/neup.12202]
- 13 古丽孜热·毛拉. 老年急性胆囊炎患者感染幽门螺杆菌的临床分析. 中国药物经济学 2015; 22: 113-114.
- 14 程瑛, 杨卫生. 胆总管结石与幽门螺杆菌感染的相关性分析. 医学信息 2016; 29: 146-147 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-1959.2016.2.9.105]
- 15 王伟, 朱建华, 韩江, 吴衍, 丁佩芬. 胆囊结石与胆囊壁黏膜幽门螺杆菌定植的关系. 世界华人消化杂志 2014; 22: 2064-2068 [DOI:10.11569/wcjd.v22.i14.2064]
- 16 Soto-Girón MJ, Ospina OE, Massey SE. Elevated levels of adaption in *Helicobacter pylori* genomes from Japan; a link to higher incidences of gastric cancer? *Evol Med Public Health* 2015; 2015: 88-105 [PMID: 25788149 DOI: 10.1093/emph/eov005]
- 17 Lamberts MP, Den Ouden BL, Gerritsen JJ, Roukema JA, Westert GP, Drenth JP, van Laarhoven CJ. Prospective multicentre cohort study of patient-reported outcomes after cholecystectomy for uncomplicated symptomatic cholecystolithiasis. *Br J Surg* 2015; 102: 1402-1409 [PMID: 26201942 DOI: 10.1002/bjs.9887]
- 18 宋敏. 幽门螺杆菌感染与胆汁反流的临床关系. 中外医学研究 2016; 14: 24-26 [DOI: 10.14033/j.cnki.cfmr.2016.9.013]
- 19 杨舒, 张雷. 幽门螺旋杆菌致病与免疫机制的研究进展. 中国病原生物学杂志 2017; 12: 283-285 [DOI: 10.13350/j.cjpb.170320]
- 20 李彦冬, 任强, 丁希艳. 幽门螺杆菌逆行感染与胃大部分切除术后胆结石多发原因. 中国老年学 2016; 36: 134-135 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.01.062]
- 21 周玉宝, 许昌泰, 潘伯荣. 胆结石手术患者CIC、Ig、T淋巴细胞亚群和胆石中细菌感染及IgG型IC变化. 中国误诊学杂志 2001; 1: 654-656 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-6647.2001.05.006]
- 22 周玉宝, 刘芳, 武易. 细菌感染引起胆管基底膜IgG型免疫复合物沉积致胆结石的影响. 细胞与分子免疫学杂志 2007; 23: 671-672 [DOI: 10.13423/j.cnki.cjcmi.004299]
- 23 郭吕, 唐俐, 郭新瑛, 朱景元, 王学东, 张月林, 陶卫东, 胡兵, 倪泉兴. 胆结石患者血清和胆汁幽门螺杆菌相关蛋白免疫印迹检测. 临床消化病杂志 2002; 14: 168-170 [DOI: 10.3870/j.issn.1005-541X.2002.04.009]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红





# 体部立体定向放射治疗结肠癌伴肺转移的临床特点Meta分析

刘海源, 雷鑫明

刘海源, 义乌市中心医院肛肠科 浙江省义乌市 322000

雷鑫明, 义乌市中心医院消化内科 浙江省义乌市 322000

刘海源, 副主任医师, 研究方向为结肠癌放化疗及靶向药物的研究.

作者贡献分布: 本文主要由刘海源撰写; 此课题、研究过程、数据分析均由刘海源完成; 雷鑫明主要负责英文摘要的写作.

通讯作者: 刘海源, 本科, 副主任医师, 浙江省义乌市江东中路 699号, 义乌市中心医院肛肠科. [liuhaiyuantougao@163.com](mailto:liuhaiyuantougao@163.com)

收稿日期: 2019-05-20

修回日期: 2019-07-01

接受日期: 2019-07-22

在线出版日期: 2019-07-28

## A meta-analysis of stereotactic radiotherapy for pulmonary oligometastases from colorectal cancer

Hai-Yuan Liu, Xin-Ming Lei

Hai-Yuan Liu, Department of Anorectal Medicine, Yiwu City Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Xin-Ming Lei, Department of Gastroenterology, Yiwu City Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Hai-Yuan Liu, Associate Chief Physician, Department of Anorectal Medicine, Yiwu City Central Hospital, 699 Jiangdong Middle Road, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. [liuhaiyuantougao@163.com](mailto:liuhaiyuantougao@163.com)

Received: 2019-05-20

Revised: 2019-07-01

Accepted: 2019-07-22

Published online: 2019-07-28

## Abstract BACKGROUND

For patients with colon cancer with lung metastasis, conventional radiotherapy is commonly used, which mainly acts on the double-stranded DNA inside the tumor cells. However, many foreign studies have found that increasing the dose of radiotherapy cannot improve the prognosis of patients, and because of its side effects on normal tissues, the commonly used dose of radiotherapy is usually between 60 and 70 Gy. However, the local control of lung tumors using this dose is not good. With the rapid development of science and technology, stereotactic body radiotherapy (SBRT) technology has been widely used in patients with non-small cell lung cancer, and SBRT is also used in patients with colon cancer and lung metastasis. However, some studies have found that because there are more hypoxic cells in colon cancer tissues than in other tissues, and hypoxic cells are relatively insensitive to radiation, the efficacy of SBRT in patients with lung metastasis from colon cancer is worse than that in patients with lung metastasis from other sites. However, this conclusion is controversial. There is no definite conclusion about the optimal dose of radiotherapy. Some studies have found that increasing the dose of radiotherapy can improve the prognosis of patients with colon cancer and lung metastasis. However, this conclusion is controversial. On the basis of many studies both in China and other countries, this study made a meta-analysis on the efficacy of SBRT in the treatment of colon cancer with lung metastasis and

non-colon cancer with lung metastasis, as well as a comparison of the efficacy of different radiation doses in the treatment of colon cancer with lung metastasis, in order to provide evidence-based medicine-related evidence.

### AIM

To compare the efficacy of stereotactic radiotherapy for colon cancer with lung metastasis and non-colon cancer with lung metastasis (Study 1), and to compare the efficacy of different doses of radiotherapy for colon cancer with lung metastasis (Study 2).

### Methods

The controlled trials including cases with pulmonary oligometastases from colon cancer published from January 2008 to December 2018 were searched according to the method of the Cochrane Collaboration, and meta-analysis was carried out by using RevMan5.3 software.

### Results

Fourteen studies were included, of which nine were included in Study 1, involving 486 patients with colon cancer and 938 with non-colon cancer, and five were included in Study 2, involving 157 patients treated with high doses and 185 treated with low doses. Meta-analysis indicated that the clinical efficacy of stereotactic radiotherapy for pulmonary oligometastases from colorectal was significantly lower than that for pulmonary oligometastases from other cancers, and that the efficacy of high doses was significantly better than that of low doses ( $P < 0.05$ ).

### Conclusion

SBRT has worse efficacy for pulmonary oligometastases from colorectal than for those from other cancer, and better efficacy for pulmonary oligometastases from colon cancer can be achieved by dose escalation.

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

Key Words: Stereotactic radiotherapy; Pulmonary oligometastases; Colorectal cancer; Meta-analysis

Liu HY, Lei XM. A meta-analysis of stereotactic radiotherapy for pulmonary oligometastases from colorectal cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 889-897  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/889.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.889>

### 摘要 背景

对于结肠癌伴肺部转移的患者, 常用传统的放疗方式, 其主要作用于肿瘤细胞内部的双链DNA, 然而国外多项研究发现, 提高放疗剂量并不能改善患者预后, 且由于其对于正常组织的副作用大, 故常用的放疗剂量通常在60-70 Gy之间, 然而此剂量对于肺部肿瘤的局部控制不佳。现科学技术的飞速发展, 立体定向放射治疗(stereotactic body radiotherapy, SBRT)技术大量应用于非小细胞肺癌的患者, SBRT同样应用于结肠癌伴肺部转移的患者, 然而有研究发现由于结肠癌组织中乏氧细胞较其他组织多, 且乏氧细胞对放射线相对不敏感, 故对于SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者较其他部位肿瘤伴肺转移的患者疗效较差, 然而此结论存在争议, 且对于最佳的放疗剂量暂无明确的结论, 有研究发现, 提高放疗剂量可改善结肠癌伴肺部转移患者的预后, 然而此结论也存在争议, 本研究在国内外多项研究的基础上, 对于SBRT治疗结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较进行Meta分析, 进而提供循证医学相关的依据。

### 目的

比较体部SBRT结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较。

### 方法

检索体部立体定向放射治疗结肠癌伴肺转移的对照试验, 年限为2008-01/2018-12, 以Cochrane系统评价手册内的质量评价标准进行筛选和评价, 用Revman 5.3软件进行系统Meta分析。

### 结果

共纳入14篇文献, 研究1共9篇文献, 结肠癌伴肺部转移组共486例, 非结肠癌伴肺转移组共938例研究对象, 研究2共5篇文献, 高剂量组共157例研究对象, 低剂量组共185例研究对象, Meta分析结果表明: SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效低于非结肠癌伴肺转移的患者, 且对于结肠癌伴肺转移的患者而言, 高剂量的SBRT疗效要高于低剂量的SBRT, 二者差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

### 结论

SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效较非结肠癌来源的肺转移患者要差, 对于结肠癌伴肺部转移的患者而言, 可以通过提高SBRT放疗剂量来改善预后。

© The Author(s) 2019. Published by Baishideng Publishing

Group Inc. All rights reserved.

关键词: 体部立体定向放射治疗; 肺转移; 结肠癌; Meta分析

**核心提要:** 目前国内外较多研究发现, 立体定向放射治疗(stereotactic body radiotherapy, SBRT)对于结肠癌伴肺部转移的患者具有较好的疗效, 然而, 对于SBRT对于结肠癌伴肺部转移患者的疗效较非结肠癌伴肺部转移患者的疗效, 各研究结论不一, 且对于最佳的放疗剂量暂无明确的结论, 有研究发现, 提高放疗剂量可改善结肠癌伴肺部转移患者的预后, 然而此结论也存在争议, 本研究在国内外多项研究的基础上, 对于SBRT治疗结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较进行Meta分析, 进而提供循证医学相关的依据。

刘海源, 雷鑫明. 体部立体定向放射治疗结肠癌伴肺转移的临床特点Meta分析. 世界华人消化杂志 2019; 27(14): 889-897

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/889.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.889>

## 0 引言

结肠癌非常常见, 肺部转移为结肠癌非常常见的转移方式, 结肠癌伴肺部转移在我国非常常见, 且确诊时已处于晚期, 故已失去手术机会<sup>[1]</sup>. 目前国内外较多研究发现, 立体定向放射治疗(stereotactic body radiotherapy, SBRT)对于结肠癌伴肺部转移的患者较单纯放疗相比具有较好的疗效<sup>[2]</sup>, 然而, 对于SBRT对于结肠癌伴肺部转移患者的疗效较非结肠癌伴肺部转移患者的疗效, 各研究结论不一<sup>[3]</sup>, 且对于最佳的放疗剂量暂无明确的结论, 有研究发现, 提高放疗剂量可改善结肠癌伴肺部转移患者的预后<sup>[4]</sup>, 本研究在国内外多项研究的基础上, 对于SBRT治疗结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较进行Meta分析, 进而提供循证医学相关的依据<sup>[5]</sup>.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 检索国内外公开数据库, 检索员为2人, 检索的数据库主要包括: 国外数据库Embase、PubMed、The Cochrane Library、中文数据库维普数据库、中国知网数据库、中国生物医学文献数据库、万方数据库, 检索时间范围为2008-01/2018-12. 检索词主要为: “Stereotactic Radiotherapy”、“Colorectal Cancer”、“Pulmonary Oligometastases”和“体部立体定向放射治疗”、“结肠癌”、“肺转移”. 检索语种主要为英文和中文并从中多次选择直至选出最佳的文献。

## 1.2 纳入及排除标准

**1.2.1 纳入标准:** (1)所选择的研究对象必须确诊为除肺癌以外的肿瘤患者, 且必须为初诊; (2)所选择的研究对象必须有肺转移; (3) 所选择对象需排除除体部立体定向放射治疗以外的其它治疗方式。

**1.2.2 排除标准:** (1)确诊对象包含原发性肺癌的患者; (2)非初诊研究对象; (3)不存在远处转移的研究对象; (4)观察指标过少, 样本量过小, 随访时间过短的研究对象。

**1.2 方法** 由2名研究者以Cochrane系统评价手册内的质量评价标准进行筛选和评价并相互核对, 若得到的结论不一致, 则进行相互讨论或者征求第三方、文献作者的意见. 评价标准主要包括5个方面: (1)随机分配方法; (2)分配方案隐藏; (3)对研究对象、治疗方案实施者、研究结果测量者采用盲法; (4)实验类型; (5)对于失访患者的描述情况。

**统计学处理** 对于纳入的研究对象, 用RevMan 5.3进行Meta分析. 对于二分类变量而言, 采用OR值及其95%CI描述, 采用 $\chi^2$ 检验检验各研究间异质性, 当 $I^2 < 50\%$ ,  $P > 0.1$ 时, 则提示各研究之间异质性较低或者异质性不存在, 此时Meta分析采用固定效应模型. 然而当 $I^2 \geq 50\%$ ,  $P \leq 0.1$ 时, 则提示异质性较高, 此时Meta分析采用随机效应模型并且需要排除可能影响异质性的相关因素, 运用漏斗图进行偏倚评价。

## 2 结果

**2.1 文献搜索结果和文献、患者基本情况** 按照以上关键词搜索各个数据库, 得出总文献3021篇, 将所有的重复文献, 会议记录, 系统评价及综述剔除后得到文献29篇, 再通过文章标题、摘要及全文后最终得到14篇文献<sup>[6-19]</sup>. 其中研究1文献共9篇, 结肠癌伴肺部转移组共486例, 非结肠癌伴肺转移组共938例研究对象. 其中1篇为非随机对照实验. 8篇文章质量为B级. 文献基本情况详见表1和表2. 研究2中文文献共5篇. 其中高剂量放疗组共157例, 低剂量放疗组共185例研究对象. 其中2篇为非随机对照实验, 3篇文章质量为B级. 文献基本情况详见表3和表4. 具体文献搜索过程见流程图(图1).

**2.2 Meta分析情况** 研究1中体部立体定向体部放射治疗对两组患者的疗效: 对结肠癌伴肺转移组和非结肠癌伴肺转移组组间异质性检测得出 $P = 0.001$ ,  $I^2 = 68\%$ , 存在异质性, 则用随机效应模型进行Meta分析, 结果显示( $OR = 2.7$ , 95%CI: 1.33-5.50),  $P = 0.006$ , 两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 具体详见图2A. 漏斗图提示散点基本对称并且呈倒漏斗状分布, 故漏斗图提示无发表偏倚, 具体详见图2B.



表 1 研究1中文献基本情况

作者	发表时间	随机方法	实验类型	分配隐藏	盲法	失访	质量
Aoki <i>et al</i> <sup>[6]</sup>	2016年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Binkley <i>et al</i> <sup>[7]</sup>	2015年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Helou <i>et al</i> <sup>[8]</sup>	2017年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Navarria <i>et al</i> <sup>[9]</sup>	2014年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Norihisa <i>et al</i> <sup>[10]</sup>	2008年	非随机	非随机对照实验	未描述	未描述	描述	C
Rieber <i>et al</i> <sup>[11]</sup>	2016年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Singh <i>et al</i> <sup>[12]</sup>	2014年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Sulaiman <i>et al</i> <sup>[13]</sup>	2014年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Yamamoto <i>et al</i> <sup>[14]</sup>	2014年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B

表 2 研究1中患者基本情况

作者	分组情况	每组人数(人)	中位平均生物等效剂量	中位随访时间(mo)	2年后死亡人数(人)	2年局部控制率(%)
Aoki <i>et al</i> <sup>[6]</sup>	结肠癌组	15	100 Gy BED	37	3	47.6
	非结肠癌组	61	132 Gy BED	47	1	97.5
Binkley <i>et al</i> <sup>[7]</sup>	结肠癌组	30	87 Gy BED	54	0	57.6
	非结肠癌组	26	66 Gy BED	65	9	90.1
Helou <i>et al</i> <sup>[8]</sup>	结肠癌组	101 –	78 Gy BED	39	24	76.4
	非结肠癌组	83	51 Gy BED	45	5	91.7
Navarria <i>et al</i> <sup>[9]</sup>	结肠癌组	29	66 Gy BED	41	3	89.7
	非结肠癌组	15	79 Gy BED	50	4	73.3
Norihisa <i>et al</i> <sup>[10]</sup>	结肠癌组	9	87 Gy BED	66	3	66.7
	非结肠癌组	25	89 Gy BED	46	1	96
Rieber <i>et al</i> <sup>[11]</sup>	结肠癌组	153	100 Gy BED	37.5	20	86.9
	非结肠癌组	545	103 Gy BED	38.5	53	90.3
Singh <i>et al</i> <sup>[12]</sup>	结肠癌组	13	102 Gy BED	55.4	5	61.5
	非结肠癌组	21	141 Gy BED	36	0	100
Sulaiman <i>et al</i> <sup>[13]</sup>	结肠癌组	11	84 Gy BED	57	5	54.5
	非结肠癌组	36	98 Gy BED	52.1	5	86.1
Yamamoto <i>et al</i> <sup>[14]</sup>	结肠癌组	29	77 Gy BED	45.6	12	25.5
	非结肠癌组	28	89 Gy BED	56	6	70

BED: 生物等效剂量.

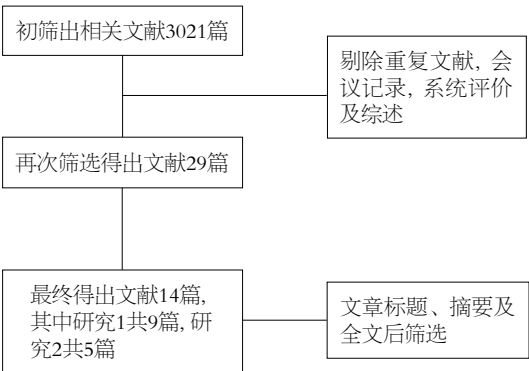


图 1 文献检索过程流程图.

研究2中体部立体定向体部放射治疗不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移疗效比较: 组间异质性检测得出 $P = 0.22$ ,  $I^2 = 31\%$ , 不存在异质性, 则用固定效应模型进行Meta分析, 结果显示( $OR = 0.16$ ,  $95\%CI: 0.08-0.32$ ),  $P < 0.0001$ , 两组差异有统计学意义( $P < 0.05$ ). 具体详见图3, 漏斗图提示散点基本对称并且呈倒漏斗状分布, 故漏斗图提示无发表偏倚, 具体详见图4.

### 3 讨论

结肠癌作为最常见的消化道肿瘤之一, 其早期临床表现不明显, 故发现时往往处于中晚期, 这对于结肠癌的治

表 3 研究2中文献基本情况

作者	发表时间	随机方法	实验类型	分配隐藏	盲法	失访	质量
Jingu <i>et al</i> <sup>[15]</sup>	2017年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Bae <i>et al</i> <sup>[16]</sup>	2012年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Kinj <i>et al</i> <sup>[17]</sup>	2016年	未描述	随机对照实验	未描述	未描述	描述	B
Comito <i>et al</i> <sup>[18]</sup>	2014年	非随机	非随机对照实验	未描述	未描述	描述	C
Jung <i>et al</i> <sup>[19]</sup>	2015年	非随机	非随机对照实验	未描述	未描述	描述	C

BED: 生物等效剂量.

表 4 研究2中患者基本情况

作者	中位随访时间(mo)	高剂量放疗组				低剂量放疗组			
		中位平均生物等效剂量	总人数(人)	2年后死亡人数(人)	2年局部控制率(%)	中位平均生物等效剂量	总人数(人)	2年后死亡人数(人)	2年局部控制率(%)
Jingu <i>et al</i> <sup>[15]</sup>	28	132 Gy BED	24	1	95.5	105.6 Gy BED	54	28	59.6
Bae <i>et al</i> <sup>[16]</sup>	28	180 Gy BED	29	5	69	124.8 Gy BED	12	9	49
Kinj <i>et al</i> <sup>[17]</sup>	33	180 Gy BED	75	14	82.1	87.5 Gy BED	12	5	57.1
Comito <i>et al</i> <sup>[18]</sup>	24	180 Gy BED	6	0	100	105.6 Gy BED	54	13	70
Jung <i>et al</i> <sup>[19]</sup>	42.8	150 Gy BED	23	3	84	105.6 Gy BED	56	16	64.6

BED: 生物等效剂量.

疗带来极大的困难<sup>[20]</sup>, 超过30%的患者在确诊时已存在远处转移, 故已失去手术最佳时机. 以往对于结肠癌伴肺部转移的患者, 常用传统的放疗方式, 其主要作用于肿瘤细胞内部的双链DNA, 然而国外多项研究发现<sup>[21-23]</sup>, 提高放疗剂量并不能改善患者预后, 且由于其对于正常组织的副作用大, 故常用的放疗剂量通常在60-70 Gy之间, 然而此剂量对于肺部肿瘤的局部控制不佳.

现科学技术的飞速发展, SBRT技术大量应用于非小细胞肺癌的患者, SBRT能够精准定位于肿瘤组织, 通过精确计算, 精确治疗, 能够最大限度的提升肿瘤区域内部放疗剂量, 同时能尽量减少对于其余正常组织的影响<sup>[24]</sup>. SBRT在临床治疗中具有以下优点: 门诊治疗、无创、分割次数减少、提高单次放疗剂量, 无需镇静和麻醉、不影响日常生活<sup>[25]</sup>. 现在一度认为对于肺癌的患者可用SBRT代替手术治疗. SBRT同样应用于结肠癌伴肺部转移的患者, 然而有研究发现由于结肠癌组织中乏氧细胞较其他组织多, 且乏氧细胞对放射线相对不敏感, 故对于SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者较其他部位肿瘤伴肺转移的患者疗效较差<sup>[21]</sup>, 然而此结论存在争议,

且对于最佳的放疗剂量暂无明确的结论, 有研究发现, 提高放疗剂量可改善结肠癌伴肺部转移患者的预后<sup>[4]</sup>, 然而此结论也存在争议, 对于SBRT治疗结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较进行Meta分析, 进而提供循证医学相关的依据.

本研究共纳入14篇文献, 研究1共9篇文献, 结肠癌伴肺部转移组共486例, 非结肠癌伴肺转移组共938例研究对象. Meta分析结果表明: SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效低于非结肠癌伴肺转移的患者, 二者差异有统计学意义( $P<0.05$ ). 研究2中文献共5篇. 其中高剂量放疗组共157例, 低剂量放疗组共185例研究对象. Meta分析结果表明: 对于结肠癌伴肺转移的患者而言, 高剂量的SBRT疗效要高于低剂量的SBRT, 二者差异有统计学意义( $P<0.05$ ).

综上所述, SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效较非结肠癌来源的肺转移患者要差, 对于结肠癌伴肺部转移的患者而言, 可以通过提高SBRT放疗剂量来改善预后. 但是此次研究纳入的文献数目仍较少, 并且大部

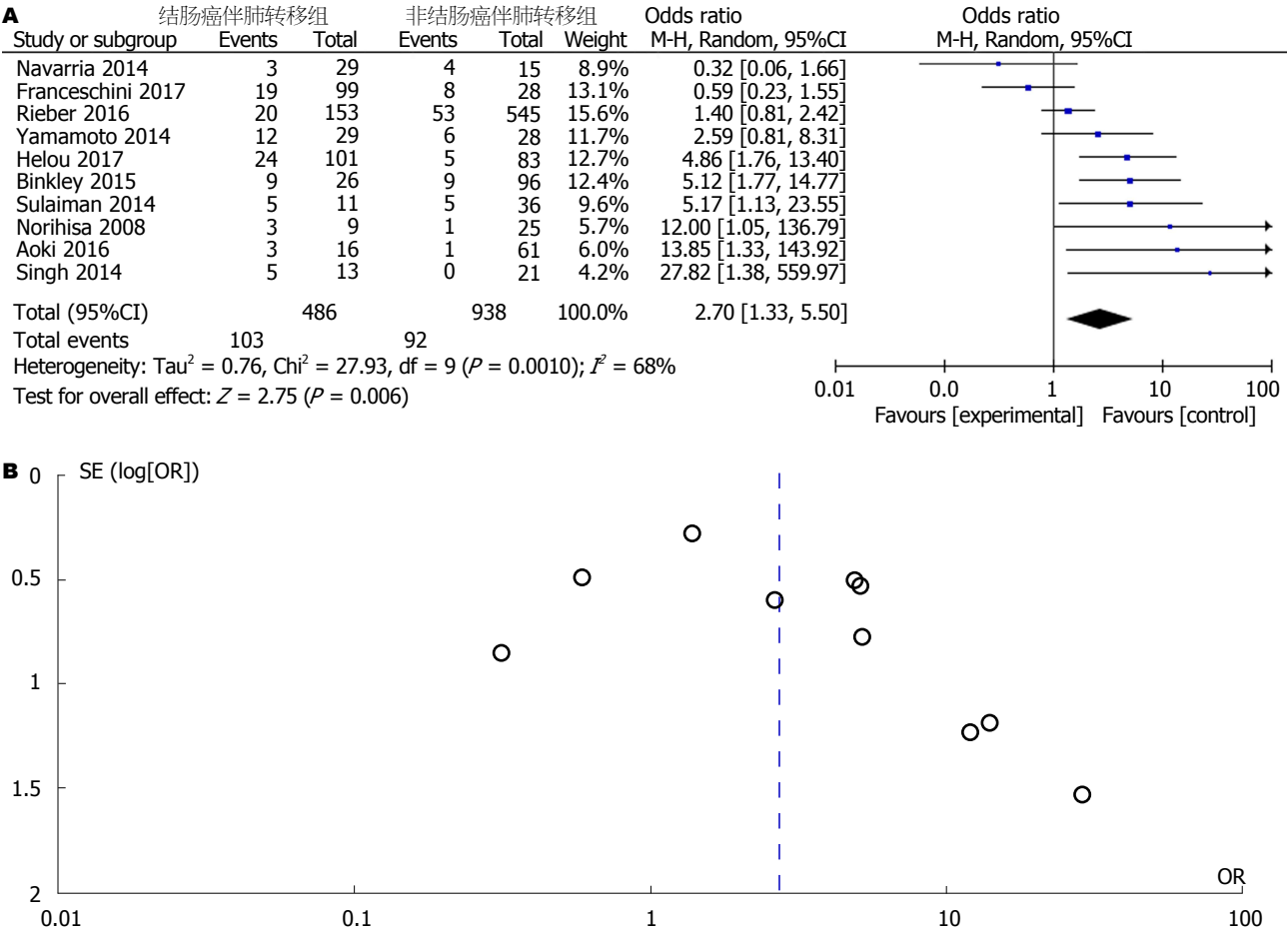


图 2 立体定向体部放射治疗对两组患者的疗效(A)和疗效漏斗图(B).

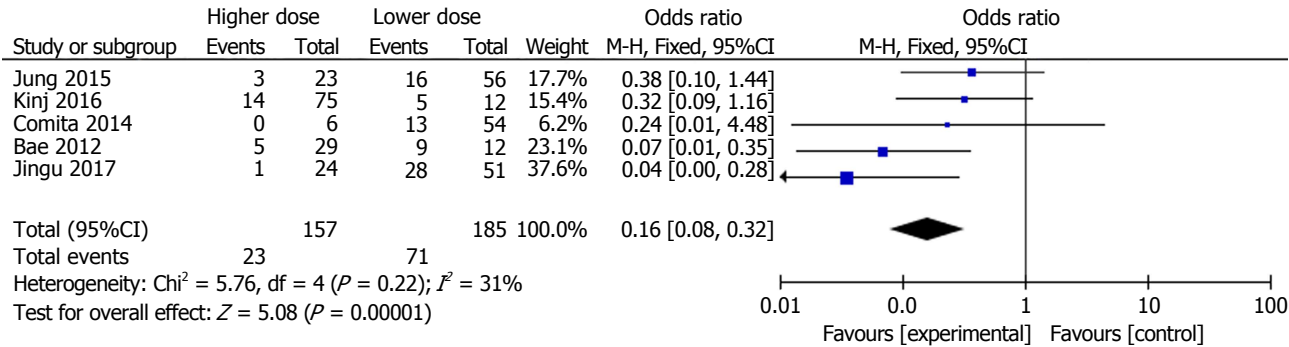


图 3 立体定向体部放射治疗不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移疗效比较.

分研究的质量为B级, 且无法对每一篇文献进行进一步的亚组分析, 因此希望将来有更多的双盲、多中心、随机、大样本的对照实验的出现. 进而为临床医师对结肠癌的诊疗提供更好的指导.

### 文章亮点

#### 实验背景

对于结肠癌伴肺部转移的患者, 常用传统的放疗方式,

其主要作用于肿瘤细胞内部的双链DNA, 然而国外多项研究发现, 提高放疗剂量并不能改善患者预后, 且由于其对于正常组织的副作用大, 故常用的放疗剂量通常在60-70 Gy之间, 然而此剂量对于肺部肿瘤的局部控制不佳. 现科学技术的飞速发展, 立体定向放射治疗 (stereotactic body radiotherapy, SBRT) 技术大量应用于非小细胞肺癌的患者, SBRT同样应用于结肠癌伴肺部转移的患者, 然而有研究发现由于结肠癌组织中乏氧细胞较其他组织多, 且乏氧细胞对放射线相对不敏感, 故对



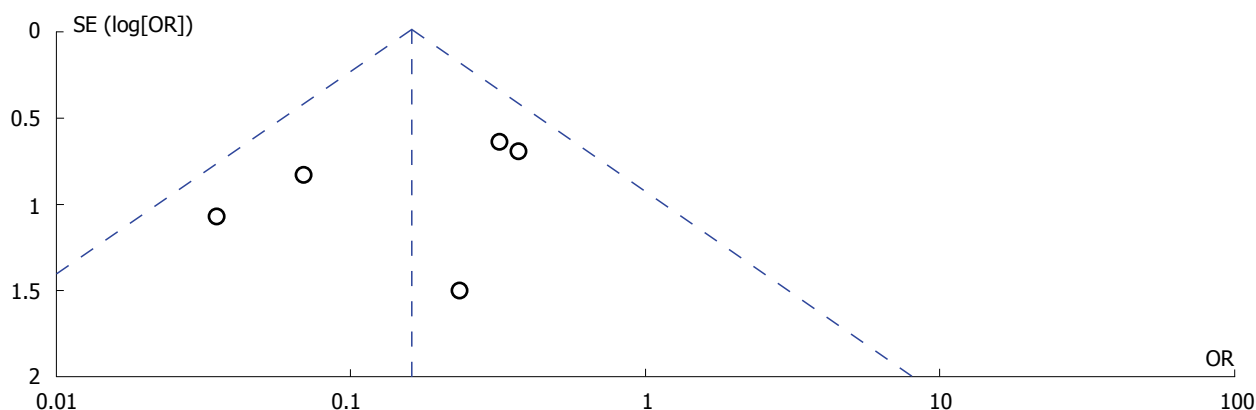


图 4 立体定向体部放射治疗不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移疗效比较漏斗图。

于SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者较其他部位肿瘤伴肺转移的患者疗效较差, 然而此结论存在争议, 且对于最佳的放疗剂量暂无明确的结论, 有研究发现, 提高放疗剂量可改善结肠癌伴肺部转移患者的预后, 然而此结论也存在争议。

#### 实验动机

本研究在国内外多项研究的基础上, 对于SBRT治疗结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较进行Meta分析, 进而提供循证医学相关的依据, 进而给临床医师提供重要指导。

#### 实验目标

本研究主要的目标在于通过搜集国内外大量文献, 对于SBRT治疗结肠癌伴肺转移与非结肠癌伴肺部转移的疗效以及不同放疗剂量对于结肠癌伴肺部转移的疗效比较进行Meta分析, 进而提供循证医学相关的依据, 进而对于临床医师在治疗结肠癌肺转移的患者上提供重要的参考。

#### 实验方法

检索体部立体定向放射治疗结肠癌伴肺转移的对照试验, 年限为2008-01/2018-12, 以Cochrane系统评价手册内的质量评价标准进行筛选和评价, 用Revman 5.3软件进行系统Meta分析。对于二分类变量而言, 采用OR值及其95%CI描述, 采用 $\chi^2$ 检验检验各研究间异质性, 运用漏斗图进行偏倚评价。

#### 实验结果

Meta分析结果表明, SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效低于非结肠癌伴肺转移的患者, 二者差异有统计学意义( $P<0.05$ )。研究2中文献共5篇。其中高剂量放疗组共157例, 低剂量放疗组共185例研究对象。Meta分析

结果表明: 对于结肠癌伴肺转移的患者而言, 高剂量的SBRT疗效要高于低剂量的SBRT, 二者差异有统计学意义( $P<0.05$ )。明确SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效较非结肠癌来源的肺转移患者要差, 对于结肠癌伴肺部转移的患者而言, 可以通过提高SBRT放疗剂量来改善预后。进而对于临床医师在治疗结肠癌肺转移的患者上提供重要的参考。基本达到实验目标。

#### 实验结论

SBRT对于结肠癌伴肺转移的患者疗效较非结肠癌来源的肺转移患者要差, 对于结肠癌伴肺部转移的患者而言, 可以通过提高SBRT放疗剂量来改善预后。对于临床上对于结肠癌肺转移患者的治疗方案选择有着重要意义。

#### 展望前景

此次研究纳入的文献数目仍较少, 并且大部分研究的质量为B级, 且无法对每一篇文献进行进一步的亚组分析, 因此希望将来有更多关于SBRT治疗结肠癌肺转移的双盲、多中心、随机、大样本的对照实验的出现。

#### 4 参考文献

- 1 Klement RJ, Abbasi-Senger N, Adebahr S, Alheid H, Allgaeuer M, Becker G, Blanck O, Boda-Heggemann J, Brunner T, Duma M, Eble MJ, Ernst I, Gerum S, Habermehl D, Hass P, Henkenberens C, Hildebrandt G, Imhoff D, Kahl H, Klass ND, Krempien R, Lewitzki V, Lohaus F, Ostheimer C, Papachristofilou A, Petersen C, Rieber J, Schneider T, Schrade E, Semrau R, Wachter S, Wittig A, Guckenberger M, Andratschke N. The impact of local control on overall survival after stereotactic body radiotherapy for liver and lung metastases from colorectal cancer: a combined analysis of 388 patients with 500 metastases. *BMC Cancer* 2019; 19: 173 [PMID: 30808323 DOI: 10.1186/s12885-019-5362-5]
- 2 Jerezek-Fossa BA, Bortolato B, Gerardi MA, Dicuonzo S, Arienti VM, Berlinghieri S, Bracelli S, Buglione M, Caputo M, Catalano G, Cazzaniga LF, De Cicco L, Di Muzio N, Filippone FR, Fodor A, Franceschini D, Frata P, Gottardo S, Ivaldi GB, Laudati A, Magrini SM, Mantero E, Meaglia I, Morlino S, Palazzi M, Piccoli F, Romanelli P, Scorsetti M, Serafini F,

- Scandolaro L, Valdagni R, Orecchia R, Antognoni P; Lombardy Section of the Italian Society of Oncological Radiotherapy (Associazione Italiana di Radioterapia Oncologica-Lombardia, AIRO-L). Radiotherapy for oligometastatic cancer: a survey among radiation oncologists of Lombardy (AIRO-Lombardy), Italy. *Radiol Med* 2019; 124: 315-322 [PMID: 30554376 DOI: 10.1007/s11547-018-0972-6]
- 3 Ottaiano A, Scotti V, De Divitiis C, Capozzi M, Romano C, Cassata A, Casaretti R, Silvestro L, Nappi A, Vicario V, De Stefano A, Tafuto S, Berretta M, Nasti G, Avallone A. Integration of stereotactic radiotherapy in the treatment of metastatic colorectal cancer patients: a real practice study with long-term outcome and prognostic factors. *Oncotarget* 2018; 9: 35251-35265 [PMID: 30443292 DOI: 10.18632/oncotarget.25834]
- 4 Wang X, Zamborg L, Ye H, Grills IS, Yan D. A matched-pair analysis of stereotactic body radiotherapy (SBRT) for oligometastatic lung tumors from colorectal cancer versus early stage non-small cell lung cancer. *BMC Cancer* 2018; 18: 962 [PMID: 30305131 DOI: 10.1186/s12885-018-4865-9]
- 5 Kobiela J, Spychalski P, Marvaso G, Ciardo D, Dell'Acqua V, Kraja F, Blazynska-Spychalska A, Lachinski AJ, Surgo A, Glynne-Jones R, Jereczek-Fossa BA. Ablative stereotactic radiotherapy for oligometastatic colorectal cancer: Systematic review. *Crit Rev Oncol Hematol* 2018; 129: 91-101 [PMID: 30097241 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2018.06.005]
- 6 Aoki M, Hatayama Y, Kawaguchi H, Hirose K, Sato M, Akimoto H, Miura H, Ono S, Takai Y. Stereotactic body radiotherapy for lung metastases as oligo-recurrence: a single institutional study. *J Radiat Res* 2016; 57: 55-61 [PMID: 26494115 DOI: 10.1093/jrr/rrv063]
- 7 Binkley MS, Trakul N, Jacobs LR, von Eyben R, Le QT, Maxim PG, Loo BW Jr, Shultz DB, Diehn M. Colorectal Histology Is Associated With an Increased Risk of Local Failure in Lung Metastases Treated With Stereotactic Ablative Radiation Therapy. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2015; 92: 1044-1052 [PMID: 26025776 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2015.04.004]
- 8 Helou J, Thibault I, Poon I, Chiang A, Jain S, Soliman H, Erler D, Yeung L, Cheung P. Stereotactic Ablative Radiation Therapy for Pulmonary Metastases: Histology, Dose, and Indication Matter. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 98: 419-427 [PMID: 28463162 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2017.02.093]
- 9 Navarria P, Ascolese AM, Tomatis S, Cozzi L, De Rose F, Mancosu P, Alongi F, Clerici E, Lobefalo F, Tozzi A, Reggiori G, Fogliata A, Scorsetti M. Stereotactic body radiotherapy (sbirt) in lung oligometastatic patients: role of local treatments. *Radiat Oncol* 2014; 9: 91 [PMID: 24694067 DOI: 10.1186/1748-717X-9-91]
- 10 Norihisa Y, Nagata Y, Takayama K, Matsuo Y, Sakamoto T, Sakamoto M, Mizowaki T, Yano S, Hiraoka M. Stereotactic body radiotherapy for oligometastatic lung tumors. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2008; 72: 398-403 [PMID: 18374506 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2008.01.002]
- 11 Rieber J, Streblow J, Uhlmann L, Flentje M, Duma M, Ernst I, Blanck O, Wittig A, Boda-Heggemann J, Krempien R, Lohaus F, Klass ND, Eble MJ, Imhoff D, Kahl H, Petersen C, Gerum S, Henkenberens C, Adebahr S, Hass P, Schrade E, Wendt TG, Hildebrandt G, Andratschke N, Sterzing F, Guckenberger M. Stereotactic body radiotherapy (SBRT) for medically inoperable lung metastases-A pooled analysis of the German working group "stereotactic radiotherapy". *Lung Cancer* 2016; 97: 51-58 [PMID: 27237028 DOI: 10.1016/j.lungcan.2016.04.012]
- 12 Singh D, Chen Y, Hare MZ, Usuki KY, Zhang H, Lundquist T, Joyce N, Schell MC, Milano MT. Local control rates with five-fraction stereotactic body radiotherapy for oligometastatic cancer to the lung. *J Thorac Dis* 2014; 6: 369-374 [PMID: 24688781 DOI: 10.3978/j.issn.2072-1439.2013.12.03]
- 13 Sulaiman NS, Fujii O, Demizu Y, Terashima K, Niwa Y, Akagi T, Daimon T, Murakami M, Sasaki R, Fuwa N. Particle beam radiation therapy using carbon ions and protons for oligometastatic lung tumors. *Radiat Oncol* 2014; 9: 183 [PMID: 25127719 DOI: 10.1186/1748-717X-9-183]
- 14 Yamamoto T, Jingu K, Shirata Y, Koto M, Matsushita H, Sugawara T, Kubozono M, Umezawa R, Abe K, Kadoya N, Ishikawa Y, Kozumi M, Takahashi N, Takeda K, Takai Y. Outcomes after stereotactic body radiotherapy for lung tumors, with emphasis on comparison of primary lung cancer and metastatic lung tumors. *BMC Cancer* 2014; 14: 464 [PMID: 24957478 DOI: 10.1186/1471-2407-14-464]
- 15 Jingu K, Matsuo Y, Onishi H, Yamamoto T, Aoki M, Murakami Y, Yamashita H, Kakuhara H, Nemoto K, Sakayauchi T, Okamoto M, Niibe Y, Nagata Y, Ogawa K. Dose Escalation Improves Outcome in Stereotactic Body Radiotherapy for Pulmonary Oligometastases from Colorectal Cancer. *Anticancer Res* 2017; 37: 2709-2713 [PMID: 28476849 DOI: 10.21873/anticancer.11621]
- 16 Bae SH, Kim MS, Cho CK, Kang JK, Kang HJ, Kim YH, Shin US, Moon SM, Lee DH. High dose stereotactic body radiotherapy using three fractions for colorectal oligometastases. *J Surg Oncol* 2012; 106: 138-143 [PMID: 22297789 DOI: 10.1002/jso.23058]
- 17 Kinj R, Bondiau PY, François E, Gérard JP, Naghavi AO, Leysalle A, Chamorey E, Evesque L, Padovani B, Ianessi A, Benezery K, Doyen J. Radiosensitivity of Colon and Rectal Lung Oligometastasis Treated With Stereotactic Ablative Radiotherapy. *Clin Colorectal Cancer* 2017; 16: e211-e220 [PMID: 27670890 DOI: 10.1016/j.clcc.2016.08.003]
- 18 Comito T, Cozzi L, Clerici E, Campisi MC, Liardo RL, Navarria P, Ascolese A, Tozzi A, Iftode C, De Rose F, Villa E, Personeni N, Rimassa L, Santoro A, Fogliata A, Mancosu P, Tomatis S, Scorsetti M. Stereotactic Ablative Radiotherapy (SABR) in inoperable oligometastatic disease from colorectal cancer: a safe and effective approach. *BMC Cancer* 2014; 14: 619 [PMID: 25163798 DOI: 10.1186/1471-2407-14-619]
- 19 Jung J, Song SY, Kim JH, Yu CS, Kim JC, Kim TW, Jeong SY, Kim SS, Choi EK. Clinical efficacy of stereotactic ablative radiotherapy for lung metastases arising from colorectal cancer. *Radiat Oncol* 2015; 10: 238 [PMID: 26588896 DOI: 10.1186/s13014-015-0546-x]
- 20 Rades D, Dziggel L, Blanck O, Gebauer N, Bartscht T, Schild SE. A Score to Identify Patients with Brain Metastases from Colorectal Cancer Who May Benefit from Whole-brain Radiotherapy in Addition to Stereotactic Radiosurgery/ Radiotherapy. *Anticancer Res* 2018; 38: 3111-3114 [PMID: 29715148 DOI: 10.21873/anticancer.12570]
- 21 Jingu K, Matsushita H, Yamamoto T, Umezawa R, Ishikawa Y, Takahashi N, Katagiri Y, Takeda K, Kadoya N. Stereotactic Radiotherapy for Pulmonary Oligometastases From Colorectal Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Technol Cancer Res Treat* 2018; 17: 1533033818794936 [PMID: 30145943 DOI: 10.1177/1533033818794936]
- 22 Palmer J, Mesa R. Transplantation in Myelofibrosis Reaches the Molecular Age. *Biol Blood Marrow Transplant* 2017; 23: 1043-1044 [PMID: 28476489]
- 23 Filippi AR, Guerrera F, Badellino S, Ceccarelli M, Castiglione A, Guarneri A, Spadi R, Racca P, Ciccone G, Ricardi U, Ruffini E. Exploratory Analysis on Overall Survival after Either Surgery or Stereotactic Radiotherapy for Lung Oligometastases from Colorectal Cancer. *Clin Oncol (R Coll Radiol)* 2016; 28: 505-512 [PMID: 26899780 DOI: 10.1016/j.clon.2016.02.001]

- 24 Joo JH, Park JH, Kim JC, Yu CS, Lim SB, Park IJ, Kim TW, Hong YS, Kim KP, Yoon SM, Park J, Kim JH. Local Control Outcomes Using Stereotactic Body Radiation Therapy for Liver Metastases From Colorectal Cancer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2017; 99: 876-883 [PMID: 29063852 DOI: 10.1016/j.ijrobp.2017.07.030]
- 25 Wild AT, Yamada Y. Treatment Options in Oligometastatic Disease: Stereotactic Body Radiation Therapy - Focus on Colorectal Cancer. *Visc Med* 2017; 33: 54-61 [PMID: 28612018 DOI: 10.1159/000454685]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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



## 泄泻肝气乘脾证的研究进展

刘娅薇, 惠华英, 谭周进

刘娅薇, 惠华英, 谭周进, 湖南中医药大学医学院 湖南省长沙市 410208

谭周进, 教授, 主要从事中医药微生态学的研究.

基金项目: 国家自然科学基金青年基金项目, No. 81703985.

作者贡献分布: 本文综述由刘娅薇与惠华英共同完成, 谭周进负责审核.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区学士路300号, 湖南中医药大学医学院. [tanzhjin@sohu.com](mailto:tanzhjin@sohu.com)  
电话: 0731-85381154

收稿日期: 2019-05-20

修回日期: 2019-06-20

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-07-28

### Progress in research of syndrome of diarrhea with Ganqi Chengpi

Ya-Wei Liu, Hua-Ying Hui, Zhou-Jin Tan

Ya-Wei Liu, Hua-Ying Hui, Zhou-Jin Tan, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, Changsha 410208, Hunan Province, China

Supported by: Youth Fund of National Natural Science Foundation of China, No. 81703985.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hunan University of Traditional Chinese Medicine, 300 Xueshi Road, Puke Education Park, Changsha 410208, Hunan Province, China. [tanzhjin@sohu.com](mailto:tanzhjin@sohu.com)

Received: 2019-05-20

Revised: 2019-06-20

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-07-28

### Abstract

Diarrhea with Ganqi Chengpi syndrome is currently common. Traditional Chinese medicine has a significant clinical effect through syndrome differentiation and treatment, while Western medicine often only gives

supportive treatment. Studying the mechanism of diarrhea and Ganqi Chengpi syndrome has an important guiding role in the clinical diagnosis and treatment of diarrhea. This article explores the understanding of diarrhea and Ganqi Chengpi syndrome, the pathogenic factors, the clinical application of classical prescriptions, and the microecology of the intestinal tract, with an aim to provide a reference for the mechanism research, prevention, and treatment of diarrhea and Ganqi Chengpi syndrome.

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

Key Words: Diarrhea; Ganqi Chengpi; Tongxie Yaofang

Liu YW, Hui HY, Tan ZJ. Progress in research of syndrome of diarrhea with Ganqi Chengpi. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 898-902

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/898.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i14.898>

### 摘要

泄泻肝气乘脾证是现代常见病. 中医通过辨证论治, 临床疗效显著, 而西医往往仅进行支持治疗. 研究泄泻肝气乘脾证的发生机制, 对泄泻的临床诊治具有重要的指导作用. 本文从中医对泄泻肝气乘脾证的认识、发病因素、临床相应经典方剂应用及肠道微生态角度进行探讨, 为泄泻肝气乘脾证的发生机制研究及防治提供借鉴.

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

关键词: 泄泻; 肝气乘脾; 痛泻要方

核心提要: 本文就近十年关于泄泻肝气乘脾证的文献进行整理总结, 基于现代医家对中医泄泻共识的基础上, 收集整理泄泻肝气乘脾证的影响因素、痛泻要方对其治疗

效果以及“肝-肠轴”的形成机制等文献,把临床医学与中国传统医学相结合,以期对泄泻肝气乘脾证的临床治疗研究提供一定帮助。

刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 泄泻肝气乘脾证的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(14): 898-902

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/898.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.898>

## 0 引言

随着现代生活节奏的加快、工作压力的加重以及不良的生活习惯,造成人们情绪郁结、精神紧张或愤怒引起腹痛、腹泻等泄泻肝气乘脾证症状。临床证型的调查显示,无论是在北方还是在南方,泄泻肝气乘脾证都是泄泻中最常见的证型,分别占各自所有证型的55.6%和59.6%<sup>[1]</sup>。随着生物-心理-社会医学模式的建立,现代医学对于泄泻肝气乘脾证的研究也得到了进一步的发展,但中医以其个性化和整体观的特色对泄泻进行辨证论治,疗效体现出远超前于西医的优势。加强中医泄泻的辨证论治研究对临床诊治具有重要的指导意义。

## 1 中医对泄泻肝气乘脾证的共识

泄泻肝气乘脾证,亦称肠风飧泄,该证的特点为泻前或泻时必有腹痛、泻后痛减,病机为土虚木乘所致。古代医家对泄泻的证型诊断一直缺乏统一规范的标准,直至1994年颁布的《中华人民共和国中医药行业标准》对泄泻的诊断依据和证候分类做出了规范<sup>[2]</sup>。2017年由中华中医药学会脾胃病分会形成的《泄泻中医诊疗专家共识意见》,表1所示将泄泻辨证分型为6种证型,各证型以大便次数、量及性状恢复正常,伴随症状和体征消失,与泄泻相关的西疾病理化检验结果正常作为证候疗效显效评价标准<sup>[3]</sup>。其中泄泻肝气乘脾证主症:(1)泄泻伴肠鸣;(2)腹痛、泻后痛缓。次症:(1)每因情志不畅而发;(2)胸胁胀闷;(3)食欲不振;(4)神疲乏力,其治法应为抑肝扶脾。泄泻证型的标准化为泄泻肝气乘脾证的临床诊治提供了非常有价值的资料。

泄泻与肝脏的性能密切相关。肝主疏泄,调畅气机之功有助脾胃受纳运化与升降,即“土得木则达”;另一方面脾(胃)为气血生化之源,脾(胃)健运则血液化生充足,肝血得到充盈,即“脾土营木”。因此肝脾两脏在生理上相互依存,在功能上相互联系,在病理上也存在相互传变。孙琴等<sup>[4]</sup>认为泄泻的核心病机为脾胃虚弱以致不能升清降浊,而肝喜条达、恶抑郁,忧思郁怒伤肝,肝气拂郁则会逆犯脾土,脾失健运则清阳不升、水谷不化而致泄下。故吴鹤皋云:“泻责之脾,痛责之肝,肝责之实,脾责之虚,脾虚肝实,故令痛泻”<sup>[5]</sup>。中医理论中肝

与情绪恼怒变化的关系最为密切,机体出现忧思恼怒、焦虑紧张等情志的失调,则肝失疏泄、肝气郁结。若肝气疏泄太过或不及,则克逆脾土、脾失健运,往往就会影响脾胃的升清降浊功能,导致腹泻的发生<sup>[6]</sup>。

## 2 泄泻肝气乘脾证的影响因素

情志不畅是泄泻肝气乘脾证的一个显著特点,传统观点认为恐惧、焦虑、悲伤、厌恶等情绪可产生胃肠道症状,泄泻肝气乘脾证患者常伴有焦虑、抑郁等心理异常和其他功能性疾病(如功能性消化不良、肠易激综合征),泄泻肝气乘脾证患者经常描述精神压力与胃肠道症状之间的关系,应用抗抑郁剂、心理治疗可明显改善患者的症状<sup>[7]</sup>。

母婴分离复合多因素方法制备的动物模型在一定程度上模拟了泄泻肝气乘脾证的临床症状。新生期母子分离可导致肝郁,同时可致动物神经系统永久性改变,诱导肠道黏膜低度炎症<sup>[8]</sup>。张北华<sup>[9]</sup>应用母子分离法、慢性束缚应激结合番泻叶灌胃致泻复合造模方法建立大鼠模型,根据腹泻率、体重增长量、大便积分及近端结肠病理结果判断其符合泄泻肝气乘脾泄泻证模型的标准。说明泄泻肝气乘脾证确实与心理变化是紧密相关的。

岳利峰等<sup>[10]</sup>在费晓燕等<sup>[11]</sup>建立的束缚法制备肠易激综合征模型的基础上进行改良采用慢性束缚方法制作应激模型,束缚法操作简便,不会引起动物肠道组织学改变,符合中医情志致病的理论,能较好地模拟泄泻肝气乘脾证的精神因素。全俊采用郭氏夹尾刺激法<sup>[12]</sup>造成模型动物精神心理应激,在一定程度上贴近泄泻肝气乘脾证患者的症状和身心状态<sup>[13]</sup>,但上述方法模拟的影响因素较为单一,不能模拟人类精神活动受到限制的状态<sup>[14]</sup>。

而唐洪梅等<sup>[15]</sup>采用番泻叶结合束缚应激法分别短时间内进行大鼠行为学应激,大鼠出现大便溏泄、免疫力下降,造模结束后,根据其粪点数和排便时间进行评价,证实番泻叶结合束缚应激法更好的建立泄泻肝气乘脾证模型。周云等<sup>[16]</sup>同样采用番泻叶水煎剂灌胃加四肢束缚应激法造模后,发现大鼠体质量下降,且粪便含水量、稀便级数、小肠炭末推进百分率、血清中5-HT的含量、病理组织学等多项指标与应用肠乐胶囊的治疗组有明显差异。以上动物实验说明了经过物理刺激后会导泄泻肝气乘脾证的形成。

泄泻肝气乘脾证的发生大多是建立在慢性心理、生物和物理等综合因素中刺激人体应激性的基础上演变而来的,故多因素复合造模方法往往可取得更接近临床症状的效果<sup>[16]</sup>。结合临床泄泻肝气乘脾证发病因素的多样性以及中医病因病机,现代往往把束缚法、慢性刺激法、母婴分离法和其它因素相结合,如采用寒冷-束

表 1 《泄泻中医诊疗专家共识意见》中6种泄泻证型

	主要症状	治法	方药
寒湿困脾证	大便清稀或如水样;腹痛肠鸣	芳香化湿, 解表散寒	藿香正气散
肠道湿热证	腹痛即泻, 泻下急迫;粪色黄褐臭秽	清热燥湿, 分利止泻	葛根芩连汤
食滞胃肠证	泻下大便臭如败卵, 或伴不消化食物	消食导滞, 和中止泻	保和丸
脾气亏虚证	大便时溏时泻; 稍进油腻则便次增多	健脾益气, 化湿止泻	参苓白术散
肾阳虚证	晨起泄泻; 大便清稀, 或完谷不化	温肾健脾, 固涩止泻	四神丸
肝气乘脾证	每因情志不畅而发; 泄泻伴肠鸣; 腹痛、泻后痛缓	抑肝扶脾	痛泻要方

缚<sup>[17]</sup>、束缚-夹尾应激<sup>[18]</sup>来建立泄泻肝气乘脾证动物模型。赵荣华等采用慢性束缚+过度疲劳+饮食失节方法进行模型建立<sup>[19]</sup>, 发现泄泻肝气乘脾证模型大鼠的活动及探究行为减少并伴有一定的情绪抑制, 并通过旷场试验、高架十字迷宫实验和新环境进食抑制实验对大鼠行为学进行评价, 证实泄泻肝气乘脾证模型建立成功<sup>[20]</sup>。闫兴丽等采用慢性不可预见性刺激后再进行束缚刺激, 动物直肠传导、感觉和心理行为发生改变<sup>[21]</sup>。说明泄泻肝气乘脾证是多种发病机制共同作的结果, 病因可能涉及肠道动力障碍、肠道菌群失调、心理社会压力和饮食等因素。

3 泄泻肝气乘脾证形成的微生态机制

肠道菌群参与着人体各种生理变化过程, 研究发现肠道菌群在脑-肠轴及肠-肝轴中发挥着重要作用, 并通过神经通路和体液途径影响肠神经系统和中枢神经系统功能<sup>[22]</sup>。若打破肠道菌群的平衡则可能使多种疾病出现, 其中包括泄泻肝气乘脾证。特定病原体的肠道定植可兴奋特定肠神经元, 对宿主认知、情绪、行为等产生影响, 如结核杆菌感染引起抑郁与焦虑情绪<sup>[23]</sup>, 幽口螺杆菌慢性感染引起小鼠摄食行为异常、焦虑样行为增加<sup>[24]</sup>, 因此开展肝脾相关证候与肠道微生态的研究具有一定的科学意义。

肠道菌群在泄泻中扮演着重要角色, 菌群比例、数量的失调和定位转移会引起婴幼儿消化不良、慢性迁延性腹泻<sup>[25]</sup>, 成人急性肠炎<sup>[26]</sup>、溃疡性结肠炎<sup>[27]</sup>、腹泻型肠易激综合征<sup>[28]</sup>等疾病。其中腹泻型肠易激综合征属于中医泄泻肝气乘脾证的范畴, 泄泻肝气乘脾证患者肠道菌群变异、厚壁菌对拟杆菌的比例增加、菌群多样性减少<sup>[29]</sup>, 黏膜相关菌群数量增多和组成成分改变等诸多变化<sup>[30]</sup>, 均提示说明肠道菌群失调可能是泄泻肝气乘脾证的影响因素。Ghoshal等<sup>[31]</sup>前瞻性研究发现患者因急性细菌性肠道感染后, 肠嗜铬细胞及白细胞增加, 同时诱发腹泻型肠易激综合征的发生, 说明菌群的改变可能会导致泄泻肝气乘脾证的发生。肖琦凡等<sup>[32]</sup>指出益生

菌通过改变初期免疫系统反应后, 增强消化道黏膜屏障功能、加强免疫系统功能、减低内脏敏感性来改善泄泻肝气乘脾证的症状。目前采用益生菌治疗、抗菌药物或粪菌移植等方法治疗可改善患者泄泻的症状<sup>[33]</sup>。可见, 肠道微生态是泄泻肝气乘脾证的形成机制中不可或缺的一环。

4 泄泻肝气乘脾证的用方

现今治疗泄泻肝气乘脾证的中成药基本都是由“痛泻要方”演化而来<sup>[34]</sup>, 痛泻要方由炒白术、炒白芍、炒陈皮、防风四药组成。方剂当中以白芍和防风来缓肝, 陈皮和白术来培土实脾。炒白术为君苦甘而温、健脾燥湿利水, 为君药; 炒白芍为臣, 养血柔肝止痛, 于土中泻木; 陈皮为佐, 辛苦而温、理气醒脾助运; 配伍少量防风, 散肝舒脾胜湿, 四药共奏补脾胜湿而止泻、柔肝理气而止痛, 使肝脾和调、切中病机。痛泻要方是常用经方, 用药精炼, 配伍严谨, 在消化系统疾病应用最多, 尤其在治疗肠易激综合征、溃疡性结肠炎、慢性过敏性结肠炎等有腹泻症状的疾病有独特优势<sup>[35]</sup>。

现代药理研究表明脑肠轴在痛泻要方对泄泻肝气乘脾证的治疗中具有关键作用。痛泻要方中防风、陈皮通过介导M胆碱能受体、5-HT受体降低大鼠结肠平滑肌的运动指数与收缩频率<sup>[36]</sup>, 影响大鼠Cajal间质细胞内外的Ca<sup>2+</sup>浓度、细胞内IP34R、RyR蛋白<sup>[37]</sup>, 降低模型大鼠内脏敏感性, 改善肠道运动功能紊乱及抑郁焦虑样行为<sup>[38]</sup>。许惠娟等<sup>[39]</sup>实验表明痛泻要方治疗泄泻肝气乘脾证与结肠组织中血管活性肠肽及其受体1表达下调有关, 方中白术能介导结肠组织中血管活性肠肽控制胃容性舒张、抑制肠的收缩, 从而起到缓解胃肠蠕动的作用<sup>[40]</sup>。在陈敏等<sup>[41]</sup>研究中表明痛泻要方治疗泄泻肝气乘脾证机制可能与其双向调节结肠和海马组织中的脑源性神经营养因子mRNA表达, 以及改善脑肠轴功能紊乱有关。在临床观察中痛泻要方治疗泄泻肝气乘脾证疗效优于对照组(匹维溴铵、曲美布汀、阿米替林或安慰剂等), 可以有效地证明痛泻要方治疗泄泻肝气乘脾证的



疗效, 并为临床研究提供实验依据<sup>[42]</sup>。

## 5 结论

研究泄泻的中医证型可为泄泻的诊治提供借鉴, 目前治疗泄泻肝气乘脾证所面临的难点是发生机制尚未明确, 缺乏客观性指标确诊, 很难与现代医学生物技术相结合。上述可知肠道微生态的变化可直接影响胃肠道功能, 对泄泻肝气乘脾证进行微生物检测, 观测细菌种类与数量的变化, 同时通过对脑肠轴相关肽5-HT、血管活性肠肽等相关肽研究, 将两类指标数据相结合或许可以成为判断泄泻肝气乘脾证的金指标。泄泻肝气乘脾证的发生机制、痛泻要方对泄泻肝气乘脾证的作用机制与脑-肠轴是紧密相关的, 脑肠肽含量变化反应了痛泻要方对泄泻肝气乘脾证的治疗与预后效果, 采用脑肠轴相关肽作为造模成功指标需要进一步实验的论证与思考。

## 6 参考文献

- 宋德勇, 陈蔚文, 孙畅, 陈光家, 吴克利. 辨证施治肠易激综合征南北地域差异的比较. 中医杂志 2003; 44: 273-274 [DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2003.01.065]
- 国家中医药管理局发布中华人民共和国中医药行业标准-中医病证诊断疗效标准. 中医药管理杂志 1994; 6: 2
- 中华中医药学会脾胃病分会. 泄泻中医诊疗专家共识意见 (2017). 中医杂志 2017; 58: 1256-1260 [DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2017.14.023]
- 孙琴, 李学军. 李学军教授治疗腹泻型肠易激综合征的经验. 广西中医药 2016; 39: 52-53
- 郭晓姝, 白光. 从五脏探析泄泻的发病机理和辨治思路. 江西中医药 2017; 2: 18-19
- 徐世荣. 肝郁脾虚泄泻的理论探讨及临证研究. 北京中医药大学 2010
- 陈霞, 王学红. 肠易激综合征肠道微生态调整和精神疗法探讨. 中国现代医学杂志 2017; 27: 121-123 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2017.23.025]
- 林剑, 王承党. 早期母婴分离对成年大鼠内脏感觉和肠道炎症的影响. 胃肠病学 2013; 18: 154-158 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2013.03.006]
- 张北华. IBS-D肝郁脾虚型病证结合大鼠模型的建立与评价. 中国中医科学院 2013
- 岳利峰, 丁杰, 陈家旭. 肝郁脾虚证大鼠模型的建立与评价. 北京中医药大学学报 2008; 6: 396-400 [DOI: 10.3321/j.issn.1006-2157.2008.06.009]
- 费晓燕, 谢建群, 郑昱, 吴大正, 袁建业. 疏肝饮对腹泻型肠易激综合征模型大鼠胃动素和胆囊收缩素的影响. 上海中医药杂志 2008; 42: 63-65 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1334.2008.04.027]
- 全俊. D-IBS与FD重叠肝郁脾虚证动物模型的建立及其中药干预机制研究. 扬州大学 2015; [DOI: 10.7666/d.Y2909150]
- 曾威, 奚庆华, 吴至久男. 肠易激综合征动物模型的研制现状和进展. 现代医药卫生 2016; 32: 2658-2661 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-5519.2016.17.013]
- 李铁男, 马腾飞, 王业秋, 张宁. 肠易激综合征模型复制方法概述. 中医药信息 2010; 27: 94-96 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-2406.2010.06.040]
- 唐洪梅, 廖小红, 房财富. 肝郁脾虚型大鼠肠易激综合征模型的建立及评价. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 138-140 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9903.2012.06.043]
- 周云, 梁万年, 唐春萍. 肠乐胶囊对肝郁脾虚型肠易激综合征模型大鼠的影响. 广东药学院学报 2015; 31: 70-74 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-8783.2015.01.016]
- 杨银芳, 楚更五, 张建英. 痛泻要方对寒冷-束缚肠易激综合征模型大鼠作用的实验研究. 中华中医药学刊 2008; 26: 1984-1986 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-7717.2008.09.055]
- 王一程, 穆芳园, 王曼宇, 王春国, 闫兴丽. 母婴分离联合3种应激致腹泻型肠易激综合征大鼠模型的建立和评价. 中华中医药杂志 2018; 6: 2314-2317
- 赵荣华, 谢鸣, 刘进娜. 肝郁、脾虚和肝郁脾虚证模型大鼠行为学变化及柴疏四君子汤对其作用的比较. 北京中医药大学学报 2015; 38: 515-518; 528 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2015.08.002]
- 朱亚珍, 厉启芳, 李鹤. 痛泻要方对肝郁脾虚型溃疡性结肠炎大鼠炎症因子表达量的影响. 时珍国医国药 2018; 29: 1053-1057
- 陶丝雨, 肖丛瑞, 王晶, 张淑静, 高誉珊, 穆芳园, 王一程, 闫兴丽. 缬草醛对肠易激综合征模型大鼠胃肠敏感性和结肠中5-HT及5-HT相关受体蛋白表达的影响作用. 北京中医药大学学报 2017; 40: 572-577 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2157.2017.07.008]
- 刘萍, 罗本燕. 肠道微生态与中枢神经系统疾病的相关性. 中国神经精神疾病杂志 2016; 42: 251-254 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-0152.2016.04.012]
- Desbonnet L, Garrett L, Clarke G, Kiely B, Cryan JF, Dinan TG. Effects of the probiotic *Bifidobacterium infantis* in the maternal separation model of depression. *Neuroscience* 2010; 170: 1179-1188 [PMID: 20696216 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2010.08.005]
- Gonzalez A, Stombaugh J, Lozupone C, Turnbaugh PJ, Gordon JI, Knight R. The mind-body-microbial continuum. *Dialogues Clin Neurosci* 2011; 13: 55-62 [PMID: 21485746]
- 温建勋, 张杰, 朱燕燕. 婴幼儿腹泻患者肠道菌群分布特点研究. 中国微生态学杂志 2018; 30: 1020-1023
- 贾峰. 双歧杆菌治疗急性肠炎患者的临床效果观察. 临床合理用药杂志 2018; 11: 53-54
- 杜小东, 罗利飞. 溃疡性结肠炎患者肠道菌群和肠黏膜屏障的变化及益生菌的干预作用. 中国微生态学杂志 2019; 31: 193-196 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201902017]
- 丁娟月, 孙宏文. 肠道菌群与腹泻型肠易激综合征相关性的研究进展. 中国微生态学杂志 2019; 31: 119-125 [DOI: 10.13381/j.cnki.cjm.201901028]
- 李杰峰. 不同亚型肠易激综合征患者肠道菌群特征的变化分析. 黑龙江医药 2018; 31: 854-856
- 李小平. 腹泻型肠易激综合征患者肠腔内菌群和肠道黏膜相关菌群的变化及意义. 安徽医科大学 2014
- Ghoshal UC, Ranjan P. Post-infectious irritable bowel syndrome: the past, the present and the future. *J Gastroenterol Hepatol* 2011; 26 Suppl 3: 94-101 [PMID: 21443719 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2011.06643.x]
- 肖琦凡, 姚树坤. 益生菌治疗肠易激综合征相关机制的研究进展. 医学综述 2014; 20: 3189-3191 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2014.17.045]
- 韩悦, 冷玉鑫, 么改琦. 抗菌药物对肠道菌群和肠黏膜屏障功能的影响及机制. 中华危重病急救医学 2017; 11: 1047-1051 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.11.019]
- 陈艳芬, 梁万年, 江涛. 肠乐胶囊治疗腹泻型肠易激综合征的药效学研究. 中成药 2016; 38: 499-504 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2016.03.006]
- 彭蔚, 潘锦瑶. 痛泻要方的临床应用及实验研究进展. 辽宁中医药大学学报 2009; 11: 44-46
- 张声生, 杨成. 痛泻要方对D-IBS结肠黏膜5-HT及CGA相关离子通道转运机制的研究. 首都医科大学学报 2015; 36: 645-648 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-7795.2015.04.026]
- 袁振仪, 陈威, 文维农, 陈苇. 痛泻要方对FD大鼠Cajal间质细胞内IP3R、RyR蛋白的影响. 世界最新医学信息文摘 2017; 17: 60; 96 [DOI: 10.19613/j.cnki.1671-3141.2017.91.044]
- 冯文林, 伍海涛. 探析痛泻要方的双向调节. 辽宁中医杂志 2016; 43: 570-572 [DOI: 10.13192/j.issn.1000-1719.2016.03.045]
- 许惠娟, 刘慧慧, 滕超. 痛泻要方对腹泻型肠易激综合征模型大鼠结肠水通道蛋白8表达影响的机制研究. 中国实验方剂学杂志 2012; 18: 141-144 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9903.2012.06.044]



- 40 王倩, 范文涛. 白术调节胃肠运动的研究进展. 现代中医药 2005; 1: 65-66 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-0571.2005.01.040]
- 41 陈敏, 黄德铨, 唐太春, 余萍, 张成. 痛泻要方调控BDNFmRNA表达缓解肠易激综合征腹泻大鼠内脏高敏的机制研究. 中华中医药学刊 2017; 12: 3095-3097
- 42 Prior A, Read NW. Reduction of rectal sensitivity and post-prandial motility by granisetron, a 5 HT<sub>3</sub>-receptor antagonist, in patients with irritable bowel syndrome. *Aliment Pharmacol Ther* 1993; 7: 175-180 [PMID: 8387353 DOI: 10.1111/j.1365-2036.1993.tb00087.x]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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

## 胆囊癌的分子基因学研究进展

杨敏丽, 戴树龙

杨敏丽, 戴树龙, 浙江省德清县人民医院普外科 浙江省湖州市 313200

杨敏丽, 主管护师, 主要从事普外科肿瘤方面疾病的研究。

基金项目: 浙江省医学会临床科研基金项目, No. 2018ZYC-A82.

作者贡献分布: 本文综述由杨敏丽进行查阅文献及写作完成; 由戴树龙进行选题设计及审核。

通讯作者: 戴树龙, 主治医师, 313200, 浙江省湖州市德清县武康镇英溪南路120号, 浙江省德清县人民医院外科. 13868299400@163.com  
电话: 0572-8063250

收稿日期: 2019-05-07

修回日期: 2019-06-20

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-07-28

### Advances in research of molecular genetics of gallbladder cancer

Min-Li Yang, Shu-Long Dai

Min-Li Yang, Shu-Long Dai, Department of General Surgery, Deqing County People's Hospital, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China

Supported by: Clinical Scientific Research Foundation of Zhejiang Medical Association, No. 2018ZYC-A82.

Corresponding author: Shu-Long Dai, Attending Physician, Department of General Surgery, Deqing County People's Hospital, 120 Yingxi South Road, Wukang Town, Deqing County, Huzhou 313200, Zhejiang Province, China. 13868299400@163.com

Received: 2019-05-07

Revised: 2019-06-20

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-07-28

### Abstract

Gallbladder cancer (GBC) remains a common malignant tumor in some specific regions of developing countries.

The lack of symptoms at early stage leads to difficulties in GBC diagnosis. The pathogenesis of GBC is still unclear, and an understanding of the relationship between its molecular genetics and pathogenesis can add new insights into its pathophysiology, such as Kras, TP53, ErbB2, cyclooxygenase-2, and vascular endothelial growth factor. This article provides a recent update of studies regarding the epidemiology, pathogenesis, and molecular genetics of GBC.

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

Key Words: Gallbladder cancer; Molecular genetics; Pathogenesis; Review

Yang ML, Dai SL. Advances in research of molecular genetics of gallbladder cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 903-906  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/903.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i14.903>

### 摘要

胆囊癌(gallbladder cancer, GBC)是预后最差的消化道恶性肿瘤之一, 发展中国家的发病率较高, 由于缺乏早期的临床表现, 发现时往往已处于肿瘤晚期。目前GBC的发病机制仍不明确, 有学者认为可能与基因及环境因素有关, 从分子基因学角度分析GBC的发病成为了一个新的研究方向, Kras, TP53, ErbB2, 环氧合酶及血管内皮生长因子等基因均是研究热点。本文针对GBC的流行病学, 发病机制及分子基因学最新研究进展进行综述。

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

关键词: 胆囊癌; 分子基因学; 发病机制; 综述

**核心提要:** 胆囊癌(gallbladder cancer, GBC)的分子基因学治疗是一个新的研究热点, 目前发现的与GBC发病密切相关的基因有Kras, TP53, ErbB2, 环氧合酶及血管内皮生长因子等, 针对以上基因的靶向药物在临床研究中也取得了一定的进展, 并有望改善GBC患者的生存期。

杨敏丽, 戴树龙. 胆囊癌分子基因学研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(14): 903-906

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/903.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.903>

## 0 引言

胆囊癌(gallbladder cancer, GBC)是最常见的胆道系统恶性肿瘤, 发病率因地理、种族及饮食习惯等而不同, 提示该疾病的发生可能与基因及环境等因素有关<sup>[1]</sup>. 由于缺乏早期的临床表现, 就诊时往往已处于晚期; 此外, 由于胆囊壁缺乏浆膜层, 肿瘤易浸润至肝脏组织, 手术效果也不理想, 术后5年生存率不足5%<sup>[2]</sup>. 因此, 进一步加强GBC的基础研究对改善GBC的诊治效果尤为重要, 本文就GBC在流行病学、病理生理学及分子基因学等方面的最新研究进展作一综述。

## 1 GBC的流行病学及发病机制

相对于其他消化道恶性肿瘤而言, GBC的全球总体发病率并不算高, 在消化道肿瘤中居第五位, 但病死率高, 预后差<sup>[3]</sup>. GBC的发病率存在明显的地域差异, 其中印度人的发病率最高, 达到普通人群的十倍以上, 其次是巴基斯坦人, 我国的GBC发病率也较高. 目前全球范围内GBC的总体发病率呈下降趋势, 而我国的发病率近年来却明显升高, 以上海地区最为突出. 胆囊结石是当前公认的导致GBC变的最主要、最直接的原因, 80%以上的GBC患者与胆囊结石有关, 因此对于有症状的胆石症患者推荐尽早进行胆囊切除术<sup>[4]</sup>. 研究表明, GBC的发生与基因及环境因素密切相关, 慢性的胆囊炎性刺激, 长期的化学药物影响及不良的饮食习惯等均是GBC发生的高危因素; 同时, 女性患者的GBC发病率是男性患者的2到3倍左右, 有学者认为这可能因为雌激素可引起胆汁胆固醇过饱和后结晶形成胆结石, 结石形成后反复刺激会导致胆囊黏膜发生不典型增生, 进而发生癌变<sup>[5]</sup>. 当然, 关于雌激素水平的高低与GBC的发生之间存在正相关关系仍是一种假设, 需要进一步的实验研究及循证医学依据来证实. 此外, 瓷化胆囊, Mirizzi's综合征及胆汁逆流等也是GBC发生的危险因素, 有GBC家族史的患者发生GBC变的机会也较大, 长期进食油炸、酸性的食物也会增加GBC的发生风险<sup>[6]</sup>. 目前关于GBC发生的分子

基因学研究得到了进一步的进展, 与其他恶性肿瘤类似, 相关致癌基因的过表达, 抗癌基因的抑制, DNA修复突变及甲基化异常等均与GBC的发生具有一定的相关性。

## 2 GBC发生的分子基因学研究

**2.1 Kras基因** Kras是负责编码Kras蛋白的原癌基因, 与多种肿瘤的发生及侵袭转移密切相关, Kras活化突变可通过多种信号传导通路引起细胞持续增殖, 这一改变是肿瘤发生的关键环节. 研究表明多数GBC组织中可见Kras基因的第12, 13, 61位密码子的突变, 以第13位密码子突变最为常见, 胆囊腺肌症患者的胆囊组织中则不会发生以上突变<sup>[7]</sup>. 而GBC患者的Kras突变检出率也存在一定的地域差异性, 以日本患者的发生率最高<sup>[8]</sup>. 由胆囊腺瘤恶变形成的GBC患者Kras突变率在25%左右, 表明Kras突变在胆囊腺瘤癌变的过程中可能发挥重要的作用. Kazmi等<sup>[9]</sup>认为Kras基因突变后可通过诱导相关信号因子的过度表达, 进而导致胆道变异, 胆道变异导致的胆汁及胰液返流使患者发生GBC的风险显著增加. Kras基因突变的肿瘤治疗相当困难, 患者的预后较差, 且目前缺乏有效的靶向药物, 近期有研究发现抑制AKT/ERK通路可抑制肿瘤细胞的快速增殖, 可为相应的GBC患者带来希望<sup>[10]</sup>(表1和表2).

**2.2 TP53基因** TP53是一种比较常见的抗癌基因, 主要通过调控基因完整, 细胞凋亡, 基因稳定及抑制血管再生来发挥抗肿瘤的作用, TP53功能丢失后受损的组织细胞会过度增殖而导致肿瘤的发生<sup>[11]</sup>. TP53基因突变主要发生在各种疾病(如炎症、损伤等)的后期, 突变后会导一些无功能蛋白的半衰期延长, 而绝大多数GBC组织均可见该类蛋白的过度表达. 查阅相关文献发现, 目前GBC组织发生TP53基因突变的概率在50%左右, 突变主要发生在第5号及第8号外显子的错位表达.

**2.3 ErbB2基因** ErbB2基因是表皮生长因子受体(epithelial growth factor receptor, EGFR)的同族体, 负责编码酪氨酸蛋白激酶. Kim等<sup>[12]</sup>通过免疫组化法发现胆囊腺瘤组织中ErbB2基因呈阴性表达, 而GBC组织阳性表达率则可高达46%. 动物实验结果表明, 使荷瘤小鼠胆囊上皮细胞的基底膜层ErbB2过表达后会激发GBC小鼠模型的肿瘤快速进展. 因此, 可以认为ErbB2基因在GBC的发生及进展过程中均发挥重要作用, ErbB2基因的阳性表达可作为GBC预后较差的标志. Rojas-Sepúlveda等<sup>[13]</sup>研究发现对ErbB2过度表达的GBC患者应用相应的靶向抑制剂能延缓其肿瘤的进展速度及改善其预后. 目前临床上相应的靶向药物分为酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitor, TKI)及单克隆抗体两类. 拉帕替尼是其中一种常用的TKI类靶向药物, 通过阻断



表 1 胆囊癌发生的基因表达形式

表达形式	基因名称
过表达	p16, ErbB2, COX-2, BCL-2, HMGA2, HIF-1 $\alpha$ , CCKAR, IL-6, VEGF-A等
低表达	FHIT, Rb, CD9, PSCA, OCT4等
阳性表达	VEGF-C, VEGF-D等

表 2 胆囊癌发生的分子路径

发生路径	基因名称
DNA修复路径	XPC, ERCC2, TP53, XRCC1等
激素调节路径	CCKAR, ESR, PGR, COMT, RXR等
炎症反应路径	CR1, IL-8, TNF- $\alpha$ , MMP-2, MMP-7等
细胞代谢路径	MTHFR, GSTT1, LPL等
组织凋亡路径	CASP8
其他	Kras, TLR2, TLR4等

EGFR与ErbB2之间的二聚化,在肿瘤发病早期发挥抑制作用;帕尼单抗能够特异性的与EGFR结合来抑制EGFR的活性.当前的研究表明单独应用以上靶向药物并不能改善GBC患者的生存期,但当靶向药物与化疗药物联合应用后能发挥更大的抗癌作用<sup>[14]</sup>.吉西他滨用于胆囊及胆管癌的化疗主要也是通过抑制EGFR及Erb B2的表达,研究表明联合应用吉西他滨与帕尼单抗后明显提高GBC患者的无瘤生存期<sup>[15]</sup>.

**2.4 GBC的其他相关基因** 环氧合酶(cyclooxygenase-2, COX-2)是人前列腺素合成的参与因子,通过促进前列腺素的合成来促进血管生成及抑制细胞凋亡等途径来促进肿瘤的发生及侵袭转移. Singh等<sup>[16]</sup>研究发现GBC患者肿瘤组织中COX-2的阳性表达率明显高于正常胆囊组织.非甾体类抗炎药塞来昔布可联合吉西他滨应用于进展期GBC的治疗,但当前尚缺乏可改善患者预后的证据.血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)主要是通过特异性促进血管内皮的增生,引起肿瘤细胞的局部增殖及转移. GBC组织中VEGF的表达明显高于胆囊腺瘤及慢性胆囊炎,且阳性表达率与肿瘤的恶性程度及转移程度明显相关.贝伐单抗能竞争性地与VEGF受体相结合而达到抑制肿瘤生长及侵袭的作用,当与化疗药物吉西他滨及奥沙利铂联合用药后可明显缓解部分GBC患者的病情进展,并延长其总生存期及无瘤生存期<sup>[15]</sup>.

此外, 5-脂氧合酶(5-lipoxy genase, 5-LOX), 金属基质蛋白酶等基因的突变也与GBC的发生发展具有一定的相关性.大样本研究即是指通过反复的大量样本试验

来探讨所有的基因突变中的可能致病基因,而关于GBC致病基因的大样本研究则较为罕见, Li等<sup>[17]</sup>报道的ErbB通路导致GBC发生所涉及的数据量相对较大,他们认为ErbB基因突变是诱发GBC的最主要原因.同时,又有学者则认为TP53及Kras基因突变与GBC的发生更为相关,出现以上结果可能是由于肿瘤的异质性造成的.

**2.5 甲基化异常与GBC** 对胆囊肿瘤DNA甲基化模式的理解能为改善其诊断及预后提供重要的生物学标志物,并最终用于指导治疗.肿瘤抑制基因的启动区甲基化异常会导致其功能的丢失,研究表明甲基化异常与肿瘤患者的生存质量及生存时间之间存在密切的联系,系统性分析发现MGMT基因甲基化可作为影响GBC预后的独立危险因素.

### 3 结论

我国近年来GBC的发病率呈明显的上升趋势,由于缺乏早期的临床表现及特异性的肿瘤标志物,患者就诊时往往已处于中晚期,部分患者为行胆囊切除术时发现,此种称为意外GBC. GBC的治疗相对困难,效果差,术后辅以放化疗等联合治疗可在一定程度上延长患者的生存期.目前关于GBC的分子基因学研究取得了一定的进展,靶向药物治疗主要是特异性针对Kras, Erb B2及VEGF等靶点.由于GBC的发生是多种因素及多信号通路基因改变造成的,单纯的靶向药物治疗效果有限,但当靶向药物与吉西他滨等化疗药联用后可明显提高肿瘤组织对化疗药物的敏感性,并显著改善其预后.同时,我们相信随着科技水平的提高,对于GBC的早期诊断和

治疗有望取得更进一步的进展.

#### 4 参考文献

- Sharma A, Sharma KL, Gupta A, Yadav A, Kumar A. Gallbladder cancer epidemiology, pathogenesis and molecular genetics: Recent update. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 3978-3998 [PMID: 28652652 DOI: 10.3748/wjg.v23.i22.3978]
- Zhang LF, Hou CS, Xu Z, Guo LM, Ling XF, Wang LX, Xiu DR. [Laparoscopic treatment for incidental gallbladder cancer: a retrospective 10 years study from a single institution]. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2019; 57: 277-281 [PMID: 30929373 DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5815.2019.04.007]
- 张复波, 张雅敏. 胆囊癌发病机制及外科治疗的研究进展. *临床肝胆病杂志* 2018; 5: 1133-1136 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-5256.2018.05.045]
- Aldossary MY, Alayed AA, Amr SS, Alqahtani S, Alnahawi M, Alqahtani MS. Gallbladder cancer in Eastern Province of Saudi Arabia: A retrospective cohort study. *Ann Med Surg (Lond)* 2018; 35: 117-123 [PMID: 30294442 DOI: 10.1016/j.amsu.2018.09.020]
- 石景森, 郑见宝, 马茂, 孙学军. 胆囊癌诊治中的困惑与思考. *肝胆胰外科杂志* 2016; 1: 1-4 [DOI: 10.11952/j.issn.1007-1954.2016.01.001]
- Hickman L, Contreras C. Gallbladder Cancer: Diagnosis, Surgical Management, and Adjuvant Therapies. *Surg Clin North Am* 2019; 99: 337-355 [PMID: 30846038 DOI: 10.1016/j.suc.2018.12.008]
- Sharma A, Kumar A, Kumari N, Krishnani N, Rastogi N. Mutational frequency of KRAS, NRAS, IDH2, PIK3CA, and EGFR in North Indian gallbladder cancer patients. *Ecancermedalscience* 2017; 11: 757 [PMID: 28900470 DOI: 10.3332/ecancer.2017.757]
- Goldin RD, Roa JC. Gallbladder cancer: a morphological and molecular update. *Histopathology* 2009; 55: 218-229 [PMID: 19490172 DOI: 10.1111/j.1365-2559.2008.03192]
- Kazmi HR, Chandra A, Nigam J, Noushif M, Parmar D, Gupta V. Prognostic significance of K-ras codon 12 mutation in patients with resected gallbladder cancer. *Dig Surg* 2013; 30: 233-239 [PMID: 23838952 DOI: 10.1159/000353133]
- Yellen P, Foster DA. Inhibition of fatty acid synthase induces pro-survival Akt and ERK signaling in K-Ras-driven cancer cells. *Cancer Lett* 2014; 353: 258-263 [PMID: 25086185 DOI: 10.1016/j.canlet.2014.07.027]
- Eskelund CW, Dahl C, Hansen JW, Westman M, Kolstad A, Pedersen LB, Montano-Almendras CP, Husby S, Freiburghaus C, Ek S, Pedersen A, Niemann C, Rätty R, Brown P, Geisler CH, Andersen MK, Guldberg P, Jerkeman M, Grønbaek K. TP53 mutations identify younger mantle cell lymphoma patients who do not benefit from intensive chemoimmunotherapy. *Blood* 2017; 130: 1903-1910 [PMID: 28819011 DOI: 10.1182/blood-2017-04-779736]
- Kim YW, Huh SH, Park YK, Yoon TY, Lee SM, Hong SH. Expression of the c-erb-B2 and p53 protein in gallbladder carcinomas. *Oncol Rep* 2001; 8: 1127-1132 [PMID: 11496329 DOI: 10.3892/or.8.5.1127]
- Rojas-Sepúlveda D, Tittarelli A, Gleisner MA, Ávalos I, Pereda C, Gallegos I, González FE, López MN, Butte JM, Roa JC, Fluxá P, Salazar-Onfray F. Tumor lysate-based vaccines: on the road to immunotherapy for gallbladder cancer. *Cancer Immunol Immunother* 2018; 67: 1897-1910 [PMID: 29600445 DOI: 10.1007/s00262-018-2157-5]
- 于志远, 孙岩. 胆囊癌的诊断与治疗进展. *中国普外基础与临床杂志* 2019; 3: 282-287 [DOI: 10.7507/1007-9424.201812102]
- 宋虎伟, 慎浩鑫, 陈晨, 王林, 耿智敏. 胆囊癌相关基础研究进展. *中华肝胆外科杂志* 2015; 8: 574-576 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.08.017]
- Singh TD, Gupta S, Shrivastav BR, Tiwari PK. Epigenetic profiling of gallbladder cancer and gall stone diseases: Evaluation of role of tumour associated genes. *Gene* 2016; 576: 743-752 [PMID: 26456195 DOI: 10.1016/j.gene.2015.10.004]
- Li M, Zhang Z, Li X, Ye J, Wu X, Tan Z, Liu C, Shen B, Wang XA, Wu W, Zhou D, Zhang D, Wang T, Liu B, Qu K, Ding Q, Weng H, Ding Q, Mu J, Shu Y, Bao R, Cao Y, Chen P, Liu T, Jiang L, Hu Y, Dong P, Gu J, Lu W, Shi W, Lu J, Gong W, Tang Z, Zhang Y, Wang X, Chin YE, Weng X, Zhang H, Tang W, Zheng Y, He L, Wang H, Liu Y, Liu Y. Whole-exome and targeted gene sequencing of gallbladder carcinoma identifies recurrent mutations in the ErbB pathway. *Nat Genet* 2014; 46: 872-876 [PMID: 24997986 DOI: 10.1038/ng.3030]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## 肠道产丁酸菌防治炎症性肠病的机制研究进展

陈映宇, 毛联智, 刘华缓, 孙素霞

陈映宇, 毛联智, 刘华缓, 孙素霞, 南方医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学系 广东省广州市 510515

陈映宇, 本科生, 主要从事防治炎症性肠病的动物实验研究。

作者贡献分布: 本文综述由陈映宇、毛联智及刘华缓完成; 孙素霞负责校审。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81773429。

通讯作者: 孙素霞, 副教授, 510515, 广东省广州市白云区广州大道北1838号, 南方医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学系. [suxiasun@hotmail.com](mailto:suxiasun@hotmail.com)

电话: 020-61648309

收稿日期: 2019-05-07

修回日期: 2019-06-10

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-07-28

### Mechanism of gut butyric acid producing bacteria for prevention and treatment of inflammatory bowel disease

Ying-Yu Chen, Lian-Zhi Mao, Hua-Huan Liu, Su-Xia Sun

Ying-Yu Chen, Lian-Zhi Mao, Hua-Huan Liu, Su-Xia Sun, Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510080, Guangdong Province, China

Supported by: National Nature Science Foundation of China, No. 81773429

Corresponding author: Su-Xia Sun, Associate Professor, Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Southern Medical University, 1838 Guangzhou Avenue North, Baiyun District, Guangzhou 510515, Guangdong Province, China. [suxiasun@hotmail.com](mailto:suxiasun@hotmail.com)

Received: 2019-05-07

Revised: 2019-06-10

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-07-28

### Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) represents a group of intestinal disorders with uncontrolled and chronic inflammation which include Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC). The incidence of IBD is increasing dramatically in Asian countries, especially in China. Recent studies have observed changes in the amount and structure of the gut butyrate-producing bacteria in IBD patients, which suggested that butyrate-producing bacteria might be related to the occurrence and development of IBD. This review will focus on the anti-inflammatory effects of butyrate-producing bacteria by producing butyric acid and butyrate and inhibiting inflammation as well as the immune characteristics of three species of butyrate-producing bacteria: *Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*, and *Clostridium butyricum*. These mechanisms provide some new ideas and clues for IBD prevention and treatment.

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

Key Words: Gut bacteria; Butyrate-producing bacteria; Inflammatory bowel disease; Butyric acid

Chen YY, Mao LZ, Liu HH, Sun SX. Mechanism of gut butyric acid producing bacteria for prevention and treatment of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(14): 907-912  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/907.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i14.907>

### 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一组难以控制的慢性炎症性肠道疾病, 包括克罗恩病(crohn's disease, CD)和溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)。近年来, 亚洲国家的IBD发病率明显上升, 尤其



是在我国. 最近的研究中发现IBD患者体内存在肠道产丁酸菌数量和构成的改变, 提示产丁酸菌与IBD的发生和发展存在一定联系. 本综述着重介绍了产丁酸菌通过产生丁酸及丁酸盐发挥的抗炎作用, 以及*Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*和*Clostridium butyricum*三种产丁酸菌通过菌体本身的结构和免疫特性发挥的抗炎作用. 这些机制的发现可为防治IBD提供新的思路和研究线索.

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

关键词: 肠道菌群; 产丁酸菌; 炎症性肠病; 丁酸

**核心提要:** 近年来, 有研究发现肠道产丁酸菌数量和构成的变化与炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)的发生发展息息相关. 除了产生丁酸和丁酸盐外, 部分产丁酸菌还可以通过菌体结构和自身免疫特性发挥抗IBD作用. 本文就肠道产丁酸菌防治IBD的作用机制进行综述.

陈映宇, 毛联智, 刘华媛, 孙素霞. 肠道产丁酸菌防治炎症性肠病的机制研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(14): 907-912

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i14/907.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i14.907>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种慢性、复发性胃肠道炎症, 溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD)是临床上定义的IBD的两种主要类型. IBD临床症状多样, 可波及多个器官系统, 具有较高的误诊率<sup>[1]</sup>. IBD在西方国家多发, 美国有超过100万居民, 欧洲有超过250万居民患有IBD, 而近年来亚洲, 南美洲及中东地区的患病率也在不断上升, IBD已经演变成了一种全球性疾病<sup>[2]</sup>. 我国IBD的发病率不及西方国家, 但呈现明显上升的趋势, 是亚洲IBD发病率最高的国家<sup>[3]</sup>, 达到3.14/10万人, 其中UC的发病率为2.05/10万人, CD为1.09/10万人<sup>[4]</sup>. 人体是由真核细胞与体内共生的细菌共同组成的“超级生物体”, 肠道是细菌定植的主要场所之一<sup>[5]</sup>. 肠道菌群的失调与IBD的发生发展密切相关, 是IBD发病的基础<sup>[6]</sup>. 肠道菌群对肠上皮细胞的生长与分化、宿主的营养、代谢和免疫功能的调节等方面都起到非常重要的作用<sup>[7]</sup>. 某些肠道菌群可以在结肠内发酵未消化的膳食纤维产生短链脂肪酸(short chain fatty acid, SCFA), 主要包括乙酸, 丙酸和丁酸<sup>[8]</sup>. 有研究者在IBD患者和相关动物模型中观察到一些产丁酸细菌的数量和多样性下降, 如*Faecalibacterium prausnitzii*和*Roseburia*菌属<sup>[9]</sup>, 但产丁酸菌与IBD之间的相互关系尚未清晰. 肠道产丁酸菌可以

调节免疫细胞生成的数量, 维护肠上皮细胞屏障功能, 以及通过产生的丁酸发挥抗IBD的作用. 本文就肠道产丁酸菌及其在IBD中的作用及其机制进行综述.

## 1 肠道产丁酸菌

哺乳动物的肠道中聚集着数万亿的细菌, 可以在人体内介导多种生物化学反应. 肠道菌群结构复杂, 在结肠中的种类和数量尤为丰富, 有300-400种, 数量可超过 $10^{11}$ /g水平<sup>[10]</sup>. 肠道菌群可分解并发酵膳食中的低聚糖等膳食纤维, 生成SCFA<sup>[11]</sup>. 肠道菌群在维护免疫和代谢稳态以及预防疾病方面发挥重要作用, 其组成的改变与许多炎症性疾病的发病机理息息相关<sup>[12]</sup>. 近年来, 产丁酸菌因其在抗肠道炎症方面的作用被广泛认识. 产丁酸菌在肠道中产生的丁酸可以为结肠上皮细胞提供能量, 提高肠上皮细胞屏障的完整性, 调节肠道菌群的种类和数量, 促进人和动物的肠道健康<sup>[13,14]</sup>. 产丁酸菌主要分布在结肠和盲肠中, 以厚壁菌门(*Firmicutes*)为主<sup>[15]</sup>, 包括梭杆菌属(*Fusobacterium*)、真杆菌属(*Eubacterium*)、梭菌属(*Clostridium*)、罗氏菌属(*Roseburia*)等<sup>[16]</sup>. 梭杆菌属的*Faecalibacterium prausnitzii*和真杆菌属的*Eubacterium rectale*的数量在人结肠菌群中占比最高<sup>[17]</sup>, 将*Faecalibacterium prausnitzii*和罗氏菌属的*Roseburia intestinalis*分离后在M2G培养基中进行体外培养发酵, 其产丁酸量高于10 mmol/L, 以上三种菌可能是人和动物肠道中的优势产丁酸菌<sup>[18,19]</sup>. 梭菌属的*Clostridium butyricum*也是人和动物肠道中常见的共生菌, 因为其强大的产丁酸能力而命名<sup>[20]</sup>. 此外, *Eubacterium hallii*、*Roseburia faecis*、*Roseburia hominis*、*Eubacterium ramulus*也是肠道产丁酸菌的重要组成类别<sup>[15]</sup>. 随着基因测序等生物技术及色谱、质谱等仪器分析方法的进步和发展, *Mediterraneibacter butyricigenes*<sup>[21]</sup>, *Clostridium composti*<sup>[22]</sup>等新型产丁酸菌种也被不断发现和分离.

## 2 产丁酸菌在IBD中的变化

过往的研究中人们普遍认为IBD的发生与肠道菌群的失调及代谢变化密切相关. Takahashi等<sup>[23]</sup>利用Illumina MiSeq TM II 系统对10名CD患者和10名健康人的粪便样本进行16S rRNA测序. 结果显示, 与健康人相比, CD病人体内的产丁酸菌种, 如*Blautia faecis*, *Roseburia inulinivorans*, *Ruminococcus torques*, *Clostridium lavalense*, *Bacteroides uniformis*和*Faecalibacterium prausnitzii*均显著减少. Halfvarson等<sup>[24]</sup>建立了128名IBD患者和9名健康人对照的研究队列, 通过对16S rRNA基因的V4区域测序, 发现病人体内产丁酸菌*Faecalibacterium prausnitzii*的丰度与正常个体相比明显下降. Machiels等<sup>[25]</sup>采用变

性梯度凝胶电泳技术分析了127名UC患者和87名健康人的粪便微生物群, 通过实时定量PCR, 与对照组相比, UC患者体内两种产丁酸菌*Faecalibacterium prausnitzii*和*Roseburia hominis*的丰度显著降低。Al-Bayati等<sup>[26]</sup>调查了40名UC患者和40名正常人结肠肠道菌群的组成, 观察到患者结肠镜活检标本中产丁酸菌*Faecalibacterium prausnitzii*数量减少。但由于菌群难以在体外培养、菌群在肠黏膜与粪便中分离出的样本成分存在差异、多数研究使用的16s核糖体RNA标记测序对菌群分类的精确度不足、研究结果大多基于横断面研究等原因, 尚不能证明肠道菌群的成分变化与IBD的发病存在确切的因果关系<sup>[27]</sup>。对于产丁酸菌与IBD的关系, 目前大多数研究仅能阐述发病过程中产丁酸菌群在肠道中的数量及成分变化, 人们对其内在机制知之甚少。但以上研究结果提示产丁酸菌与IBD之间存在一定的关系, 为从产丁酸菌角度防治IBD提供线索。

### 3 产丁酸菌通过产生丁酸发挥抗IBD作用

有研究和相关的临床证据表明, 丁酸及丁酸盐被认为具有保护肠道黏膜, 调节免疫平衡的作用, 是治疗IBD的潜在药物。丁酸盐可以为肠上皮细胞提供能量, 通过促进其增殖分化提高肠黏膜的完整性, 阻止致病因子及其他外源性物质入血导致炎症发生<sup>[28]</sup>。丁酸盐还可作为一种组蛋白去乙酰化酶抑制剂(histone deacetylase inhibitors, HDACi)参与基因的转录调控<sup>[29]</sup>, 使DNA与组蛋白八聚体解离, 松弛核小体, 促进转录因子与特异位点结合从而激活转录过程。除此之外, 丁酸盐作为HDACi能激活肠上皮细胞的AP-1通路<sup>[30]</sup>, 下调炎症因子的表达水平, 并能增加Fas蛋白的表达量诱导T细胞凋亡<sup>[31]</sup>, 抑制炎症的发生。丁酸盐也可影响调节性T细胞(regulatory T, Treg)的增殖分化发挥抗炎作用。Treg可表达一种对自身免疫和增殖分化有关键作用的Foxp3蛋白, 丁酸盐能抑制促炎因子IL-6的表达并通过HDACi作用促使初始T细胞分化为Treg细胞, 增加对Foxp3蛋白的表达发挥抗炎作用<sup>[32,33]</sup>。丁酸钠还具有激活G蛋白偶联受体(G protein-coupled receptors, GPRs)的作用, 特别是GPR43和GPR109a。其作用主要是通过激活GPRs抑制下游MEK-ERK、NF- $\kappa$ B等信号通路, 减少促炎因子的分泌, 增加抗菌肽LL-37的分泌来抑制炎症反应<sup>[34]</sup>。此外, 丁酸盐可以抑制JAK2的活性以及 $\gamma$ -干扰素诱导的STAT1蛋白上酪氨酸和丝氨酸的磷酸化, 从而抑制JAK-STAT通路的活性, 使促炎细胞因子和一氧化氮合酶的合成减少<sup>[35]</sup>。综上所述, 产丁酸菌能通过产生丁酸及丁酸盐提高肠道的免疫屏障作用, 促进Treg的增殖分化, 激活GPRs, 以及抑制炎症通路如NF- $\kappa$ B、JAK-STAT来

控制炎症的发生和发展, 进而发挥其抗IBD作用。

### 4 产丁酸菌通过其他途径发挥抗IBD作用

除了通过产生丁酸发挥抗炎作用外, 有部分产丁酸菌还可不依赖丁酸及丁酸盐, 而是通过菌体本身的结构和免疫特性发挥抗炎作用。本文挑选了三种具有这些作用的肠道产丁酸菌, 分别为*Roseburia intestinalis*, *Faecalibacterium prausnitzii*和*Clostridium butyricum*, 总结近期研究工作者提出或发现的关于这些菌种在IBD中的作用及其机制。

**4.1 *Roseburia intestinalis*** *Roseburia*菌属由多种革兰阳性专性厌氧菌构成, 有*R.intestinalis*, *R.hominis*, *R.inulinivorans*, *R.faecis*和*R.cecicola*五种, 属于*Clostridium* ClusterXIVa亚群。目前对于*Roseburia intestinalis*菌种抗IBD的机制有较多新的研究进展。Shen等<sup>[36]</sup>发现*Roseburia intestinalis*可以增加Treg细胞的数量, 提高结肠炎小鼠体内抗炎细胞因子IL-10, TGF- $\beta$ , TSLP的表达水平, 参与由脂多糖诱导的CaCo-2细胞抗炎途径, 发挥抗炎作用。Quan等<sup>[37]</sup>通过在小鼠的UC样品中的微阵列分析和基因测定, 发现*Roseburia intestinalis*的鞭毛蛋白可能通过增加stat1磷酸化激活H1F1A-AS2启动子, 下调TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6和IL-12等炎症细胞因子介导抗炎作用。Zhu等<sup>[38]</sup>利用三硝基苯磺酸溶液在小鼠体内造IBD模型, 通过炎症发生前后的病理学评分及炎症细胞因子的分泌量对比, 表明*Roseburia intestinalis*可以通过NCM460细胞抑制由脂多糖诱导的炎症细胞因子IL-17分泌, 并能增加Treg细胞的数量对抗IBD。综上所述, 这些新的研究着重阐述了*Roseburia intestinalis*通过调控Treg等免疫细胞, 增加体内抗炎细胞因子的分泌, 下调促炎细胞因子的表达水平, 以及利用鞭毛蛋白激活启动子等方面的抗炎机制, 为IBD的治疗提供了新的思路。

**4.2 *Faecalibacterium prausnitzii*** *Faecalibacterium prausnitzii*是人体内含量最丰富的菌种之一, 属于*Clostridium* Cluster IV亚群, 占人体细菌总量的6%-8%<sup>[39]</sup>。*Faecalibacterium prausnitzii*是肠道中重要的丁酸盐生产者, 除了通过产生丁酸盐发挥SCFA的抗炎作用外, 其本身也可以通过多条免疫通路来调节肠道炎症反应。2008年Sokol等<sup>[40]</sup>人从人粪中分离了*Faecalibacterium prausnitzii*的上清液, 通过腹腔注射使其进入IBD小鼠体内。结果显示, 用*Faecalibacterium prausnitzii*处理的两组IBD小鼠TNF- $\alpha$ , IL-12的分泌水平显著低于IBD对照组, 且用其上清液处理小鼠的结肠可诱导IL-10分泌。Sokol等<sup>[40]</sup>认为, 这种抗炎途径不是由于丁酸盐的存在, 而是*Faecalibacterium prausnitzii*独立的抗炎机制。近期许多由*Faecalibacterium prausnitzii*介导的新抗炎途径也被不断



表 1 产丁酸菌作用下炎症性肠病患者或动物体内的细胞因子变化情况

细胞因子	产丁酸菌	表达	机制	参考文献
IL-10	<i>Roseburia intestinalis</i>	上调	未知	[36]
	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	上调	诱导DC表达Tr1/Treg极化分子	[41]
	<i>Roseburia intestinalis</i>	下调	激活H1F1A-AS2启动子	[36]
IL-12和TNF-α	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	下调	TLR4刺激下抑制	[41]
	<i>Clostridium butyricum</i>	下调	miR-200c的表达抑制	[44]
IL-6和IL-1β	<i>Roseburia intestinalis</i>	下调	激活H1F1A-AS2启动子	[37]
TGF-β	<i>Roseburia intestinalis</i>	上调	未知	[36]
	<i>Clostridium butyricum</i>	上调	激活ERK-AP-1激酶通路, 诱导肠壁固有层的DC产生	[44]

提出和发现. Alameddine等<sup>[41]</sup>首次提出*Faecalibacterium prausnitzii*可诱导树突状细胞(dendritic cell, DC)表达一系列独特的Tr1/Treg极化分子, 包括IL-27, CD39, IDO-1和PDL-1等抗炎细胞因子, 并在TLR4刺激下, 抑制炎症细胞因子的分泌, 达到抗炎的效果. Sarabayrouse等<sup>[42]</sup>则认为肠黏膜CD4CD8ααT淋巴细胞也可以参与表达Foxp3 Treg细胞并分泌IL-10, 而CD4CD8ααT淋巴细胞的表达水平与*Faecalibacterium prausnitzii*的含量存在高度相关性, 他们猜测*Faecalibacterium prausnitzii*参与激活了该免疫通路. *Faecalibacterium prausnitzii*在IBD中的作用机制是肠道菌群抗炎机制中较为热门的研究方向, DC和CD4CD8ααT淋巴细胞发挥的抗炎作用在过往的研究中较少提及, 许多学者将通过进一步的临床试验和研究证实其作用.

4.3 *Clostridium butyricum* *Clostridium butyricum*是一种严格厌氧的革兰阴性芽孢杆菌, 因为其强大的产丁酸能力而命名, 是人和动物肠道中常见的共生菌<sup>[20]</sup>. 多种动物实验和临床实践中都证实其抗炎作用, 现已作为一种商业化的益生菌菌种<sup>[20]</sup>. Cai等<sup>[43]</sup>用*Clostridium butyricum*胶囊治疗UC患者, 检测到患者血清中特异性IgE, IL-4和TNF-α的水平下降, 提出*Clostridium butyricum*具有改善UC的作用. Xiao等<sup>[44]</sup>通过实时PCR及荧光原位杂交技术观察到*Clostridium butyricum*在结肠炎模型小鼠体内促进miR-200c的表达, 减少促炎细胞因子的产生; 还可以增长肠道上皮微绒毛, 减少上皮细胞的通透性, 抑制炎症的发生. Li等<sup>[45]</sup>认为*Clostridium butyricum*可以修复肠道紧密连接蛋白, 调节肠道乳酸杆菌等微生物的生长, 保护肠上皮细胞的免疫屏障. Kashiwagi等<sup>[46]</sup>用*Clostridium butyricum*等梭菌属混合物定植于结肠炎模型小鼠中, 发现*Clostridium butyricum*可以依赖Toll样受体2, 激活ERK-AP-1激酶通路, 诱导肠壁固有层的树突细胞中的TGF-β1促进肠道中Treg的形成, 调节肠道的免疫功能. 综上所述, *Clostridium butyricum*既可通过修复肠道结构提高肠道免疫力, 也可通过调节miR-200c等分子的

表达水平或激活相关免疫通路发挥其抗炎作用(表1).

5 结论

肠道产丁酸菌以Firmicutes为主, 包括*Fusobacterium*、*Eubacterium*、*Clostridium*、*Roseburia*等菌属. IBD患者和模型动物中的产丁酸菌数量和多样性的减少, 提示产丁酸菌的变化与IBD的发病有密切联系. 多项动物实验及临床实践研究表明产丁酸菌发挥抗IBD作用, 其主要机制可分为以下两大方面: 一是产丁酸菌可通过产生丁酸和丁酸盐保护肠道黏膜, 发挥HDACi作用, 并可调节Treg细胞的增殖分化, 以及激活GPRs, 抑制NF-κB、JAK-STAT等信号通路产生抗炎作用. 二是产丁酸菌可以通过自身的结构和免疫特性发挥抗炎作用. 除了通过增加Treg细胞数量, 下调炎症因子表达水平等常见途径外, 有研究者还提出了新的抗炎部位和免疫通路. 如*Roseburia intestinalis*利用鞭毛蛋白通过增加stat1磷酸化激活H1F1A-AS2启动子等方式保护肠道组织; *Faecalibacterium prausnitzii*诱导树突状细胞, CD4CD8ααT淋巴细胞参与的免疫调节作用被逐步发现; *Clostridium butyricum*能增长肠道微绒毛, 增强肠道上皮细胞的屏障作用, 防止IBD的发生和发展. 但由于在目前的研究中, 产丁酸菌群难以在体外培养, 且多数研究使用的16s核糖体RNA标记测序对菌群分类的精确度不足, 菌群在肠黏膜与粪便中分离出的样本成分存在差异, 因此菌群与IBD发生发展之间的因果关系尚不十分明确. 产丁酸菌抗IBD的作用除了本文所阐述的机制外, 在实验过程中是否存在其他抗炎途径和干扰因素, 目前的研究也没有准确的定论. 因此, 有必要进一步了解宿主与细菌相互作用的分子基础, 为今后通过这些机制提高IBD病人体内产丁酸菌的数量和种类, 改善肠道菌群的生态失调, 进而达到改善和治疗IBD提供策略.

6 参考文献

1 郑连鹏, 吕宗舜, 张洁, 曹晓沧, 王绪霖. 中国大陆地区炎症性肠



- 病肠外表现的汇总分析. 世界华人消化杂志 2009; 17: 2217-2220 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2009.21.020]
- 2 Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2015; 12: 720-727 [PMID: 26323879 DOI: 10.1038/nrgastro.2015.150]
  - 3 Ng SC, Tang W, Ching JY, Wong M, Chow CM, Hui AJ, Wong TC, Leung VK, Tsang SW, Yu HH, Li MF, Ng KK, Kamm MA, Studd C, Bell S, Leong R, de Silva HJ, Kasturiratne A, Mufeeena MNF, Ling KL, Ooi CJ, Tan PS, Ong D, Goh KL, Hilmi I, Pisespongsa P, Manatsathit S, Rerknimitr R, Aniwan S, Wang YF, Ouyang Q, Zeng Z, Zhu Z, Chen MH, Hu PJ, Wu K, Wang X, Simadibrata M, Abdullah M, Wu JC, Sung JY, Chan FKL; Asia-Pacific Crohn's and Colitis Epidemiologic Study (ACCESS) Study Group. Incidence and phenotype of inflammatory bowel disease based on results from the Asia-Pacific Crohn's and colitis epidemiology study. *Gastroenterology* 2013; 145: 158-165.e2 [PMID: 23583432 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.04.007]
  - 4 朱振华, 曾志荣, 彭侠彪, 彭林, 郝元涛, 黄秀娟, 陈旻湖, 胡品津. 广东省中山市炎症性肠病的发病率及临床特点. 中华消化杂志 2013; 33: 390-393 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2013.06.007]
  - 5 Lederberg J. Infectious history. *Science* 2000; 288: 287-293 [PMID: 10777411 DOI: 10.1126/science.288.5464.287]
  - 6 Manichanh C, Borruel N, Casellas F, Guarner F. The gut microbiota in IBD. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 599-608 [PMID: 22907164 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.152]
  - 7 Pryde SE, Duncan SH, Hold GL, Stewart CS, Flint HJ. The microbiology of butyrate formation in the human colon. *FEMS Microbiol Lett* 2002; 217: 133-139 [PMID: 12480096 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2002.tb11467.x]
  - 8 Roediger WE. Role of anaerobic bacteria in the metabolic welfare of the colonic mucosa in man. *Gut* 1980; 21: 793-798 [PMID: 7429343 DOI: 10.1136/gut.21.9.793]
  - 9 Chen WX, Ren LH, Shi RH. Enteric microbiota leads to new therapeutic strategies for ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 15657-15663 [PMID: 25400449 DOI: 10.3748/wjg.v20.i42.15657]
  - 10 Holzapfel WH, Haberger P, Snel J, Schillinger U, Huis in't Veld JH. Overview of gut flora and probiotics. *Int J Food Microbiol* 1998; 41: 85-101 [PMID: 9704859 DOI: 10.1016/S0168-1605(98)00044-0]
  - 11 Louis P, Hold GL, Flint HJ. The gut microbiota, bacterial metabolites and colorectal cancer. *Nat Rev Microbiol* 2014; 12: 661-672 [PMID: 25198138 DOI: 10.1038/nrmicro3344]
  - 12 Thursby E, Juge N. Introduction to the human gut microbiota. *Biochem J* 2017; 474: 1823-1836 [PMID: 28512250 DOI: 10.1042/BCJ20160510]
  - 13 Geirnaert A, Calatayud M, Grootaert C, Laukens D, Devriese S, Smagghe G, De Vos M, Boon N, Van de Wiele T. Butyrate-producing bacteria supplemented in vitro to Crohn's disease patient microbiota increased butyrate production and enhanced intestinal epithelial barrier integrity. *Sci Rep* 2017; 7: 11450 [PMID: 28904372 DOI: 10.1038/s41598-017-11734-8]
  - 14 Zhao J, Liu P, Wu Y, Guo P, Liu L, Ma N, Levesque C, Chen Y, Zhao J, Zhang J, Ma X. Dietary Fiber Increases Butyrate-Producing Bacteria and Improves the Growth Performance of Weaned Piglets. *J Agric Food Chem* 2018; 66: 7995-8004 [PMID: 29986139 DOI: 10.1021/acs.jafc.8b02545]
  - 15 Louis P, Flint HJ. Diversity, metabolism and microbial ecology of butyrate-producing bacteria from the human large intestine. *FEMS Microbiol Lett* 2009; 294: 1-8 [PMID: 19222573 DOI: 10.1111/j.1574-6968.2009.01514.x]
  - 16 Moore WE, Moore LH. Intestinal floras of populations that have a high risk of colon cancer. *Appl Environ Microbiol* 1995; 61: 3202-3207 [PMID: 7574628 DOI: 10.1002/bit.260470513]
  - 17 Walker AW, Duncan SH, Louis P, Flint HJ. Phylogeny, culturing, and metagenomics of the human gut microbiota. *Trends Microbiol* 2014; 22: 267-274 [PMID: 24698744 DOI: 10.1016/j.tim.2014.03.001]
  - 18 Duncan SH, Hold GL, Harmsen HJ, Stewart CS, Flint HJ. Growth requirements and fermentation products of *Fusobacterium prausnitzii*, and a proposal to reclassify it as *Faecalibacterium prausnitzii* gen. nov., comb. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 2141-2146 [PMID: 12508881 DOI: 10.1099/00207713-52-6-2141]
  - 19 Duncan SH, Hold GL, Barcenilla A, Stewart CS, Flint HJ. *Roseburia intestinalis* sp. nov., a novel saccharolytic, butyrate-producing bacterium from human faeces. *Int J Syst Evol Microbiol* 2002; 52: 1615-1620 [PMID: 12361264 DOI: 10.1099/00207713-52-5-1615]
  - 20 Cassir N, Benamar S, La Scola B. *Clostridium butyricum*: from beneficial to a new emerging pathogen. *Clin Microbiol Infect* 2016; 22: 37-45 [PMID: 26493849 DOI: 10.1016/j.cmi.2015.10.014]
  - 21 Kim JS, Lee KC, Suh MK, Han KI, Eom MK, Lee JH, Park SH, Kang SW, Park JE, Oh BS, Yu SY, Choi SH, Lee DH, Yoon H, Kim BY, Yang SJ, Lee JS. *Mediterraneibacter butyricigenes* sp. nov., a butyrate-producing bacterium isolated from human faeces. *J Microbiol* 2019; 57: 38-44 [PMID: 30594982 DOI: 10.1007/s12275-019-8550-8]
  - 22 Shin Y, Paek J, Son AY, Kim H, Kook JK, Paek WK, Chang YH. *Clostridium composti* sp. nov., a new anaerobic bacteria isolated from compost. *Int J Syst Evol Microbiol* 2018; 68: 3869-3873 [PMID: 30358527 DOI: 10.1099/ijssem.0.003074]
  - 23 Takahashi K, Nishida A, Fujimoto T, Fujii M, Shioya M, Imaeda H, Inatomi O, Bamba S, Sugimoto M, Andoh A. Reduced Abundance of Butyrate-Producing Bacteria Species in the Fecal Microbial Community in Crohn's Disease. *Digestion* 2016; 93: 59-65 [PMID: 26789999 DOI: 10.1159/000441768]
  - 24 Halfvarson J, Brislawn CJ, Lamendella R, Vázquez-Baeza Y, Walters WA, Bramer LM, D'Amato M, Bonfiglio F, McDonald D, Gonzalez A, McClure EE, Dunkleberger MF, Knight R, Jansson JK. Dynamics of the human gut microbiome in inflammatory bowel disease. *Nat Microbiol* 2017; 2: 17004 [PMID: 28191884 DOI: 10.1038/nmicrobiol.2017.4]
  - 25 Machiels K, Joossens M, Sabino J, De Preter V, Arijs I, Eeckhaut V, Ballet V, Claes K, Van Immerseel F, Verbeke K, Ferrante M, Verhaegen J, Rutgeerts P, Vermeire S. A decrease of the butyrate-producing species *Roseburia hominis* and *Faecalibacterium prausnitzii* defines dysbiosis in patients with ulcerative colitis. *Gut* 2014; 63: 1275-1283 [PMID: 24021287 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-304833]
  - 26 Al-Bayati L, Nayeri Fasaee B, Merat S, Bahonar A. Longitudinal Analyses of Gut-Associated Bacterial Microbiota in Ulcerative Colitis Patients. *Arch Iran Med* 2018; 21: 578-584 [PMID: 30634855]
  - 27 Ni J, Wu GD, Albenberg L, Tomov VT. Gut microbiota and IBD: causation or correlation? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 14: 573-584 [PMID: 28743984 DOI: 10.1038/nrgastro.2017.88]
  - 28 Zoran DL, Turner ND, Taddeo SS, Chapkin RS, Lupton JR. Wheat bran diet reduces tumor incidence in a rat model of colon cancer independent of effects on distal luminal butyrate concentrations. *J Nutr* 1997; 127: 2217-2225 [PMID: 9349850 DOI: 10.1093/jn/127.11.2217]
  - 29 Cleophas MC, Crişan TO, Lemmers H, Toenhake-Dijkstra H, Fossati G, Jansen TL, Dinarello CA, Netea MG, Joosten LA. Suppression of monosodium urate crystal-induced cytokine production by butyrate is mediated by the inhibition of class I histone deacetylases. *Ann Rheum Dis* 2016; 75: 593-600 [PMID: 25589513 DOI: 10.1136/annrheumdis-2014-206258]
  - 30 Puertollano E, Kolida S, Yaqoob P. Biological significance of

- short-chain fatty acid metabolism by the intestinal microbiome. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2014; 17: 139-144 [PMID: 24389673 DOI: 10.1097/MCO.0000000000000025]
- 31 Zimmerman MA, Singh N, Martin PM, Thangaraju M, Ganapathy V, Waller JL, Shi H, Robertson KD, Munn DH, Liu K. Butyrate suppresses colonic inflammation through HDAC1-dependent Fas upregulation and Fas-mediated apoptosis of T cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G1405-G1415 [PMID: 22517765 DOI: 10.1152/ajpgi.00543.2011]
  - 32 Furusawa Y, Obata Y, Fukuda S, Endo TA, Nakato G, Takahashi D, Nakanishi Y, Uetake C, Kato K, Kato T, Takahashi M, Fukuda NN, Murakami S, Miyauchi E, Hino S, Atarashi K, Onawa S, Fujimura Y, Lockett T, Clarke JM, Topping DL, Tomita M, Hori S, Ohara O, Morita T, Koseki H, Kikuchi J, Honda K, Hase K, Ohno H. Commensal microbe-derived butyrate induces the differentiation of colonic regulatory T cells. *Nature* 2013; 504: 446-450 [PMID: 24226770 DOI: 10.1038/nature12721]
  - 33 Hoeppli RE, Wu D, Cook L, Levings MK. The environment of regulatory T cell biology: cytokines, metabolites, and the microbiome. *Front Immunol* 2015; 6: 61 [PMID: 25741338 DOI: 10.3389/fimmu.2015.00061]
  - 34 Sun L, Ye RD. Role of G protein-coupled receptors in inflammation. *Acta Pharmacol Sin* 2012; 33: 342-350 [PMID: 22367283 DOI: 10.1038/aps.2011.200]
  - 35 Klampfer L, Huang J, Sasazuki T, Shirasawa S, Augenlicht L. Inhibition of interferon gamma signaling by the short chain fatty acid butyrate. *Mol Cancer Res* 2003; 1: 855-862 [PMID: 14517348 DOI: 10.1091/mbc.E02-12-0784]
  - 36 Shen Z, Zhu C, Quan Y, Yang J, Yuan W, Yang Z, Wu S, Luo W, Tan B, Wang X. Insights into Roseburia intestinalis which alleviates experimental colitis pathology by inducing anti-inflammatory responses. *J Gastroenterol Hepatol* 2018; 33: 1751-1760 [PMID: 29532517 DOI: 10.1111/jgh.14144]
  - 37 Quan Y, Song K, Zhang Y, Zhu C, Shen Z, Wu S, Luo W, Tan B, Yang Z, Wang X. Roseburia intestinalis-derived flagellin is a negative regulator of intestinal inflammation. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 501: 791-799 [PMID: 29772233 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.05.075]
  - 38 Zhu C, Song K, Shen Z, Quan Y, Tan B, Luo W, Wu S, Tang K, Yang Z, Wang X. Roseburia intestinalis inhibits interleukin-17 excretion and promotes regulatory T cells differentiation in colitis. *Mol Med Rep* 2018; 17: 7567-7574 [PMID: 29620246 DOI: 10.3892/mmr.2018.8833]
  - 39 Arumugam M, Raes J, Pelletier E, Le Paslier D, Yamada T, Mende DR, Fernandes GR, Tap J, Bruls T, Batto JM, Bertalan M, Borruel N, Casellas F, Fernandez L, Gautier L, Hansen T, Hattori M, Hayashi T, Kleerebezem M, Kurokawa K, Leclerc M, Levenez F, Manichanh C, Nielsen HB, Nielsen T, Pons N, Poulain J, Qin J, Sicheritz-Ponten T, Tims S, Torrents D, Ugarte E, Zoetendal EG, Wang J, Guarner F, Pedersen O, de Vos WM, Brunak S, Doré J; MetaHIT Consortium, Antolín M, Artiguenave F, Blottiere HM, Almeida M, Brechot C, Cara C, Chervaux C, Cultrone A, Delorme C, Denariáz G, Dervyn R, Foerstner KU, Friss C, van de Guchte M, Guedon E, Haimet F, Huber W, van Hylckama-Vlieg J, Jamet A, Juste C, Kaci G, Knol J, Lakhdari O, Layec S, Le Roux K, Maguin E, Mérieux A, Melo Minardi R, M'rimini C, Muller J, Oozeer R, Parkhill J, Renault P, Rescigno M, Sanchez N, Sunagawa S, Torrejon A, Turner K, Vandemeulebrouck G, Varela E, Winogradsky Y, Zeller G, Weissenbach J, Ehrlich SD, Bork P. Enterotypes of the human gut microbiome. *Nature* 2011; 473: 174-180 [PMID: 21508958 DOI: 10.1038/nature09944]
  - 40 Sokol H, Pigneur B, Watterlot L, Lakhdari O, Bermúdez-Humarán LG, Gratadoux JJ, Blugeon S, Bridonneau C, Furet JP, Corthier G, Grangette C, Vasquez N, Pochart P, Trugnan G, Thomas G, Blottière HM, Doré J, Marteau P, Seksik P, Langella P. Faecalibacterium prausnitzii is an anti-inflammatory commensal bacterium identified by gut microbiota analysis of Crohn disease patients. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; 105: 16731-16736 [PMID: 18936492 DOI: 10.1073/pnas.0804812105]
  - 41 Alameddine J, Godefroy E, Papargyris L, Sarabayrouse G, Tabiasco J, Bridonneau C, Yazdanbakhsh K, Sokol H, Altare F, Jotereau F. Faecalibacterium prausnitzii Skews Human DC to Prime IL10-Producing T Cells Through TLR2/6/JNK Signaling and IL-10, IL-27, CD39, and IDO-1 Induction. *Front Immunol* 2019; 10: 143 [PMID: 30787928 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00143]
  - 42 Sarabayrouse G, Bossard C, Chauvin JM, Jarry A, Meurette G, Quévrain E, Bridonneau C, Preisser L, Asehnoune K, Labarrière N, Altare F, Sokol H, Jotereau F. CD4CD8α lymphocytes, a novel human regulatory T cell subset induced by colonic bacteria and deficient in patients with inflammatory bowel disease. *PLoS Biol* 2014; 12: e1001833 [PMID: 24714093 DOI: 10.1371/journal.pbio.1001833]
  - 43 Cai M, Zeng L, Li LJ, Mo LH, Xie RD, Feng BS, Zheng PY, Liu ZG, Liu ZJ, Yang PC. Specific immunotherapy ameliorates ulcerative colitis. *Allergy Asthma Clin Immunol* 2016; 12: 37 [PMID: 27499766 DOI: 10.1186/s13223-016-0142-0]
  - 44 Xiao Y, Dai X, Li K, Gui G, Liu J, Yang H. Clostridium butyricum partially regulates the development of colitis-associated cancer through miR-200c. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2017; 63: 59-66 [PMID: 28478805 DOI: 10.14715/cmb/2017.63.4.10]
  - 45 Li H, Gong Y, Xie Y, Sun Q, Li Y. Clostridium butyricum protects the epithelial barrier by maintaining tight junction protein expression and regulating microflora in a murine model of dextran sodium sulfate-induced colitis. *Scand J Gastroenterol* 2018; 53: 1031-1042 [PMID: 30141701 DOI: 10.1080/00365521.2016.1192678]
  - 46 Kashiwagi I, Morita R, Schichita T, Komai K, Saeki K, Matsumoto M, Takeda K, Nomura M, Hayashi A, Kanai T, Yoshimura A. Smad2 and Smad3 Inversely Regulate TGF-β Autoinduction in Clostridium butyricum-Activated Dendritic Cells. *Immunity* 2015; 43: 65-79 [PMID: 26141582 DOI: 10.1016/j.immuni.2015.06.010]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

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

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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



## 2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;



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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079



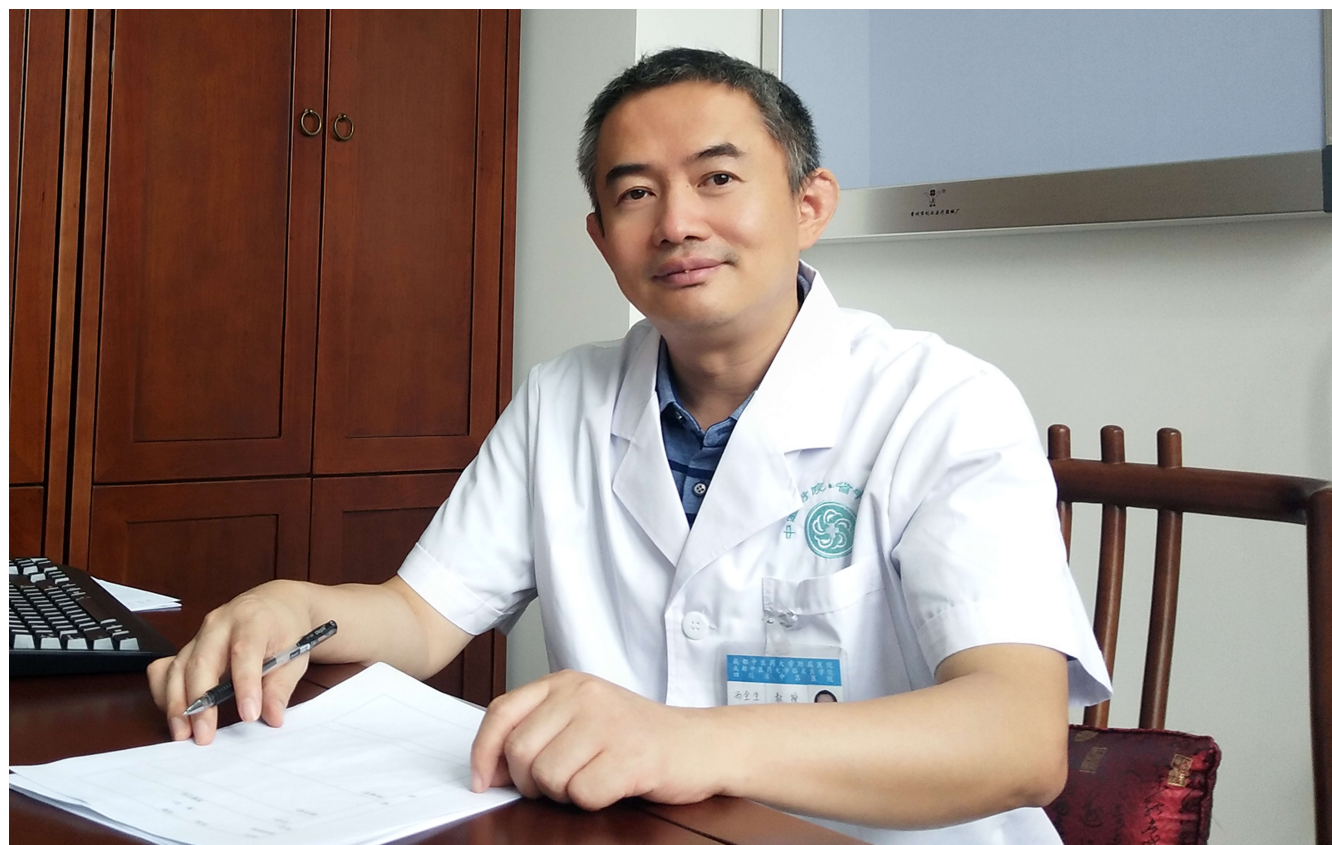
ISSN 1009-3079 (print)  
ISSN 2219-2859 (online)

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 8 月 8 日      第 27 卷      第 15 期      (Volume 27 Number 15)



## 15/2019

ISSN 1009-3079



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





### 述评

- 913 胃癌耐药形成中微小RNA作用机制的研究进展

檀碧波, 李勇

### 基础研究

- 918 miR-216a-5p调控XIAP对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响

丁谦谦, 楼定进, 王海英

- 927 miR-181a-5p靶向PIAS1对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎腺泡细胞损伤的影响

王晓华, 陈铁江, 楼一波

### 临床研究

- 936 基于临床大数据对反流性食管炎相关影响因素的分析

陈思旭, 尚占民, 郝建宇, 赵前前, 孙晶, 魏玉娜

- 943 新发糖尿病与胰腺癌的相关临床研究

董文珠, 于海涛, 王群英, 田宇彬

- 948 三间引流术在腺源性肛周脓肿治疗中有效性和安全性的前瞻性队列研究

张心怡, 金黑鹰, 王灿, 王俊, 张春霞, 叶晓瑞, 杨阳, 刘建磊, 朱雅

### 文献综述

- 954 5-羟色胺及其受体与肠易激综合征肠道动力异常的关系研究进展

王殷妹, 王恩康, 孟杨杨, 毕紫娟, 袁建业

### 临床实践

- 961 艾司奥美拉唑联合康复新治疗幽门螺杆菌阴性胃溃疡的疗效研究

马丽丽, 罗庆盛, 陶金红

### 病例报告

- 967 IgG4相关自身免疫性胰腺炎合并脾静脉血栓导致胃底静脉曲张破裂出血: 1例病例报告

梅雪灿, 王曦, 孔德润

- 972 以急性消化道大出血为表现的青年小肠多发间质瘤1例并文献复习

马兴彬, 刘丽娟, 牛琼, 尚炳英, 李扬扬, 刘成霞

## 消 息

- 947 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
960 《世界华人消化杂志》栏目设置  
971 《世界华人消化杂志》正文要求  
976 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

## 封面故事

冯全生, 成都中医药大学二级教授, 四川省名中医, 四川省学术技术带头人, 全国第三批名老中医药专家学术经验继承人. 现任中国中医药研究促进会温病分会会长, 中华中医药学会感染病分会、防治艾滋病分会、学术流派传承分会副主任委员, 世中联温病专业委员会副会长. 任全国“十三五”规划教材《温病学》主编. 长于慢性胃肠病、脂肪肝、肝硬化、消化道肿瘤等的治疗. 主持国家科技重大专项和国家重点研发计划、国家自然科学基金等多项国家级课题. 近5年公开发表SCI、中文核心等论文60余篇. 曾获四川省优秀教学成果、四川省和市科技进步奖等.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-08-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 15 Aug 8, 2019

## EDITORIAL

- 913 Role of microRNAs in drug resistance of gastric cancer cells

*Tan BB, Li Y*

## BASIC RESEARCH

- 918 Regulatory effect of miR-216a-5p on XIAP-mediated differentiation, proliferation, and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis

*Ding QQ, Lou DJ, Hai-Ying Wang HY*

- 927 Effect of miR-181a-5p targeting PIAS1 on cerulein-induced acute pancreatitis-induced acinar cell injury

*Wang XH, Chen TT, Lou YB*

## CLINICAL RESEARCH

- 936 Analysis of risk factors for reflux esophagitis based on clinical big data platform

*Chen SX, Shang ZM, Hao JY, Zhao QQ, Sun X, Wei YN*

- 943 Temporal patterns of new-onset diabetes in pancreatic cancer

*Dong WZ, Yu HT, Wang QY, Tian ZB*

- 948 A prospective cohort study of safety and efficacy of three-cavity clearance in treatment of perianal cryptoglandular abscess

*Zhang XY, Jin HY, Wang C, Wang J, Zhang CX, Ye XR, Yang Y, Liu JL, Zhu Y*

## REVIEW

- 954 Advances in understanding relationship between 5-hydroxytryptamine and its receptors and intestinal dysmotility in irritable bowel syndrome

*Wang YS, Wang EK, Meng YY, Bi ZJ, Yuan JY*

## CLINICAL PRACTICE

- 961 Esomeprazole combined with Kangfuxin for treatment of *Helicobacter pylori* negative gastric ulcer: Efficacy and impact on inflammatory factor expression

*Ma LL, Luo SQ, Tao HJ*

## CASE REPORT

- 967 IgG4-related autoimmune pancreatitis combined with splenic vein thrombosis leading to variceal bleeding of the fundus: A case report

*Mei XC, Wang X, Kong DR*

- 972 Multiple intestinal stromal tumors in a young patient with acute gastrointestinal hemorrhage: A case report and literature review

*Ma XB, Liu LJ, Niu Q, Shang BY, Li YY, Liu CX*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 15 Aug 8, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Feng Quan-sheng, Professor of Chengdu University of Traditional Chinese Medicine, No.1166, Liutai Avenue, Wenjiang District, Chengdu 611137, Sichuan Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993  
**Renamed** on January 25, 1998  
**Publication date** August 8, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

#### PRINT SUBSCRIPTION

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

#### COPYRIGHT

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

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

## 胃癌耐药形成中微小RNA作用机制的研究进展

檀碧波, 李勇

檀碧波, 李勇, 河北医科大学第四医院外三科 河北省石家庄市 050011

檀碧波, 主任医师, 副教授, 主要从事胃癌的临床治疗及实验研究工作.

基金项目: 河北省卫生健康委员会医学重点研究课题基金资助项目, Nos. 20150340, 20160176, 20180484.

作者贡献分布: 该述评由檀碧波与李勇共同完成.

通讯作者: 李勇, 教授, 主任医师, 河北省石家庄市健康路12号, 河北医科大学第四医院外三科. [liyong1958@hebm.edu.cn](mailto:liyong1958@hebm.edu.cn)

收稿日期: 2019-04-12

修回日期: 2019-05-15

接受日期: 2019-05-24

在线出版日期: 2019-08-08

### Role of microRNAs in drug resistance of gastric cancer cells

Bi-Bo Tan, Yong Li

Bi-Bo Tan, Yong Li, Third Department of Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China

Supported by: Medical Key Research Subject of Hebei Provincial Health Commission, No. 20150340, No. 20160176, and No. 20180484.

Corresponding author: Yong Li, Professor, Chief Physician, Third Department of Surgery, Fourth Hospital of Hebei Medical University, No. 12, Jiankang Road, Shijiazhuang 050011, Hebei Province, China. [liyong1958@hebm.edu.cn](mailto:liyong1958@hebm.edu.cn)

Received: 2019-04-12

Revised: 2019-05-15

Accepted: 2019-05-24

Published online: 2019-08-08

### Abstract

Drug therapy is an important component of comprehensive treatments for gastric cancer (GC), but drug resistance of cancer cells often leads to treatment failure.

It is significant to explore the drug resistance mechanism of GC cells. It has been reported that microRNAs (miRNAs) are closely related to drug resistance in GC. However, there are many kinds of microRNAs, which possess complex mechanisms and are not widely applied in clinical patients, so there are still many areas to be investigated about the relationship between microRNAs and drug resistance in GC. In this review, we review the role of miRNAs in the formation of drug resistance and discuss the existing problems and future directions.

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

Key Words: Gastric cancer; Drug resistance; microRNA; Review

Tan BB, Li Y. Role of microRNAs in drug resistance of gastric cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 913-917

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/913.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i15.913>

### 摘要

药物治疗是胃癌(gastric cancer, GC)综合治疗中的重要措施, 但肿瘤细胞存在的耐药性常导致治疗失败. 探讨GC细胞的耐药机制有重要的意义. 研究发现微小RNA(microRNA, miRNA)与GC耐药有密切关系. 但由于microRNA种类繁多、作用机制复杂、且在临床应用并不广泛, 因此有关microRNA与GC耐药的关系还存在很多需要探讨的领域. 本文综述了microRNA在GC耐药形成中的作用, 对其中存在的问题及今后的进展方向进行了预测.

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

关键词: 胃癌; 耐药; 微小RNA; 综述

**核心提要:** 胃癌(gastric cancer, GC)耐药是导致治疗失败的重要原因, GC耐药的药物不但包括化疗药物, 也包括靶向治疗药物. 因此探讨GC耐药机制并进行逆转对于改善GC治疗效果有重要的临床价值.

檀碧波, 李勇. 胃癌耐药形成中微小RNA作用机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(15): 913-917

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/913.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.913>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 其发病率和死亡率均居恶性肿瘤第二位, 给患者及家庭带来沉重的负担<sup>[1]</sup>. 由于GC无特异性症状, 大多数患者就诊时已处于进展期<sup>[2]</sup>, 40%的GC患者首次就诊时就已处于晚期(局部不可切除或已存在远处转移)<sup>[3]</sup>. 这些患者的综合治疗措施中药物治疗(化疗药物和靶向治疗药物)是重要的手段, 但肿瘤耐药性的存在常导致治疗失败、肿瘤复发或转移, 这是GC患者预后差的重要原因<sup>[4,5]</sup>. 因此, 探讨GC的耐药的分子机制对改善GC的综合治疗效果有重要价值.

## 1 微小RNA简介

微小RNA(microRNA, miRNA)是非编码RNA(noncoding RNA, ncRNA)之一, 是一种小分子的单链RNA, 由21-23个碱基组成. miRNA不具有编码蛋白质的功能, 其主要作用是在转录水平通过与靶基因的mRNA特定序列进行互补结合, 实现阻止靶基因的mRNA翻译或诱导其剪切, 因此miRNA发挥着多种生物学功能<sup>[6]</sup>. 研究表明, 在多种肿瘤中miRNA都发挥着重要的调控作用, 与肿瘤的进展关系密切. 有报道显示, miRNA-487a、miRNA-485、miRNA-384与食管癌、肺癌、胰腺癌的增殖、侵袭有关<sup>[7-9]</sup>. 临床研究显示, 高表达的miRNA-141是前列腺癌的复发的高危因素<sup>[10]</sup>, miRNA-200c可作为多种实体肿瘤的预后评价因素<sup>[11]</sup>. 这些研究都证实miRNA与恶性肿瘤关系密切, 在包括肿瘤药物抵抗形成等各个方面都发挥了重要作用.

## 2 miRNA在GC经典耐药途径中发挥的作用

在GC化疗耐药的经典途径中, 多药耐药基因1(multidrug resistance 1, MDR1)是最早受到关注的基因, 该基因编码的蛋白质为P-糖蛋白(P-glycoprotein, P-gp)<sup>[12]</sup>, 能通过主动转运的耗能方式将药物从细胞内运输到细胞外, 导致耐药. Zou等<sup>[13]</sup>研究表明, miRNA-495能够通过抑制MDR1基因的表达而增强GC细胞对阿霉素和紫

杉醇的敏感性. 我们的研究也发现, 锌指蛋白139(zinc finger protein 139, ZNF139)可抑制miRNA-185的表达, miRNA-185可抑制MDR1等多个MDR的表达而抑制GC细胞的耐药性<sup>[14]</sup>. Jin等<sup>[15]</sup>的研究显示, miRNA-21可通过调控P-gp的表达而影响GC细胞对紫杉醇的耐药性. 多药耐药蛋白1(multidrug resistance protein 1, MRP1)是GC经典耐药途径中的另一个重要基因, 其主要功能与MDR1类似<sup>[16]</sup>. Nie等<sup>[17]</sup>研究发现, miRNA-195能够通过调控MRP1的表达而参与GC细胞耐药的形成. 谷胱甘肽-S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)能通过解毒作用使进入GC细胞的药物代谢成无毒的物质, 从而导致耐药<sup>[18]</sup>. 本课题组研究发现miRNA-185能够抑制GC细胞中的GST表达而增强GC细胞对化疗药物的敏感性<sup>[14]</sup>. 拓扑异构酶II $\alpha$ (topoisomerase II $\alpha$ , TOPO II $\alpha$ )是许多化疗药物的作用靶点, 其表达的变化也是GC耐药形成的原因之一<sup>[19,20]</sup>, 但尚未见GC细胞中miRNA直接调控TOPO II $\alpha$ 的报道, miRNA是否存在调控TOPO II $\alpha$ 的功能还有待进一步研究.

## 3 miRNA在GC凋亡相关耐药途径中发挥的作用

与经典耐药途径有关的化疗药物多为植物碱类药物, 其他一些药物如铂类药物、氟尿嘧啶(flourouracil, FU)类药物的GC耐药机制则有所不同, 肿瘤细胞存在的凋亡抵抗能力在对这些药物的耐药形成中发挥了重要作用. 在此过程中, 已发现一些miRNA能够通过调控肿瘤细胞的凋亡相关基因表达而改变其对化疗药物的耐药性. 本课题组的研究发现, 增强GC细胞株MGC803中的miRNA-185表达能够促进GC细胞凋亡<sup>[21]</sup>. 我们的研究还表明, miRNA-185与GC细胞对奥沙利铂(oxaliplatin, L-OHP)的耐药形成有关<sup>[14]</sup>, 证实miRNA-185在铂类药物的耐药形成中发挥了作用. 还有证明显示, 线粒体途径的凋亡基因Bcl-2和Bcl-xL与GC对酪氨酸激酶抑制剂(tyrosine kinase inhibitors, TKI)的耐药形成有关<sup>[22]</sup>. Jiang等<sup>[23]</sup>的研究显示, 增强miRNA-200c能提高顺铂抵抗的GC细胞SGC7901/DDP对顺铂的敏感性. 有的miRNA在GC铂类耐药中具有导致耐药形成的作用. Yan等<sup>[24]</sup>的研究发现, miRNA-135a能够促进GC细胞对L-OHP的耐药形成, 提示miRNA在GC细胞的凋亡相关耐药形成中发挥着多种作用. FU类药物是GC化疗中的一线药物, GC细胞对FU同样存在耐药, 研究发现miRNA-429能够通过调控Bcl-2而增强FU对肿瘤细胞的凋亡诱导能力, 改善化疗效果<sup>[25]</sup>. 这些结果都表明miRNA通过凋亡调控参与了GC对一些化疗药物的耐药形成, 调控这些miRNA的表达可能逆转GC对这些药物的耐药性.



#### 4 miRNA在GC其他耐药途径中发挥的作用

GC对化疗药物的耐药形成机制复杂, GC细胞对一种药物可能存在多种耐药机制; 同样, 每个耐药途径可能涉及多种药物的耐药。除了经典耐药途径及凋亡相关耐药途径外, 还有一些其他途径在GC化疗药物的耐药形成中发挥了作用, 在这些途径中miRNA也发挥了作用。Ge等<sup>[26]</sup>研究发现, miRNA-320a能够通过抑制ADAM10的表达而增强GC细胞对顺铂的敏感性。Huang等<sup>[27]</sup>的结果表明, miRNA-874能够抑制肿瘤细胞的自噬, 还可以通过调节自噬相关基因ATG16L1表达而增强GC细胞对化疗药物的敏感性。Wang等<sup>[28]</sup>研究发现, miRNA-17-5p能够通过抑制增殖调控基因p21而促进GC的耐药形成。Cao等<sup>[29]</sup>的研究结果发现, miRNA-647可直接抑制AKN2, 这条miRNA647-ANK2通路可缓解GC细胞的耐药性, 还可抑制肿瘤细胞的转移。He等<sup>[30]</sup>发现在顺铂耐药的GC细胞株中miRNA-25表达增高, miRNA-25通过抑制FOXO3a而增强GC细胞对顺铂的耐药性, miRNA-25可能成为GC顺铂耐药形成的治疗靶基因。还有研究显示<sup>[31]</sup>, 在GC细胞中增强miRNA-31的表达可增强肿瘤细胞对FU的敏感性, 其机制与miRNA-31抑制RhoA表达有关。类似研究发现miRNA-149、miRNA-493也均与GC细胞的耐药性形成有关<sup>[32,33]</sup>。这些研究丰富了miRNA与GC化疗耐药形成的关系及机制, 具有较好的临床价值。但这些研究目前仍较为分散, 系统性不强, 且缺乏临床转化的实践研究, 在这些方面应进一步深入研究。

#### 5 miRNA在GC耐药形成的信号通路调控中发挥的作用

信号通路在GC细胞的各种生物学行为中发挥了重要作用, 信号通路指能将细胞外的分子信号经细胞膜传入细胞内发挥效应的一系列酶促反应通路。研究显示<sup>[34]</sup>, 上调GC细胞中miR-34a可以改善细胞对顺铂的耐药性, 在该过程中, PI3K/Akt和Wnt/ $\beta$ -catenin信号通路参与其中并发挥了重要作用。Zhang等<sup>[35]</sup>研究发现, miRNA-939具有抑癌基因的功能, 能够通过调控SLC34A2/Raf/MEK/ERK信号通路而影响GC细胞的耐药形成。Chen等<sup>[36]</sup>研究发现, miRNA-26通过调控GC细胞中MAPK信号转到通路的活性促进了细胞凋亡并减轻了肿瘤细胞对顺铂的耐药性。Li等<sup>[37]</sup>则发现miRNA-495具有影响mTOR信号通路活性的作用, 能够通过该作用增强GC细胞对化疗药物的敏感性。这些研究反映出miRNA虽然只能在转录水平通过调节其靶基因的mRNA表达而发挥作用, 但该作用能够间接影响多条信号转导通路。这些结果进一步提示GC耐药机制的复杂性和多样性, 同时也显示出miRNA在GC化疗药物耐药中发挥了重要作用。

#### 6 miRNA在GC靶向药物耐药形成中的作用

靶向药物应用是近年来在肿瘤治疗中受到关注的热点, 但由于GC的分子靶点(主要是Her2基因)阳性表达率不高, 因此GC的靶向治疗应用不及乳腺癌及肺癌广泛。在我国GC治疗中应用较为广泛的靶向药物有曲妥珠单抗(trastuzumab)和甲磺酸阿帕替尼(apatinib mesylate), 这些药物目前仅用于晚期GC的治疗。虽然应用的时间不长, 但已有研究显示GC细胞对曲妥珠单抗存在耐药现象。Huang等<sup>[38]</sup>研究发现, 在对曲妥珠单抗存在耐药的GC细胞中有包括miRNA-29b、miRNA-124等在内的多种miRNA表达差异, 提示这些miRNA可能参与了GC细胞对曲妥珠单抗的耐药形成。Eto等<sup>[39]</sup>等研究的结果显示, miRNA-21能通过抑制PTEN调节HER2阳性的GC细胞对曲妥珠单抗的敏感性。Zhou等<sup>[40]</sup>研究发现, miRNA-200c能够调控ZEB1和ZEB2而改变GC细胞对曲妥珠单抗的敏感性。这些研究初步证实miRNA在GC细胞曲妥珠单抗耐药中发挥了作用。但本领域研究尚处于起步阶段, 具体机制还不明确。关于阿帕替尼、贝伐单抗、雷莫单抗、瑞格非尼等药物在GC中耐药形成及miRNA作用的报道目前尚未发现, 需要在这些药物有一定推广应用规模后再行评价。

#### 7 在GC耐药形成中miRNA的临床应用

关于GC中miRNA表达与肿瘤的关系已有一些临床报道。Cheng等<sup>[41]</sup>的研究结果表明, miRNA-124和miRNA-29b与GC的进展有关, 可作为GC分子分型及治疗的依据。还有报道发现外周血miRNA-196的检测对早期GC的诊断有价值<sup>[42]</sup>。Qi等<sup>[43]</sup>对92例存在转移的GC患者进行分析, 发现其中25例患者存在化疗耐药, 检测miRNA-21表达与GC化疗耐药的关系, 提示miRNA-21可作为肿瘤标志物预测转移性GC的化疗敏感性。还有研究显示<sup>[44]</sup>, 血清miRNA-106、miRNA-15a、miRNA-93、miRNA-664检测对铂类药物化疗的患者预后有价值。此类研究还很不断完善, 仍有较多问题没有解决, 需要深入探讨。

#### 8 目前GC耐药形成中miRNA研究的不足及前景

miRNA在GC耐药中的研究已成为当前研究的热点, 循环miRNA的检测对于GC的诊断及治疗有良好的潜在应用价值<sup>[45]</sup>。研究miRNA在GC耐药形成中的机制有可能为GC综合诊治研究提供新的思路。但该领域的研究还存在较多不完善的方面。一是miRNA与GC耐药的研究虽然已有较多报道, 但大多结论都是由基础研究得到, 临床研究相关报道还不多见。二是由于GC耐药机制

复杂, 耐药形成是在多种分子间网络调控模式作用下发生的, 因此miRNA在其中的具体机制还不明确。三是miRNA的种类繁多, 且受其调节的基因也多, 当前研究多存在研究范围较广而研究深度不足的问题。

## 9 结论

miRNA由于其具有分子结构简单、作用效果广泛的优势, 因此有良好的应用前景。在今后关于miRNA与GC耐药性关系的研究中, 应当注重将基础研究的成果进行临床转化及验证; 对于重点miRNA分子应当深入研究, 探讨其作用机制, 分析该miRNA作为耐药预测指标及靶点的可能性。通过这些研究, 阐明miRNA与GC耐药的关系, 从而达到逆转GC耐药、改善GC综合诊治水平的目的。

## 10 参考文献

- Nie Y, Wu K, Yu J, Liang Q, Cai X, Shang Y, Zhou J, Pan K, Sun L, Fang J, Yuan Y, You W, Fan D. A global burden of gastric cancer: the major impact of China. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2017; 11: 651-661 [PMID: 28351219 DOI: 10.1080/17474124.2017.1312342]
- Liu G, Xu M, Gao T, Xu L, Zeng P, Bo H, Li F, Zhang W, Wang Z. Surgical Compliance and Outcomes in Gastric Cancer: a population-based cohort study. *J Cancer* 2019; 10: 779-788 [PMID: 30854083 DOI: 10.7150/jca.29073]
- 解亦斌, 田艳涛. 我国晚期胃癌临床特点及诊治策略. *中华医学杂志* 2018; 98: 1897-1898 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2018.24.001]
- Shi WJ, Gao JB. Molecular mechanisms of chemoresistance in gastric cancer. *World J Gastrointest Oncol* 2016; 8: 673-681 [PMID: 27672425 DOI: 10.4251/wjgo.v8.i9.673]
- Xuan Y, Wang YN. Hypoxia/IL-1 $\alpha$  axis promotes gastric cancer progression and drug resistance. *J Dig Dis* 2017; 18: 511-520 [PMID: 28608600 DOI: 10.1111/1751-2980.12496]
- Seeley JJ, Baker RG, Mohamed G, Bruns T, Hayden MS, Deshmukh SD, Freedberg DE, Ghosh S. Induction of innate immune memory via microRNA targeting of chromatin remodelling factors. *Nature* 2018; 559: 114-119 [PMID: 29950719 DOI: 10.1038/s41586-018-0253-5]
- Ma JB, Hu SL, Zang RK, Su Y, Liang YC, Wang Y. MicroRNA-487a promotes proliferation of esophageal cancer cells by inhibiting p62 expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23: 1502-1512 [PMID: 30840272 DOI: 10.26355/eurev\_201902\_17108]
- Gao F, Wu H, Wang R, Guo Y, Zhang Z, Wang T, Zhang G, Liu C, Liu J. MicroRNA-485-5p suppresses the proliferation, migration and invasion of small cell lung cancer cells by targeting flotillin-2. *Bioengineered* 2019; 10: 1-12 [PMID: 30836864 DOI: 10.1080/21655979.2019.1586056]
- Wu XB, Feng X, Chang QM, Zhang CW, Wang ZF, Liu J, Hu ZQ, Liu JZ, Wu WD, Zhang ZP, Liu XQ. Cross-talk among AFAP1-AS1, ACVR1 and microRNA-384 regulates the stemness of pancreatic cancer cells and tumorigenicity in nude mice. *J Exp Clin Cancer Res* 2019; 38: 107 [PMID: 30819221 DOI: 10.1186/s13046-019-1051-0]
- Richardsen E, Andersen S, Melbø-Jørgensen C, Rakaee M, Ness N, Al-Saad S, Nordby Y, Pedersen MI, Dønnem T, Bremnes RM, Busund LT. MicroRNA 141 is associated to outcome and aggressive tumor characteristics in prostate cancer. *Sci Rep* 2019; 9: 386 [PMID: 30674952 DOI: 10.1038/s41598-018-36854-7]
- Wang F, Zhang L, Xu H, Li R, Xu L, Qin Z, Zhong B. The Significance Role of microRNA-200c as a Prognostic Factor in Various Human Solid Malignant Neoplasms: A Meta-Analysis. *J Cancer* 2019; 10: 277-286 [PMID: 30662548 DOI: 10.7150/jca.27536]
- Zhao YY, Yu L, Liu BL, He XJ, Zhang BY. Downregulation of P-gp, Ras and p-ERK1/2 contributes to the arsenic trioxide-induced reduction in drug resistance towards doxorubicin in gastric cancer cell lines. *Mol Med Rep* 2015; 12: 7335-7343 [PMID: 26459009 DOI: 10.3892/mmr.2015.4367]
- Zou Z, Zou R, Zong D, Shi Y, Chen J, Huang J, Zhu J, Chen L, Bao X, Liu Y, Liu W, Huang W, Hu J, Chen Z, Lao X, Chen C, Huang X, Lu Y, Ni X, Fang D, Wu D, Lu S, Jiang M, Qiu C, Wu Y, Qiu Q, Dong Y, Su Y, Zhao C, Zhong Z, Cai J, Liang Y. miR-495 sensitizes MDR cancer cells to the combination of doxorubicin and taxol by inhibiting MDR1 expression. *J Cell Mol Med* 2017; 21: 1929-1943 [PMID: 28411377 DOI: 10.1111/jcmm.13114]
- Tan B, Li Y, Zhao Q, Fan L, Wang D. ZNF139 increases multidrug resistance in gastric cancer cells by inhibiting miR-185. *Biosci Rep* 2018; 38 [PMID: 30126848 DOI: 10.1042/BSR20181023]
- Jin B, Liu Y, Wang H. Antagonism of miRNA-21 Sensitizes Human Gastric Cancer Cells to Paclitaxel. *Cell Biochem Biophys* 2015; 72: 275-282 [PMID: 27040946 DOI: 10.1007/s12013-014-0450-2]
- Lian W, Zhang L, Yang L, Chen W. AP-2 $\alpha$  reverses vincristine-induced multidrug resistance of SGC7901 gastric cancer cells by inhibiting the Notch pathway. *Apoptosis* 2017; 22: 933-941 [PMID: 28439677 DOI: 10.1007/s10495-017-1379-x]
- Nie H, Mu J, Wang J, Li Y. miR-195-5p regulates multi-drug resistance of gastric cancer cells via targeting ZNF139. *Oncol Rep* 2018; 40: 1370-1378 [PMID: 29956811 DOI: 10.3892/or.2018.6524]
- Zou M, Hu X, Xu B, Tong T, Jing Y, Xi L, Zhou W, Lu J, Wang X, Yang X, Liao F. Glutathione S-transferase isozyme alpha 1 is predominantly involved in the cisplatin resistance of common types of solid cancer. *Oncol Rep* 2019; 41: 989-998 [PMID: 30431119 DOI: 10.3892/or.2018.6861]
- Zhao W, Chen R, Zhao M, Li L, Fan L, Che XM. High glucose promotes gastric cancer chemoresistance in vivo and in vitro. *Mol Med Rep* 2015; 12: 843-850 [PMID: 25815791 DOI: 10.3892/mmr.2015.3522]
- Chen JS, Wu BB, Bao HL, Du JM, Zhang SC, Zheng YH. Relationship between CIP2A expression, and prognosis and MDR-related proteins in patients with advanced gastric cancer. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 15007-15012 [PMID: 26823836]
- Fan L, Tan B, Li Y, Zhao Q, Yuan H, Liu Y, Wang D, Zhang Z. Upregulation of miR-185 promotes apoptosis of the human gastric cancer cell line MGC803. *Mol Med Rep* 2018; 17: 3115-3122 [PMID: 29257260 DOI: 10.3892/mmr.2017.8206]
- Jin J, Xiong Y, Cen B. Bcl-2 and Bcl-xL mediate resistance to receptor tyrosine kinase-targeted therapy in lung and gastric cancer. *Anticancer Drugs* 2017; 28: 1141-1149 [PMID: 28885267 DOI: 10.1097/CAD.0000000000000561]
- Jiang T, Dong P, Li L, Ma X, Xu P, Zhu H, Wang Y, Yang B, Liu K, Liu J, Xue J, Lv R, Su P, Kong G, Chang Y, Zhao C, Wang L. MicroRNA-200c regulates cisplatin resistance by targeting ZEB2 in human gastric cancer cells. *Oncol Rep* 2017; 38: 151-158 [PMID: 28534959 DOI: 10.3892/or.2017.5659]
- Yan LH, Chen ZN, Li-Li, Chen J, Wei WE, Mo XW, Qin YZ, Lin Y, Chen JS. miR-135a promotes gastric cancer progression and resistance to oxaliplatin. *Oncotarget* 2016; 7: 70699-70714 [PMID: 27683111 DOI: 10.18632/oncotarget.12208]
- Zhu P, Zhang J, Zhu J, Shi J, Zhu Q, Gao Y. MiR-429 Induces Gastric Carcinoma Cell Apoptosis Through Bcl-2. *Cell*

- Physiol Biochem* 2015; 37: 1572-1580 [PMID: 26513239 DOI: 10.1159/000438524]
- 26 Ge X, Cui H, Zhou Y, Yin D, Feng Y, Xin Q, Xu X, Liu W, Liu S, Zhang Q. miR-320a modulates cell growth and chemosensitivity via regulating ADAM10 in gastric cancer. *Mol Med Rep* 2017; 16: 9664-9670 [PMID: 29152656 DOI: 10.3892/mmr.2017.7819]
  - 27 Huang H, Tang J, Zhang L, Bu Y, Zhang X. miR-874 regulates multiple-drug resistance in gastric cancer by targeting ATG16L1. *Int J Oncol* 2018; 53: 2769-2779 [PMID: 30320370 DOI: 10.3892/ijo.2018.4593]
  - 28 Wang Z, Ji F. Downregulation of microRNA-17-5p inhibits drug resistance of gastric cancer cells partially through targeting p21. *Oncol Lett* 2018; 15: 4585-4591 [PMID: 29541229 DOI: 10.3892/ol.2018.7822]
  - 29 Cao W, Wei W, Zhan Z, Xie D, Xie Y, Xiao Q. Regulation of drug resistance and metastasis of gastric cancer cells via the microRNA647-ANK2 axis. *Int J Mol Med* 2018; 41: 1958-1966 [PMID: 29328428 DOI: 10.3892/ijmm.2018.3381]
  - 30 He J, Qi H, Chen F, Cao C. MicroRNA-25 contributes to cisplatin resistance in gastric cancer cells by inhibiting forkhead box O3a. *Oncol Lett* 2017; 14: 6097-6102 [PMID: 29113252 DOI: 10.3892/ol.2017.6982]
  - 31 Korourian A, Roudi R, Sharifabrizi A, Madjd Z. MicroRNA-31 inhibits RhoA-mediated tumor invasion and chemotherapy resistance in MKN-45 gastric adenocarcinoma cells. *Exp Biol Med* (Maywood) 2017; 242: 1842-1847 [PMID: 28836853 DOI: 10.1177/1535370217728460]
  - 32 Li X, Liang J, Liu YX, Wang Y, Yang XH, Luan BH, Zhang GL, Du J, Wu XH. miR-149 reverses cisplatin resistance of gastric cancer SGC7901/DDP cells by targeting FoxM1. *Pharmazie* 2016; 71: 640-643 [PMID: 29441968 DOI: 10.1691/ph.2016.6696]
  - 33 Jia X, Li N, Peng C, Deng Y, Wang J, Deng M, Lu M, Yin J, Zheng G, Liu H, He Z. miR-493 mediated DKK1 down-regulation confers proliferation, invasion and chemo-resistance in gastric cancer cells. *Oncotarget* 2016; 7: 7044-7054 [PMID: 26799283 DOI: 10.18632/oncotarget.6951]
  - 34 Cheng C, Qin Y, Zhi Q, Wang J, Qin C. Knockdown of long non-coding RNA HOTAIR inhibits cisplatin resistance of gastric cancer cells through inhibiting the PI3K/Akt and Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathways by up-regulating miR-34a. *Int J Biol Macromol* 2018; 107: 2620-2629 [PMID: 29080815 DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.10.154]
  - 35 Zhang JX, Xu Y, Gao Y, Chen C, Zheng ZS, Yun M, Weng HW, Xie D, Ye S. Decreased expression of miR-939 contributes to chemoresistance and metastasis of gastric cancer via dysregulation of SLC34A2 and Raf/MEK/ERK pathway. *Mol Cancer* 2017; 16: 18 [PMID: 28114937 DOI: 10.1186/s12943-017-0586-y]
  - 36 Chen Z, Gao YJ, Hou RZ, Ding DY, Song DF, Wang DY, Feng Y. MicroRNA-206 facilitates gastric cancer cell apoptosis and suppresses cisplatin resistance by targeting MAPK2 signaling pathway. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2019; 23: 171-180 [PMID: 30657558 DOI: 10.26355/eurrev\_201901\_16761]
  - 37 Li N, Han M, Zhou N, Tang Y, Tang XS. MicroRNA-495 Confers Increased Sensitivity to Chemotherapeutic Agents in Gastric Cancer via the Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) Signaling Pathway by Interacting with Human Epidermal Growth Factor Receptor 2 (ERBB2). *Med Sci Monit* 2018; 24: 5960-5972 [PMID: 30147110 DOI: 10.12659/MSM.909458]
  - 38 Huang R, Gu W, Sun B, Gao L. Identification of COL4A1 as a potential gene conferring trastuzumab resistance in gastric cancer based on bioinformatics analysis. *Mol Med Rep* 2018; 17: 6387-6396 [PMID: 29512712 DOI: 10.3892/mmr.2018.8664]
  - 39 Eto K, Iwatsuki M, Watanabe M, Ida S, Ishimoto T, Iwagami S, Baba Y, Sakamoto Y, Miyamoto Y, Yoshida N, Baba H. The microRNA-21/PTEN pathway regulates the sensitivity of HER2-positive gastric cancer cells to trastuzumab. *Ann Surg Oncol* 2014; 21: 343-350 [PMID: 24154840 DOI: 10.1245/s10434-013-3325-7]
  - 40 Zhou X, Men X, Zhao R, Han J, Fan Z, Wang Y, Lv Y, Zuo J, Zhao L, Sang M, Liu XD, Shan B. miR-200c inhibits TGF- $\beta$ -induced-EMT to restore trastuzumab sensitivity by targeting ZEB1 and ZEB2 in gastric cancer. *Cancer Gene Ther* 2018; 25: 68-76 [PMID: 29302045 DOI: 10.1038/s41417-017-0005-y]
  - 41 Cheng J, Zhuo H, Xu M, Wang L, Xu H, Peng J, Hou J, Lin L, Cai J. Regulatory network of circRNA-miRNA-mRNA contributes to the histological classification and disease progression in gastric cancer. *J Transl Med* 2018; 16: 216 [PMID: 30068360 DOI: 10.1186/s12967-018-1582-8]
  - 42 Chen TH, Lee C, Chiu CT, Chu YY, Cheng HT, Hsu JT, Tsou YK, Wu RC, Chen TC, Chang NC, Yeh TS, Lin KH. Circulating microRNA-196a is an early gastric cancer biomarker. *Oncotarget* 2017; 9: 10317-10323 [PMID: 29535809 DOI: 10.18632/oncotarget.23126]
  - 43 Qi M, Liu D, Zhang S. MicroRNA-21 contributes to the discrimination of chemoresistance in metastatic gastric cancer. *Cancer Biomark* 2017; 18: 451-458 [PMID: 28128744 DOI: 10.3233/CBM-161732]
  - 44 Song J, Yin J, Bai Z, Zhang J, Meng H, Cai J, Deng W, Ma X, Zhang Z. The Profile of Serum microRNAs Predicts Prognosis for Resected Gastric Cancer Patients Receiving Platinum-Based Chemotherapy. *Dig Dis Sci* 2017; 62: 1223-1234 [PMID: 28341869 DOI: 10.1007/s10620-017-4513-2]
  - 45 Mirzaei H, Khataminfar S, Mohammadparast S, Sales SS, Maftouh M, Mohammadi M, Simonian M, Parizadeh SM, Hassanian SM, Avan A. Circulating microRNAs as Potential Diagnostic Biomarkers and Therapeutic Targets in Gastric Cancer: Current Status and Future Perspectives. *Curr Med Chem* 2016; 23: 4135-4150 [PMID: 27538692]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红





# miR-216a-5p调控XIAP对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响

丁谦谦, 楼定进, 王海英

丁谦谦, 义乌市中心医院急诊科 浙江省义乌市 322000

楼定进, 义乌市中心医院全科医学 浙江省义乌市 322000

王海英, 义乌市中心医院消化内科 浙江省义乌市 322000

丁谦谦, 本科, 主治医师, 研究方向为急诊治疗.

**作者贡献分布:** 丁谦谦与王海英对此文所作贡献均等; 此课题由丁谦谦与王海英设计; 研究过程由丁谦谦、楼定进与王海英操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由楼定进提供; 数据分析由丁谦谦、楼定进完成; 本论写作由丁谦谦、楼定进与王海英完成.

**通讯作者:** 丁谦谦, 主治医师, 322000, 浙江省义乌市北苑街道四季一区21栋1单元501, 义乌市中心医院急诊科. [hedw0022605hexi@163.com](mailto:hedw0022605hexi@163.com)  
电话: 0579-85209666

收稿日期: 2019-04-29

修回日期: 2019-05-29

接受日期: 2019-07-26

在线出版日期: 2019-08-08

## Regulatory effect of miR-216a-5p on XIAP-mediated differentiation, proliferation, and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis

Qian-Qian Ding, Ding-Jin Lou, Hai-Ying Wang

Qian-Qian Ding, General Medicine, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Ding-Jin Lou, Department of Emergency Medicine, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Hai-Ying Wang, Department of Gastroenterology, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Qian-Qian Ding, Department of Emergency Medicine, Chief Physician, No. 501, Building 21, Sijiyi District, Beiyuan Street, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. [hedw0022605hexi@163.com](mailto:hedw0022605hexi@163.com)

Received: 2019-04-29

Revised: 2019-05-29

Accepted: 2019-07-26

Published online: 2019-08-08

## Abstract BACKGROUND

Severe acute pancreatitis (AP) is a common critical illness in the digestive system. It is difficult to treat clinically and has a high mortality rate, which seriously endangers patients' lives. In recent years, the differential expression of multiple miRNAs has been found to be closely related to the development, diagnosis, and prognosis of AP. Further exploration of the role of miRNAs in the development, complications, and other aspects of AP may provide new clues to the diagnosis and treatment of AP. It has been found that miR-216a-5p can inhibit the invasion of lung cancer cells by down-regulating MMP16; miR-216a-5p can inhibit the proliferation of bladder cancer cells and promote their apoptosis by targeting the *PAK2* gene. In addition, miR-216a-5p can inhibit the malignant progression of small cell lung cancer and affect the proliferation, migration, and tumorigenesis of prostate cancer cells. Although it has been found that miR-216a is highly expressed in peripheral blood of patients with AP, the effect and mechanism of miR-216a-5p in the proliferation and apoptosis of AP cells are still unclear.

## AIM

To investigate the effects of miR-216a-5p on proliferation and apoptosis of AP acinar cells and the potential mechanism involved.

## METHODS

Pancreatic acinar AR42J cells were treated with cerulein to construct an AP model. The cells were then transfected with miR-NC, miR-216a-5p mimic, anti-miR-NC, anti-miR-216a-5p, pcDNA3.1, pcDNA3.1-XIAP, anti-miR-216a-5p + si-NC, and anti-miR-216a-5p + si-XIAP by the liposome method. The expression of miR-216a-5p in AR42J cells was detected by qRT-PCR, and protein expression was detected by Western blot. MTT assay was used to detect cell viability, flow cytometry was used to detect apoptosis, and dual luciferase reporter gene assay was used to detect fluorescence activity.

## Results

The expression of miR-216a-5p was significantly increased after treatment of AR42J cells with cerulein ( $P < 0.05$ ). Cell viability was significantly increased and the apoptosis rate was significantly decreased by inhibiting the expression of miR-216a-5p and overexpressing XIAP; the expression levels of Cyclin D1 and Bcl-2 proteins were significantly increased, and the expression levels of P21 and Bax proteins were significantly decreased ( $P < 0.05$ ). MiR-216a-5p negatively regulated the expression of XIAP, and inhibition of XIAP expression reversed the inhibitory effect of miR-216a-5p in proliferation promotion and apoptosis inhibition of cerulein-treated AR42J cells.

## Conclusion

Inhibition of miR-216a-5p expression can inhibit the apoptosis of pancreatic acinar cells and promote their proliferation via mechanisms that may be related to the targeted regulation of XIAP. Our findings may provide new targets and new ideas for the diagnosis and treatment of AP.

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

Key words: MiR-216a-5p; XIAP; Acute pancreatitis; Proliferation; Apoptosis

Ding QQ, Lou DJ, Hai-Ying Wang HY. Regulatory effect of miR-216a-5p on XIAP-mediated differentiation, proliferation, and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 918-926  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/918.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.918>

## 摘要

### 背景

重症急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是消化系统常见的危重急症,临床救治难度大,病死率高,严重危及患者生命。近几年来多种miRNA在AP中的差异表

达,与其发生发展及诊断和预后密切相关,进一步探索其在AP发生发展、并发症等各环节的作用有助于为AP的诊断和治疗提供新的思路和方法。研究发现miR-216a-5p通过下调MMP16可抑制肺癌细胞的侵袭;miR-216a-5p通过靶向抑制PAK2基因可抑制膀胱癌细胞的增殖能力,促进细胞凋亡。miR-216a-5p可抑制小细胞肺癌的恶性进展,影响前列腺癌细胞的增殖、迁移和宫颈癌细胞的肿瘤发生。仅发现miR-216a在AP患者外周血中高表达,但miR-216a-5p在AP的增殖凋亡中的影响及作用机制尚不清楚。

## 目的

研究miR-216a-5p对AP腺泡细胞增殖、凋亡的影响及潜在的作用机制。

## 方法

用雨蛙素(caerulein, CAE)处理大鼠胰腺腺泡AR42J构建AP模型,设置miR-NC组(转染miR-NC)、miR-216a-5p组(miR-216a-5p mimics)、anti-miR-NC组(转染anti-miR-NC)、anti-miR-216a-5p组(转染anti-miR-216a-5p)、pcDNA3.1组(转染pcDNA3.1)、pcDNA3.1-XIAP组(转染pcDNA3.1-XIAP)、anti-miR-216a-5p+si-NC组(共转染anti-miR-216a-5p和si-NC)、anti-miR-216a-5p+si-XIAP(共转染anti-miR-216a-5p和si-XIAP)组,均用脂质体法转染。qRT-PCR检测AR42J细胞中miR-216a-5p的表达水平;Western Blot检测蛋白表达;MTT法检测细胞活性;流式细胞术检测细胞凋亡;双荧光素酶报告基因检测实验检测荧光活性。

## 结果

CAE处理AR42J细胞后,miR-216a-5p的表达水平显著升高( $P < 0.05$ )。抑制表达miR-216a-5p和过表达XIAP细胞活性显著升高,细胞凋亡率显著降低,Cyclin D1、Bcl-2蛋白的表达水平显著升高,P21、Bax蛋白的表达水平显著下降( $P < 0.05$ )。miR-216a-5p靶向负调控XIAP;抑制XIAP表达逆转了抑制miR-216a-5p对CAE处理的AR42J细胞增殖促进、凋亡抑制的作用。

## 结论

抑制miR-216a-5p表达可以抑制胰腺炎腺泡细胞凋亡,促进细胞增殖,其机制可能与靶向调控XIAP有关。可为AP诊断和治疗提供新靶点和新思路。

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

关键词: miR-216a-5p; XIAP; 急性胰腺炎; 增殖; 凋亡

**核心提要:** miR-216a-5p在急性胰腺炎模型细胞中高表达,miR-216a-5p靶向负调控XIAP,抑制miR-216a-5p表达可以通过上调XIAP的表达抑制胰腺炎腺泡细胞凋亡,促进细胞增殖。

丁谦谦, 楼定进, 王海英. miR-216a-5p调控XIAP对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响. 世界华人消化杂志 2019; 27(15): 918-926  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/918.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i15.918>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是一种临床常见的急腹症, 发病急, 进展快, 其发病机制复杂<sup>[1]</sup>. 细胞凋亡是AP的一个重要病理特征, 参与其发病过程, 是胰腺炎发病后对机体有利的一种反应, 凋亡能减轻炎症反<sup>[2,3]</sup>. 微小RNA(microRNA, miRNA)具有组织特异性且涉及调控转录后的基因表达, 在AP中的作用机制及临床实用性的研究有助于为AP的诊断和治疗提供新的思路和方法<sup>[4]</sup>. 已有研究表明AP患者血清miR-216a表达水平明显升高, 可作为AP辅助诊断及预后监测的生物标志物<sup>[5]</sup>. miR-216a-5p是致癌基因, miR-216a-5p有助于宫颈癌细胞的肿瘤发生<sup>[6]</sup>, 在胃癌中miR-216a-5p促进细胞增殖, 抑制细胞凋亡<sup>[7]</sup>. miR-216a-5p通过下调MMP16表达抑制人肺癌细胞的侵袭能力<sup>[8]</sup>. X-连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)是凋亡抑制基因家族中重要的成员之一, 可通过抑制caspase-3, caspase-7和caspase-9, 并参与其他途径来抑制细胞的凋亡, 与肿瘤的发生、发展和预后密切相关<sup>[9]</sup>. 但miR-216a-5p及XIAP在AP表达及对其分化、增殖、凋亡的影响和作用机制等尚未清楚, 本文旨在研究miR-216a-5p对XIAP的调控机制及对AP腺泡细胞分化、增殖、凋亡的影响. 为AP的诊断和治疗提供一定的理论依据.

## 1 材料和方法

1.1 材料 胰腺腺泡细胞株AR42J购自中国科学院上海细胞库. 雨蛙素(caerulein, CAE)购自美国Sigma公司; 胎牛血清、RPMI 1640培养基均购自美国Gibco公司; RNA提取试剂盒、反转录试剂盒和qPCR试剂盒购自日本Takara公司; Western Blot试剂盒购自上海信裕生物技术有限公司; BCA试剂盒、MTT试剂盒、膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)和碘化丙锭(PI)试剂盒购自碧云天生物技术研究; Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000转染试剂盒购自美国Invitrogen公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司; 细胞板、流式细胞仪购自赛默飞公司; 兔抗人Bax多克隆抗体、兔抗人Bcl-2多克隆抗体、兔抗人Cyclin D1多克隆抗体、兔抗人p21多克隆抗体、兔抗人XIAP多克隆抗体、兔抗人GAPDH多克隆抗体、山羊抗兔IgG-辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)的均购自上海焱翎生物科技有限公司.

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养及CAE处理构建AP模型: 胰腺腺泡AR42J细胞常规培养于含10% FBS的RPMI 1640培养基, 置于37 °C, 含5%CO<sub>2</sub>恒温箱培养. 每2-3 d传代一次. 取正常AR42J细胞接种于6孔板上, 培养24 h后加入10 nmol/L的CAE, 震荡混匀后继续培养, 即AP细胞, 记为AR42J+CAE组.

1.2.2 细胞分组和转染: 将miR-NC、miR-216a-5p、anti-miR-NC、anti-miR-216a-5p转染至正常培养的AR42J细胞中记为miR-NC组、miR-216a-5p组、anti-miR-NC组、anti-miR-216a-5p组; 将anti-miR-NC、anti-miR-216a-5p、pcDNA3.1、pcDNA3.1-XIAP分别转染至CAE处理后的胰腺腺泡AR42J细胞中, 记为AR42J+CAE+anti-miR-NC组、AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组、AR42J+CAE+pcDNA3.1组、AR42J+CAE+pcDNA3.1-XIAP组; 将anti-miR-216a-5p分别和si-NC、si-XIAP共转染至CAE处理后的胰腺腺泡AR42J细胞中, 分别记为AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-NC组、AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-XIAP组, 转染按照Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000试剂盒进行操作.

1.2.3 qRT-PCR分析miR-216a-5p的表达水平: 按照Trizol说明书提取总RNA, 用反转录试剂盒逆转录成cDNA, 按照AceQ qPCR SYBR<sup>®</sup> Green Mix说明书进行qRT-PCR方法扩增. 循环条件为95 °C 30 s, 60 °C 30 s; 72 °C 30 s, 共40个循环; 60 °C延长5 min. 相对表达量采用2<sup>-ΔΔCt</sup>法计算.

1.2.4 Western Blot检测蛋白表达: 提取各组细胞蛋白, 用BCA蛋白定量试剂盒进行蛋白定量. 各组蛋白上样量60 μg, SDS-PAGE后, 经电转将蛋白转移至PVDF膜上. 用5%脱脂牛奶室温封闭90 min, 分别加入相应的一抗: 兔抗人Bax多克隆抗体、兔抗人Bcl-2多克隆抗体、兔抗人Cyclin D1多克隆抗体、兔抗人p21多克隆抗体、兔抗人XIAP多克隆抗体、兔抗人GAPDH多克隆抗体, 4 °C孵育过夜, PBS洗涤3次, 每次5 min; 再加入相对应的二抗HRP, 室温孵育2 h, PBS洗涤3次, 每次10 min, 后在暗室中曝光显影, 再浸入定影, 最后洗去残液晾干, 将胶片用Quantity One凝胶分析软件处理, 测定各组蛋白条带的吸光度, 以目的条带和GAPDH条带的比值作为蛋白表达水平.

1.2.5 MTT检测细胞增殖活性: 在各组细胞培养至24 h、48 h、72 h时加入20 μL(5 g/L)的MTT溶液, 继续孵育4 h; 弃去多余培养基并加入150 μL DMSO振荡反应10 min, 酶标仪检测490 nm处吸光度(OD)值. 细胞增殖活力(%) = 实验组OD值/空白对照组OD值 × 100%.

1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡: 用不含EDTA的胰酶



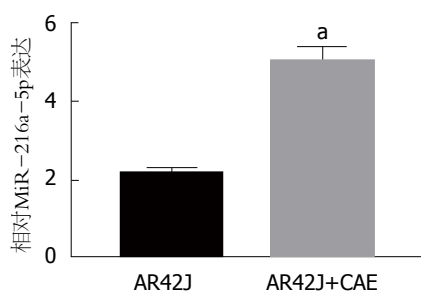


图1 miR-216a-5p在细胞AR42J及CAE作用的细胞AR42J中的表达。<sup>a</sup> $P<0.05$ , vs AR42J组。

消化细胞,离心收集各组细胞,PBS漂洗2次,加结合缓冲液重悬细胞。依据试剂盒说明书,先后加入Annexin V-FITC和PI避光孵育。流式细胞仪检测激发波长488 nm和发射波长530 nm处的荧光强度。实验重复3次。

1.2.7 荧光素酶报告基因检测实验检测miR-216a-5p对XIAP的靶向调控: TargetScan数据库显示XIAP 3'UTR区域有miR-7结合位点。构建野生型和突变型基因靶点XIAP的3'UTR-荧光素酶表达载体(WT-XIAP和MUT-XIAP),取对数生长期大鼠胰腺腺泡AR42J细胞接种于24孔板( $5 \times 10^4$ 个/孔),待细胞生长至80%融合时,用Lipofectamine™ 2000将WT-XIAP和MUT-XIAP组细胞分别转染miR-NC和miR-216a-5p。依据说明书要求,使用荧光素酶报告基因检测仪进行双荧光素酶报告实验测定。实验结果以荧光素酶活性和Renilla活性的比值进行统计学分析。实验重复3次。

**统计学处理** 采用SPSS 20.00进行统计学分析。计量资料以mean±SD表示,两组比较行 $t$ 检验,多组间比较采用单因素方差分析,以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 miR-216a-5p在AP腺泡细胞中的表达 qRT-PCR检测结果(图1)显示,与正常的AR42J细胞相比,CAE处理后的AR42J细胞中miR-216a-5p的表达水平显著升高( $P<0.05$ )。可见,CAE处理可以提高miR-216a-5p的表达水平。

2.2 抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞增殖的影响 qRT-PCR检测结果(图2A)显示,与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比,AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组miR-216a-5p的表达水平显著降低( $P<0.05$ )。MTT法检测结果(图2B)显示,与AR42J组相比,AR42J+CAE组细胞活性显著降低,与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比,AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组细胞活性显著升高( $P<0.05$ )。Western Blot检测结果(图2C、D)显示,与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比,AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组Cyclin D1蛋白的表达水平显著升高,P21蛋白的表达水平显著下降( $P<0.05$ )。可见,抑制miR-216a-5p可促进AP腺泡细胞增殖。

2.3 抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞凋亡的影响 流式细胞仪检测结果(图3A、B)显示,与AR42J组相比,AR42J+CAE组细胞凋亡率显著升高;与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比,AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组CAE作用的AR42J细胞的凋亡率显著降低( $P<0.05$ )。Western Blot检测结果(图3C、D)显示,与AR42J组相比,AR42J+CAE组Bcl-2蛋白的表达水平显著降低,Bax蛋白的表达水平显著升高;与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比,AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组Bcl-2蛋白的表达水平显著升高,Bax蛋白的表达水平显著下降( $P<0.05$ )。可见,抑制miR-216a-5p可抑制AP腺泡细胞凋亡。

2.4 miR-216a-5p靶向、调控XIAP的表达 通过TargetScan数据库预测到XIAP与miR-216a-5p存在结合位点(图4A)。荧光素酶报告基因检测实验结果(图4B)显示,转染野生型XIAP基因表达载体WT-XIAP后,相较于miR-NC组,miR-216a-5p组AR42J细胞的荧光素酶活性显著降低( $P<0.05$ );而转染突变型XIAP基因表达载体MUT-XIAP后,相较于miR-NC组,miR-216a-5p组AR42J细胞的荧光素酶活性差异不显著。qRT-PCR检测结果(图4C)显示,相较于miR-NC组,miR-216a-5p组AR42J细胞中XIAP mRNA的表达水平显著降低;而相较于anti-miR-NC组,anti-miR-216a-5p组AR42J细胞中XIAP mRNA的表达水平显著升高( $P<0.05$ )。Western Blot检测结果(图4D)显示,相较于miR-NC组,miR-216a-5p组AR42J细胞中XIAP蛋白的表达水平显著降低;而相较于anti-miR-NC组,anti-miR-216a-5p组AR42J细胞中XIAP蛋白的表达水平显著升高( $P<0.05$ )。可见,miR-216a-5p可以靶向调控XIAP。

2.5 过表达XIAP对AP腺泡细胞增殖、凋亡的影响 MTT法检测结果(图5A)显示,与AR42J组相比,AR42J+CAE组细胞活性显著降低;与AR42J+CAE+pcDNA3.1组相比,AR42J+CAE+pcDNA3.1-XIAP组细胞活性显著升高( $P<0.05$ )。流式细胞仪检测结果(图5B)显示,与AR42J组相比,AR42J+CAE组细胞的凋亡率显著升高;与AR42J+CAE+pcDNA3.1组相比,AR42J+CAE+pcDNA3.1-XIAP组细胞的凋亡率显著降低( $P<0.05$ )。Western Blot检测结果(图5C、D)显示,与AR42J组相比,AR42J+CAE组XIAP、Cyclin D1、Bcl-2蛋白的表达水平显著下降,P21、Bax蛋白的表达水平显著升高;与AR42J+CAE+pcDNA3.1组相比,AR42J+CAE+pcDNA3.1-XIAP组中XIAP、Cyclin D1、Bcl-2蛋白的表达水平显著升高,P21、Bax蛋白的表达水平显著下降( $P<0.05$ )。可见,过表达XIAP促进AP腺泡细胞增殖,抑制其凋亡。

2.6 抑制XIAP表达能逆转抑制miR-216a-5p对AP腺泡

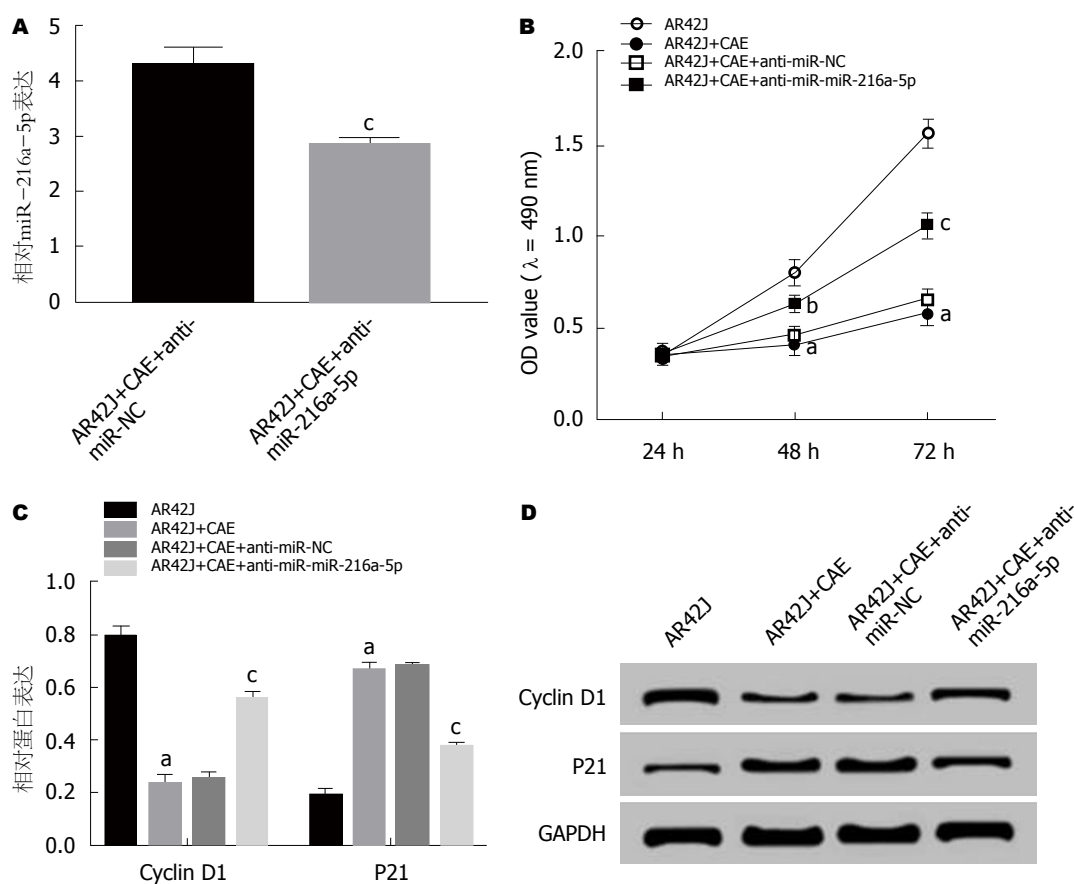


图 2 抑制miR-216a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖的影响。A: miR-216a-5p的表达; B: 抑制miR-216a-5p对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)腺泡细胞增殖的影响; C, D: 抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞增殖蛋白表达的影响。\* $P < 0.05$ , vs AR42J组; \* $P < 0.05$ , vs AR42J+CAE+anti-miR-NC

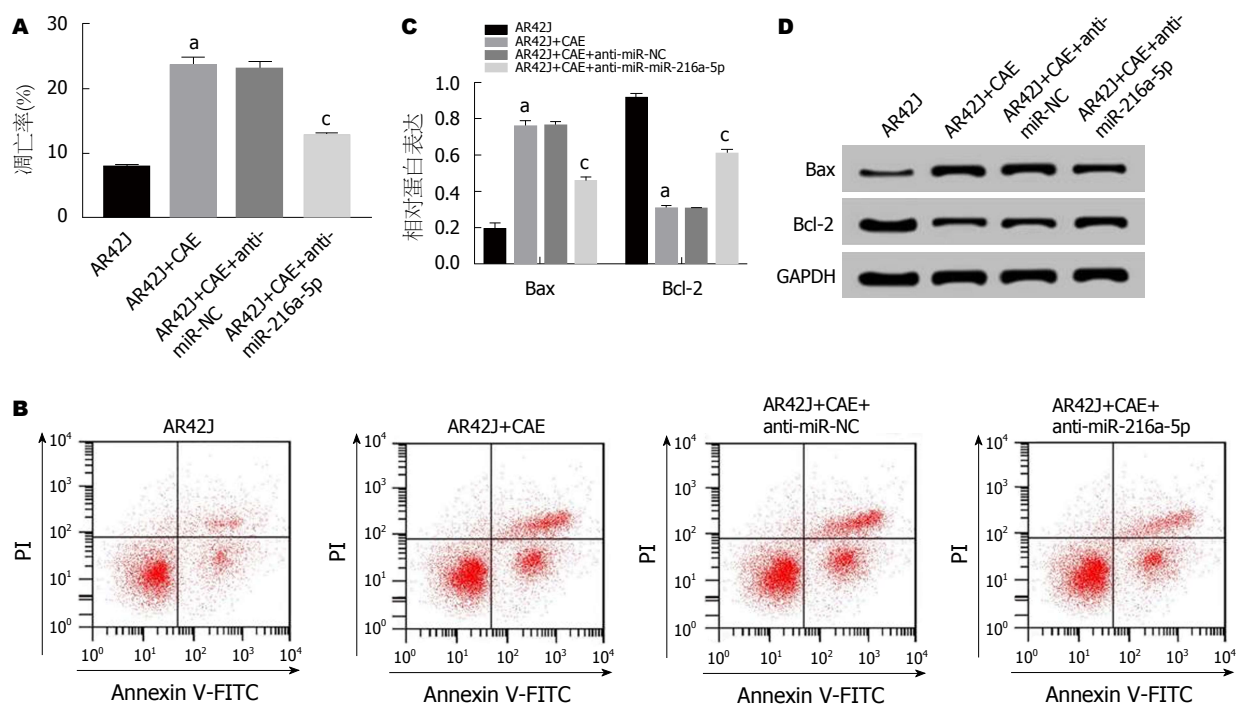


图 3 抑制miR-216a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞凋亡的影响。A, B: 抑制miR-216a-5p对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)腺泡细胞凋亡的影响; C, D: 抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞凋亡蛋白表达的影响。\* $P < 0.05$ , vs AR42J组; \* $P < 0.05$ , vs AR42J+CAE+anti-miR-NC组。

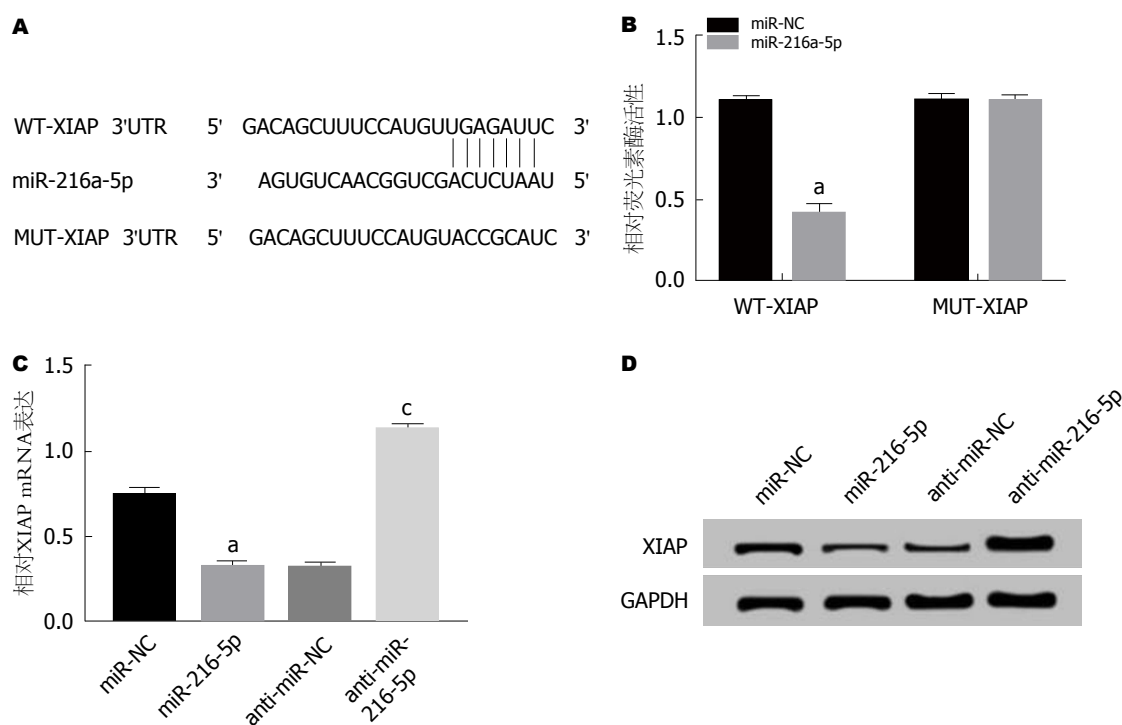


图 4 miR-216a-5p靶向、调控XIAP的表达. A: XIAP的3'UTR含有miR-216a-5p互补序列; B: 双分子荧光素酶实验; C: miR-216a-5p调控XIAP mRNA的表达; D: XIAP蛋白的表达.  $P<0.05$ , vs miR-NC组;  $P<0.05$ , vs anti-miR-NC组.

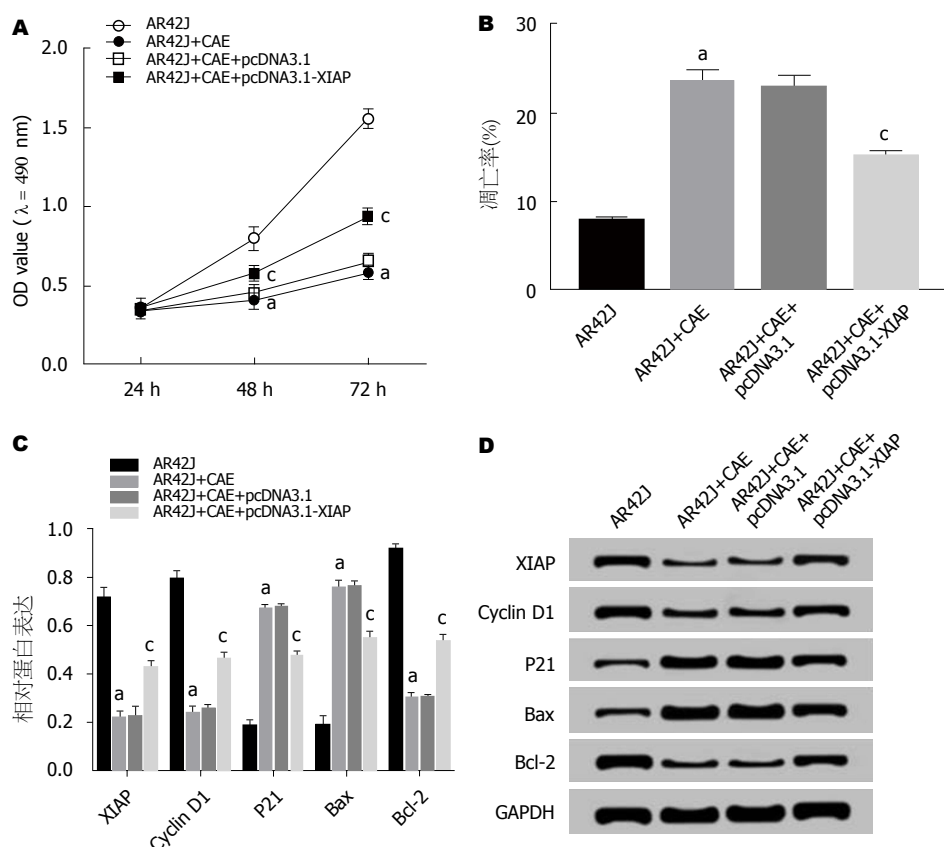


图 5 过表达XIAP对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响. A: 过表达XIAP对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)腺泡细胞增殖的影响; B: 过表达XIAP对AP腺泡细胞凋亡的影响; C、D: 过表达XIAP对AP腺泡细胞增殖、凋亡蛋白表达的影响.  $P<0.05$ , vs AR42J组;  $P<0.05$ , vs AR42J+CAE+pcDNA3.1组.



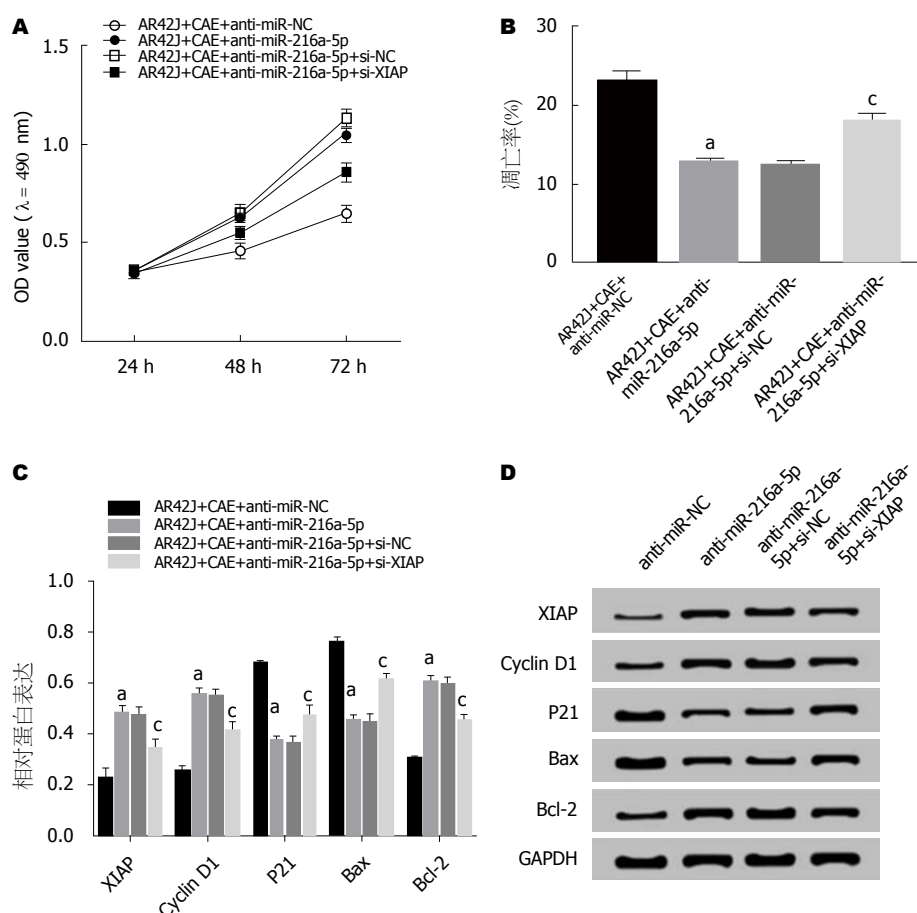


图6 抑制XIAP表达能逆转抑制miR-216a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的作用. A: 抑制XIAP表达能逆转抑制miR-216a-5p对急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)腺泡细胞增殖的促进作用; B: 抑制XIAP表达能逆转抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞凋亡的抑制作用; C、D: 抑制XIAP表达能逆转抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞增殖、凋亡蛋白表达的作用。\* $P < 0.05$ , vs AR42J+CAE+anti-miR-NC组; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , vs AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-NC组。

细胞增殖、凋亡的作用 MTT法检测结果(图6A)显示, 与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比, AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组细胞活性显著升高, 与AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-NC组相比, AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-XIAP组细胞活性显著降低( $P < 0.05$ )。流式细胞仪检测结果(图6B)显示, 与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比, AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组细胞的凋亡率显著降低, 与AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-NC组相比, AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-XIAP组细胞的凋亡率显著升高( $P < 0.05$ )。Western Blot检测结果(图6C、D)显示, 与AR42J+CAE+anti-miR-NC组相比, AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p组中XIAP、Cyclin D1、Bcl-2蛋白的表达水平显著升高, P21、Bax蛋白的表达水平显著下降; 与AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-NC组相比, AR42J+CAE+anti-miR-216a-5p+si-XIAP组中XIAP、Cyclin D1、Bcl-2蛋白的表达水平显著下降, P21、Bax蛋白的表达水平显著升高( $P < 0.05$ )。可见, 抑制XIAP表达能逆转抑制miR-216a-5p对AP腺泡细胞增殖

促进、凋亡抑制的作用。

### 3 讨论

AP是由多种病因诱发的一种急腹病, 发病率及病死率高, 严重影响人们生命健康<sup>[10]</sup>。近年来的研究发现多种miRNA在AP中异常表达, 在其诊断、预后和发病机制中具有重要作用<sup>[11]</sup>。miR-216a为急性胰腺损伤的标志物, 在AP大鼠模型中上调表达<sup>[12]</sup>。Kuśnierz等<sup>[13]</sup>研究发现miR-216a-5p在AP患者表达升高, 可以预测AP的严重程度。转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- $\beta$ 诱导的miR-216a-5p通过Akt和TGF- $\beta$ 通路加重小鼠AP<sup>[14]</sup>。miR-216a-5p在膀胱癌中低表达, 可抑制膀胱癌细胞的增殖, 促进细胞凋亡<sup>[15]</sup>。miR-216a-5p通过Bcl-2家族蛋白抑制小细胞肺癌的恶性进展<sup>[16]</sup>。上调miR-216a-5p也能抑制前列腺癌细胞的增殖, 迁移和侵袭<sup>[17]</sup>; 还可通过靶向RUNX1激活NF- $\kappa$ B信号通路抑制人胃癌细胞的增殖, 迁移和侵袭<sup>[18]</sup>。本研究结果显示, miR-216a-5p在CAE处理的AR42J细胞中表达水平显著升高, 抑制表达miR-

216a-5p可提高细胞活性,降低细胞凋亡率. miR-216a-5p靶向负调控XIAP表达.

XIAP是凋亡抑制蛋白家族中最强的内源性的抑制因子,可通过不同的信号转导通路及调控相关凋亡蛋白酶的表达产生抗凋亡作用,与肿瘤的发生、发展有密切关系<sup>[19]</sup>. XIAP下调可以促进肿瘤细胞的凋亡,逆转肿瘤细胞耐药,增强肿瘤细胞化疗的敏感性<sup>[20]</sup>. 研究发现AP病情轻重程度与XIAP蛋白表达有关,AP病情越重XIAP表达越高<sup>[21]</sup>,XIAP参与细胞凋亡的调节<sup>[22]</sup>. 李富龙等<sup>[23]</sup>研究发现清下化疗方可通过下调Survivin、XIAP的表达而起到治疗AP的作用. XIAP的下调与大鼠中CAE诱导的AP中的细胞凋亡相关<sup>[24]</sup>. XIAP会导致严重的AP<sup>[25]</sup>,而XIAP的缺失则能降低AP的严重程度<sup>[26]</sup>. XIAP在CAE刺激的大鼠胰腺腺泡细胞中负向调控AR42J细胞的凋亡<sup>[27]</sup>. 本研究结果显示,过表达XIAP促进CAE处理的AR42J细胞增殖,抑制细胞凋亡,促进Cyclin D1、Bcl-2蛋白的表达,抑制P21、Bax蛋白的表达. 抑制XIAP表达可逆转抑制miR-216a-5p对CAE处理的AR42J细胞增殖促进、凋亡抑制的作用.

综上所述,抑制miR-216a-5p表达可以抑制胰腺炎腺泡细胞凋亡,促进细胞增殖,其机制可能与靶向调控XIAP有关. 可为AP诊断和治疗提供新靶点和新思路.

## 文章亮点

### 实验背景

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)的发病机制复杂,并发症较多,对生命健康危害加大. 根据其严重程度不同,可分为轻型急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)和重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP). MAP较容易治愈,但SAP因为早期病情隐匿,后期发展快,发现时已很严重,所以死亡率较高. 早诊断、早发现、早治疗是对SAP具有重要意义. AP主要病因有胆源性,高脂血症性,酒精性,暴饮暴食性等. 早期主要采用非手术个体化治疗,包括液体复苏、抗生素的使用、早期肠内营养、特效药物和我国的传统医学治疗等. 更为精准高效的治疗需要清楚其进展机制,研究miRNA可以作为AP的生物标志物,预测并且判定AP的发生、发展、并发症发生等,还可以调控AP的程序性细胞死亡,并且可以作为AP的治疗靶点. 而本文主要是从miRNA方面研究其对AP凋亡的影响及其可能的作用机制.

### 实验动机

本研究的主题是miR-216a-5p对AP增殖凋亡的影响,拟解决的关键问题是了解miR-216a-5p是如何影响AP细胞

的增殖和凋亡,以及其和XIAP之间的关系及它们对AP的影响,在AP中的发生发展机制,为以后临床上的诊断治疗等提供新思路和新靶点.

### 实验目标

研究的主要目标即miR-216a-5p, XIAP, AP之间的关系,研究得到miR-216a-5p和XIAP均在AP中异常表达,抑制miR-216a-5p表达和过表达XIAP均可抑制雨蛙素(caerulein, CAE)处理AR42J细胞凋亡,且miR-216a-5p靶向负调控XIAP. 可以从调控AP凋亡的途径来调控其进展,为其治疗提供新思路.

### 实验方法

本研究首先是用CAE处理大鼠胰腺腺泡来构建AP的模型. 转染miR-216a-5p抑制表达和XIAP过表达的载体质粒, MTT检测细胞增殖活性, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western blot检测XIAP蛋白表达, qRT-PCR检测miR-216a-5p和XIAP mRNA表达水平, 荧光素酶报告基因检测实验检测miR-216a-5p与XIAP之间的靶向关系.

### 实验结果

本实验的结果是在CAE构建的AP模型细胞中, miR-216a-5p的表达水平升高. 抑制miR-216a-5p表达、过表达XIAP腺泡细胞凋亡率降低. miR-216a-5p靶向负调控XIAP, 抑制XIAP表达逆转了抑制miR-216a-5p对CAE处理AR42J细胞的凋亡抑制作用; 达到了本实验的目的, 对该领域AP的发病进展机制又增加了相关的理论依据, 以后可以进一步在临床方面进行研究应用.

### 实验结论

miR-216a-5p靶向负调控XIAP; 抑制miR-216a-5p表达、过表达XIAP抑制腺泡细胞凋亡. 可以通过调控XIAP影响AP的进展. 从miRNA角度去研究其对AP的影响拓宽了研究的范围, 更多的miRNA影响AP的进展, 增加了可治疗的靶点. 不同的miRNA在AP中的表达不同, 可通过研究不同的miRNA及其不同的靶基因影响AP的进展进而拓展研究思路. miR-216a-5p可以调控XIAP影响腺泡细胞凋亡. 通过上调或下调miRNA可以影响AP的细胞的凋亡及其严重程度. 对未临床实践提供了新的靶点和思路.

### 展望前景

只是在理论层面上对小鼠模型的研究, 到临床上的研究和应用还相差甚远. 进一步深入的研究调控miR-216a-5p和XIAP对治疗AP小鼠的影响及其可能会产生的现象以及进一步往临床方向进行相关研究. 寻找更接近于真

实AP的小鼠或者与人AP更为相似的受体, 再次基础上进行治疗, 同时观察其后期的反应和状况。

#### 4 参考文献

- 冯小萌, 王原. 急性胰腺炎发病机制及治疗研究进展. 世界最新医学信息文摘(电子版) 2017; 17: 26-30 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-3141.2017.40.011]
- 张喜平, 林谦. 急性胰腺炎炎症介质与细胞凋亡关系的研究进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2773-2777 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2005.23.012]
- 张美凤, 金相任. 腺泡细胞死亡方式对急性胰腺炎病情影响的研究现状. 世界华人消化杂志 2017; 25: 3067-3071 [DOI: 10.11569/wcjd.v25.i34.3067]
- 罗斌阳, 马一茵, 陈薇, 杨锦林. miRNA对急性胰腺炎的诊断及预后判断价值. 中华胰腺病杂志 2017; 17: 347-349 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2017.05.017]
- 陆攀, 宋佳希, 王锋, 闫静, 万淑君, 汪俊军. 血清miR-216a检测在急性胰腺炎诊断及预后监测中的价值. 临床检验杂志 2017; 35: 579-582 [DOI: 10.13602/j.cnki.jcls.2017.08.05]
- Zhu H, Zeng Y, Zhou CC, Ye W. SNHG16/miR-216-5p/ZEB1 signal pathway contributes to the tumorigenesis of cervical cancer cells. *Arch Biochem Biophys* 2018; 637: 1-8 [PMID: 29126969 DOI: 10.1016/j.abb.2017.11.003]
- Chen P, Quan J, Jin L, Lin C, Xu W, Xu J, Guan X, Chen Z, Ni L, Yang S, Chen Y, Lai Y. miR-216a-5p acts as an oncogene in renal cell carcinoma. *Exp Ther Med* 2018; 15: 4039-4046 [PMID: 29556270 DOI: 10.3892/etm.2018.5881]
- 安宁, 李宏敏, 于瑞莲, 罗树春, 张明, 兰海涛. miR-216a-5p通过下调MMP16表达抑制肺癌细胞的侵袭. 中国癌症杂志 2015; 25: 588-594 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-3969.2015.08.005]
- 张曙光, 刘芝华, 张林. 凋亡抑制基因XIAP在肿瘤治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2006; 14: 2626-2631 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2006.26.011]
- 汤华, 桑卫东. 重症急性胰腺炎微创治疗研究进展. 安徽医学 2018; 39: 367-369 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-0399.2018.03.037]
- 贾重阳, 张辰龙, 张小强. micro RNAs在急性胰腺炎中的研究新进展. 中华卫生应急电子杂志 2017; 3: 180-182 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-9133.2017.03.015]
- Endo K, Weng H, Kito N, Fukushima Y, Iwai N. MiR-216a and miR-216b as markers for acute phased pancreatic injury. *Biomed Res* 2013; 34: 179-188 [PMID: 23995054 DOI: 10.2220/biomedres.34.179]
- Kuśnierz-Cabala B, Nowak E, Sporek M, Kowalik A, Kuźniewski M, Enguita FJ, Stępień E. Serum levels of unique miR-551-5p and endothelial-specific miR-126a-5p allow discrimination of patients in the early phase of acute pancreatitis. *Pancreatology* 2015; 15: 344-351 [PMID: 26094040 DOI: 10.1016/j.pan.2015.05.475]
- Zhang J, Ning X, Cui W, Bi M, Zhang D, Zhang J. Transforming growth factor (TGF)- $\beta$ -induced microRNA-216a promotes acute pancreatitis via Akt and TGF- $\beta$  pathway in mice. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 127-135 [PMID: 25501921 DOI: 10.1007/s10620-014-3261-9]
- 邵煥军, 赵振伶, 郝丽娜, 朱家红, 孙峰. miR-216a-5p靶向作用于PAK2对膀胱癌细胞增殖和凋亡影响的体外研究. 医学研究杂志 2018; 47: 151-156 [DOI: 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.06.035]
- Sun Y, Hu B, Wang Y, Li Z, Wu J, Yang Y, Wei Y, Peng X, Chen H, Chen R, Jiang P, Fang S, Yu Z, Guo L. miR-216a-5p inhibits malignant progression in small cell lung cancer: involvement of the Bcl-2 family proteins. *Cancer Manag Res* 2018; 10: 4735-4745 [PMID: 30425570 DOI: 10.2147/CMAR.S178380]
- Yang B, Gao G, Wang Z, Sun D, Wei X, Ma Y, Ding Y. Long non-coding RNA HOTTIP promotes prostate cancer cells proliferation and migration by sponging miR-216a-5p. *Biosci Rep* 2018; 38 [PMID: 29884766 DOI: 10.1042/BSR20180566]
- Wu Y, Zhang J, Zheng Y, Ma C, Liu XE, Sun X. miR-216a-3p Inhibits the Proliferation, Migration, and Invasion of Human Gastric Cancer Cells via Targeting RUNX1 and Activating the NF- $\kappa$ B Signaling Pathway. *Oncol Res* 2018; 26: 157-171 [PMID: 28835317 DOI: 10.3727/096504017X15031557924150]
- 王振甫. X连锁凋亡抑制蛋白与肿瘤关系的研究进展. 中国医药指南 2017; 15: 34-35 [DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2017.10.023]
- 龚芳, 祁小飞, 张日. 凋亡抑制蛋白XIAP在白血病中的研究进展. 临床血液学杂志 2017; 30: 73-75 [DOI: 10.13201/j.issn.1004-2806.2017.01.021]
- 张梦然, 吴建胜, 高道键, 王旦, 贾国葆. 急性胰腺炎大鼠腺泡细胞中XIAP和Smac蛋白的表达. 新医学 2010; 41: 570-574 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2010.09.003]
- 王培培, 吴建胜, 高道键, 周蒙滔, 方佩佩, 贾国葆, 孙学成, 王旦. 急性胰腺炎大鼠胰腺组织中Smac/DIABLO、XIAP mRNA的表达及其意义. 中华胰腺病杂志 2010; 10: 177-179 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2010.03.010]
- 李富龙, 王晓素, 周莉, 汤瑾, 孙吉. 清下化痰方对急性胰腺炎大鼠腺泡细胞Survivin、XIAP及Smac的影响. 上海中医药大学学报 2016; 30: 67-71 [DOI: 10.16306/j.1008-861x.2016.02.016]
- Liu Y, Zhou ZG, Zhou B, Wang R, Yan H, Li Y. Downregulation of GRP78 and XIAP is correlated with apoptosis during cerulein-induced acute pancreatitis in rats via regulation of caspase activation. *Mol Med Rep* 2013; 7: 725-730 [PMID: 23254244 DOI: 10.3892/mmr.2012.1241]
- Moon K, Zhou SY, Lee SH, Owyang C, DiMaggio MJ. HSP70 and XIAP are potential key molecular mechanisms causing impaired apoptosis and severe acute pancreatitis (AP) in cf mice. *Pancreas* 2007; 35: 417 [DOI: 10.1097/01.mpa.0000297750.50175.d9]
- Liu Y, Chen XD, Yu J, Chi JL, Long FW, Yang HW, Chen KL, Lv ZY, Zhou B, Peng ZH, Sun XF, Li Y, Zhou ZG. Deletion Of XIAP reduces the severity of acute pancreatitis via regulation of cell death and nuclear factor- $\kappa$ B activity. *Cell Death Dis* 2017; 8: e2685 [PMID: 28300832 DOI: 10.1038/cddis.2017.70]
- 姜晶晶, 周总光, 王玲, 陈利辉, 李园, 晏会, 周斌, 刘勇, 陈珂玲. 雨蛙素刺激大鼠胰腺腺泡细胞AR42J后对XIAP表达及细胞凋亡的影响. 生物医学工程学杂志 2011; 28: 332-336

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红





# miR-181a-5p靶向PIAS1对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎腺泡细胞损伤的影响

王晓华, 陈铁江, 楼一波

王晓华, 陈铁江, 楼一波, 义乌市中心医院急诊科 浙江省义乌市 322000

王晓华, 副主任医师, 主要从事急诊科方面的疾病.

**作者贡献分布:** 此课题由王晓华与楼一波设计; 研究过程、数据分析及论文写作均由王晓华、陈铁江及楼一波完成; 研究所用新试剂及分析工具由陈铁江提供.

**通讯作者:** 王晓华, 副主任医师, 322000, 浙江省义乌市江东路699号, 义乌市中心医院急诊科. pbz4185511du@163.com  
电话: 0579-85209666

收稿日期: 2019-05-21

修回日期: 2019-07-26

接受日期: 2019-07-26

在线出版日期: 2019-08-08

## Effect of miR-181a-5p targeting PIAS1 on cerulein-induced acute pancreatitis-induced acinar cell injury

Xiao-Hua Wang, Tie-Tiang Chen, Yi-Bo Lou

Xiao-Hua Wang, Tie-Tiang Chen, Yi-Bo Lou, Department of Emergency Medicine, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Xiao-Hua Wang, Associate Chief Physician, Department of Emergency Medicine, Yiwu Central Hospital, 699 Jiangdong Road, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. pbz4185511du@163.com

Received: 2019-05-21

Revised: 2019-07-26

Accepted: 2019-07-26

Published online: 2019-08-08

## Abstract

### BACKGROUND

Acute inflammation caused by acute pancreatitis

(AP) is extremely harmful to people's health and can be life-threatening in severe cases. Its pathogenesis is complex and not fully understood. MiRNAs have been involved in the pathogenesis of AP. It was found that miR-181a-5p can inhibit cancer cell migration, invasion, and angiogenesis. MiR-181a-5p can also inhibit gastric cancer cell proliferation, invasion, metastasis, and epithelial mesenchymal transition. Inhibition of miR-181a-5p expression inhibits cell proliferation and invasion by negatively targeting INPP5A, and enhances apoptosis of cervical cancer cells. In addition, miR-181a inhibits the growth of pancreatic cancer cell lines, reduces their migration, and increases their apoptosis. However, the effect and mechanism of miR-181a-5p on the proliferation and apoptosis of AP are still unclear.

### AIM

To investigate the effect of miR-181a-5p on acinar cell injury in AP and the potential mechanism involved.

### METHODS

An AP model was constructed by treating rat pancreatic acinar AR42J and MPC-83 cells with 100 nmol/L caerulein. Different groups of cells were included: Con group (normal cells), caerulein group (treated with caerulein), miR-NC group (transfected with miR-NC), miR-181a-5p group (transfected with miR-181a-5p mimic), anti-miR-NC group (transfected with anti-miR-NC), anti-miR-181a-5p group (transfected with anti-miR-181a-5p), caerulein + anti-miR-NC group (caerulein treatment after transfection with anti-miR-NC), caerulein + anti-miR-181a-5p group (caerulein treatment after transfection with anti-miR-181a-

5p), caerulein + pcDNA group (caerulein treatment after transfection with pcDNA), caerulein + pcDNA-PIAS1 group (caerulein treatment after transfection with pcDNA-PIAS1), caerulein + anti-miR-181a-5p + si-NC group (caerulein treatment after anti-miR-181a-5p and si-NC co-transfection), and caerulein + anti-miR-181a-5p + si-PIAS1 group (caerulein treatment after anti-miR-181a-5p and si-PIAS1 co-transfection). Cell transfections were performed by the liposome method. The expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 in AR42J and MPC-83 cells treated with caerulein was detected by enzyme-linked immunosorbent assay. qRT-PCR was used to detect miR-181a-5p and PIAS1 mRNA in AR42J and MPC-83 cells treated with caerulein. Western blot was used to detect protein expression. Flow cytometry was used to detect apoptosis. Dual luciferase reporter gene assay was used to detect fluorescence activity.

## RESULTS

After treatment of AR42J and MPC-83 cells with caerulein, the expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 was significantly increased, the expression level of miR-181a-5p was significantly increased, and the expression of PIAS1 mRNA and protein was significantly decreased. Inhibition of miR-181a-5p expression and overexpression of PIAS1 inhibited the expression of TNF- $\alpha$  and IL-6 and inhibited cell apoptosis. MiR-181a-5p negatively regulated the expression of PIAS1, and inhibition of PIAS1 expression reversed the inhibitory effect of miR-181a-5p on apoptosis of AR42J and MPC-83 cells treated with caerulein.

## CONCLUSION

Inhibition of miR-181a-5p expression inhibits caerulein-induced AP-induced acinar cell injury via mechanisms that may be related to the targeted regulation of PIAS1. Our findings may provide new targets and new ideas for the diagnosis and treatment of AP.

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

Key Words: miR-181a-5p; PIAS1; Caerulein; Acute pancreatitis; Apoptosis

Wang XH, Chen TT, Lou YB. Effect of miR-181a-5p targeting PIAS1 on caerulein-induced acute pancreatitis-induced acinar cell injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 927-935  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/927.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.927>

## 摘要 背景

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)引起的急性炎症对人们健康的危害性极大, 严重时会危及生命. 其发病机制复杂, 尚未完全清楚, 研究发现miRNA参与了AP的发病过程. 研究发现miR-181a-5p可抑制癌细胞迁移、侵袭和血管生成; miR-181a-5p还能抑制胃癌细胞增殖、侵袭, 转移和上皮间充质转化. 抑制miR-181a-5p表达可通过负向靶向INPP5A抑制细胞增殖和侵袭, 增强宫颈癌细胞凋亡. miR-181a可抑制胰腺癌细胞系的生长、减少迁移, 增加凋亡. 但miR-181a-5p在AP的增殖凋亡中的影响及作用机制尚不清楚.

## 目的

研究miR-181a-5p对AP腺泡细胞损伤的影响及潜在的作用机制.

## 方法

用100 nmol/L的雨蛙肽处理大鼠胰腺腺泡AR42J和MPC-83构建AP模型, 设置Con组、Caerulein组、miR-NC组(转染miR-NC)、miR-181a-5p组(转染miR-181a-5p mimics)、anti-miR-NC组(转染anti-miR-NC)、anti-miR-181a-5p组(转染anti-miR-181a-5p)、Caerulein+anti-miR-NC组(转染anti-miR-NC后进行Caerulein处理)、Caerulein+anti-miR-181a-5p组(转染anti-miR-181a-5p后进行Caerulein处理)、Caerulein+pcDNA组(转染pcDNA后进行Caerulein处理)、Caerulein+pcDNA-PIAS1组(转染pcDNA-PIAS1后进行Caerulein处理)、Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-NC组(anti-miR-181a-5p和si-NC共转染后进行Caerulein处理)、Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-PIAS1组(anti-miR-181a-5p和si-PIAS1共转染后进行Caerulein处理), 用脂质体法转染至AR42J和MPC-83细胞. 酶联免疫吸附试验法检测雨蛙肽处理AR42J和MPC-83细胞的TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达; qRT-PCR检测AR42J和MPC-83细胞中miR-181a-5p、PIAS1 mRNA的表达水平; Western Blot检测蛋白表达; 流式细胞术检测细胞凋亡; 双荧光素酶报告基因检测实验检测荧光活性.

## 结果

雨蛙肽处理AR42J和MPC-83细胞后, TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达显著升高; miR-181a-5p的表达水平显著升高; PIAS1 mRNA和蛋白的表达水平显著降低. miR-181a-5p抑制表达和PIAS1过表达抑制TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达, 抑制细胞凋亡. miR-181a-5p靶向负调控PIAS1; 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p对雨蛙肽处理AR42J和MPC-83细胞的凋亡抑制作用.

## 结论

抑制miR-181a-5p表达可以抑制雨蛙肽诱导的AP腺泡细胞损伤, 其机制可能与靶向调控PIAS1有关. 可为AP诊断和治疗提供新靶点和新思路.

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

关键词: miR-181a-5p; PIAS1; 雨蛙肽; 急性胰腺炎; 凋亡

**核心提要:** 抑制miR-181a-5p表达可以抑制雨蛙肽诱导的急性胰腺炎腺泡细胞损伤, 其机制可能与靶向调控PIAS1有关. 可为急性胰腺炎诊断和治疗提供新靶点和新思路.

王晓华, 陈铁江, 楼一波. miR-181a-5p靶向PIAS1对雨蛙肽诱导的急性胰腺炎腺泡细胞损伤的影响. 世界华人消化杂志 2019; 27(15): 927-935

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/927.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.927>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是体内胰酶被激活并致胰腺自身消化, 继以胰腺局部炎症反应为主要特征性疾病, 其病情复杂多变, 严重时可发生全身炎症反应综合征<sup>[1]</sup>. 研究其发病机制对于靶向特异性治疗具有重要意义. 多种miRNAs在AP中异常表达, 与AP的发生发展相关, 研究其在AP发病机制中的作用有助于为AP的诊断和治疗提供新的思路和方法<sup>[2]</sup>. 研究发现miR-181a在脑缺血组织中过表达, 可以促进脑组织细胞凋亡和炎症的发生, 加重神经损伤的严重程度<sup>[3]</sup>; 且miR-181a能抑制胰腺癌细胞系的生长、增加细胞凋亡、减少迁移<sup>[4]</sup>, 但miR-181a-5p在AP中的具体作用机制尚未清楚. 信号转导与转录激活子(signal transducer and activators of transcription, STAT)活化抑制蛋白1(protein inhibitor of activated signal transducer and activators of transcription 1, PIAS1)是一种特异性抑制蛋白, 调控肿瘤的发生发展, 可作为肿瘤的靶向治疗靶点<sup>[5]</sup>. 且研究发现PIAS1可抑制炎症微环境诱导的胃癌上皮-间质转化, 抑制肿瘤侵袭与转移<sup>[6]</sup>. PIAS1可降低血气屏障通透性, 抑制炎症细胞外渗, 进而改善急性坏死性胰腺炎继发性肺损伤<sup>[7]</sup>. 本文旨在研究miR-181a-5p对雨蛙肽诱导的AP腺泡细胞损伤的影响及其与PIAS1的关系, 以及其作用机制是否与PIAS1有关. 将为AP的诊断和治疗提供新思路和新靶点.

## 1 材料和方法

1.1 材料 胰腺腺泡细胞AR42J、MPC-38购自中国科学院上海细胞库. AP患者和健康者血清标本取自当地医院; 雨蛙素购自美国Sigma公司; 胎牛血清、RPMI 1640

培养基均购自美国Gibco公司; RNA提取试剂盒、反转录试剂盒和qPCR试剂盒购自日本Takara公司; 酶联免疫吸附试验(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测试剂盒购自上海联科生物技术有限公司; Western Blot试剂盒、BCA试剂盒、膜联蛋白V-异硫氰酸荧光素(Annexin V-FITC)和碘化丙锭(PI)试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; 双荧光素酶报告基因检测试剂盒购自美国Promega公司; Lipofectamine™ 2000转染试剂盒购自美国Invitrogen公司; 流式细胞仪购自赛默飞公司; 兔抗人Bax多克隆抗体、兔抗人Bcl-2多克隆抗体、兔抗人cleaved-caspase-3多克隆抗体、兔抗人PIAS1多克隆抗体、兔抗人GAPDH多克隆抗体、山羊抗兔IgG-辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)均购自北京博奥森生物科技有限公司.

## 1.2 方法

1.2.1 细胞培养及AP建模: 大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞常规培养于含10% FBS的RPMI 1640培养基, 置于37 °C, 含5%CO<sub>2</sub>恒温箱培养. 每2-3 d传代一次. 造模前1 d取AR42J细胞接种于6孔板上, 培养24 h后加入100 nm/L的雨蛙素, 震荡混匀后继续培养6 h, 收集备用.

1.2.2 细胞分组和转染: 取常规培养的大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞消化后接种于96孔板中, 待细胞融合生长至80%时进行实验. 正常培养的大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞添加100 nmol/L雨蛙素培养6 h作为Caerulein组、不做任何处理的AR42J、MPC-38细胞作为对照(Con)组; 将miR-NC、miR-181a-5p、anti-miR-NC和anti-miR-181a-5p质粒载体转染至常规培养的大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞中, 分别记为miR-NC组、miR-181a-5p组、anti-miR-NC组和anti-miR-181a-5p组. AP患者记为AP组, 健康者记为Healthy组.

将anti-miR-NC、anti-miR-181a-5p、pcDNA、pcDNA-PIAS1转染至大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞中, anti-miR-181a-5p分别与si-NC和si-PIAS1共转染至大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞中, 然后用100 nmol/L雨蛙素刺激培养6 h, 分别记为Caerulein+anti-miR-NC组、Caerulein+anti-miR-181a-5p组、Caerulein+pcDNA组、Caerulein+pcDNA-PIAS1组、Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-NC组、Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-PIAS1组, 转染按照Lipofectamine™ 2000试剂盒进行操作.

1.2.3 ELISA法检测TNF-α和IL-6的表达: 取雨蛙素处理后的各组细胞, 离心取上清, 按ELISA试剂盒说明书进行检测.

1.2.4 qRT-PCR分析miR-181a-5p和PIAS1 mRNA表达水平: 按照Trizol说明书提取总RNA, 用反转录试剂盒逆转录成cDNA, 按照AceQ qPCR SYBR® Green Mix说明



书进行qRT-PCR方法扩增. 循环条件为95 °C 30 s, 60 °C 30 s; 72 °C 30 s, 共40个循环; 60 °C延长5 min. 相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算.

**1.2.5 Western Blot检测蛋白表达:** 提取各组细胞蛋白, 用BCA蛋白定量试剂盒进行蛋白定量. 各组蛋白上样量60  $\mu$ g, SDS-PAGE后, 经电转将蛋白转移至PVDF膜上. 用5%脱脂牛奶室温封闭90 min, 分别加入相应的一抗: 兔抗人Bax多克隆抗体、兔抗人Bcl-2多克隆抗体、兔抗人cleaved-caspase-3多克隆抗体、兔抗人PIAS1多克隆抗体、兔抗人GAPDH多克隆抗体, 4 °C孵育过夜, PBS洗涤3次, 每次5 min; 再加入相对应的二抗HRP, 室温孵育2 h, PBS洗涤3次, 每次10 min, 后在暗室中曝光显影, 再浸入定影, 最后洗去残液晾干, 将胶片用Quantity One凝胶分析软件处理, 测定各组蛋白条带的吸光度, 以目的条带和GAPDH条带的比值作为蛋白表达水平.

**1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡:** 用不含EDTA的胰酶消化细胞, 离心收集各组细胞, PBS漂洗2次, 加结合缓冲液重悬细胞. 依据试剂盒说明书, 先加入5  $\mu$ L的Annexin V-FITC混匀后再加入5  $\mu$ L的PI避光孵育15 min. 流式细胞仪检测激发波长488 nm和发射波长530 nm处的荧光强度, 实验重复3次.

**1.2.7 荧光素酶报告基因检测实验检测miR-181a-5p对PIAS1的靶向调控:** TargetScan数据库显示PIAS1 3'UTR区域有miR-181a-5p结合位点. 构建野生型和突变型基因靶点PIAS1的3'UTR-荧光素酶表达载体(WT-PIAS1和MUT-PIAS1), 取对数生长期大鼠胰腺腺泡AR42J、MPC-38细胞接种于24孔板( $5 \times 10^4$ 个/孔), 待细胞生长至80%融合时, 用Lipofectamine™ 2000将WT-PIAS1和MUT-PIAS1组细胞分别转染miR-NC和miR-181a-5p. 依据说明书要求, 使用荧光素酶报告基因检测仪进行双荧光素酶报告实验测定. 实验结果以荧光素酶活性和Renilla活性的比值进行统计学分析. 实验重复3次.

**统计学处理** 采用SPSS 20.00进行统计学分析. 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 两组比较行 $t$ 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

**2.1 miR-181a-5p和PIAS1在AP患者血清及雨蛙肽诱导的胰腺腺泡细胞中的表达** qRT-PCR检测结果(图1A, B)显示, 与健康组相比, AP患者血清中miR-181a-5p的表达水平显著升高, PIAS1 mRNA的表达水平显著降低; 与对照组相比, 雨蛙肽处理的AR42J细胞和MPC-38细胞中miR-181a-5p的表达水平显著升高, PIAS1 mRNA的表达水平显著下降( $P<0.05$ ). Western Blot检测结果(图1C, D)显示, 与健康组相比, AP患者血清中PIAS1蛋白的表

达水平显著降低; 与对照组相比, 雨蛙肽处理后AR42J细胞和MPC-38细胞中PIAS1蛋白的表达水平显著下降( $P<0.05$ ). 可见, 在雨蛙肽处理的AR42J和MPC-38细胞以及AP患者血清中miR-181a-5p高表达, PIAS1低表达.

**2.2 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-38细胞炎症因子表达的影响** qRT-PCR检测结果(图2A)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞中miR-181a-5p的表达水平显著升高, 与Caerulein+anti-miR-NC组相比, Caerulein+anti-miR-181a-5p组的miR-181a-5p表达水平显著下降( $P<0.05$ ). ELISA法检测结果(图2B, C)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞中IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量显著升高; 与Caerulein+anti-miR-NC组相比, Caerulein+anti-miR-181a-5p组IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量显著降低( $P<0.05$ ). 可见, 抑制miR-181a-5p表达抑制雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-38细胞炎症因子的表达.

**2.3 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-38细胞凋亡的影响** 流式细胞仪检测结果(图3A, B)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞凋亡率显著升高, 与Caerulein+anti-miR-NC组相比, Caerulein+anti-miR-181a-5p组AR42J和MPC-38细胞凋亡率显著降低( $P<0.05$ ). Western Blot检测结果(图3C, D, E)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞中Bax、Caspase-3蛋白的表达水平显著升高, Bcl-2蛋白的表达水平显著降低; 与Caerulein+anti-miR-NC组相比, Caerulein+anti-miR-181a-5p组Bax、Caspase-3蛋白的表达水平显著降低, Bcl-2蛋白的表达水平显著升高( $P<0.05$ ). 可见, 抑制miR-181a-5p表达抑制雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-38细胞凋亡.

**2.4 PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-38细胞损伤的影响** Western Blot检测结果(图4A, B, F, G, H)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞中Bax、Caspase-3蛋白的表达水平显著升高, PIAS1、Bcl-2蛋白的表达水平显著降低; 与Caerulein+pcDNA组相比, Caerulein+pcDNA-PIAS1组Bax、Caspase-3蛋白的表达水平显著降低, PIAS1、Bcl-2蛋白的表达水平显著升高( $P<0.05$ ). ELISA法检测结果(图4C, D)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞中IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量显著升高; 与Caerulein+pcDNA组相比, Caerulein+pcDNA-PIAS1组IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量显著降低( $P<0.05$ ). 流式细胞仪检测结果(图4E)显示, 与Con组相比, Caerulein组AR42J和MPC-38细胞凋亡率显著升高, 与Caerulein+pcDNA组相比, Caerulein+pcDNA-PIAS1组AR42J和MPC-38细胞凋亡率显著降低( $P<0.05$ ). 可见, PIAS1过表达抑制雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-38细胞

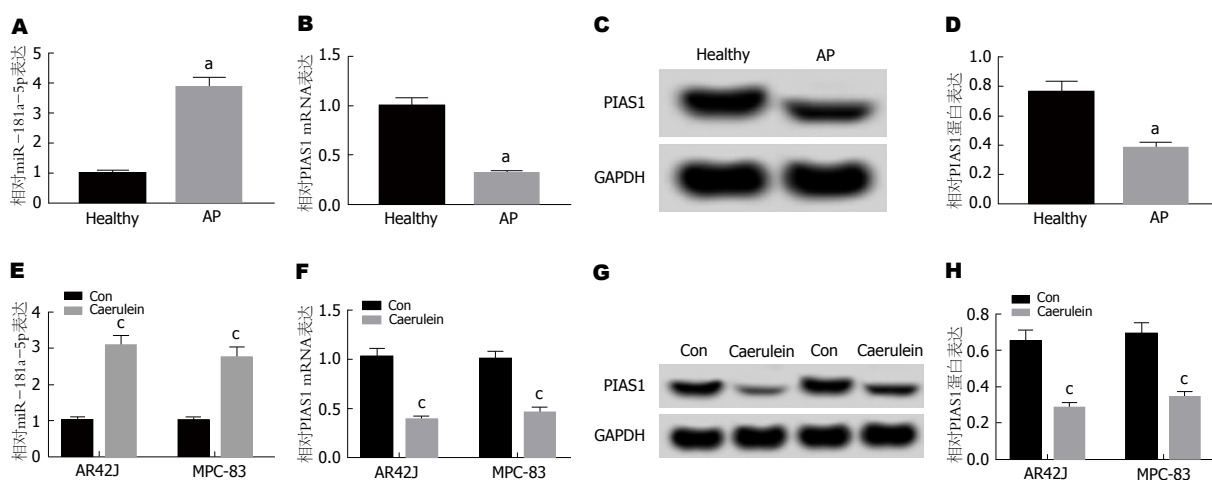


图 1 miR-181a-5p和PIAS1在急性胰腺炎患者血清及雨蛙肽诱导的胰腺腺泡细胞中的表达. A: miR-181a-5p和PIAS1在急性胰腺炎患者和健康对照组血清中的表达; B: PIAS1 mRNA在急性胰腺炎患者和健康对照组血清中的表达; C、D: PIAS1蛋白在急性胰腺炎患者和健康对照组血清中的表达; E: miR-181a-5p在雨蛙肽诱导的AR42J细胞中的表达; F: PIAS1 mRNA在雨蛙肽诱导的AR42J细胞中的表达; G、H: PIAS1蛋白在雨蛙肽诱导的AR42J细胞中的表达. \* $P < 0.05$ , vs Healthy组; \* $P < 0.05$ , vs Con组.

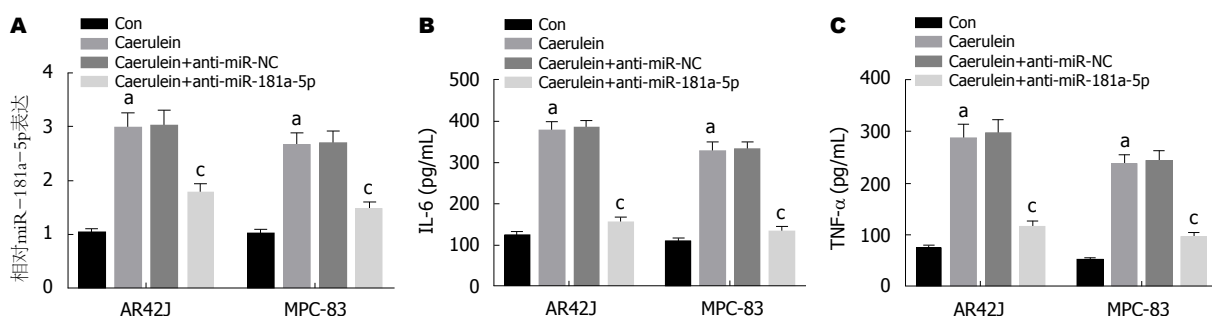


图 2 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞炎症因子表达的影响. A: miR-181a-5p相对表达量; B: 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞IL-6表达的影响; C: 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞TNF- $\alpha$ 表达的影响. \* $P < 0.05$ , vs Con组; \* $P < 0.05$ , vs Caerulein+anti-miR-NC组.

凋亡,抑制细胞炎症因子IL-6和TNF- $\alpha$ 的表达.

**2.5 miR-181a-5p靶向调控PIAS1的表达** 通过TargetScan数据库预测到PIAS1与miR-181a-5p存在结合位点(图5A). 荧光素酶报告基因检测实验结果(图5B、C)显示,转染野生型PIAS1基因表达载体WT-PIAS1后,相较于miR-NC组,miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞的荧光素酶活性显著降低( $P < 0.05$ );而转染突变型PIAS1基因表达载体MUT-PIAS1后,相较于miR-NC组,miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞的荧光素酶活性差异不显著. Western Blot检测结果(图5D、E)显示,相较于miR-NC组,miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞中PIAS1蛋白的表达水平显著降低;而相较于anti-miR-NC组,anti-miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞中PIAS1蛋白的表达水平显著升高( $P < 0.05$ ). 可见,miR-181a-5p可靶向调控PIAS1的表达.

**2.6 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞损伤的影响** Western Blot检测结果(图6A、B、F、G、H)显示,与Caerulein+anti-

miR-NC组相比,Caerulein+anti-miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞中Bax、cleaved-caspase-3蛋白的表达水平显著降低,PIAS1、Bcl-2蛋白的表达水平显著升高;与Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-NC组相比,Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-PIAS1组Bax、cleaved-caspase-3蛋白的表达水平显著升高,PIAS1、Bcl-2蛋白的表达水平显著降低( $P < 0.05$ ). ELISA法检测结果(图6C、D)显示,与Caerulein+anti-miR-NC组相比,Caerulein+anti-miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞中IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量显著降低;与Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-NC组相比,Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-PIAS1组IL-6和TNF- $\alpha$ 的含量显著升高( $P < 0.05$ ). 流式细胞仪检测结果(图6E)显示,与Caerulein+anti-miR-NC组相比,Caerulein+anti-miR-181a-5p组AR42J和MPC-83细胞凋亡率显著降低,与Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-NC组相比,Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-PIAS1组AR42J和MPC-83细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ ). 可见,抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的

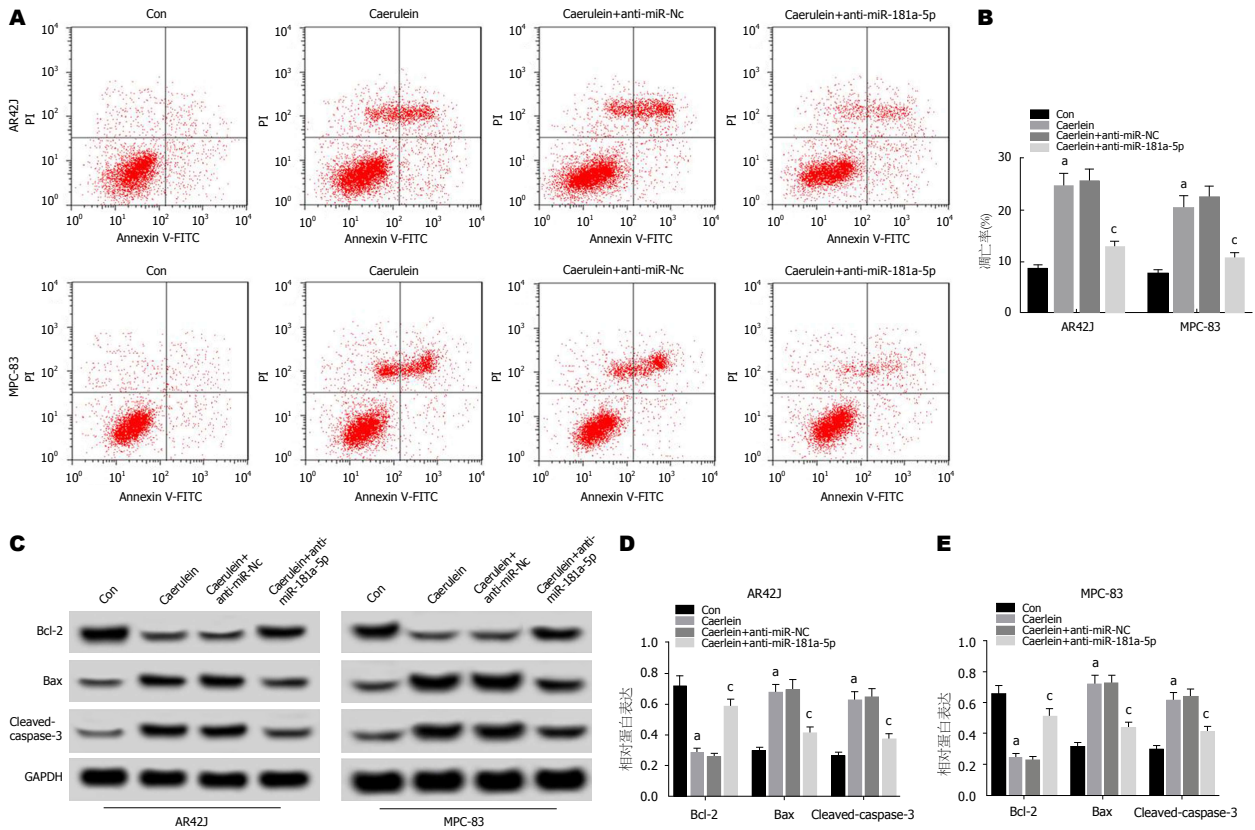


图 3 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞凋亡的影响. A、B: 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞凋亡的影响; C: 免疫印迹图; D: 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的AR42J细胞凋亡相关蛋白表达的影响; E: 抑制miR-181a-5p表达对雨蛙肽诱导的MPC-83细胞凋亡相关蛋白表达的影响.  $P<0.05$ , vs Con组;  $P<0.05$ , vs Caerulein+anti-miR-NC组.

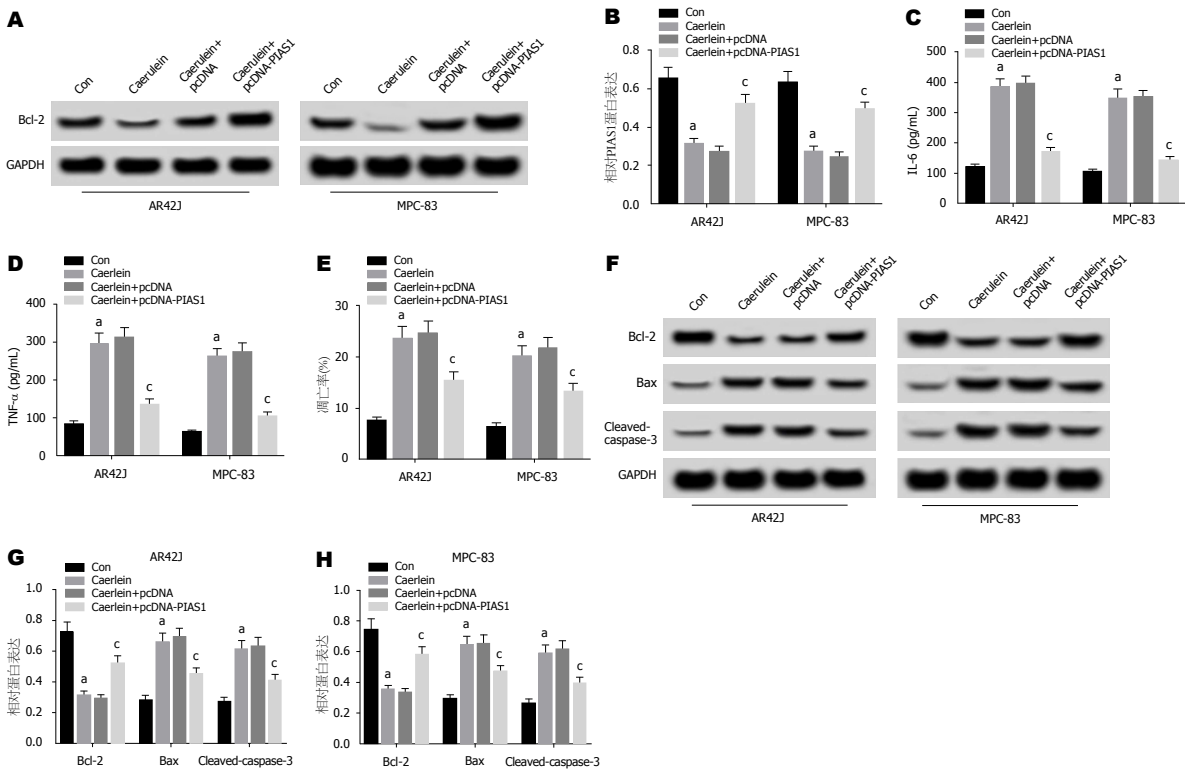


图 4 PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞的影响. A、B: PIAS1蛋白表达; C: PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞IL-6表达的影响; D: PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞TNF- $\alpha$ 表达的影响; E: PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞凋亡的影响; F: 免疫印迹图; G: PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的AR42J细胞凋亡相关蛋白表达的影响; H: PIAS1过表达对雨蛙肽诱导的MPC-83细胞凋亡相关蛋白表达的影响.  $P<0.05$ , vs Con组;  $P<0.05$ , vs Caerulein+pcDNA组.



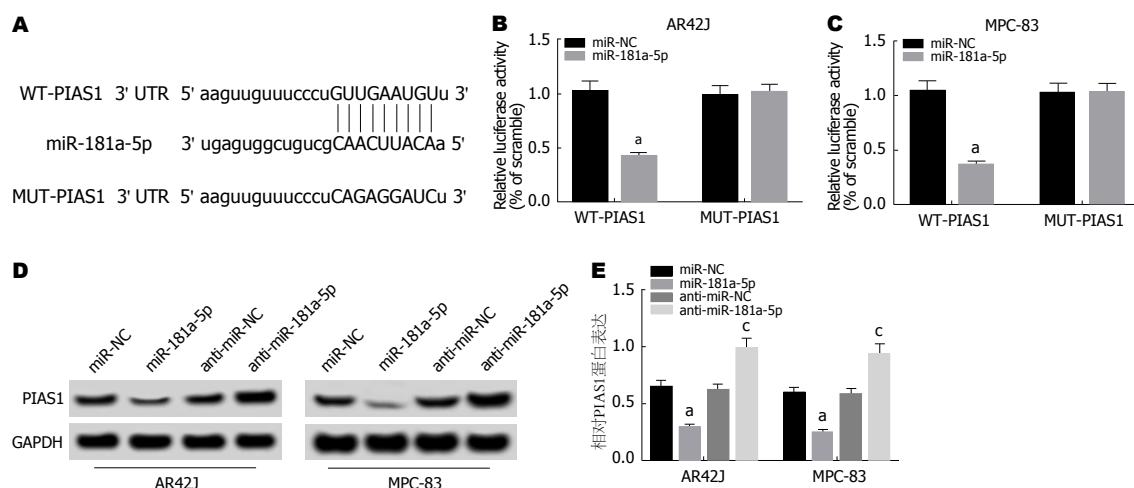


图 5 miR-181a-5p靶向调控PIAS1的表达。A: PIAS1的3'UTR中含有与miR-181a-5p互补的核苷酸序列; B、C:双荧光素酶报告实验; D、E: miR-181a-5p调控PIAS1蛋白的表达。\* $P<0.05$ , vs miR-NC组; \* $P<0.05$ , vs anti-miR-NC组。

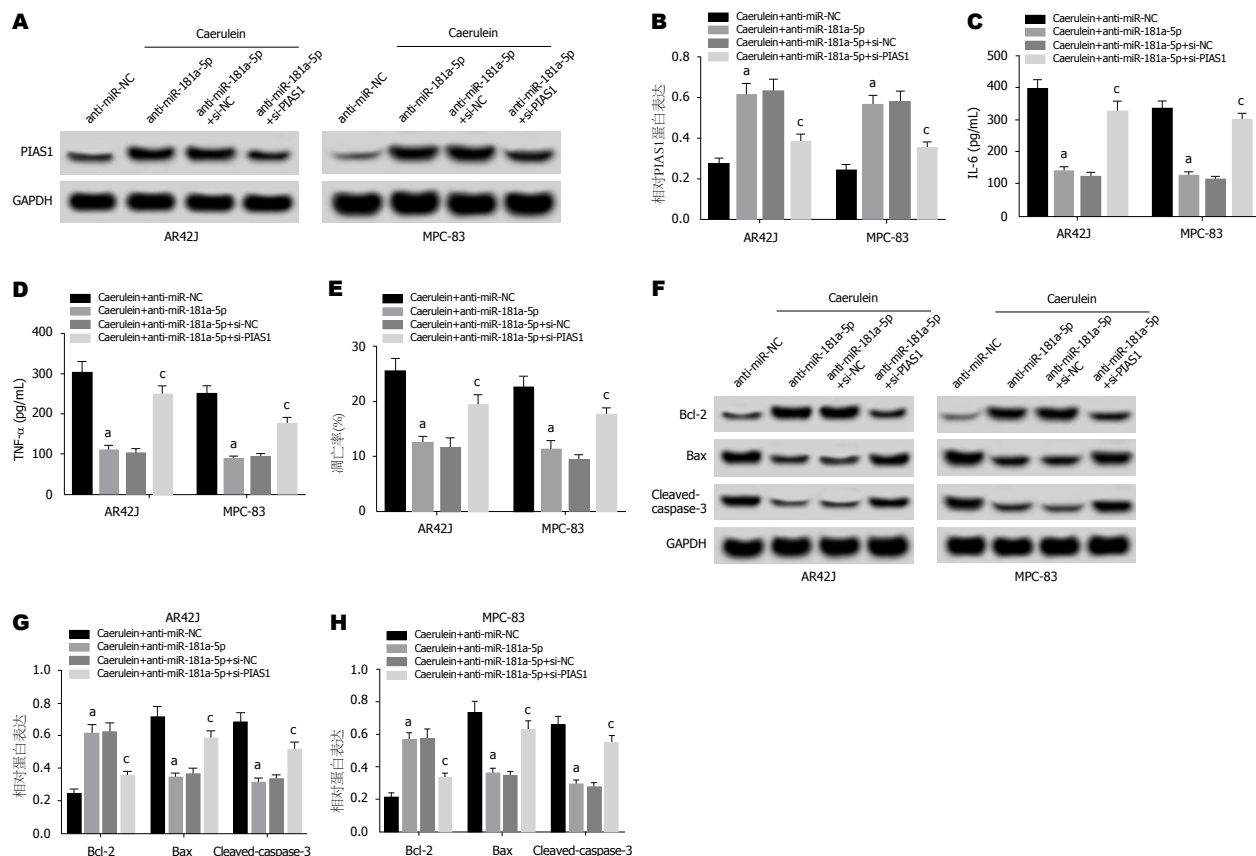


图 6 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达的雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞损伤的影响。A、B: PIAS1蛋白表达; C: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达的雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞IL-6表达的影响; D: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达的雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞TNF- $\alpha$ 表达的影响; E: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达的雨蛙肽诱导的AR42J和MPC-83细胞凋亡的影响; F: 免疫印迹图; G: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达的雨蛙肽诱导的AR42J细胞凋亡相关蛋白表达的影响; H: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p表达的雨蛙肽诱导的MPC-83细胞凋亡相关蛋白表达的影响。\* $P<0.05$ , vs Caerulein+anti-miR-NC组; \* $P<0.05$ , vs Caerulein+anti-miR-181a-5p+si-NC组。

AR42J和MPC-83细胞凋亡.

### 3 讨论

AP是消化道常见的危重疾病, 其并发症多, 且近年来发病率不断升高, 对患者的生命安全造成了严重的威胁<sup>[8]</sup>. miRNAs在AP的发生发展中扮演重要角色<sup>[9]</sup>. 异常表达的miR-181a通过调控功能蛋白的表达及信号通路影响多种肿瘤的发生发展<sup>[10]</sup>. miR-181a在老年急性心肌梗死患者血清中高表达, 可作为诊断老年急性心肌梗死潜在的生物标志物<sup>[11]</sup>; 同样miR-181a在类风湿性关节炎中也上调表达<sup>[12]</sup>. 此外, 研究发现抑制miR-181a表达可减轻鱼藤酮诱导的SH-SY5Y细胞损伤, 对神经元细胞有保护作用<sup>[13]</sup>. miR-181a-5p在乳腺癌细胞中低表达, 过表达miR-181a-5p可通过靶向Kras抑制乳腺癌细胞增殖并诱导细胞凋亡<sup>[14]</sup>; 过表达miR-181a还可以增强胰腺癌细胞侵袭能力<sup>[15]</sup>. 而本研究结果显示, 在雨蛙肽处理AR42J和MPC-83细胞中miR-181a-5p高表达, 抑制miR-181a-5p表达可减少炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)的分泌, 抑制细胞凋亡. 即抑制miR-181a-5p表达能保护雨蛙肽诱导的胰腺腺泡细胞凋亡.

PIAS1是激活的STAT转录活性蛋白抑制家族成员之一, PIAS1高表达正向激活了Shh信号通路, 使胰腺癌细胞获得对吉西他滨的耐药能力, 降低其表达可以减弱细胞耐药能力<sup>[16]</sup>. 而过表达PIAS1可以通过抑制NF- $\kappa$ B活性起到抗细胞凋亡和抗炎作用, 显著改善心肌缺血再灌注损伤<sup>[17]</sup>. 且有研究发现PIAS1在AP中低表达, 沉默PIAS1会增强雨蛙肽活化的caspase-3凋亡途径诱导的胰腺腺泡细胞凋亡<sup>[18]</sup>; PIAS1还参与了雨蛙肽素诱导的胰腺腺泡细胞的炎症反应<sup>[19]</sup>. 本实验结果也表明, 在雨蛙肽处理的AR42J和MPC-83细胞中PIAS1低表达, PIAS1过表达可以抑制炎症因子TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达, 抑制细胞凋亡. 且miR-181a-5p靶向负调控PIAS1; 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p对雨蛙肽处理AR42J和MPC-83细胞的凋亡抑制作用.

Bcl-2是凋亡抑制基因, Bax是凋亡促进基因, 二者结合可抑制Bcl-2的功能, Bax/Bcl-2比值升高则促进细胞凋亡; 此外, caspase-3是细胞凋亡信号途径的关键酶, cleaved-caspase-3蛋白的表达水平可以表示细胞的凋亡程度<sup>[20]</sup>. 本研究发现在雨蛙肽诱导的胰腺腺泡细胞凋亡中cleaved-caspase-3、Bax高表达, Bcl-2低表达. 抑制miR-181a-5p表达和PIAS1过表达均抑制cleaved-caspase-3和Bax表达, 促进Bcl-2表达, 且miR-181a-5p靶向负调控PIAS1, 说明miR-181a-5p可能通过PIAS1影响Bax/Bcl-2/cleaved-caspase-3的表达从而抑制细胞凋亡.

综上所述, 抑制miR-181a-5p表达可以抑制雨蛙肽诱导的胰腺炎腺泡细胞凋亡, 即可以保护雨蛙肽诱导的AP细胞损伤, 其机制可能与靶向调控PIAS1进而影响Bax/Bcl-2/cleaved-caspase-3有关. 为AP的诊断和治疗提供新靶点和新思路.

### 文章亮点

#### 实验背景

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是外科常见急腹症, 病情凶险, 病死率高. 除了胰酶的自身消化损伤作用外, 多种炎症介质也参与了胰腺炎的发展进程, 使胰腺脏器损伤不断加重. 由于胰腺炎病程中的免疫异常极易导致多器官功能不全综合症的发生. 通过调节致炎/抗炎细胞因子, 改善机体免疫状态, 有利于炎症的控制和患者预后的提升. 此外, 针对特异性靶点进行联合治疗可以提高治疗效率, 而更为精准高效的治疗需要弄清其发生发展机制. miRNA是一种小非编码RNA分子, 研究发现其此外可作为AP的生物标志物, 还可以调控AP的细胞死亡, 可作为AP的治疗靶点. 而本文主要是从miRNA方面研究其对AP凋亡的影响, 对AP中相关炎症因子的影响及其可能的作用机制.

#### 实验动机

本研究的主题是miR-181a-5p对AP细胞损伤的影响, 拟解决的关键问题是了解miR-181a-5p是如何影响AP细胞的凋亡, 以及其和PIAS1之间的关系及它们对AP的影响, 在AP中的发生发展机制, 为以后临床上的诊断治疗等提供新思路和新靶点.

#### 实验目标

研究的主要目标即miR-181a-5p, PIAS1, AP之间的关系, 研究得到在AP中miR-181a-5p高表达, PIAS1低表达, 抑制miR-181a-5p表达和过表达PIAS1均可抑制雨蛙素处理AR42J和MPC-83细胞凋亡, 抑制炎症因子TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达, 且miR-181a-5p靶向负调控PIAS1. 可以从调控AP凋亡的途径及相关炎症因子水平等来调控其进展, 为其治疗提供新思路.

#### 实验方法

本研究首先是用雨蛙素处理大鼠胰腺腺泡来构建AP的模型. 转染miR-181a-5p抑制表达和PIAS1过表达的载体质粒, MTT检测细胞增殖活性, 流式细胞术检测细胞凋亡, Western blot检测PIAS1蛋白表达, qRT-PCR检测miR-181a-5p和PIAS1 mRNA表达水平, 酶联免疫吸附试验法检测雨蛙肽处理AR42J和MPC-83细胞的TNF- $\alpha$ 和IL-6的

表达, 荧光素酶报告基因检测实验检测miR-181a-5p与PIAS1之间的靶向关系。

## 实验结果

本实验的结果是在雨蛙素构建的AP模型细胞中, miR-181a-5p的表达水平升高, PIAS1的表达水平降低。抑制miR-181a-5p表达、过表达PIAS1腺泡细胞凋亡率降低, TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达水平降低。miR-181a-5p靶向负调控PIAS1, 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-181a-5p对雨蛙素处理AR42J和MPC-83细胞的凋亡抑制作用; 达到了本实验的目的, 对该领域AP的发病进展机制又增加了相关的理论依据, 以后可以进一步在临床方面进行研究应用。

## 实验结论

miR-181a-5p靶向负调控PIAS1; 抑制miR-181a-5p表达、过表达PIAS1抑制腺泡细胞凋亡和TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达。可以通过调控PIAS1影响AP相关炎症因子的表达进而影响AP的进展。从miRNA和其靶基因角度去研究其对AP的影响拓宽了研究的范围, 不同miRNA影响AP的进展的机制不同, 增加了其治疗的靶点。不同的miRNA在AP中的表达及其作用机制不同, 可通过研究不同的miRNA及其靶基因和一些炎症分子对AP的影响可拓展研究思路。miR-181a-5p通过靶向负调控PIAS1影响腺泡细胞凋亡和TNF- $\alpha$ 和IL-6的表达。通过上调或下调miRNA可以影响AP的细胞的凋亡及其严重程度。对未来临床诊断和治疗提供了新的标志物和新靶点。

## 展望前景

仅对小鼠模型在理论层面上进行研究, 需要进一步在临床上进行相关研究和应用。进一步深入研究miR-181a-5p和PIAS1对治疗AP小鼠的影响及其可能会产生的其他现象及是否会有副作用; 以及进一步向临床方向的研究靠拢。寻找更接近于真实AP的小鼠或者与人AP更为相似的受体, 在其基础上进行实验治疗, 对其反应状况进行观察研究。

## 4 参考文献

- 1 王鹏旭, 尚东. 急性胰腺炎的国内外主要指南分析. 肝胆胰外科杂志 2017; 29: 1-5 [DOI: 10.11952/j.issn.1007-1954.2017.01.001]

- 2 罗斌阳, 马一茜, 陈薇, 杨锦林. miRNA对急性胰腺炎的诊断及预后判断价值. 中华胰腺病杂志 2017; 17: 347-349 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2017.05.017]
- 3 汪丽, 王剑雄, 胥方元. miR-181a在脑缺血神经损伤与神经康复中的作用. 中国老年学杂志 2017; 37: 831-833 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2017.04.020]
- 4 徐楠. miR-181a的表达载体构建及其在胰腺癌细胞中抑制作用的初步探讨. 北京: 中国协和医科大学 2008
- 5 吴春丽, 张顺, 蔡挺. PIAS1与肿瘤. 中国生物化学与分子生物学报 2017; 33: 423-428 [DOI: CNKI:SUN:SWHZ.0.2017-05-001]
- 6 陈平, 王唯一, 周郁芬, 谢玲, 章永平, 吴云林. PIAS1调控炎症微环境诱导的胃癌上皮-间质转化的实验研究. 胃肠病学 2017; 22: 15-19 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2017.01.004]
- 7 陈平, 孙蕴伟, 章永平, 袁耀宗. PIAS1对重症急性胰腺炎继发性肺损伤血气屏障影响的研究. 胃肠病学 2013; 18: 330-335 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2013.06.003]
- 8 王助衡, 张静, 周冠华. 急性胰腺炎的治疗进展. 医学综述 2017; 23: 91-94 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2017.01.021]
- 9 贾重阳, 张辰龙, 张小强. microRNAs在急性胰腺炎中的研究新进展. 中华卫生应急电子杂志 2017; 3: 180-182 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-9133.2017.03.015]
- 10 雷振伟, 张瑜, 张旭. miR-181a在人类恶性肿瘤中作用机制的研究进展. 解放军医学院学报 2016; 37: 1204-1207 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-5227.2016.11.023]
- 11 丁学智, 韩战营, 杨巧丽. miR-181a在老年急性心肌梗死血清中的表达及其临床意义. 中国循证心血管医学杂志 2018; 10: 104-106 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-4055.2018.01.28]
- 12 郑锡铭, 姜峻. RA患者外周血及关节液中miR-132、miR-140-5p、miR-150及miR-181a表达水平的临床意义. 热带医学杂志 2018; 18: 362-366 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-3619.2018.03.020]
- 13 周静, 温昌明, 张保朝. 抑制miR-181a对鱼藤酮诱导的SH-SY5Y多巴胺能细胞损伤的保护作用. 神经解剖学杂志 2016; 32: 262-268 [DOI: 10.16557/j.cnki.1000-7547.2016.02.021]
- 14 何建苗, 赵华洲, 王婷, 邱啸臣, 翁剑峰, 张心慧, 曹志宇. miR-181a-5p靶向Kras对乳腺癌细胞MDA-MB-231增殖及凋亡的调控作用. 解放军医学杂志 2018; 43: 21-25 [DOI: 10.11855/j.issn.0577-7402.2019.09.03]
- 15 朱玥璐. miR-181a表达载体的验证及其对胰腺癌细胞生物学行为的影响. 北京: 北京协和医学院 2009
- 16 刘怀泽, 俞婷婷, 程雁. PIAS1通过调控Sonic hedgehog信号通路使胰腺癌细胞SW1990获得对吉西他滨的耐药性. 南京医科大学学报(自然科学版) 2016; 36: 769-773 [DOI: 10.7655/NYDXBNS20160701]
- 17 Xie B, Liu X, Yang J, Cheng J, Gu J, Xue S. PIAS1 protects against myocardial ischemia-reperfusion injury by stimulating PPAR $\gamma$  SUMOylation. BMC Cell Biol 2018; 19: 24 [PMID: 30419807 DOI: 10.1186/s12860-018-0176-x]
- 18 陈平, 黄李雅, 章永平, 乔敏敏, 袁耀宗. PIAS1基因沉默对雨蛙肽诱导胰腺腺泡细胞凋亡的影响. 胃肠病学 2010; 15: 395-399 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2010.07.003]
- 19 陈平, 董文杰, 孙蕴伟, 姚玮艳, 章永平, 乔敏敏, 袁耀宗. PIAS1基因沉默对胰腺腺泡细胞炎症反应的影响. 中华胰腺病杂志 2010; 10: 404-407 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2010.06.008]
- 20 张丽梅, 雷泉, 王莉, 方俊, 李海, 马龙. 桑椹花青素-3-葡萄糖苷调控Bcl-2/Bax/Cleaved caspase-3信号通路诱导乳腺癌MDA-MB-231细胞凋亡. 中药药理与临床 2018; 34: 24-28

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红





# 基于临床大数据对反流性食管炎相关影响因素的分析

陈思旭, 尚占民, 郝建宇, 赵前前, 孙 晶, 魏玉娜

陈思旭, 尚占民, 郝建宇, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科 北京市 100020

赵前前, 首都医科大学附属北京朝阳医院信息中心 北京市 100020

孙晶, 魏玉娜, 北京嘉和海森健康科技有限公司 北京市 100085

陈思旭, 2018级首都医科大学硕士, 主要从事消化系统疾病的临床研究.

**作者贡献分布:** 论文撰写由陈思旭完成; 实验设计由上述作者共同完成; 资料收集及数据处理由赵前前、孙晶、魏玉娜完成; 论文校对及审阅由尚占民、郝建宇完成.

**通讯作者:** 尚占民, 教授, 主任医师, 100020, 北京市朝阳区工人体育场南路8号, 首都医科大学附属北京朝阳医院消化科. [shangmed@163.com](mailto:shangmed@163.com)

收稿日期: 2019-05-28

修回日期: 2019-06-23

接受日期: 2019-07-26

在线出版日期: 2019-08-08

## Analysis of risk factors for reflux esophagitis based on clinical big data platform

Si-Xu Chen, Zhan-Min Shang, Jian-Yu Hao, Qian-Qian Zhao, Xiao Sun, Yu-Na Wei

Si-Xu Chen, Zhan-Min Shang, Jian-Yu Hao, Department of Gastroenterology, Beijing Chaoyang Hospital of Capital Medical University, Beijing 100020, China

Qian-Qian Zhao, Department of Information Center, Beijing Chaoyang Hospital of Capital Medical University, Beijing 100020, China

Xiao-Sun, Yu-Na Wei, Goodwill Hessian Health Technology Co., Ltd., Beijing 100085, China

**Corresponding author:** Zhan-Min Shang, Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology, Beijing Chaoyang Hospital of Capital Medical University, 8 Workers' Stadium South Road, Chaoyang District, Beijing 100020, China. [shangmed@163.com](mailto:shangmed@163.com)

Received: 2019-05-28

Revised: 2019-06-23

Accepted: 2019-07-26

Published online: 2019-08-08

## Abstract BACKGROUND

In recent years, with the changes in people's lives and dietary habits, the incidence of reflux esophagitis (RE) has increased year by year, seriously affecting people's quality of life. The risk factors related to the incidence of RE and the relationship of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and eradication with RE are now hot research topics.

## AIM

To explore the risk factors for RE and the relationship between *H. pylori* infection and RE through a big data platform.

## METHODS

A retrospective analysis was conducted to screen and group inpatients who underwent digestive endoscopy at Chaoyang Hospital from March 2010 to December 2018 in the study. The patients were divided into either an RE group or a control group. The RE group consisted of patients diagnosed with RE by digestive endoscopy with clear Los Angeles (LA) grading results and *H. pylori* results, and they were further divided into two subgroups: Mild RE (LA-A) and severe RE (LA-B, LA-C, and LA-D). The control group was confirmed as having no RE (endoscopic diagnosis of chronic superficial gastritis) by digestive endoscopy with *H. pylori* test results, and patients with gastroesophageal reflux symptoms were excluded. Both groups were analyzed through a big data platform, including gender, age, body mass index (BMI), blood lipids, blood glucose, smoking, drinking, hypertension, fatty liver, diabetes, hyperlipidemia, hiatal hernia, *H. pylori* infection and so on.

## RESULTS

Univariate logistic regression analysis demonstrated that male gender, high BMI, smoking, and esophageal hiatal hernia were risk factors for RE. High-density lipoprotein cholesterol was found to be a protective factor. In addition, previous hypertension and hyperlipidemia are risk factors for severe RE, and elevated triglycerides are a risk factor for mild RE. Multivariate logistic regression analysis showed that male gender, high BMI, and esophageal hiatus hernia were independent risk factors for RE regardless of the severity of RE, and *H. pylori* infection was found to an independent protective factor for RE.

## CONCLUSION

The occurrence and development of RE are closely related to some lifestyles, basic diseases, and *H. pylori* infection.

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

Key Words: Reflux esophagitis; Los Angeles classification; Risk factors; *Helicobacter pylori*

Chen SX, Shang ZM, Hao JY, Zhao QQ, Sun X, Wei YN. Analysis of risk factors for reflux esophagitis based on clinical big data platform. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 936-942  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/936.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.936>

## 摘要

### 背景

近年来随着人们生活及饮食习惯的改变, 反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)的发病率逐年上升, 影响了人们的生活质量。同时RE发病的相关危险因素及幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的感染与根除同RE的关系是当下的热点问题。

### 目的

通过临床大数据分析探究RE发病的相关危险因素及与*H. pylori*感染的关系。

### 方法

采用回顾性分析, 对2010-03/2018-12在朝阳医院行消化内镜检查的住院患者进行筛选及分组研究。病例组为消化内镜确诊为RE, 并且有明确洛杉矶(Los Angeles, LA)分级结果及*H. pylori*检查结果的住院患者, 并进一步将病例组分为轻度RE组(LA-A)和重度RE组(LA-B、LA-C和LA-D); 对照组是通过消化内镜检查确认为非RE、有*H. pylori*检查结果, 并且排除了胃食管反流症状的患者。通过大数据平台, 分析性别、年龄、体质指数(body mass index, BMI)、血脂、

血糖、吸烟饮酒史、基础病、食管裂孔疝和*H. pylori*感染等多种因素同RE的关系。

## 结果

单因素Logistic回归分析发现对于RE, 男性、BMI、吸烟史、食管裂孔疝是其危险因素, 高密度脂蛋白胆固醇为其保护因素, 而高血压和高脂血症病史是重度RE的危险因素, 甘油三酯升高是轻度RE的危险因素。多因素Logistic回归校正后显示, 无论病情程度如何, 男性、BMI和食管裂孔疝均是RE的独立危险因素, *H. pylori*感染是RE的保护因素。

## 结论

RE的发病和发展与生活习惯、基础疾病和*H. pylori*感染等密切相关。

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

关键词: 反流性食管炎; 洛杉矶分级; 危险因素; 幽门螺杆菌

**核心提要:** 本文通过临床大数据平台对首都医科大学附属北京朝阳医院行消化内镜检查的5541例住院患者进行规范化的数据收集及回顾性分析, 较为严密地构建了反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)的危险因素模型, 验证了RE的发病和发展与生活习惯、基础疾病和幽门螺杆菌感染等密切相关。

陈思旭, 尚占民, 郝建宇, 赵前前, 孙晶, 魏玉娜. 基于临床大数据对反流性食管炎相关影响因素的分析. *世界华人消化杂志* 2019; 27(15): 936-942

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/936.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.936>

## 0 引言

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)的类型之一。它是指胃及十二指肠内容物回流至食管, 导致食管黏膜酸暴露, 导致炎症性病变的发生, 其临床表现包括反酸、胃灼热、胸骨后烧灼痛、咽部不适以及慢性咳嗽等<sup>[1]</sup>。近年来, 随着人们生活及饮食习惯的改变, RE的发病率逐年上升, 影响了人们的生活质量, 增加了经济负担。国内外多项研究已表明, 一些不当的生活方式、饮食习惯、精神情志的变化及基础疾病的存在与RE的发生发展密切相关, 而幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的感染与根除和RE发病与转归的关系是目前的热点问题, 且仍存在争议。本研究旨在通过大数据平台进一步探讨RE的相关危险因素及与*H. pylori*感染的相关性, 指导临床治疗及预防。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 对2010-03/2018-12首都医科大学附属北京朝阳医院行消化内镜检查的5541例住院患者进行筛选及分组研究. 纳入标准: (1)在住院期间行消化内镜检查; (2)行C-13呼气试验或胃镜下组织活检明确得出*H. pylori*检查结果. 排除标准: (1)其他原因引起的食管炎如嗜酸粒细胞性食管炎、损伤性食管炎、克罗恩病; (2)上消化道恶性肿瘤: 胃癌、食管癌、贲门癌、肝癌等, 及胃全部或大部分切除史; (3)重要器官功能衰竭: 肝衰竭、肾衰竭、呼吸衰竭、心功能Killip-IV级、感染中毒性休克; (4)上消化道溃疡合并出血; (5)食管静脉曲张、胃底静脉曲张、幽门梗阻; (6)孕妇. 根据纳入及排除标准进行筛选, 最终共738例患者入组, 其中女性282例, 男性456例. 病例组为经消化内镜检查确诊为RE, 并且有明确洛杉矶(Los Angeles, LA)分级结果及*H. pylori*检查结果的475例住院患者(占64.4%), 其中男性321例, 女性154例. 根据LA分级将进一步将病例组进行分层, 轻度RE组纳入LA-A级患者358例, 年龄 $56.53 \pm 12.31$ 岁; 重度RE组纳入117例, 其中LA-B级102例、LA-C级10例、LA-D级5例, 年龄 $58.66 \pm 12.94$ 岁. 对照组为经消化内镜确认为非RE(内镜确诊为慢性浅表性胃炎), 有*H. pylori*检查结果并且排除包含反酸、烧心等胃食管反流症状的263例住院患者(占35.6%), 其中男性135例, 女性128例, 年龄 $56.13 \pm 13.02$ 岁.

### 1.2 方法

**1.2.1 观察指标:** 通过数据平台统一检索并收集纳入研究患者的临床化验指标、既往病史、胃镜及C-13呼气试验等检查结果. 其中包含: (1)每组患者的性别、年龄、吸烟史、饮酒史、BMI; (2)检验结果: 空腹血糖、总胆固醇、甘油三脂、低密度脂蛋白胆固醇、高密度脂蛋白胆固醇等相关数据; (3)检查结果: 胃镜检查、活体组织病理检查、C-13呼气试验、上消化道造影等检查, 并综合判断患者*H. pylori*及食管裂孔疝情况; (4)既往病史: 高血压、糖尿病、高脂血症、脂肪肝、维生素D缺乏、心律失常、精神因素(焦虑、抑郁)、风湿系统疾病、呼吸系统疾病等.

**统计学处理** 所有数据均使用R 3.3统计软件处理, 计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 计数资料采用 $n(\%)$ 表示. 采用单样本KS检验计量资料分布类型, 根据检验结果选择方差分析(ANOVA或Kruskal-Wallis检验). 采用 $\chi^2$ 检验分析计数资料, 其中 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义. 多因素分析采用多元Logistic回归分析, 经验性选择单因素分析 $P < 0.2$ 的相关因素<sup>[2]</sup>到多因素分析模型中并且采用向后法筛选变量直至模型最优化(AIC最小).

## 2 结果

**2.1 RE相关的单因素分析** 根据不同数据类型选择方差分析或 $\chi^2$ 检验对两组患者相关研究变量进行基线分析及单因素Logistic回归分析, 结果显示对于轻度及重度RE, 男性、BMI、吸烟史、食管裂孔疝是其危险因素, 高密度脂蛋白胆固醇为其保护因素. 另外既往高血压和高脂血症是重度RE的危险因素, 甘油三脂升高是轻度RE的危险因素( $P < 0.05$ , 表1和表2).

**2.2 RE相关的多因素分析** 选取单因素Logistic回归及基线分析(表3和表4)中 $P < 0.2$ 的相关因素(年龄、性别、BMI、吸烟史、血糖、甘油三脂、高密度脂蛋白胆固醇、*H. pylori*感染、食管裂孔疝、既往高血压和既往高脂血症)行多变量Logistic回归进行校正, 回归分析结果发现无论是轻度或是重度RE组, 男性、BMI和食管裂孔疝均是RE的独立危险因素( $P < 0.05$ ), *H. pylori*感染是RE的保护因素( $P < 0.05$ )(表5).

## 3 讨论

GERD是一种常见的胃肠疾病, 以反酸、胃灼热及食物反流等症状为其特征性的临床表现, 并伴有咽部、喉部及气管等食管外的组织损伤所引起的非典型性症状. 据统计GERD在北美和欧洲国家的患病率分别高达27.8%和25.9%, 在远东及其他亚洲地区的患病率虽较西方国家低但也呈现逐年上升的趋势<sup>[3,4]</sup>. RE作为GERD的一种, 是由胃、十二指肠内容物反流入食道引起的食管炎症性病变. 前人的研究显示不良的生活及饮食习惯、精神状态、*H. pylori*感染、遗传因素等都是导致RE的发生及病情进展的因素<sup>[5]</sup>.

近些年, 国内外多项研究均有对RE的危险因素的研究及报道. Ford等<sup>[6]</sup>人的Meta分析显示, RE患病人群中男性多于女性(95%CI, 1.50-1.76), 且患病男性的平均年龄低于女性. Sun等<sup>[7]</sup>人的文章表明, 男性比女性更易患RE、Barrett食管及食管腺癌, 但在50岁以后, 女性的发病率有所增加, 这提示了雌激素在食管抗炎中有重要作用. 此外, 在构建的慢性RE的大鼠模型中, 外源性一氧化氮对食管的损伤在男性中更显著, 另外有研究<sup>[8]</sup>还发现17 $\beta$ -雌二醇可抑制雄性大鼠恶化的食管损伤, 从另一方面支持雌激素在防御食管组织损伤中的重要作用. 本研究结果同样显示男性患RE的可能性显著高于女性, 进一步验证了性别与RE之间的关系. 肥胖、高脂血症也同RE有紧密的联系. 日本学者针对GERD危险因素的一项研究表明, 内脏脂肪面积与RE的发病之前存在独立的相关性<sup>[9]</sup>. Singh等<sup>[10]</sup>人的大样本随机对照实验表明当BMI下降、腰围减少后, 反流症状的发生率可明显



表 1 重度反流性食管炎影响因素的单因素Logistic回归分析

变量	B	OR	95%CI		P值
性别(男)	1.476	4.334	2.550	7.367	0.000
BMI	0.160	1.173	1.097	1.254	0.000
吸烟史	0.927	2.528	1.605	3.981	0.000
高密度脂蛋白胆固醇	-0.716	0.489	0.248	0.964	0.039
食管裂孔疝	4.058	57.843	7.609	439.735	0.000
高血压	0.608	1.836	1.167	2.889	0.009
高脂血症	0.640	1.897	1.120	3.212	0.017

BMI: 体质指数.

表 2 轻度反流性食管炎影响因素的单因素Logistic回归分析

变量	B	OR	95%CI		P值
性别(男)	0.473	1.604	1.161	2.216	0.004
BMI	0.083	1.086	1.034	1.140	0.001
吸烟史	0.524	1.688	1.213	2.348	0.002
甘油三酯	0.227	1.254	1.075	1.463	0.004
高密度脂蛋白胆固醇	-0.578	0.561	0.349	0.902	0.017
食管裂孔疝	2.852	17.319	2.299	130.468	0.006

BMI: 体质指数.

降低, 且体重减轻的程度同反流症状评分的变化呈正相关. 另外, Ness-Jensen等<sup>[11]</sup>人通过汇总多项已发表研究结果分析得出, 体重减轻、BMI下降可减少食管酸暴露时间, 并减少反流症状的发生. 此外, 在吸烟与GERD的相关性研究中显示在肥胖群体中, GERD发病率同BMI的关系更加密切, 而吸烟起着次要作用, 但在非肥胖群体中, 吸烟是GERD发生发展的重要因素<sup>[12]</sup>. 上述研究表明, 相关危险因素对不同人群食管反流的影响存在差异. 本研究的结果验证了吸烟、肥胖、高脂血症和RE之间的关系, 下一步可就不同人群进行分层探究, 探索不同人群中危险因素间的相互作用.

食管上起自咽, 下经右膈脚的食管裂孔续于胃, 食管胃底交界处的组织结构具有抗反流屏障的功能. 研究表明当膈食管韧带功能减弱甚至断裂时, 食管胃底交界向食管近端移位, 腹腔内脏器, 特别是当胃通过膈食管裂孔进入胸腔时, 会增加反流发作的次数并导致更长时间的食管酸暴露, 从而导致RE的发生, 甚至加重其症状<sup>[3,13]</sup>. 本研究中食管裂孔疝一项的OR值和95%CI相对于其他危险因素较大, 这可能与入组患者中行上消化道造影的比例较少有关, 但此因素的P值<0.05, 结果仍是有统计学意义, 这一点与上述前人的研究结果相一致.

*H. pylori*感染是一种常见的慢性持续性感染, 全球

人群感染率高. 国内外多项研究表明*H. pylori*感染和根除与RE有一定的关系. 早在上个世纪, 一项前瞻性随访研究就发现根除*H. pylori*后, 相当一部分患者会发生RE, 并且与患者性别及根除后体重增加有关<sup>[14]</sup>. 近些年, 一项日本的研究结果通过对比病例组及对照组酸分泌的差异得出*H. pylori*感染可能是预防RE发生的一个保护性因素结论<sup>[15]</sup>. 国内的一项针对*H. pylori*对GERD影响的Meta分析中也显示根除*H. pylori*可能会导致GERD的发展, 这一情况在亚洲人群中更明显<sup>[16]</sup>. 同时在全中国*H. pylori*感染处理共识报告<sup>[17]</sup>中也提到, 根除*H. pylori*可以影响胃酸的分泌, 如增加胃黏膜萎缩患者的胃酸分泌, 从而使GERD发生概率上升. 另外, 有文章表明, 在亚洲国家, 根除*H. pylori* CagA阳性菌株与新发GERD风险增高密切相关, 但在西方国家的相关研究少有支持*H. pylori* CagA保护性作用的结果<sup>[18]</sup>. 上述研究结果提示了我们, *H. pylori*对GERD或RE的影响与地域、人种、感染菌株类型等都存在一定相关性. 除此之外, 也有已发表的文章表明根除*H. pylori*对于GERD的病情无意义<sup>[19]</sup>. 可以看出目前关于*H. pylori*同RE的关系及其机制仍存在争议. 对此, 本研究通过对病例组及对照组是否合并有*H. pylori*感染进行分层分析, 结果显示出*H. pylori*感染是RE的保护因素, 在轻度RE中有统计学意义, 虽然

表 3 反流性食管炎影响因素的基线资料表(计数资料)

变量	组别	N	均值	标准差	均值的标准误	P值
年龄	轻度RE (358)	358	56.53	12.31	0.65	0.18
	重度RE (117)	117	58.66	12.94	1.20	
	对照组 (263)	263	56.13	13.02	0.80	
BMI	轻度RE (358)	318	25.51	3.69	0.21	0.00
	重度RE (117)	91	26.65	3.54	0.37	
	对照组 (263)	210	24.40	3.89	0.27	
血糖	轻度RE (358)	328	5.49	1.69	0.09	0.26
	重度RE (117)	108	5.88	2.46	0.24	
	对照组 (263)	241	5.48	2.87	0.19	
总胆固醇	轻度RE (358)	328	4.65	1.05	0.06	0.33
	重度RE (117)	108	4.49	1.04	0.10	
	对照组 (263)	244	4.60	0.95	0.06	
甘油三酯	轻度RE (358)	328	1.87	1.48	0.08	0.01
	重度RE (117)	108	1.76	1.19	0.11	
	对照组 (263)	244	1.55	1.03	0.07	
低密度脂蛋白胆固醇	轻度RE (358)	328	2.70	0.85	0.05	0.74
	重度RE (117)	108	2.63	0.90	0.09	
	对照组 (263)	244	2.68	0.83	0.05	
高密度脂蛋白胆固醇	轻度RE (358)	328	1.15	0.34	0.02	0.02
	重度RE (117)	108	1.14	0.32	0.03	
	对照组 (263)	244	1.23	0.36	0.02	

RE: 反流性食管炎.

表 4 反流性食管炎影响因素的基线资料表(计量资料)

变量	分类	组别			P值
		轻度RE (n = 358)	重度RE (n = 117)	对照组 (n = 263)	
性别 (738)	男 (456)	225 (62.85%)	96 (82.05%)	135 (51.33%)	0.000
	女 (282)	133 (37.15%)	21 (17.95%)	128 (48.67%)	
吸烟史 (710)	无 (378)	170 (50.15%)	45 (40.18%)	163 (62.93%)	0.000
	有 (332)	169 (49.85%)	67 (59.82%)	96 (37.07%)	
饮酒史 (709)	无 (10)	6 (1.77%)	1 (0.89%)	3 (1.16%)	0.719
	有 (699)	333 (98.23%)	111 (99.11%)	255 (98.84%)	
幽门螺杆菌 (738)	阴性 (421)	216 (60.34%)	67 (57.26%)	138 (52.47%)	0.147
	阳性 (317)	142 (39.66%)	50 (42.74%)	125 (47.53%)	
食管裂孔疝 (738)	无 (694)	336 (93.85%)	96 (82.05%)	262 (99.62%)	0.000
	有 (44)	22 (6.15%)	21 (17.95%)	1 (0.38%)	
既往高血压史 (738)	无 (497)	243 (67.88%)	67 (57.26%)	187 (71.10%)	0.028
	有 (241)	115 (32.12%)	50 (42.74%)	76 (28.90%)	
既往糖尿病史 (738)	无 (631)	306 (85.47%)	100 (85.47%)	225 (85.55%)	1.000
	有 (107)	52 (14.53%)	17 (14.53%)	38 (14.45%)	
既往高脂血症史 (738)	无 (598)	291 (81.28%)	86 (73.50%)	221 (84.03%)	0.053
	有 (140)	67 (18.72%)	31 (26.50%)	42 (15.97%)	
既往脂肪肝病史 (738)	无 (673)	324 (90.50%)	106 (90.60%)	243 (92.40%)	0.692
	有 (65)	34 (9.50%)	11 (9.40%)	20 (7.60%)	

RE: 反流性食管炎.

表 5 反流性食管炎影响因素多变量Logistic回归分析

组别	变量	B	OR	95%CI		P值
轻度RE	性别(男)	0.410	1.507	1.013	2.242	0.043
	BMI	0.070	1.072	1.016	1.132	0.011
	幽门螺杆菌感染	0.487	0.615	0.422	0.896	0.011
	食管裂孔疝	2.471	11.838	1.554	90.159	0.017
重度RE	性别(男)	1.394	4.029	2.018	8.043	0.000
	BMI	0.129	1.137	1.054	1.226	0.001
	幽门螺杆菌感染	-0.495	0.609	0.352	1.056	0.078
	食管裂孔疝	3.513	33.563	4.195	268.544	0.001

RE: 反流性食管炎; BMI: 体质指数.

重度RE的分析结果显示 $P$ 值大于0.05, 但考虑重度RE组的样本量较轻度RE患者少, 且重度RE组 $H. pylori$ 感染Logistic回归分析得出的OR值为0.609, 因此可推测 $H. pylori$ 感染对重度RE也是一种保护性因素, 下一步我们可扩大样本量更精确的进行评估. 除此之外, 针对目前 $H. pylori$ 与RE发生发展关系的机制尚未明确的情况, 可从地域、人种、菌株类型、酸分泌、合并胃炎种类等多方面进一步探索 $H. pylori$ 存在或根除对RE影响的病理生理学机制.

基于此次的临床大数据研究过程及结果, 我们不难看出吸烟、肥胖、 $H. pylori$ 感染及自身基础疾病等因素与RE发病及病情进展密切相关. 但结合国内外多项研究及Meta分析, 可以发现不同的地域及人种在RE相关危险因素上仍存有一定差异. 本研究是一项单中心研究, 仅能代表我国人群, 因此存在一定的局限性. 同时, 不同操作者对胃镜下RE的判读及分级与个人的技术水平密切相关, 结果的精确性及是否遗漏都会对结果造成影响. 因而为保证结果的精确性及严谨度, 下一步可加入24 h pH监测及食管压力及阻抗测定等检查结果, 并进一步扩大样本规模, 增加RE(LA-C级、LA-D级)的样本量, 并实现多中心同步研究, 分析包括遗传因素、精神因素在内的更多相关性因素, 并进一步探索 $H. pylori$ 同RE及非糜烂性反流病的关系及可能机制, 更好的指导临床治疗及预防.

## 文章亮点

### 实验背景

反流性食管炎(reflux esophagitis, RE)是指患者食管黏膜存在慢性炎症病变, 甚至合并有食管溃疡、狭窄甚至癌变, 严重影响人们的生活质量. 早期此类疾病在西方国家的发病率较高, 但随着我国生活及饮食习惯的改变, 该病的发病率逐渐上升. 目前国际上对于RE的发病

因素、幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*,  $H. pylori$ )感染与根除同RE发病与转归的关系仍存在争议, 本文通过临床大数据平台对首都医科大学附属北京朝阳医院行消化内镜检查的5541例住院患者进行规范化的数据收集及回顾性分析.

### 实验动机

通过临床大数据及回顾性分析构建RE的危险因素模型, 探究RE发病的相关危险因素及与 $H. pylori$ 感染的关系. 更好的指导临床治疗及预防.

### 实验目标

构建RE的危险因素模型, 分析探究RE发病的相关危险因素及与 $H. pylori$ 感染的关系. 实验结果提示男性、体质指数(body mass index, BMI)和食管裂孔疝均是RE的独立危险因素,  $H. pylori$ 感染是RE的保护因素, 此结果为指导临床治疗及预防提供依据.

### 实验方法

实验采用回顾性分析, 并通过数据平台统一检索并收集纳入研究患者的数据及资料. 根据不同数据类型选择方差分析或 $\chi^2$ 检验对两组患者相关研究变量进行基线分析及单因素Logistic回归分析, 取单因素Logistic回归及基线分析中 $P<0.2$ 的相关因素行多变量Logistic回归进行校正.

### 实验结果

实验结果显示, 男性、BMI、吸烟史、食管裂孔疝均是RE的危险因素, 高密度脂蛋白胆固醇为其保护因素. 经分层研究后显示高血压和高脂血症病史是重度RE的危险因素, 甘油三酯升高是轻度RE的危险因素. 多因素Logistic回归校正后显示, 无论病情程度如何, 男性、BMI和食管裂孔疝均是RE的独立危险因素,  $H. pylori$ 感染是RE的保护因素. 结果不仅进一步验证了性别、



BMI、吸烟、食管裂孔疝等因素对RE发生发展的影响, 并对*H. pylori*感染同RE相关性这一热点问题进行了探究, 本研究结果显示*H. pylori*感染是RE的保护因素, 这也为临床的治疗提供了新的思路。

### 实验结论

本研究对当下热点问题进行了探究, 并对*H. pylori*感染是否与RE具有一定相关性的问题进行了分析。本文通过临床大数据分析, 较为精确的建立了RE危险因素模型, 验证了性别、BMI、吸烟、食管裂孔疝、高血压、高血脂血症等因素对RE发生发展的影响。通过研读前人的研究结果, 我们发现相关危险因素对不同人群食管反流的影响存在差异, 应就不同人群进行分层探究, 探索不同人群中危险因素间的相互作用。另外本研究就*H. pylori*感染同RE的关系这一有争议性的问题进行了探究, 结果反映出*H. pylori*感染是RE的保护因素, 这一认识对RE的临床治疗有指导性的作用。

### 展望前景

本研究是一项单中心研究, 虽纳入较大的样本量, 但仅能代表我国人群, 因此存在一定的局限性。另外单纯应用内镜依靠洛杉矶分级进行RE判断容易造成实验偏差, 下一步可加入24 h pH监测及食管压力及阻抗测定等检查结果, 进行更精确的分层及多中心同步研究, 并分析包括遗传因素、精神因素在内的更多相关性因素, 进一步探索*H. pylori*同RE及非糜烂性反流病的关系及可能机制, 更好的为临床治疗提供指导性意见。

### 4 参考文献

- 1 Richter JE, Rubenstein JH. Presentation and Epidemiology of Gastroesophageal Reflux Disease. *Gastroenterology* 2018; 154: 267-276 [PMID: 28780072 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.07.045]
- 2 徐天和. 中国医学统计百科全书. 多元统计分册. 人民卫生出版社 2004; 195-204
- 3 Herregods TV, Bredenoord AJ, Smout AJ. Pathophysiology of gastroesophageal reflux disease: new understanding in a new era. *Neurogastroenterol Motil* 2015; 27: 1202-1213 [PMID: 26053301 DOI: 10.1111/nmo.12611]
- 4 王旻, 詹志刚, 吴晓锐, 张锋. 胃食管反流病的流行病学研究进展. *临床消化病杂志* 2011; 23: 380-382 [DOI: 10.3870/lcxh.j.issn.1005-541X.2011.06.23]
- 5 Argyrou A, Legaki E, Koutserimpas C, Gazouli M, Papaconstantinou I, Gkiokas G, Karamanolis G. Risk factors for gastroesophageal reflux disease and analysis of genetic contributors. *World J Clin Cases* 2018; 6: 176-182 [PMID: 30148145 DOI: 10.12998/wjcc.v6.i8.176]

- 6 Ford AC, Forman D, Reynolds PD, Cooper BT, Moayyedi P. Ethnicity, gender, and socioeconomic status as risk factors for esophagitis and Barrett's esophagus. *Am J Epidemiol* 2005; 162: 454-460 [PMID: 16076833 DOI: 10.1093/aje/kwi218]
- 7 Kim YS, Kim N, Kim GH. Sex and Gender Differences in Gastroesophageal Reflux Disease. *J Neurogastroenterol Motil* 2016; 22: 575-588 [PMID: 27703114 DOI: 10.5056/jnm16138]
- 8 Masaka T, Iijima K, Endo H, Asanuma K, Ara N, Ishiyama F, Asano N, Koike T, Imatani A, Shimosegawa T. Gender differences in oesophageal mucosal injury in a reflux oesophagitis model of rats. *Gut* 2013; 62: 6-14 [PMID: 22287598 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-301389]
- 9 Matsuzaki J, Suzuki H, Kobayakawa M, Inadomi JM, Takayama M, Makino K, Iwao Y, Sugino Y, Kanai T. Association of Visceral Fat Area, Smoking, and Alcohol Consumption with Reflux Esophagitis and Barrett's Esophagus in Japan. *PLoS One* 2015; 10: e0133865 [PMID: 26225858 DOI: 10.1371/journal.pone.0133865]
- 10 Singh M, Lee J, Gupta N, Gaddam S, Smith BK, Wani SB, Sullivan DK, Rastogi A, Bansal A, Donnelly JE, Sharma P. Weight loss can lead to resolution of gastroesophageal reflux disease symptoms: a prospective intervention trial. *Obesity (Silver Spring)* 2013; 21: 284-290 [PMID: 23532991 DOI: 10.1002/oby.20279]
- 11 Ness-Jensen E, Hveem K, El-Serag H, Lagergren J. Lifestyle Intervention in Gastroesophageal Reflux Disease. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2016; 14: 175-82.e1-3 [PMID: 25956834 DOI: 10.1016/j.cgh.2015.04.176]
- 12 Ness-Jensen E, Lindam A, Lagergren J, Hveem K. Tobacco smoking cessation and improved gastroesophageal reflux: a prospective population-based cohort study: the HUNT study. *Am J Gastroenterol* 2014; 109: 171-177 [PMID: 24322837 DOI: 10.1038/ajg.2013.414]
- 13 van Herwaarden MA, Samsom M, Smout AJ. The role of hiatus hernia in gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2004; 16: 831-835 [PMID: 15316404 DOI: 10.1097/00042737-200409000-00003]
- 14 Labenz J, Blum AL, Bayerdörffer E, Meining A, Stolte M, Börsch G. Curing *Helicobacter pylori* infection in patients with duodenal ulcer may provoke reflux esophagitis. *Gastroenterology* 1997; 112: 1442-1447 [PMID: 9136820 DOI: 10.1016/S0016-5085(97)70024-6]
- 15 Koike T, Ohara S, Sekine H, Iijima K, Abe Y, Kato K, Toyota T, Shimosegawa T. *Helicobacter pylori* infection prevents erosive reflux oesophagitis by decreasing gastric acid secretion. *Gut* 2001; 49: 330-334 [PMID: 11511552 DOI: 10.1136/gut.49.3.330]
- 16 郭薇薇, 陈玲, 缪鑫, 朱晓娟, 刘政. 幽门螺杆菌对胃食管反流病影响的Meta分析. *胃肠病学和肝病学杂志* 2017; 26: 1133-1137 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2017.10.017]
- 17 刘文忠, 谢勇, 陆红, 成虹, 曾志荣, 周丽雅, 陈辉, 王江滨, 杜奕奇, 吕农华. 第五次全国幽门螺杆菌感染处理共识报告. *中国实用内科杂志* 2017; 37: 509-524 [DOI: 10.19538/j.cnk2017060110]
- 18 Hong SJ, Kim SW. *Helicobacter pylori* Infection in Gastroesophageal Reflux Disease in the Asian Countries. *Gastroenterol Res Pract* 2015; 2015: 985249 [PMID: 25642246 DOI: 10.1155/2015/985249]
- 19 Vasapolli R, Malfertheiner P, Kandulski A. *Helicobacter pylori* and non-malignant upper gastrointestinal diseases. *Helicobacter* 2016; 21 Suppl 1: 30-33 [PMID: 27531536 DOI: 10.1111/hel.12337]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



## 新发糖尿病与胰腺癌的相关临床研究

董文珠, 于海涛, 王群英, 田字彬

董文珠, 于海涛, 王群英, 解放军第971医院消化科 山东省青岛市 266071

田字彬, 青岛大学医学院附属医院消化科 山东省青岛市 266003

董文珠, 博士后, 副主任医师, 主要从事胰腺病的研究

基金项目: 山东省博士后创新基金, No. 201103108.

作者贡献分布: 课题设计由董文珠与田字彬完成; 研究过程由董文珠完成; 材料收集、数据分析由董文珠、于海涛、王群英完成; 本论文写作由董文珠完成; 田字彬审核。

通讯作者: 田字彬, 主任医师, 266003, 山东省青岛市市南区江苏路16号, 青岛大学医学院附属医院消化科. [tianzb@qdumh.qd.sd.cn](mailto:tianzb@qdumh.qd.sd.cn)

收稿日期: 2019-04-26

修回日期: 2019-06-22

接受日期: 2019-07-22

在线出版日期: 2019-08-08

### Temporal patterns of new-onset diabetes in pancreatic cancer

Wen-Zhu Dong, Hai-Tao Yu, Qun-Ying Wang, Zi-Bin Tian

Wen-Zhu Dong, Hai-Tao Yu, Qun-Ying Wang, Department of Gastroenterology, the 971 Hospital of Chinese PLA, Qingdao 266071, Shandong Province, China

Zi-Bin Tian, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China

Supported by: Shandong Post-doctoral Innovation Fund, No. 201103108.

Corresponding author: Zi-Bin Tian, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, Shandong Province, China. [tianzb@qdumh.qd.sd.cn](mailto:tianzb@qdumh.qd.sd.cn)

Received: 2019-04-26

Revised: 2019-06-19

Accepted: 2019-07-22

Published online: 2019-08-08

### Abstract

#### BACKGROUND

Pancreatic carcinoma (PCa) is a malignant tumor occurring in the exocrine glands of the pancreas. It has a hidden onset, a high degree of malignancy, and a low 5-year survival rate of less than 1%. Early clinical symptoms are often atypical and there is a lack of specific means of examination. Most of the cases have progressed to the middle and late stages of the disease and the prognosis is poor. A large number of studies have shown that diabetes is closely related to PCa, but the causal relationship between them is not clear. This study aimed to retrospectively analyze patients with PCa in order to find early diagnostic clues for PCa.

#### AIM

To explore the relationship between PCa and new-onset diabetes.

#### METHODS

Four hundred and sixty-three PCa patients were included in a PCa group, and 658 patients without tumour, alimentary system or non-metabolic abnormality were included in a control group. The age and course of diabetes mellitus (DM) of patients in the PCa group and control group were analyzed and compared.

#### RESULTS

The average age of new-onset diabetes patients in the PCa group was 70.09 years (95%CI: 69.00-71.18), and the average age of patients with type 2 diabetes was 58.68 years (95%CI: 57.84-59.53); the difference was statistically significant ( $P < 0.01$ ). Patients in the PCa group were divided into seven groups according to the course of diabetes. The prevalence of diabetes in the pancreatic cancer group with diabetes disease duration  $< 1$  year, 1-2 years, and  $> 10$  years was significantly higher than that of the control group (19.87% vs 1.52%,  $P < 0.01$ ; 6.48% vs

1.67%,  $P < 0.05$ ; 2.16% vs 0.91%,  $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

New-onset diabetes can act as a clue for early diagnosis of PCa. Clinicians should be alert to the possibility of PCa for elderly patients with a diagnosis of DM in 2 years or great blood glucose fluctuation in short time.

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

Key Words: Pancreatic carcinoma; New-onset diabetes; Analysis

Dong WZ, Yu HT, Wang QY, Tian ZB. Temporal patterns of new-onset diabetes in pancreatic cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 943-947  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/943.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.943>

## 摘要

### 背景

胰腺癌(pancreatic carcinoma, PCa)是发生于胰腺外分泌腺的恶性肿瘤,起病隐匿,恶性程度高,5年生存率低于1%,早期临床症状常常不典型,且缺少特异的检查手段,发现时大多已进展至疾病的中晚期,预后较差。大量研究表明糖尿病(diabetes mellitus, DM)与PCa密切相关,但两者因果关系不甚明了。本研究试图对PCa患者进行回顾性分析,以期能发现PCa的早期诊断线索。

### 目的

探讨PCa与新发DM的关系。

### 方法

以463例PCa患者为PCa组,以同期非肿瘤、非消化系统、非激素代谢异常相关疾病的658例患者作为对照组,分析比较PCa组与对照组患者DM的发病年龄和病程。

### 结果

PCa组新发DM患者平均患病年龄70.09岁(95%CI: 69.00-71.18),2型DM患者平均患病年龄58.68岁(95%CI: 57.84-59.53),差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ )。将PCa组患者按DM病程分为七组。PCa组DM病程<1年、DM病程2-1年及>10年者DM的患病率显著高于对照组(19.87% vs 1.52%,  $P < 0.01$ )(6.48% vs 1.67%,  $P < 0.05$ )(2.16% vs 0.91%,  $P < 0.05$ )。

### 结论

新发DM可能是PCa早期诊断的线索。临床医生对于2年内新发诊断DM或短时间血糖波动较大的老年患者要高度警惕PCa患病的可能性。

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

关键词: 胰腺癌; 新发糖尿病; 分析

**核心提要:** 胰腺癌(pancreatic carcinoma, PCa)对糖尿病(diabetes mellitus, DM)是病因还是结果一直存在争议。本研究通过对PCa患者DM的发病年龄及病程等的研究,发现长期的DM状态与PCa的发病密切相关;而且血糖升高也可能是PCa的早期表现之一,尤其是对于2年内新发诊断DM或短时间血糖波动较大的老年患者要高度警惕PCa患病的可能性。

董文珠, 于海涛, 王群英, 田宇彬. 新发糖尿病与胰腺癌的相关临床研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(15): 943-947  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/943.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.943>

## 0 引言

在20世纪早期,人们就认识到了胰腺癌(pancreatic carcinoma, PCa)和糖尿病(diabetes mellitus, DM)的相互关系,发现PCa中合并DM的患者高达40%,且其中以新发DM尤为多见,提示PCa可能导致DM<sup>[1-3]</sup>。本研究从发病年龄、发病性别、DM病程及发病率等方面入手,拟阐述PCa与新发DM的关系。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集1990-01/2018-12间青岛大学医学院附属医院、解放军401医院收治的463例PCa,男279例,女184例,平均年龄 $62.85 \pm 15.67$ 岁。(统计过程中,PCa临床诊断资料不全和血糖数值及病程资料记述不全病例,均予以剔除)由同期非消化系统、非肿瘤及非激素代谢异常类的658例病例组成对照组,且性别年龄与病例组相匹配,病种包括腰椎病、泌尿系结石、静脉曲张、外伤性骨折、手外伤等,其中男398例,女260例,平均年龄 $63.57 \pm 13.02$ 岁。两组年龄、性别及吸烟史、肥胖因素等基线值因素均具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 PCa组诊断标准:** 经病理(手术或穿刺)学证实(167例)或依据临床表现、体征和影像学检查(腹部彩超、CT、内镜超声等)及随访确诊(296例)。

**1.2.2 DM诊断标准:** 参照2010年美国DM协会诊断标准:(1)HbA1C $\geq 6.5\%$ \*.或(2)空腹血糖(FPG) $\geq 7.0$  mmol/L.空腹的定义是至少8 h未摄入热量\*.或(3)口服糖耐量试验时2 h血糖 $\geq 11.1$  mmol/L\*.或(4)在伴有典型的高血糖或高血糖危象的患者,随机血糖 $\geq 11.1$  mmol/L.\*如无明确的高血糖症状,结果应重复检测来证实标准1-3。



1.2.3 PCa组DM病程计算: 自确诊DM起至确诊PCa止, 入院时初次发现DM者均记为病程小于2年。

**统计学处理** 所有数据均输入SPSS 13.0软件包, 计算各组DM比例及相对危险度(relative risk, RR), 并进行卡方检验,  $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 PCa组内有和无DM患者发病年龄及性别比 PCa患者合并DM者平均患病年龄64.54岁(95%CI: 63.64-64.54), 无DM患者平均患病年龄62.88岁(95%CI: 61.80-63.96), 两者间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。男性患者中DM比例(92/279, 32.97%)略低于女性(65/184, 35.33%), 但差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); PCa组中新发DM患者平均患病年龄70.09岁(95%CI: 69.00-71.18), 2型DM患者平均患病年龄58.68岁(95%CI: 57.84-59.53), 差异有显著统计学意义( $P < 0.01$ )。

2.2 PCa组与对照组DM发病率的比较 病例组中DM患者160例, 发病率34.56%(160/463); 对照组中DM患者69例, 发病率10.49%(69/658), 两组间差异有统计学意义( $\chi^2 = 107.96, P < 0.01, RR = 3.29$ )。

将DM按病程分为>10年、10-5年、5-4年、4-3年、3-2年、2-1年、<1年七组。病例组DM病程<1年、2-1年及>10年者比例显著高于对照组(19.87%比1.52%, 6.48%比1.67%, 2.16%比0.91%)。病程<1年者两组间比较 $\chi^2 = 115.62, P < 0.01, RR = 13.07$ 。病程2-1年者两组比较 $\chi^2 = 6.31, P < 0.05, RR = 3.88$ 。病程3-2年者两组比较 $\chi^2 = 2.78, P > 0.05, RR = 1.26$ 。病程4-3年者两组比较 $\chi^2 = 3.16, P > 0.05, RR = 0.99$ 。病程5-4年者两组比较 $\chi^2 = 2.59, P > 0.05, RR = 0.86$ 。病程10-5年者两组比较 $\chi^2 = 2.85, P > 0.05, RR = 0.76$ 。病程>10年者两组间比较 $\chi^2 = 4.56, P < 0.05, RR = 2.37$ 。见表1。

## 3 讨论

PCa是消化道常见的恶性肿瘤之一, 起病隐匿, 病情进展快, 近20年来其发病率不断上升。PCa的早期临床症状常不典型, 且缺乏特异的检查手段, 发现时大多已丧失手术机会<sup>[4]</sup>, 5年生存率很低。因此早期诊断对提高患者生存率具有重要的临床意义。对于PCa与DM的相互关系, 目前有两种观点: (1)DM可能是PCa的早期临床表现之一<sup>[5]</sup>, 是PCa引起的; (2)DM是PCa的危险因素之一<sup>[6]</sup>。故对于DM与PCa相关性的研究对于PCa的早期发现也具有极其重要的临床意义<sup>[7]</sup>。

我们的研究结果提示: PCa组DM的发病率高达34.56%, 远高于对照组, 其中大多数DM发生在PCa诊断前的2年之内, 提示DM可能是PCa的早期临床表现之一。

Chari等<sup>[5]</sup>进行的一项回顾性研究中, 发现新发DM可能是PCa的早期表现, DM可能不是PCa的原因而是其结果。新发DM(New-onset diabetes), 即大部分DM发生在癌症诊断前2年内, 发病年龄大于55岁, 非肥胖, 尽管药物严格控制, DM病情仍然恶化, 体重下降<sup>[1]</sup>。新发DM的发生, 可能与PCa引起的胰岛素抵抗, 以及PCa发生部位及周边 $\beta$ 细胞数量减少、功能障碍, 肿瘤细胞释放过多的胰淀素有关<sup>[3-5]</sup>。

多数研究认为, DM既是PCa的临床表现, 又是危险因素<sup>[8,9]</sup>。本研究中, 病例组病程>10年的DM患者PCa发病率明显高于对照组。我们的研究结果认为, DM可能是PCa的早期临床症状之一, 长期的DM也可能是PCa的危险因素, 临床上对于50岁以上新发DM或病程10年以上的DM患者需警惕PCa的可能。

本研究结果提示: PCa引发的新发DM发病年龄明显高于2型DM的发病年龄。这一结果与Sharma等<sup>[10]</sup>的研究一致, 提示了新发DM可能是PCa早期症状之一。对于年龄超过50岁的中老年人, 如果出现新发DM, 并在一年、两年内血糖迅速恶化; 或原本血糖控制平稳的DM患者, 血糖出现长时间控制不佳, 要高度警惕PCa的可能<sup>[11,12]</sup>, 应及时进行腹部B超、超声内镜、CT、磁共振等影像学检查, 联合CA19-9、癌胚抗原等肿瘤标志物检测, 并定期随访, 有可能早期发现PCa, 尽早手术, 从而提高PCa患者的生存率。新发DM的发现, 为PCa的早期诊断带来希望, 但是它的一系列检测还存在着许多困难<sup>[13-15]</sup>, 相信这些困难将随着研究的不断深入慢慢会得到解决<sup>[16]</sup>。

## 文章亮点

### 实验背景

胰腺癌(pancreatic carcinoma, PCa)是发生于胰腺外分泌腺的恶性肿瘤, 预后较差。大量研究表明糖尿病(diabetes mellitus, DM)与PCa密切相关, 但两者因果关系不甚明了。

### 实验动机

本文回顾性研究PCa患者DM的发病年龄及病程, 分析探讨PCa与DM的可能关系。

### 实验目标

探讨PCa组和对照组DM的发病年龄、发病率、DM发病的性别差异及病程, 旨在从发病特征上分析PCa与DM的关系。

### 实验方法

以463例PCa患者为PCa组, 以同期非肿瘤、非消化系统、非激素代谢异常相关疾病的658例患者作为对照

表 1 两组糖尿病按病程分层比较, *n* (%)

分组	糖尿病病程						
	>10年	10~5年	5~4年	4~3年	3~2年	2~1年	<1年
病例组	10 (2.16)	7 (1.51)	6 (1.30)	7 (1.51)	8 (1.73)	30 (6.48)	92 (19.87)
对照组	6 (0.91)	13 (1.98)	10 (1.52)	10 (1.52)	9 (1.37)	11 (1.67)	10 (1.52)
RR	2.37	0.76	0.86	0.99	1.26	3.88	13.07
$\chi^2$	4.56	2.85	2.59	3.16	2.78	6.31	115.62
<i>P</i> 值	<0.05	>0.05	>0.05	>0.05	>0.05	<0.05	<0.01

组, 分析比较PCa组与对照组患者DM的发病年龄、发病率 and 病程等。

实验结果

本文研究目的已经达到: PCa组新发DM患者平均患病年龄70.09岁(95%CI: 69.00-71.18), 2型DM患者平均患病年龄58.68岁(95%CI: 57.84-59.53), 差异有显著统计学意义(*P*<0.01)。PCa组DM病程<1年及>10年者DM的患病率显著高于对照组(19.87%比1.52%, *P*<0.01)(2.16%比0.91%, *P*<0.05)。

实验结论

新发DM可能是PCa早期诊断的线索。临床医生对于2年内新发诊断DM或短时间血糖波动较大的老年患者要高度警惕PCa患病的可能性。

展望前景

本文研究创新性在于从发病病程及发病年龄这个角度, 分析了新发DM的特点, 提出了PCa早期发现的诊断思路, 为提高PCa的早期诊断带来希望。

4 参考文献

1 Khadka R, Tian W, Hao X, Koirala R. Risk factor, early diagnosis and overall survival on outcome of association between pancreatic cancer and diabetes mellitus: Changes and advances, a review. *Int J Surg* 2018; 52: 342-346 [PMID: 29535016 DOI: 10.1016/j.ijsu.2018.02.058]

2 Lee S, Hwang HK, Kang CM, Lee WJ. Adverse Oncologic Impact of New-Onset Diabetes Mellitus on Recurrence in Resected Pancreatic Ductal Adenocarcinoma: A Comparison With Long-standing and Non-Diabetes Mellitus Patients. *Pancreas* 2018; 47: 816-822 [PMID: 29975349 DOI: 10.1097/MPA.0000000000001099]

3 Pannala R, Leirness JB, Bamlet WR, Basu A, Petersen GM, Chari ST. Prevalence and clinical profile of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus. *Gastroenterology* 2008; 134: 981-987 [PMID: 18395079 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.01.039]

4 Zuckerman DS, Ryan DP. Adjuvant therapy for pancreatic cancer: a review. *Cancer* 2008; 112: 243-249 [PMID: 18050292 DOI: 10.1002/cncr.23174]

5 Chari ST, Leibson CL, Rabe KG, Timmons LJ, Ransom J,

de Andrade M, Petersen GM. Pancreatic cancer-associated diabetes mellitus: prevalence and temporal association with diagnosis of cancer. *Gastroenterology* 2008; 134: 95-101 [PMID: 18061176 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.10.040]

6 Wang F, Gupta S, Holly EA. Diabetes mellitus and pancreatic cancer in a population-based case-control study in the San Francisco Bay Area, California. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2006; 15: 1458-1463 [PMID: 16896032 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-06-0188]

7 Illés D, Terzin V, Holzinger G, Kosár K, Róka R, Zsóri G, Ábrahám G, Czákó L. New-onset type 2 diabetes mellitus--A high-risk group suitable for the screening of pancreatic cancer? *Pancreatol* 2016; 16: 266-271 [PMID: 26777407 DOI: 10.1016/j.pan.2015.12.005]

8 Fisher WE. Diabetes: risk factor for the development of pancreatic cancer or manifestation of the disease? *World J Surg* 2001; 25: 503-508 [PMID: 11396427]

9 Dong X, Lou YB, Mu YC, Kang MX, Wu YL. Predictive Factors for Differentiating Pancreatic Cancer-Associated Diabetes Mellitus from Common Type 2 Diabetes Mellitus for the Early Detection of Pancreatic Cancer. *Digestion* 2018; 98: 209-216 [PMID: 30045045 DOI: 10.1159/000489169]

10 Sharma A, Kandlakunta H, Nagpal SJS, Feng Z, Hoos W, Petersen GM, Chari ST. Model to Determine Risk of Pancreatic Cancer in Patients With New-Onset Diabetes. *Gastroenterology* 2018; 155: 730-739.e3 [PMID: 29775599 DOI: 10.1053/j.gastro.2018.05.023]

11 Lee JH, Kim SA, Park HY, Lee KH, Lee KT, Lee JK, Bae JC, Kim KW. New-onset diabetes patients need pancreatic cancer screening? *J Clin Gastroenterol* 2012; 46: e58-e61 [PMID: 22138846 DOI: 10.1097/MCG.0b013e318238348c]

12 Mizuno S, Nakai Y, Isayama H, Yanai A, Takahara N, Miyabayashi K, Yamamoto K, Kawakubo K, Mohri D, Kogure H, Sasaki T, Yamamoto N, Sasahira N, Hirano K, Tsujino T, Ijichi H, Tateishi K, Akanuma M, Tada M, Koike K. Risk factors and early signs of pancreatic cancer in diabetes: screening strategy based on diabetes onset age. *J Gastroenterol* 2013; 48: 238-246 [PMID: 22735942 DOI: 10.1007/s00535-012-0622-z]

13 Huang H, Dong X, Kang MX, Xu B, Chen Y, Zhang B, Chen J, Xie QP, Wu YL. Novel blood biomarkers of pancreatic cancer-associated diabetes mellitus identified by peripheral blood-based gene expression profiles. *Am J Gastroenterol* 2010; 105: 1661-1669 [PMID: 20571492 DOI: 10.1038/ajg.2010.32]

14 Zhang Z, Qin W, Sun Y. Contribution of biomarkers for pancreatic cancer-associated new-onset diabetes to pancreatic cancer screening. *Pathol Res Pract* 2018; 214: 1923-1928 [PMID: 30477640 DOI: 10.1016/j.prp.2018.10.003]

15 Aggarwal G, Rabe KG, Petersen GM, Chari ST. New-onset diabetes in pancreatic cancer: a study in the primary care setting. *Pancreatol* 2012; 12: 156-161 [PMID: 22487526 DOI: 10.1016/j.pan.2012.02.003]

16 Singhi AD, Koay EJ, Chari ST, Maitra A. Early Detection of Pancreatic Cancer: Opportunities and Challenges.

*Gastroenterology* 2019; 156: 2024-2040 [PMID: 30721664 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.01.259]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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



# 三间隙引流术在腺源性肛周脓肿治疗中有效性和安全性的前瞻性队列研究

张心怡, 金黑鹰, 王 灿, 王 俊, 张春霞, 叶晓瑞, 杨 阳, 刘建磊, 朱 雅

张心怡, 王灿, 南京中医药大学研究生院 江苏省南京市 210023

China. jinheying@hotmail.com

金黑鹰, 王灿, 王俊, 张春霞, 叶晓瑞, 杨阳, 刘建磊, 朱雅, 南京中医药大学第二附属医院江苏省第二中医院肛肠中心 江苏省南京市 210017

Received: 2019-06-03

Revised: 2019-06-20

Accepted: 2019-08-02

Published online: 2019-08-08

张心怡, 硕士研究生, 主要从事中医肛肠疾病的临床研究.

**作者贡献分布:** 此课题由张心怡、金黑鹰、王俊、张春霞、刘建磊及朱雅设计; 研究过程由张心怡、金黑鹰、王灿、王俊、张春霞、叶晓瑞、杨阳、刘建磊及朱雅完成; 病例收集及数据采集由张心怡、王灿、张春霞完成; 数据分析由张心怡、叶晓瑞及杨阳完成; 本论文写作由张心怡及金黑鹰完成.

**通讯作者:** 金黑鹰, 博士, 教授, 主任医师, 210017, 江苏省南京市建邺区南湖路23号, 南京中医药大学第二附属医院(江苏省第二中医院)肛肠中心. jinheying@hotmail.com  
电话: 025-83291219

收稿日期: 2019-06-03

修回日期: 2019-06-20

接受日期: 2019-08-02

在线出版日期: 2019-08-08

## A prospective cohort study of safety and efficacy of three-cavity clearance in treatment of perianal cryptoglandular abscess

Xin-Yi Zhang, Hei-Ying Jin, Can Wang, Jun Wang, Chun-Xia Zhang, Xiao-Rui Ye, Yang Yang, Jian-Lei Liu, Ya Zhu

Xin-Yi Zhang, Can Wang, Graduate School of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210023, Jiangsu Province, China

Hei-Ying Jin, Jun Wang, Chun-Xia Zhang, Xiao-Rui Ye, Yang Yang, Jian-Lei Liu, Ya Zhu, Department of colorectal surgery, The Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing 210017, Jiangsu Province, China

**Corresponding author:** Hei-Ying Jin, Doctor, Professor, Director Physician, Department of Colorectal Surgery, The Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine, 23 Nanhu Road, Jianye District, Nanjing 210017, Jiangsu Province,

## Abstract

### BACKGROUND

Perianal abscess is a common anorectal disease, mainly caused by anal gland infection. Abscess, once formed, should be timely treated. At present, there are many methods available to treat perianal abscess, but each of them has some shortcomings. According to the physiological and pathological mechanism of perianal abscess, we designed a new surgical method named three-cavity clearance (TCC) to maximize the protection of anal sphincter function and reduce the pain of patients.

### AIM

To evaluate the safety and efficacy of TCC in perianal cryptoglandular abscess.

### Methods

From January 2017 to January 2018, perianal abscess patients who underwent TCC at the Center for Anorectal Diagnosis and Treatment of the Second Affiliated Hospital of Nanjing University of Traditional Chinese Medicine were selected as a study group. Patients who underwent simple incision and drainage for perianal abscess during the same period were selected into a control group. The two groups were 1:1 paired with comparable age, sex, and abscess site. Hospitalization time, wound healing time, anal fistula formation rate, and anal incontinence were compared between the

two groups.

## RESULTS

There were 32 patients in each group and a total of 64 patients were included in this study. The formation rate of anal fistula in the TCC group was 6%, significantly lower than that in the control group (34.0%,  $P < 0.01$ ). There was no anal incontinence in either group. The hospitalization time and wound healing time of the two groups showed no statistical difference ( $P > 0.05$ ).

## CONCLUSION

TCC for perianal abscess is a safe and complete anal sphincter preserving technique, which can effectively reduce the rate of postoperative anal fistula formation.

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

Key Words: Perianal abscess; Three-cavity clearance; Simple incision and drainage

Zhang XY, Jin HY, Wang C, Wang J, Zhang CX, Ye XR, Yang Y, Liu JL, Zhu Y. A prospective cohort study of safety and efficacy of three-cavity clearance in treatment of perianal cryptoglandular abscess. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 948-953  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/948.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.948>

## 摘要

### 背景

肛周脓肿是一种常见的肛肠疾病, 主要由肛腺感染引起, 脓肿一旦形成应及时手术治疗。目前有多种治疗肛周脓肿的方法, 但均存在一定的缺点, 我们根据肛周脓肿发病的生理病理机制设计了一种新的手术方式-三间隙引流术, 以最大限度保护肛门括约肌功能, 减轻患者痛苦。

### 目的

探讨三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC)在腺源性肛周脓肿治疗中的有效性和安全性。

### 方法

以2017-01/2018-01在南京中医药大学第二附属医院肛肠诊疗中心收治的行肛周脓肿TCC的患者作为研究对象, 以此建立队列; 对照组选取同期行肛周脓肿单纯切开引流术的患者, 以年龄差距5岁以内、性别相同且脓肿部位相同与实验组进行1:1配对, 比较两组患者住院时间、创面愈合时间、肛瘘形成率及肛门失禁情况。

### 结果

每组各32例, 共64例患者纳入本研究, 三间隙引流

组的肛瘘形成率为6%, 明显低于单纯切开引流组(34.0%,  $P < 0.01$ ); 三间隙引流组与单纯切开引流组均未出现肛门失禁的情况; 两组的住院时间、创面愈合时间没有统计学差异( $P > 0.05$ )。

## 结论

肛周脓肿TCC是一种安全的完全肛门括约肌保留的治疗肛周脓肿的术式, 能有效降低术后肛瘘形成率, 值得临床进一步推广和应用。

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

关键词: 肛周脓肿; 三间隙引流术; 单纯切开引流术

**核心提要:** 肛周脓肿是一种常见的肛周感染性疾病, 有文献报道肛腺感染是最主要的病因, 明确脓肿位置、彻底引流是治疗的关键。目前有多种治疗肛周脓肿的方法, 但均存在一定的缺点。我们设计了一种新的治疗肛周脓肿的手术方式-三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC), 通过此项纳入64例患者的治疗腺源性肛周脓肿的前瞻性队列研究, 我们得出结论, 肛周脓肿TCC是一种安全的完全肛门括约肌保留术式、能有效降低术后肛瘘形成率, 值得临床进一步推广和应用。

张心怡, 金黑鹰, 王灿, 王俊, 张春霞, 叶晓瑞, 杨阳, 刘建磊, 朱雅. 三间隙引流术在腺源性肛周脓肿治疗中有效性和安全性的前瞻性队列研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(15): 948-953

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/948.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.948>

## 0 引言

肛周脓肿是最常见的肛肠疾病, 每年新发病例约为2-10/万人, 最可能发生在30-50岁年龄之间<sup>[1]</sup>, 以年轻男性多见, 中医称之为“肛痈”<sup>[2]</sup>。现代医学认为肛腺感染是肛周脓肿发生的始动原因<sup>[3]</sup>, 脓肿一旦形成应及时给予手术治疗<sup>[4,5]</sup>。最常用的术式是单纯切开引流术, 但术后较易造成脓肿复发或形成肛瘘<sup>[6]</sup>; 为了降低切开引流术后肛瘘形成率, 部分学者认为在脓肿切开引流的同时, 直接切开可疑瘘管或采用切开挂线治疗, 称之为“根治性脓肿切开术”, 但存在因损伤肛门括约肌造成术后肛门失禁的风险<sup>[7-9]</sup>。

鉴于此, 我们根据肛周脓肿发病的生理病理机制设计了一种新的手术方式-三间隙引流术(three-cavity clearance, TCC), 在进行肛周脓肿切开引流时, 术中同时打开潜在的感染间隙, 即黏膜和内括约肌之间的黏膜下间隙、内外括约肌间的括约肌间隙及外括约肌以外的括约肌外间隙(包括坐骨直肠间隙、直肠后间隙和骨盆直肠间隙)(图1), 达到充分引流目标, 从而有效降低术

后肛瘘形成率, 达到疾病治愈且不损伤肛门功能的初衷<sup>[10]</sup>。前期TCC回顾性分析显示, 其术后仅13%患者发生肛瘘, 而单纯切开引流组肛瘘形成率达到39.1%, 根治性切开引流组患者肛瘘形成率为8.7%, TCC组肛瘘形成率明显低于单纯切开引流组、与根治性切开引流组差异无统计学意义; TCC组和单纯切开引流组没有肛门失禁发生, 而根治性切开引流组有2例发生肛门失禁, 提示TCC是一种安全、有效的腺源性肛周脓肿治疗方法。为了进一步探索其安全性及有效性, 本组进行了前瞻性队列研究, 现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2017-01/2018-01南京中医药大学第二附属医院肛肠诊疗中心收治的行肛周脓肿TCC的32例患者的临床资料建立队列, 作为实验组; 对照组选取同期行单纯脓肿切开引流术的患者, 以年龄差距5岁以内、性别相同且脓肿部位相同与三间隙引流组进行1:1配对。纳入患者均符合《肛周脓肿和肛瘘治疗指南》(美国, 2011版)<sup>[11]</sup>中肛周脓肿的诊断标准, 并经腔内超声或盆底核磁共振检查示为肛周脓肿。排除合并结核、克罗恩病、结直肠肿瘤等特异性肛周脓肿者; 妊娠期、哺乳期妇女; 合并免疫缺陷疾病、脊髓及盆底疾病、精神方面疾病者; 既往有脓肿手术史, 并出现肛门功能异常者及依从性差者。本研究经医院伦理委员会审核通过, 所有患者均知情同意。

### 1.2 方法

**1.2.1 手术过程:** 按照我们既往回顾性研究报道<sup>[10,12]</sup>的方法进行TCC。单纯切开引流术方法参照文献<sup>[11]</sup>。

两组患者术前准备相似: 术前6 h禁食, 行肠道准备; 麻醉方法采用腰麻; 手术体位取侧卧位。术后均予相同的常规处理。

**1.2.2 观察指标:** 通过临床观察、门诊复查及电话随访相结合, 比较两组患者的住院时间、创面愈合时间、肛瘘形成率及肛门失禁情况。住院时间按入院第一天至出院当天计算; 创面愈合时间用术后第一天切口创面至创面完全被皮肤覆盖所需天数表示; 术后肛瘘的诊断依据《肛周脓肿和肛瘘治疗指南》(美国, 2011版)<sup>[11]</sup>, 复发是指患者进入恢复期后于原发部位再次出现肛周脓肿; 肛门失禁采用三级分度<sup>[13]</sup>, 一度: 不能控制气体; 二度: 不能控制液态粪便; 三度: 不能控制固态成形粪便。

**统计学处理** 运用SPSS 19.0统计软件进行分析处理。计量资料采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ , 组间比较采用单因素方差分析。计数资料以例数或百分比表示, 组间比较采用 $\chi^2$ 检验,  $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

## 2 结果

共64例患者纳入本研究, 对所有纳入本研究的64例患者进行平均 $15.3 \text{ mo} \pm 6.7 \text{ mo}$ 的随访, 两组患者年龄、性别、脓肿部位的一般资料经统计学分析, 均无显著差异( $P > 0.05$ , 表1)。

**2.1 住院时间** 单纯切开引流组住院时间最长23 d, 最短5 d, 平均 $12.66 \text{ d} \pm 5.08 \text{ d}$ ; TCC组住院时间最长26 d, 最短4 d, 平均 $10.41 \text{ d} \pm 5.08 \text{ d}$ 。两组患者住院时间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表2)。

**2.2 创面愈合时间** 单纯切开引流组愈合时间最长60 d, 最短18 d, 平均 $38.22 \text{ d} \pm 12.48 \text{ d}$ ; TCC组愈合时间最长90 d, 最短18 d, 平均 $35.56 \text{ d} \pm 14.10 \text{ d}$ 。两组患者创面愈合时间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ , 表2)。

**2.3 肛瘘形成率** 单纯切开引流组有11例患者形成肛瘘, 肛瘘形成率为34%(11例), 其中男性9例, 女性2例, 其中肛周皮下脓肿1例, 括约肌间脓肿1例, 坐骨直肠脓肿3例, 直肠后间隙2例, 骨盆直肠脓肿2例; TCC组有2例患者形成肛瘘, 肛瘘形成率为6%(2例)男性2例, 女性0例, 其中骨盆直肠脓肿2例(表3)。单纯切开引流组肛瘘形成率明显高于TCC组( $P < 0.01$ , 表2)。两组均无肛周脓肿复发。

**2.4 肛门功能** 在随访过程中, 两组患者术后均未出现气体及液态、固态粪便不能控制的情况, 即未发生肛门失禁。

## 3 讨论

常规的单纯切开引流术后约有7%-66%的肛瘘形成率及4%-31%复发率<sup>[14]</sup>, 发生这种情况的主要原因可能与切口引流不畅, 内口没有正确处理及括约肌间隙感染并发生感染有关<sup>[15]</sup>。有研究认为, 采用“根治性脓肿切开术”对降低术后肛瘘形成率及复发具有一定作用, 且对患者术后肛门功能无明显损伤<sup>[16]</sup>。一项涉及6项研究、共479名受试者的Meta分析表明, 与单纯切开引流相比, 术中行一次性可疑瘘管切开后复发及肛瘘形成明显减少( $\text{RR} = 0.13$ , 95%CI: 0.07-0.24), 但肛门失禁的风险明显增加( $\text{RR} = 3.06$ , 95%CI: 0.7-13.34,  $P = 0.14$ )<sup>[17]</sup>。因此, 在临床上, 应选择什么样的术式是一个有争议的问题。如何在不损害肛门括约肌的前提下, 彻底引流以减少瘘管的形成及脓肿的复发是我们的治疗目标。

现代研究多认为肛周脓肿系肛腺感染所致, 肛腺是由腺体、导管和开口组成, 具有烧瓶样的形状, 肛腺开口于肛隐窝处, 肛腺位于括约肌间<sup>[18]</sup>; 肛腺感染作为肛周脓肿的始动因素, 其可能蔓延至三个方向, 第一是向下蔓延形成括约肌间脓肿或肛周皮下脓肿; 第二是蔓延至后侧方, 形成外括约肌外脓肿(坐骨直肠脓肿、直肠



表 1 患者一般资料( $n = 32$ )

	I 组(三间隙引流组)	II 组(单纯切开引流组)	I 组与 II 组比较 <i>P</i> 值
年龄(岁)	40.88 ± 15.45	38.59 ± 14.01	>0.05
性别			
男	27	26	>0.05
女	5	6	
脓肿部位			
肛周皮下脓肿	8	10	>0.05
括约肌间脓肿	9	11	
坐骨直肠脓肿	8	7	
骨盆直肠脓肿	3	2	
直肠后间隙脓肿	4	2	

表 2 两组研究结果

	单纯切开引流组	三间隙引流组	<i>P</i> 值 单纯切开引流组 vs 三间隙引流组
愈合时间(d)	38.22 ± 12.48	35.56 ± 14.10	>0.05
住院时间(d)	12.66 ± 5.08	10.41 ± 5.08	>0.05
肛瘘形成率	11 (34%)	2 (6%)	<0.01
肛门失禁	0	0	

表 3 肛瘘形成情况( $n$ )

	单纯切开引流组	三间隙引流组
性别	11	2
男	9	2
女	2	0
脓肿部位		
肛周皮下脓肿	1	0
括约肌间脓肿	1	0
坐骨直肠脓肿	3	2
直肠后间隙脓肿	2	0
骨盆直肠脓肿	2	0

后间隙脓肿); 第三是向上蔓延, 形成盆腔脓肿或高位肌间脓肿<sup>[19]</sup>。因此, 肛周脓肿可能同时发生在以上三个间隙中, 如果不能全部引流, 残余脓腔就可能会导致重复感染。TCC正是基于此肛腺感染学说的一种设计, 可完全保留括约肌并做到感染间隙充分引流, 减少术后肛瘘形成及脓肿复发<sup>[12,15]</sup>。

本研究显示, 首先两组患者一般资料对比无显著统计学差, 避免了因患者个体性差异对本次研究结果的影响。TCC组肛瘘形成率为6%, 低于单纯切开引流组34%, 差异有统计学意义, 提示TCC可降低术后肛瘘形成, 较单纯切开引流效果显著; 另外, 本项前瞻性研究中两组

的瘘管形成率均低于回顾性研究中TCC组的12%和13%及切开引流组的48%和39.1%<sup>[10,12]</sup>, 分析其原因, 回顾性研究中有几例术后形成肛瘘的患者, 其主要合并克罗恩病或长期服用激素而导致的盆腔脓肿, 而TCC理论根基于肛腺感染学说, 提示TCC对于腺源性肛周脓肿更加适用, 并且切开引流对于非腺源性肛周脓肿成功率也并不高。比较两组患者术后肛门功能, 均未出现肛门失禁的病例, 说明TCC并没有增加对肛门括约肌的损伤; 对于住院时间和创面愈合时间的无显著性差异, 这意味着三间隙引流在治愈疾病的同时, 并没有造成时间的过度延长, 未影响患者的生活质量。

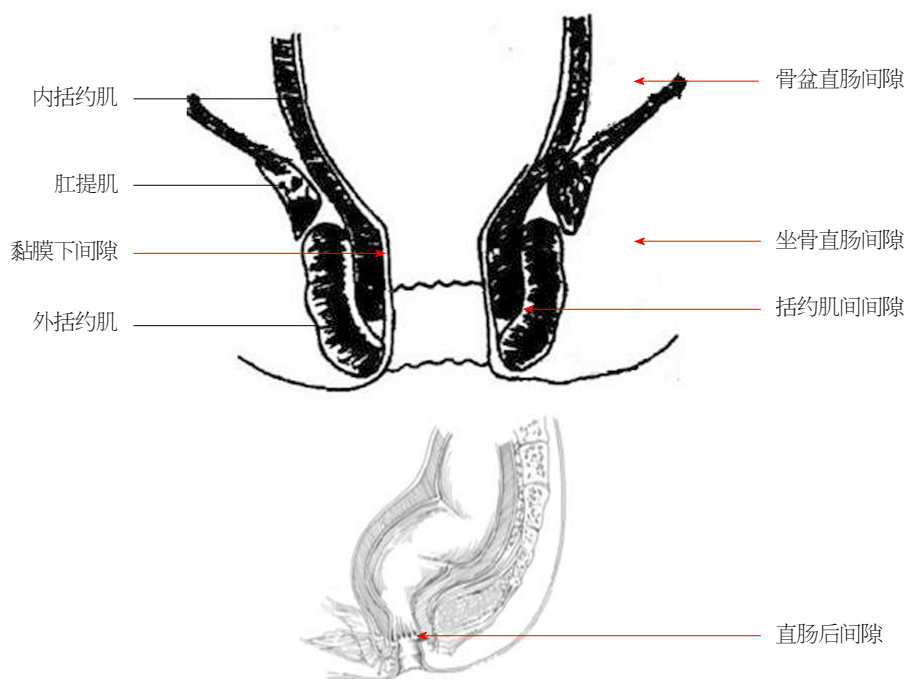


图 1 三间隙位置示意图.

综上所述, 肛周脓肿TCC是一种安全的完全肛门括约肌保留术式、能有效降低术后肛瘘形成率, 值得临床进一步推广和应用.

## 文章亮点

### 实验背景

肛痈(肛周脓肿)是一种肛周疾病, 有文献报道肛周感染是最主要的病因, 且感染可沿肛周间隙发展、蔓延. 因此明确脓肿位置、彻底引流是治疗关键. 单纯切开引流术后, 约有7%-66%的患者发生肛瘘; 为降低肛瘘形成率, 部分学者在引流时对可疑瘘管切开或挂线, 称之为“根治性脓肿手术”. 该手术术后肛门缺损或失禁的可能性大; 且患者在引流术后有一部分不发生肛瘘, 所以对全部患者行括约肌的切开缺乏理论依据.

### 实验动机

为了使腺源性肛周脓肿的治疗及肛门功能的保护达到更高水平, 我们根据肛周脓肿发病的中西医病机及生理病理机制, 设计了一种新的术式, 即“肛周脓肿三间隙引流”(three-cavity clearance, TCC), 术中充分引流潜在感染间隙, 并行全括约肌保留, 进而减少对肛门功能的损伤以及术后疾病的复发、肛瘘的发生等, 提高患者生活质量.

### 实验目标

拟通过此项纳入64例患者的前瞻性队列研究, 明确TCC

在腺源性肛周脓肿治疗中的有效性和安全性, 为这一新的手术方式提供确切的临床依据, 希望在临床得到进一步推广及应用.

### 实验方法

(1)本项目已通过伦理委员会审核, 拟定患者知情同意书、病例观察表; (2)确定本研究的标准化操作流程, 并对相关人员进行技术培训, 以使本研究开展时技术操作规范一致; (3)选取2017-01/2018-01南京中医药大学第二附属医院肛肠诊疗中心收治的行肛周脓肿TCC的32例患者的临床资料建立队列, 作为实验组; 对照组选取同期行单纯脓肿切开引流术的患者, 以年龄差距5岁以内、性别相同且脓肿部位相同与三间隙引流组进行1:1配对, 共64例. 通过临床观察、门诊复查及电话随访相结合, 比较两组患者的住院时间、创面愈合时间、肛瘘形成率及肛门失禁情况. 运用SPSS 19.0统计软件进行数据分析处理; (4)本研究拟在统一的手术方案流程下进行, 手术参与者接受相关的手术培训.

### 实验结果

三间隙引流组的肛瘘形成率为6%, 明显低于单纯切开引流组(34.0%,  $P<0.01$ ); 三间隙引流组与单纯切开引流组均未出现肛门失禁的情况; 两组的住院时间、创面愈合时间没有统计学差异( $P>0.05$ ).

### 实验结论

“肛周脓肿三间隙引流”的设想即根据脓肿形成的过

程, 将肛管直肠周围分为三个间隙, 即黏膜和内括约肌之间的黏膜下间隙、括约肌间间隙和外括约肌以外间隙, 并认为, 如果在脓肿切开时将这三个间隙同时切开、清理了其中的感染, 其可能会降低肛周脓肿术后肛痿的发生率。通过本次研究, 证明肛周脓肿TCC是一种安全的完全肛门括约肌保留术式、能有效降低术后肛痿形成率, 值得临床进一步推广和应用。

## 展望前景

现有的研究包括此次研究病例数较少, 随访时间较短, 且国外目前未见相关报道研究, 缺少了大样本临床研究证实这一理论的可行性及有效性, 所得的结论还需要大样本数据来证实。下一步我们将进行更大样本的深入研究, 为这一新的术式提供确切的临床依据, 扩大影响。

## 4 参考文献

- Zanotti C, Martinez-Puente C, Pascual I, Pascual M, Herreros D, García-Olmo D. An assessment of the incidence of fistula-in-ano in four countries of the European Union. *Int J Colorectal Dis* 2007; 22: 1459-1462 [PMID: 17554546 DOI: 10.1007/s00384-007-0334-7]
- Sainio P. Fistula-in-ano in a defined population. Incidence and epidemiological aspects. *Ann Chir Gynaecol* 1984; 73: 219-224 [PMID: 6508203]
- Ommer A, Herold A, Berg E, Fürst A, Sailer M, Schiedeck T. German S3 guideline: anal abscess. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 831-837 [PMID: 22362468 DOI: 10.1007/s00384-012-1430-x]
- 海龙, 王丽杰, 长岁. 肛周脓肿33例脓液细菌培养加药敏实验结果分析. *当代医学* 2013; 19: 62-63 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-4393.2013.8.044]
- Corman ML. 结直肠外科学. 上海: 上海科学技术出版社 2016; 243
- Ommer A, Herold A, Berg E, Fürst A, Sailer M, Schiedeck T; German Society for General and Visceral Surgery. Cryptoglandular anal fistulas. *Dtsch Arztebl Int* 2011; 108: 707-713 [PMID: 22114639 DOI: 10.3238/arztebl.2011.0707]
- Knoefel WT, Hosch SB, Hoyer B, Izbicki JR. The initial approach to anorectal abscesses: fistulotomy is safe and

- reduces the chance of recurrences. *Dig Surg* 2000; 17: 274-278 [PMID: 10867462 DOI: 10.1159/000018847]
- King SK. Should we seek a fistula-in-ano when draining a perianal abscess? *J Paediatr Child Health* 2010; 46: 273-274 [PMID: 20602669 DOI: 10.1111/j.1440-1754.2009.01694.x]
- Rosen SA, Colquhoun P, Efron J, Vernava AM 3rd, Nogueras JJ, Wexner SD, Weiss EG. Horseshoe abscesses and fistulas: how are we doing? *Surg Innov* 2006; 13: 17-21 [PMID: 16708151 DOI: 10.1177/155335060601300104]
- Chen Y, Wang X, Jin H, Zhang B, Yao H, Wu K, Wang S. [Feasibility investigation of three cavity clearance in treatment of perianal abscess]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2016; 19: 442-445 [PMID: 27112481]
- Steele SR, Kumar R, Feingold DL, Rafferty JL, Buie WD; Standards Practice Task Force of the American Society of Colon and Rectal Surgeons. Practice parameters for the management of perianal abscess and fistula-in-ano. *Dis Colon Rectum* 2011; 54: 1465-1474 [PMID: 22067173 DOI: 10.1097/DCR.0b013e31823122b3]
- Jin H, Chen Y, Zhang B. Three-cavity clearance (TCC) can decrease the fistula rate after drainage of a perianal abscess: a case-control study. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2018; 6: 221-224 [PMID: 30151207 DOI: 10.1093/gastro/gox044]
- 王颢, 傅传刚. 肛门失禁外科治疗进展. 2008中国结直肠肛门外科学会议论文集 2008; 283-287
- Ommer A, Herold A, Berg E, Fürst A, Post S, Ruppert R, Schiedeck T, Schwandner O, Strittmatter B. German S3 guidelines: anal abscess and fistula (second revised version). *Langenbecks Arch Surg* 2017; 402: 191-201 [PMID: 28251361 DOI: 10.1007/s00423-017-1563-z]
- 陈滢. 三间隙引流术治疗肛周脓肿的应用研究. 南京: 南京中医药大学 2017; 22-24
- Peng KT, Hsieh MC, Hsu WH, Li YY, Yeh CH. Anterior ilioinguinal incision for drainage of high-located perianal abscess. *Tech Coloproctol* 2013; 17: 455-458 [PMID: 23053443 DOI: 10.1007/s10151-012-0902-x]
- Malik AI, Nelson RL, Tou S. Incision and drainage of perianal abscess with or without treatment of anal fistula. *Cochrane Database Syst Rev* 2010; 7: CD006827 [PMID: 20614450 DOI: 10.1002/14651858.CD006827.pub2]
- 梅世文, 金黑鹰. 肛旁脓肿的术式选择. *中华结直肠疾病电子杂志* 2016; 5: 376-379 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-3224.2016.05.002]
- Beck DE, Roberts PL, Saclarides TJ, Senagore AJ, Stamos MJ, Wexner SD. The ASCRS Textbook of Colon and Rectal Surgery. New York: Springer 2011; 221

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红





## 5-羟色胺及其受体与肠易激综合征肠道动力异常的关系研究进展

王殷姝, 王恩康, 孟杨杨, 毕紫娟, 袁建业

王殷姝, 王恩康, 孟杨杨, 毕紫娟, 袁建业, 上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所 上海市 200032

王殷姝, 在读研究生, 从事中医药防治脾胃病的临床与基础研究.

基金项目: 国家自然科学基金面上项目, Nos. 81874391, 81473630; 上海中医药大学“杏林中青年人才培养项目-杏林学者”.

作者贡献分布: 本文由王殷姝执笔撰写; 王恩康、孟杨杨及毕紫娟查找文献资料; 袁建业审核.

通讯作者: 袁建业, 研究员, 200032, 上海市徐汇区宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院脾胃病研究所. [yuanjianye@hotmail.com](mailto:yuanjianye@hotmail.com)  
电话: 021-64385700

收稿日期: 2019-04-29  
修回日期: 2019-06-10  
接受日期: 2019-07-15  
在线出版日期: 2019-08-08

### Advances in understanding relationship between 5-hydroxytryptamine and its receptors and intestinal dysmotility in irritable bowel syndrome

Yin-Shu Wang, En-Kang Wang, Yang-Yang Meng, Zi-Juan Bi, Jian-Ye Yuan

Yin-Shu Wang, En-Kang Wang, Yang-Yang Meng, Zi-Juan Bi, Jian-Ye Yuan, Institute of Spleen and Stomach Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81874391 and No. 81473630; Shanghai University of Traditional Chinese Medicine “Xinglin Young and Middle-aged Talents Training Project - Xinglin Scholar”.

Corresponding author: Jian-Ye Yuan, Researcher, Institute of Spleen

and Stomach Diseases, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 wanping south road, xuhui district, Shanghai 200032, China. [yuanjianye@hotmail.com](mailto:yuanjianye@hotmail.com)

Received: 2019-04-29

Revised: 2019-06-10

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-08-08

### Abstract

Irritable bowel syndrome (IBS) is a common clinical functional gastrointestinal disease, which seriously affects the quality of life of patients. The pathogenesis of this disorder is unclear and may be related to the changes of visceral sensitivity, gastrointestinal motility, and the function of the brain-gut axis. 5-hydroxytryptamine (5-HT) is an important neurotransmitter, which exhibits a variety of biological effects including gastrointestinal secretion and motility regulation by binding to its receptors. The changes in the synthesis and release of 5-HT and in the expression and function of corresponding receptors are all involved in the pathophysiological process of IBS. In this paper, we will review the role of 5-HT and its receptors in intestinal dysmotility in IBS.

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

Key Words: 5-hydroxytryptamine; 5-hydroxytryptamine receptor; Irritable bowel syndrome; Intestinal dysmotility

Wang YS, Wang EK, Meng YY, Bi ZJ, Yuan JY. Advances in understanding relationship between 5-hydroxytryptamine and its receptors and intestinal dysmotility in irritable bowel syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 954-960

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/954.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i15.954>

## 摘要

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是临床上常见的一种严重影响患者生活质量的功能性胃肠疾病。本病的发病机制并不清楚, 目前认为可能与内脏敏感性、胃肠动力、脑-肠轴功能等的改变有关。5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种参与脑-肠轴改变的重要的神经递质, 通过与其受体结合, 发挥调控胃肠分泌、肠蠕动等多种生物学作用。5-HT的合成、释放及其相应受体的变化均参与了IBS的病理生理过程。本文就5-HT及其受体参与IBS肠道动力异常的相关研究进展进行综述。

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

关键词: 5-羟色胺; 5-羟色胺受体; 肠易激综合征; 肠道动力异常

**核心提要:** 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)及其受体参与了肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)肠道动力异常的发生发展, 本文对5-HT及其受体与IBS肠道动力异常的关系及以5-HT受体为靶标的治疗IBS的药物相关研究进展进行了综述。

王殷姝, 王恩康, 孟杨杨, 毕紫娟, 袁建业. 5-羟色胺及其受体与肠易激综合征肠道动力异常的关系研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(15): 954-960  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/954.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.954>

## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是一种以腹痛或腹部不适伴排便习惯改变为主要临床症状的功能性肠病, 缺乏公认的形态学和生化学异常依据。其临床表现复杂, 呈多样性, 持续性, 不仅降低了患者的生活质量, 也给社会经济发展带来了严重负担。根据Rome IV诊断标准, 可将其分为四型, 腹泻型IBS(IBM with predominant diarrhea, IBM-D), 便秘型IBS(IBM with predominant constipation, IBM-C), 混合型IBS(IBM with mixed bowel habits, IBM-M)和未定型IBS(IBM unclassified, IBM-U)。IBS的发病机制尚不完全清楚, 可能与肠道动力紊乱, 内脏感觉过敏, 脑-肠轴功能失调, 肠道菌群紊乱等因素有关, 但以肠道动力异常和内脏敏感性异常为主要特征<sup>[1]</sup>。

5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)广泛存在于中枢神经系统和外周神经系统, 它首次在肠嗜铬细胞(enterochromaffin, EC)中发现, 随后有科学家发现它存在于血清中, 可作为血管紧张素, 所以又叫做血清素。

在外周, 90%的5-HT由EC分泌, 也可由肥大细胞分泌, 是参与胃肠道运动和感知功能调节的重要信号分子。5-HT通过与不同受体亚型的相互作用调节消化系统的感觉、运动和分泌功能。5-HT受体超家族主要有7种亚型: 5-HT<sub>1-7</sub>。在这些受体中, 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>, 5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>和5-HT<sub>7</sub>受体在胃肠道均有表达, 并参与胃肠动力的调控<sup>[2]</sup>。其中对5-HT<sub>3</sub>和5-HT<sub>4</sub>受体参与胃肠道病理生理的研究最为广泛, 而对5-HT<sub>7</sub>, 5-HT<sub>1</sub>, 5-HT<sub>2</sub>受体的研究也在逐渐增多。以5-HT受体为作用靶标的一些药物已被证明能有效调节胃肠道运动功能, 而其中作用于5-HT<sub>3</sub>, 5-HT<sub>4</sub>受体的一些药物已被运用于临床。越来越多的证据显示5-HT及其受体在IBS的发生发展过程中发挥重要作用, 本文就近年来5-HT及其受体参与IBS肠道动力异常的相关研究进展进行综述。

## 1 5-HT在IBS肠道动力异常中的作用

5-HT信号通路参与调节胃肠运动。在感受到肠腔内物理与化学刺激后, EC释放5-HT, 5-HT刺激内在初级传入神经元, 使其在肌间神经丛中与上下行中间神经元形成突触, 从而调节局部的兴奋与抑制<sup>[1]</sup>。另外, 5-HT也可以直接作用于肠神经元及肌细胞等效器发挥作用。在一项对犬在体的研究中发现, 5-HT能通过增加神经效应接头处乙酰胆碱(acetylcholine, ACh)的释放刺激结肠的位相收缩; 在离体实验中也同样发现结肠收缩是由胆碱能神经元上的5-HT受体所介导, 而回肠的收缩则是由平滑肌上的5-HT受体介导的<sup>[3]</sup>。临床研究显示, IBM-C患者血浆及肠黏膜中5-HT含量降低<sup>[4]</sup>, 而IBM-D患者血浆及结肠黏膜中5-HT的含量均明显增高<sup>[5]</sup>, 血浆中升高的5-HT浓度与直肠运动加快密切相关<sup>[6]</sup>。5-HT通过与不同受体相结合启动下游的信号通路来调控胃肠运动。在IBM中, 5-HT能与胆碱能神经上的5-HT<sub>3</sub>受体和5-HT<sub>4</sub>受体结合促进兴奋性神经递质ACh的释放从而诱导平滑肌收缩, 也能与硝基能神经元上的5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>4</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>受体结合促进抑制性分子NO的释放介导平滑肌的舒张<sup>[7]</sup>。

## 2 5-HT<sub>3</sub>受体与IBS肠道动力异常

**2.1 5-HT<sub>3</sub>受体的表达与作用** 5-HT<sub>3</sub>受体是5-HT受体家族中唯一的配体门控离子通道大家族成员。目前已经发现了5种5-HT<sub>3</sub>受体亚型: 5-HT<sub>3A</sub>, 5-HT<sub>3B</sub>, 5-HT<sub>3C</sub>, 5-HT<sub>3D</sub>和5-HT<sub>3E</sub>。5-HT<sub>3</sub>受体广泛分布在中枢和外周神经系统中<sup>[8]</sup>。在胃肠道, 5-HT<sub>3</sub>受体主要在肠黏膜下和肌层神经丛的神经元细胞膜上, 也存在于环行和纵行肌的肌纤维上。另外, 肠Cajal间质细胞(interstitial cells of Cajal, ICC)以及某些肠内分泌细胞也会表达5-HT<sub>3</sub>受体。5-HT<sub>3</sub>受体

介导的5-HT效应可以通过神经元通路以及非神经元通路的激活来实现<sup>[9]</sup>. 5-HT作用于副交感神经节的5-HT<sub>3</sub>受体, 促使平滑肌收缩, 并通过刺激神经末梢ACh的释放增加肠道分泌<sup>[10]</sup>. 有研究显示在IBS-D患者结肠黏膜组织中, 5-HT<sub>3</sub>受体表达明显增加<sup>[6]</sup>, 拮抗5-HT<sub>3</sub>受体能抑制5-HT诱导的结肠收缩作用<sup>[3]</sup>.

**2.2 以5-HT<sub>3</sub>受体为靶标的治疗IBS的药物研究** 5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂是临床上治疗非IBS-C的有效药物. 它们效力强, 吸收迅速, 并且容易穿透血脑屏障. 已经证明5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂可以通过作用于中枢和/或外周的5-HT<sub>3</sub>受体, 减少肠道的分泌和运动. 在动物实验中, 5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂能抑制非选择性阳离子通道的激活, 并在体外以剂量依赖性的方式阻断5-HT<sub>3</sub>受体介导的肠黏膜下神经元的去极化.

目前, 临床上用于治疗IBS的5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂包括雷莫司琼, 昂丹司琼, 西拉司琼和阿洛司琼, 它们可以整体改善包括腹痛, 排便习惯和大便性状异常在内的IBS症状. 其主要作用机制是抑制小肠的传输和分泌, 增加直肠的顺应性. 在对IBS模型大鼠的研究中发现, 雷莫司琼可以减少排便, 改善腹泻, 同时提高疼痛阈值, 但是临床研究提示, 雷莫司琼在改善IBS-D患者腹泻的同时还会引发便秘<sup>[11]</sup>. 有研究表明昂丹司琼和阿洛司琼都可以减少小鼠结肠推进性运动复合波(colonic migrating motor complex, CMMC)的幅度, 减弱对粪球的推进力<sup>[12]</sup>. 它们的作用存在性别和部位差异, 阿洛司琼对雌性小鼠小肠的作用阈值明显低于其对雄性小鼠小肠的作用阈值, 而昂丹司琼对雄性小鼠结肠的作用阈值低于其对雌性小鼠结肠的作用阈值<sup>[13]</sup>. 雷莫司琼被认为是目前医疗市场上治疗IBS-D综合效应最佳的5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂, 因为它在两性患者中都具有出色的疗效, 且耐受性良好<sup>[14]</sup>. 鉴于目前治疗药物的局限性, 新的5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂正在不断被研发出来, 例如阿戈美拉汀, 就是这样一种能够较好地改善IBS-D患者胃肠动力和内脏敏感性异常的, 新的5-HT<sub>3</sub>受体拮抗剂<sup>[15]</sup>. 此外, 5-HT<sub>3</sub>受体部分激动剂因其引发便秘的概率较小, 也被用于治疗IBS-D<sup>[16]</sup>. Coleman等<sup>[17]</sup>人的研究表明5-HT<sub>3</sub>受体激动剂 MKC-733可延缓液体胃排空, 松弛近端胃平滑肌, 刺激空腹时胃十二指肠移行性复合运动, 加速小肠的转运.

### 3 5-HT<sub>4</sub>受体与IBS肠道动力异常

**3.1 5-HT<sub>4</sub>受体的分布与作用** 5-HT<sub>4</sub>受体属于鸟苷酸结合蛋白(G蛋白)偶联受体, 具有7个跨膜区. 在胃肠道, 5-HT<sub>4</sub>受体表达在肠道神经元, 平滑肌细胞以及上皮细胞上<sup>[18]</sup>. 在大鼠肠道和脑组织中可检测出的5-HT<sub>4</sub>受体

亚型有5-HT<sub>4a</sub>, 5-HT<sub>4b</sub>, 5-HT<sub>4c</sub>和5-HT<sub>4f</sub>. 其中, 5-HT<sub>4a</sub>和5-HT<sub>4b</sub>在大肠的各个区域以及肠神经丛中皆有显著表达<sup>[19]</sup>. 5-HT<sub>4</sub>受体在调控肠道运动中起重要作用. 当它们被激活时, 会增强肠蠕动反射. 有研究证明, 胃肠道5-HT<sub>4</sub>受体的激活可促使降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptide, CGRP), P物质(substance P, SP)和ACh等神经递质释放, 进而影响胃肠道动力及内脏感知. 位于肠神经元上的5-HT<sub>4</sub>受体能够产生兴奋性的效应, 具有促动力的作用<sup>[20]</sup>. 位于人类结肠环行平滑肌上的5-HT<sub>4</sub>受体介导了平滑肌的舒张<sup>[21,22]</sup>. 位于肠上皮细胞上的5-HT<sub>4</sub>受体则介导了包括增强推进运动, 降低内脏高敏感性在内的多种病理生理反应<sup>[23]</sup>. 有研究显示IBS-C患者中, 5-HT<sub>4</sub>受体的表达量下调<sup>[24]</sup>. 动物实验也发现5-HT<sub>4</sub>受体基因敲除小鼠表现出结肠动力减弱<sup>[25]</sup>.

**3.2 以5-HT<sub>4</sub>受体为靶标的治疗IBS的药物研究** 以5-HT<sub>4</sub>受体为作用靶标的药物已被广泛研究. 激动5-HT<sub>4</sub>受体具有促进肠道运动和抗伤害性的作用<sup>[26]</sup>, 故5-HT<sub>4</sub>受体激动剂在临床上多用于治疗功能性消化不良与IBS-C<sup>[27]</sup>. 5-HT<sub>4</sub>受体的促动力作用与增强的兴奋性神经传递有关. 目前已被开发应用的5-HT<sub>4</sub>受体激动剂包括部分激动剂替加色罗和高选择性激动剂普鲁卡必利, 以及新型非选择性5-HT<sub>4</sub>受体激动剂伦扎必利. 其中普鲁卡必利和替加色罗具有部分激动5-HT<sub>4</sub>受体的效应, 伦扎必利除了作用于5-HT<sub>4</sub>受体, 还作用于5-HT<sub>3</sub>受体. 普鲁卡必利能增强胆碱能收缩, 促进肠肌层胆碱能神经传递<sup>[28]</sup>. 伦扎必利和替加色罗可增加烟碱诱发的兴奋性突触后电流幅值<sup>[19]</sup>. 在临床试验中, 替加色罗能够加速受试者的肠道运输, 促进胃适应性, 对治疗IBS-C有良好的长期疗效和耐受性, 但是其最常见的不良反应是腹泻<sup>[29]</sup>. 普鲁卡必利与5-HT<sub>4</sub>以外的其它5-HT受体亲和力较低, 而且与心脏的K<sup>+</sup>通道的亲和力低, 故引起心率失常的副作用较小<sup>[30]</sup>.

大部分传统的5-HT<sub>4</sub>受体激动剂的作用机制是通过刺激5-HT<sub>4</sub>受体介导的ACh释放增强结肠的推进运动. 新近研发出来的一种新型5-HT<sub>4</sub>受体激动剂YKP10811, 同样具有抗伤害和促进结肠运动的作用, 但其作用机制与传统的5-HT<sub>4</sub>受体激动剂不同, 它能刺激EC释放5-HT, 从而促进结肠蠕动反射, 而且它的心血管副作用较小<sup>[31]</sup>; 另一种正在研发的5-HT<sub>4</sub>受体激动剂DA-6886是一种苯甲酰胺衍生物, 它可以明显缓解IBS-C小鼠的胃肠传输延迟状态, 治疗效果与替加色罗相似<sup>[32]</sup>; 还有一项新的药物研究表明, 5-HT<sub>4</sub>受体部分激动剂DSP-6952, 可缓解IBS内脏高敏感性, 改善实验动物的胃肠功能障碍, 且对于心血管的副作用小<sup>[33]</sup>; Camilleri等<sup>[34]</sup>



人的研究显示肠腔注射5-HT<sub>4</sub>受体激动剂ATI-7505能加快肠道推进性运动, 而5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂能阻断这一效应。在临床研究中, ATI-7505能促进受试者的全结肠运动, 且可促进降结肠排空和胃排空。由Theravance及Alfa Wasserman公司开发的新型高选择性5-HT<sub>4</sub>受体激动剂TD-5108(Velusetrage, 维司曲格), 能促进结肠传输, 目前正在处在2期临床试验阶段<sup>[35]</sup>。TD-5108对5-HT<sub>4</sub>受体的亲和力是其它5-HT受体亚型的500倍以上<sup>[36]</sup>, 对于促进狗平滑肌的收缩效应要优于替加色罗, 且其与另一个新型5-HT<sub>4</sub>受体高选择性激动剂TD-8954的心血管风险都较低<sup>[37]</sup>。

5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂具有抑制结肠收缩的效应。Ono等<sup>[38]</sup>的研究表明5-HT<sub>4</sub>受体拮抗剂SB-204070能降低大鼠远端纵行平滑肌收缩的频率。SB-207266-A能增加IBS-D患者小肠推进时间<sup>[39]</sup>, SB-207266可以减少小鼠由内源性5-HT刺激引起的排便量增多<sup>[40]</sup>。

#### 4 5-HT<sub>7</sub>受体与IBS肠动力异常

4.1 5-HT<sub>7</sub>受体的分布与作用 近年研究显示5-HT<sub>7</sub>受体与胃肠运动、感觉等功能密切相关。5-HT<sub>7</sub>受体在中枢和外周都有表达, 在中枢可表达在前脑、间脑以及小脑<sup>[41]</sup>, 在外周可表达在血管平滑肌以及胃肠道<sup>[42]</sup>。在胃肠道中, 5-HT<sub>7</sub>受体主要表达在平滑肌、肠神经元以及固有淋巴组织中<sup>[43]</sup>。Bard等<sup>[44]</sup>人首次研究了人类5-HT<sub>7</sub>受体的组织分布, 并发现人类结肠、回肠、脑组织中都有丰富的表达, 而在肝、肾和脾脏中表达相对较少。Tonini等<sup>[45]</sup>观察了豚鼠回肠中5-HT<sub>7</sub>受体的表达, 发现其可大量表达在肠肌间神经元以及少量黏膜下神经元和平滑肌细胞中。5-HT<sub>7</sub>受体对平滑肌松弛和内脏感觉具有的重要调控作用, 参与了IBS胃肠运动障碍、腹部疼痛和内脏感觉异常的发病机制。已有研究表明, 5-HT<sub>7</sub>受体不仅介导人类环行平滑肌的松弛<sup>[46]</sup>, 还通过促进下行运动神经元NO的释放介导5-HT对豚鼠回肠蠕动的抑制作用<sup>[47]</sup>。在IBS-D患者结肠黏膜组织中, 5-HT<sub>7</sub>受体mRNA的表达与正常人相比无明显差异<sup>[6]</sup>; 而在IBS-C模型大鼠中, 5-HT<sub>7</sub>受体在回肠和结肠中的表达明显增高<sup>[48]</sup>; 在IBS-D模型小鼠结肠组织中, 5-HT<sub>7</sub>受体蛋白表达量却明显下降<sup>[49]</sup>。

4.2 以5-HT<sub>7</sub>受体为靶标的治疗IBS的药物研究 5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂可能会缓解功能性胃肠病运动及感觉异常, 因此, 5-HT<sub>7</sub>受体可能是解除腹痛的一个药物靶标。已有研究显示, 5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂mesulergine能够抑制由5-HT诱导的人类结肠环行肌的舒张效应<sup>[46]</sup>; 5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂SB-269970能抑制豚鼠回肠环行肌的松弛<sup>[45]</sup>; 5-HT<sub>7</sub>受体阻断剂SB-258719能阻断结肠CMMC<sup>[43]</sup>, 将

5-HT<sub>7</sub>受体拮抗剂SB-269970微量注射到大鼠海马腹侧, 可显著减少应激引起的排便量增多<sup>[50]</sup>。

#### 5 5-HT其它受体与IBS肠动力异常

5.1 5-HT<sub>1</sub>受体与IBS肠动力异常 5-HT<sub>1</sub>受体也有诸多亚型, 其中对胃肠道功能有影响的是5-HT<sub>1A</sub>, 5-HT<sub>1B</sub>, 5-HT<sub>1D</sub>与5-HT<sub>1P</sub>等受体。Delesalle等<sup>[51]</sup>发现在马的空肠环行和纵行平滑肌中有5-HT<sub>1A</sub>受体的表达。5-HT<sub>1A</sub>受体具有介导肥大细胞脱颗粒, 释放组胺等介质的作用<sup>[52]</sup>。Tamaoki等<sup>[53]</sup>人的研究表明5-HT<sub>1A</sub>受体激动剂TZB-30878能够改善应激诱发的IBS-D模型大鼠排便量增多。Asagarsu等<sup>[54]</sup>人的研究提示5-HT<sub>1A</sub>受体激动剂TZB-30878在缓解IBS-D大鼠腹泻症状的同时还可以改善其焦虑样行为。

5.2 5-HT<sub>2</sub>受体与IBS肠动力异常 近些年来, 5-HT<sub>2</sub>受体的两个亚型受体5-HT<sub>2A</sub>与5-HT<sub>2B</sub>与胃肠运动和感知的关系引起了医学界的高度重视。5-HT<sub>2B</sub>受体在人类肠道平滑肌上有表达。Borman等<sup>[55]</sup>人研究了5-HT<sub>2B</sub>受体在控制人类结肠运动中的作用, 首次证实了人类结肠中有5-HT<sub>2B</sub>受体表达, 且发现5-HT<sub>2B</sub> mRNA在包括结肠在内的整个人类胃肠道中都有高表达, 这种受体能介导5-HT在结肠的兴奋性效应。在IBS模型大鼠结肠中, 5-HT<sub>2B</sub> mRNA的表达量上调<sup>[56]</sup>。Wouters等<sup>[57]</sup>的研究指出5-HT<sub>2B</sub>受体可在一定程度上调控ICC增殖, 促进胃肠传输功能。另有研究显示5-HT<sub>2B</sub>受体拮抗剂能改善IBS-D模型大鼠的内脏高敏感性, 但对正常的结肠收缩没有影响<sup>[56,58]</sup>, 说明5-HT<sub>2B</sub>受体拮抗剂起到治疗作用而无副作用。5-HT<sub>2A</sub>在人类外周血单核细胞上有表达, Bertoni等<sup>[59]</sup>研究发现5-HT<sub>2A</sub>受体拮抗剂ketanserin能够逆转缺血再灌注损伤引起的小鼠胃肠传输延迟, 而5-HT<sub>2A</sub>受体激活剂1-(2,5-dimethoxy-4-iodophenyl)-2-aminopropane(DOI)则可以引起胃肠传输延迟(表1)。

#### 6 结论

IBS发病机制复杂, 涉及神经、内分泌、免疫等多个方面。饮食、遗传、环境等因素都参与其中。深入探讨IBS的发病机制对研发相应的治疗药物具有重要意义。5-HT作为肠道内分泌系统最重要的神经递质之一, 其含量的改变及其受体的相关变化都参与了IBS的发病。随着研究的不断深入, 5-HT及其受体在IBS病理生理中的复杂作用正在不断得到解析, 而与5-HT及其受体相关的一些制剂也已被证明在治疗IBS中确有一定疗效。但是目前以5-HT受体为靶标的药物存在一定的治疗局限性和副作用, 一些新的药物正在不断被研发出来, 相信随着对

表 1 5-羟色胺及其受体在胃肠道中的组织分布, 功能调节及相应的药物研究

	胃肠道中的分布	功能	药物研究
5-HT	肠嗜铬细胞, 肥大细胞, 肠神经	介导胃肠蠕动和分泌反射	/
5-HT <sub>1A</sub> 受体	平滑肌 <sup>[51]</sup>	介导肥大细胞脱颗粒, 释放组胺 <sup>[52]</sup>	激动剂: TZX-30878 <sup>[53, 54]</sup>
5-HT <sub>2A</sub> 受体	外周血单核细胞	抑制促炎细胞因子 $\alpha$ 释放, 引起胃肠传输延迟 <sup>[59]</sup>	激动剂: DOI <sup>[59]</sup> ; 拮抗剂: ketanserin <sup>[59]</sup>
5-HT <sub>2B</sub> 受体	平滑肌	促进胃肠传输, 促进内脏敏感性 <sup>[56, 57]</sup>	拮抗剂: Compound 15 <sup>[56, 58]</sup> , RS-127445 <sup>[56, 58]</sup>
5-HT <sub>3</sub> 受体	神经元细胞膜, 肌纤维, 肠间质Cajal细胞, 肠内分泌细胞 <sup>[10]</sup>	促进平滑肌收缩, 增加分泌	拮抗剂: 雷莫司琼 <sup>[11, 14]</sup> , 昂丹司琼 <sup>[12]</sup> , 阿洛司琼 <sup>[12]</sup> , 西兰司琼 <sup>[61]</sup> , 阿戈美拉汀 <sup>[15]</sup> ; 激动剂: MKC-733 <sup>[17]</sup>
5-HT <sub>4</sub> 受体	肠道神经元, 平滑肌细胞, 上皮细胞 <sup>[18]</sup>	调控肠道运动 <sup>[20-23]</sup> , 降低内脏敏感性 <sup>[23]</sup>	激动剂: 替加色罗 <sup>[19, 29]</sup> , 伦扎必利 <sup>[19]</sup> , 普鲁卡必利 <sup>[28, 30]</sup> , YKP10811 <sup>[31]</sup> , DA-6886 <sup>[32]</sup> , DSP-6952 <sup>[33]</sup> , ATI-7505 <sup>[34]</sup> , TD-5108 <sup>[35-37]</sup> , TD-8954 <sup>[37]</sup> ; 拮抗剂: SB-204070 <sup>[38]</sup> , SB-207266-A <sup>[39]</sup> , SB-207266 <sup>[40]</sup>
5-HT <sub>7</sub> 受体	平滑肌, 肠神经元, 固有淋巴组织 <sup>[43]</sup>	松弛平滑肌, 抑制蠕动 <sup>[46, 47]</sup>	拮抗剂: SB-258719 <sup>[43]</sup> , SB-269970 <sup>[45]</sup> , mesulergine <sup>[46]</sup>

5-HT: 5-羟色胺。

5-HT, 5-HT各受体亚型更加透彻地研究, 一定会有助于我们进一步认识包括肠动力异常在内的IBS的具体发病机制, 并为治疗IBS提供更多的手段。

7 参考文献

1 Pan H, Gershon MD. Activation of intrinsic afferent pathways in submucosal ganglia of the guinea pig small intestine. *J Neurosci* 2000; 20: 3295-3309 [PMID: 10777793]

2 俞媛洁, 陈继红. 5-羟色胺与胃肠动力障碍的关系. *医学综述* 2016; 22: 636-639

3 Graf S, Sarna SK. 5-HT-induced colonic contractions: enteric locus of action and receptor subtypes. *Am J Physiol* 1997; 273: G68-G74 [PMID: 9252511 DOI: 10.1152/ajpgi.1997.273.1.G68]

4 El-Salhy M, Gilja OH. Abnormalities in ileal stem, neurogenin 3, and enteroendocrine cells in patients with irritable bowel syndrome. *BMC Gastroenterol* 2017; 17: 90 [PMID: 28764761 DOI: 10.1186/s12876-017-0643-4]

5 Bearcroft CP, Perrett D, Farthing MJ. Postprandial plasma 5-hydroxytryptamine in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome: a pilot study. *Gut* 1998; 42: 42-46 [PMID: 9505884 DOI: 10.1136/gut.42.1.42]

6 Yu FY, Huang SG, Zhang HY, Ye H, Chi HG, Zou Y, Lv RX, Zheng XB. Comparison of 5-hydroxytryptophan signaling pathway characteristics in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome and ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 3451-3459 [PMID: 27022227 DOI: 10.3748/wjg.v22.i12.3451]

7 Crowell MD. Role of serotonin in the pathophysiology of the irritable bowel syndrome. *Br J Pharmacol* 2004; 141: 1285-1293 [PMID: 15100164 DOI: 10.1038/sj.bjp.0705762]

8 Sveshnikov DS, Torshin VI, Smirnov VM, Kuchuk AV, Myasnikov IL. [The significance of different 5-HT-receptors in regulation of gastrointestinal motility]. *Patol Fiziol Eksp Ter* 2014; 45-51 [PMID: 25536790]

9 Glatzle J, Sternini C, Robin C, Zittel TT, Wong H, Reeve JR Jr, Raybould HE. Expression of 5-HT<sub>3</sub> receptors in the rat gastrointestinal tract. *Gastroenterology* 2002; 123: 217-226 [PMID: 12105850 DOI: 10.1053/gast.2002.34245]

10 Marciani L, Wright J, Foley S, Hoad CL, Totman JJ, Bush D, Hartley C, Armstrong A, Manby P, Blackshaw E, Perkins AC, Gowland PA, Spiller RC. Effects of a 5-HT(3) antagonist, ondansetron, on fasting and postprandial small bowel water content assessed by magnetic resonance imaging. *Aliment Pharmacol Ther* 2010; 32: 655-663 [PMID: 20626735 DOI: 10.1111/j.1365-2036.2010.04395.x]

11 Fukudo S, Kinoshita Y, Okumura T, Ida M, Akiho H, Nakashima Y, Nishida A, Haruma K. Ramosetron Reduces Symptoms of Irritable Bowel Syndrome With Diarrhea and Improves Quality of Life in Women. *Gastroenterology* 2016; 150: 358-66.e8 [PMID: 26551550 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.10.047]

12 Heredia DJ, Dickson EJ, Bayguinov PO, Hennig GW, Smith TK. Localized release of serotonin (5-hydroxytryptamine) by a fecal pellet regulates migrating motor complexes in murine colon. *Gastroenterology* 2009; 136: 1328-1338 [PMID: 19138686 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.12.010]

13 Bush TG, Spencer NJ, Watters N, Sanders KM, Smith TK. Effects of alosetron on spontaneous migrating motor complexes in murine small and large bowel in vitro. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 281: G974-G983 [PMID: 11557518 DOI: 10.1152/ajpgi.2001.281.4.G974]

14 Binienda A, Storr M, Fichna J, Salaga M. Efficacy and Safety of Serotonin Receptor Ligands in the Treatment of Irritable Bowel Syndrome: A Review. *Curr Drug Targets* 2018; 19: 1774-1781 [PMID: 29284389 DOI: 10.2174/1389450119666171227225408]

15 Ng QX, Soh AYS, Lim DY, Yeo WS. Agomelatine, a novel therapeutic option for the management of irritable bowel syndrome. *J Clin Pharm Ther* 2018; 43: 752-756 [PMID: 30014556 DOI: 10.1111/jcpt.12749]

16 Moore NA, Sargent BJ, Manning DD, Guzzo PR. Partial agonism of 5-HT<sub>3</sub> receptors: a novel approach to the symptomatic treatment of IBS-D. *ACS Chem Neurosci* 2013; 4: 43-47 [PMID: 23342199 DOI: 10.1021/cn300166c]

17 Coleman NS, Marciani L, Blackshaw E, Wright J, Parker M, Yano T, Yamazaki S, Chan PQ, Wilde K, Gowland PA, Perkins AC, Spiller RC. Effect of a novel 5-HT<sub>3</sub> receptor agonist MKC-733 on upper gastrointestinal motility in humans.

- Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 1039-1048 [PMID: 14616171 DOI: 10.1046/j.1365-2036.2003.01797.x]
- 18 Spohn SN, Bianco F, Scott RB, Keenan CM, Linton AA, O'Neill CH, Bonora E, Dickey A, Lavoie B, Wilcox RL, MacNaughton WK, De Giorgio R, Sharkey KA, Mawe GM. Protective Actions of Epithelial 5-Hydroxytryptamine 4 Receptors in Normal and Inflamed Colon. *Gastroenterology* 2016; 151: 933-944.e3 [PMID: 27480173 DOI: 10.1053/j.gastro.2016.07.032]
  - 19 Liu M, Geddis MS, Wen Y, Setlik W, Gershon MD. Expression and function of 5-HT<sub>4</sub> receptors in the mouse enteric nervous system. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G1148-G1163 [PMID: 16037544 DOI: 10.1152/ajpgi.00245.2005]
  - 20 De Ponti F, Tonini M. Irritable bowel syndrome: new agents targeting serotonin receptor subtypes. *Drugs* 2001; 61: 317-332 [PMID: 11293643 DOI: 10.2165/00003495-200161030-00001]
  - 21 Tam FS, Hillier K, Bunce KT, Grossman C. Differences in response to 5-HT<sub>4</sub> receptor agonists and antagonists of the 5-HT<sub>4</sub>-like receptor in human colon circular smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1995; 115: 172-176 [PMID: 7647972]
  - 22 McLean PG, Coupar IM. Stimulation of cyclic AMP formation in the circular smooth muscle of human colon by activation of 5-HT<sub>4</sub>-like receptors. *Br J Pharmacol* 1996; 117: 238-239 [PMID: 8789374]
  - 23 Hoffman JM, Tyler K, MacEachern SJ, Balemba OB, Johnson AC, Brooks EM, Zhao H, Swain GM, Moses PL, Galligan JJ, Sharkey KA, Greenwood-Van Meerveld B, Mawe GM. Activation of colonic mucosal 5-HT<sub>4</sub> receptors accelerates propulsive motility and inhibits visceral hypersensitivity. *Gastroenterology* 2012; 142: 844-854.e4 [PMID: 22226658 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.12.041]
  - 24 Zhao JM, Chen L, Zhou CL, Shi Y, Li YW, Shang HX, Wu LY, Bao CH, Dou CZ, Wu HG. Comparison of Electroacupuncture and Moxibustion for Relieving Visceral Hypersensitivity in Rats with Constipation-Predominant Irritable Bowel Syndrome. *Evid Based Complement Alternat Med* 2016; 2016: 9410505 [PMID: 27738447 DOI: 10.1155/2016/9410505]
  - 25 Mawe GM, Hoffman JM. Serotonin signalling in the gut-functions, dysfunctions and therapeutic targets. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 473-486 [PMID: 23797870 DOI: 10.1038/nrgastro.2013.105]
  - 26 Malagelada C, Nieto A, Mendez S, Accarino A, Santos J, Malagelada JR, Azpiroz F. Effect of prucalopride on intestinal gas tolerance in patients with functional bowel disorders and constipation. *J Gastroenterol Hepatol* 2017; 32: 1457-1462 [PMID: 28090679 DOI: 10.1111/jgh.13733]
  - 27 Washabau RJ. Gastrointestinal motility disorders and gastrointestinal prokinetic therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 2003; 33: 1007-1028, vi [PMID: 14552159]
  - 28 Pauwelyn V, Lefebvre RA. 5-HT<sub>4</sub> receptors facilitate cholinergic neurotransmission throughout the murine gastrointestinal tract. *Neurogastroenterol Motil* 2017; 29 [PMID: 28332745 DOI: 10.1111/nmo.13064]
  - 29 Layer P, Keller J, Mueller-Lissner S, Ruegg P, Loeffler H. Tegaserod: long-term treatment for irritable bowel syndrome patients with constipation in primary care. *Digestion* 2005; 71: 238-244 [PMID: 16024929 DOI: 10.1159/000087049]
  - 30 Quigley EMM. Prokinetics in the Management of Functional Gastrointestinal Disorders. *Curr Gastroenterol Rep* 2017; 19: 53 [PMID: 28887755 DOI: 10.1007/s11894-017-0593-6]
  - 31 Nam Y, Min YS, Sohn UD. Recent advances in pharmacological research on the management of irritable bowel syndrome. *Arch Pharm Res* 2018; 41: 955-966 [PMID: 30132170 DOI: 10.1007/s12272-018-1068-5]
  - 32 Lee MJ, Cho KH, Park HM, Sung HJ, Choi S, Im W. Pharmacological profile of DA-6886, a novel 5-HT<sub>4</sub> receptor agonist to accelerate colonic motor activity in mice. *Eur J Pharmacol* 2014; 735: 115-122 [PMID: 24769304 DOI: 10.1016/j.ejphar.2014.03.061]
  - 33 Mine Y, Itakura T, Oku S, Asada R, Shimizu I. DSP-6952, a novel 5-HT<sub>4</sub> receptor partial agonist, inhibits visceral hypersensitivity and ameliorates gastrointestinal dysfunction in experimental animals. *Eur J Pharmacol* 2018; 826: 123-132 [PMID: 29428470 DOI: 10.1016/j.ejphar.2018.02.005]
  - 34 Camilleri M, Vazquez-Roque MI, Burton D, Ford T, McKinzie S, Zinsmeister AR, Druzgala P. Pharmacodynamic effects of a novel prokinetic 5-HT receptor agonist, ATI-7505, in humans. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 30-38 [PMID: 17187586 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2006.00865.x]
  - 35 Jiang C, Xu Q, Wen X, Sun H. Current developments in pharmacological therapeutics for chronic constipation. *Acta Pharm Sin B* 2015; 5: 300-309 [PMID: 26579459 DOI: 10.1016/j.japsb.2015.05.006]
  - 36 Manini ML, Camilleri M, Goldberg M, Sweetser S, McKinzie S, Burton D, Wong S, Kitt MM, Li YP, Zinsmeister AR. Effects of Velusetrag (TD-5108) on gastrointestinal transit and bowel function in health and pharmacokinetics in health and constipation. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 42-49, e7-e8 [PMID: 19691492 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01378.x]
  - 37 Beattie DT, Higgins DL, Ero MP, Amagasa SM, Vickery RG, Kersey K, Hopkins A, Smith JA. An in vitro investigation of the cardiovascular effects of the 5-HT<sub>4</sub> receptor selective agonists, velusetrag and TD-8954. *Vascul Pharmacol* 2013; 58: 150-156 [PMID: 23201772 DOI: 10.1016/j.vph.2012.11.002]
  - 38 Ono S, Mitsui R, Karaki S, Kuwahara A. Muscarinic and 5-HT<sub>4</sub> receptors participate in the regulation of the frequency of spontaneous contractions of the longitudinal muscle in rat distal colon. *Biomed Res* 2005; 26: 173-177 [PMID: 16152733 DOI: 10.2220/biomedres.26.173]
  - 39 Houghton LA, Jackson NA, Whorwell PJ, Cooper SM. 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonism in irritable bowel syndrome: effect of SB-207266-A on rectal sensitivity and small bowel transit. *Aliment Pharmacol Ther* 1999; 13: 1437-1444 [PMID: 10571599]
  - 40 Sanger GJ, Yoshida M, Yahyah M, Kitazumi K. Increased defecation during stress or after 5-hydroxytryptophan: selective inhibition by the 5-HT<sub>4</sub> receptor antagonist, SB-207266. *Br J Pharmacol* 2000; 130: 706-712 [PMID: 10821802 DOI: 10.1038/sj.bjp.0703367]
  - 41 Volpicelli F, Speranza L, di Porzio U, Crispino M, Perrone-Capano C. The serotonin receptor 7 and the structural plasticity of brain circuits. *Front Behav Neurosci* 2014; 8: 318 [PMID: 25309369 DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00318]
  - 42 Gellynck E, Heynink K, Andressen KW, Haegeman G, Levy FO, Vanhoenacker P, Van Craenenbroeck K. The serotonin 5-HT<sub>7</sub> receptors: two decades of research. *Exp Brain Res* 2013; 230: 555-568 [PMID: 24042216 DOI: 10.1007/s00221-013-3694-y]
  - 43 Kim JJ, Khan WI. 5-HT<sub>7</sub> receptor signaling: improved therapeutic strategy in gut disorders. *Front Behav Neurosci* 2014; 8: 396 [PMID: 25565996 DOI: 10.3389/fnbeh.2014.00396]
  - 44 Bard JA, Zgombick J, Adham N, Vaysse P, Branchek TA, Weinshank RL. Cloning of a novel human serotonin receptor (5-HT<sub>7</sub>) positively linked to adenylate cyclase. *J Biol Chem* 1993; 268: 23422-23426 [PMID: 8226867]
  - 45 Tonini M, Vicini R, Cervio E, De Ponti F, De Giorgio R, Barbara G, Stanghellini V, Dellabianca A, Sternini C. 5-HT<sub>7</sub> receptors modulate peristalsis and accommodation in the guinea pig ileum. *Gastroenterology* 2005; 129: 1557-1566 [PMID: 16285955 DOI: 10.1053/j.gastro.2005.08.005]
  - 46 Prins NH, Briejer MR, Van Bergen PJ, Akkermans LM, Schuurkes JA. Evidence for 5-HT<sub>7</sub> receptors mediating relaxation of human colonic circular smooth muscle. *Br J Pharmacol* 1999; 128: 849-852 [PMID: 10556917 DOI: 10.1038/sj.bjp.0702762]



- 47 Tuladhar BR, Ge L, Naylor RJ. 5-HT<sub>7</sub> receptors mediate the inhibitory effect of 5-HT on peristalsis in the isolated guinea-pig ileum. *Br J Pharmacol* 2003; 138: 1210-1214 [PMID: 12711620 DOI: 10.1038/sj.bjp.0705184]
- 48 Zou BC, Dong L, Wang Y, Wang SH, Cao MB. Expression and role of 5-HT<sub>7</sub> receptor in brain and intestine in rats with irritable bowel syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 2069-2074 [PMID: 18167178]
- 49 Zhu H, Xiao X, Chai Y, Li D, Yan X, Tang H. MiRNA-29a modulates visceral hyperalgesia in irritable bowel syndrome by targeting HTR<sub>7</sub>. *Biochem Biophys Res Commun* 2019; 511: 671-678 [PMID: 30827505 DOI: 10.1016/j.bbrc.2019.02.126]
- 50 Ohmura Y, Yoshida T, Konno K, Minami M, Watanabe M, Yoshioka M. Serotonin 5-HT<sub>7</sub> Receptor in the Ventral Hippocampus Modulates the Retrieval of Fear Memory and Stress-Induced Defecation. *Int J Neuropsychopharmacol* 2016; 19: [PMID: 26647382 DOI: 10.1093/ijnp/pyv131]
- 51 Delesalle C, van Acker N, Claes P, Deprez P, de Smet I, Dewulf J, Lefebvre RA. Contractile effects of 5-hydroxytryptamine (5-HT) in the equine jejunum circular muscle: functional and immunohistochemical identification of a 5-HT<sub>1A</sub>-like receptor. *Equine Vet J* 2008; 40: 313-320 [PMID: 18267888 DOI: 10.2746/042516408X278193]
- 52 Wang GD, Wang XY, Zou F, Qu M, Liu S, Fei G, Xia Y, Needleman BJ, Mikami DJ, Wood JD. Mast cell expression of the serotonin<sub>1A</sub> receptor in guinea pig and human intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2013; 304: G855-G863 [PMID: 23518679 DOI: 10.1152/ajpgi.00421.2012]
- 53 Tamaoki S, Yamauchi Y, Nakano Y, Sakano S, Asagarsu A, Sato M. Pharmacological properties of 3-amino-5,6,7,8-tetrahydro-2-[4-[4-(quinolin-2-yl)piperazin-1-yl]butyl]quinazolin-4(3H)-one (TZB-30878), a novel therapeutic agent for diarrhea-predominant irritable bowel syndrome (IBS) and its effects on an experimental IBS model. *J Pharmacol Exp Ther* 2007; 322: 1315-1323 [PMID: 17540858 DOI: 10.1124/jpet.107.123729]
- 54 Asagarsu A, Matsui T, Hayashi H, Tamaoki S, Yamauchi Y, Minato K, Sato M. Discovery of a novel 5-HT<sub>3</sub> antagonist/5-HT<sub>1A</sub> agonist 3-amino-5,6,7,8-tetrahydro-2-[4-[4-(quinolin-2-yl)piperazin-1-yl]butyl]quinazolin-4(3H)-one (TZB-30878) as an orally bioavailable agent for irritable bowel syndrome. *J Med Chem* 2010; 53: 7549-7563 [PMID: 20931963 DOI: 10.1021/jm1002292]
- 55 Borman RA, Tilford NS, Harmer DW, Day N, Ellis ES, Sheldrick RL, Carey J, Coleman RA, Baxter GS. 5-HT<sub>2B</sub> receptors play a key role in mediating the excitatory effects of 5-HT in human colon in vitro. *Br J Pharmacol* 2002; 135: 1144-1151 [PMID: 11877320 DOI: 10.1038/sj.bjp.0704571]
- 56 Zhou Y, Ma J, Lin X, Huang XP, Wu K, Huang N. Structure-Based Discovery of Novel and Selective 5-Hydroxytryptamine 2B Receptor Antagonists for the Treatment of Irritable Bowel Syndrome. *J Med Chem* 2016; 59: 707-720 [PMID: 26700945 DOI: 10.1021/acs.jmedchem.5b01631]
- 57 Wouters MM, Gibbons SJ, Roeder JL, Distad M, Ou Y, Stregge PR, Szurszewski JH, Farrugia G. Exogenous serotonin regulates proliferation of interstitial cells of Cajal in mouse jejunum through 5-HT<sub>2B</sub> receptors. *Gastroenterology* 2007; 133: 897-906 [PMID: 17854596 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.06.017]
- 58 O'Mahony SM, Bulmer DC, Coelho AM, Fitzgerald P, Bongiovanni C, Lee K, Winchester W, Dinan TG, Cryan JF. 5-HT<sub>2B</sub> receptors modulate visceral hypersensitivity in a stress-sensitive animal model of brain-gut axis dysfunction. *Neurogastroenterol Motil* 2010; 22: 573-578, e124 [PMID: 20003079 DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01432.x]
- 59 Bertoni S, Ghizzardi P, Cattaruzza F, Ballabeni V, Impicciatore M, Tognolini M, Lagrasta CA, Barocelli E. Evidence for the involvement of 5-HT<sub>2A</sub> receptors in mild mesenteric ischemia/reperfusion dysfunctions in mice. *Pharmacol Res* 2007; 56: 550-555 [PMID: 18024056 DOI: 10.1016/j.phrs.2007.10.004]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 艾司奥美拉唑联合康复新治疗幽门螺杆菌阴性胃溃疡的疗效研究

马丽丽, 罗庆盛, 陶金红

马丽丽, 罗庆盛, 陶金红, 天津医科大学第二中医院中医科 天津市 300211

马丽丽, 主治医师, 研究方向为老年慢性病消化方面.

作者贡献分布: 此课题设计、研究过程、数据分析均由马丽丽、罗庆盛及陶金红共同完成; 本论文写作由马丽丽完成.

通讯作者: 马丽丽, 主治医师, 300211, 天津市河西区平江道23号, 天津医科大学第二医院中医科. [cuyww94@163.com](mailto:cuyww94@163.com)

收稿日期: 2019-05-07

修回日期: 2019-07-13

接受日期: 2019-07-26

在线出版日期: 2019-08-08

## Esomeprazole combined with Kangfuxin for treatment of *Helicobacter pylori* negative gastric ulcer: Efficacy and impact on inflammatory factor expression

Li-Li Ma, Sheng-Qing Luo, Hong-Jin Tao

Li-Li Ma, Sheng-Qing Luo, Hong-Jin Tao, Department of Traditional Chinese Medicine, the Second Traditional Chinese Medicine Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Corresponding author: Li-Li Ma, Attending Physician, Department of Traditional Chinese Medicine, the Second Traditional Chinese Medicine Hospital of Tianjin Medical University, 23 Pingjiang Road, Hexi District, Tianjin 300211, China. [cuyww94@163.com](mailto:cuyww94@163.com)

Received: 2019-05-07

Revised: 2019-07-13

Accepted: 2019-07-26

Published online: 2019-08-08

## Abstract

### BACKGROUND

After the discovery of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*)

in the last century, more than 90% of people with peptic ulcer were found to be infected with *H. pylori*. However, epidemiological studies in recent years have shown that *H. pylori* is not so closely related to peptic ulcer. More and more *H. pylori* negative gastric ulcers have been found around the world, and in recent years they have been increasing year by year. This may be related to the extensive application of *H. pylori* eradication therapy in recent years and the resulting decrease of *H. pylori* infection rate. *H. pylori* negative gastric ulcer and *H. pylori* positive ulcer may have independent pathophysiological mechanisms.

### AIM

To investigate the efficacy of esomeprazole combined with Kangfuxin in the treatment of *H. pylori* negative gastric ulcer and the influence on inflammatory factors.

### METHODS

One hundred and twenty-eight patients with gastric ulcer treated at our hospital from May 2017 to May 2018 were randomly divided into an observation group and a control group. The control group was treated with esomeprazole and the observation group was treated with esomeprazole combined with Kangfuxin. The clinical efficacy of the two groups was evaluated and the levels of interleukin (IL)-1 $\beta$  and IL-6 were measured. The levels of tumor necrosis factor (TNF)- $\alpha$ , interferon (IFN)- $\gamma$ , and C-reactive protein (CRP), clinical symptom scores, adverse reactions, and recurrence were also recorded.

### RESULTS

Compared with the values before treatment, the

scores of clinical symptoms and total clinical symptoms in the two groups decreased significantly after treatment ( $P < 0.05$ ). After treatment, the scores of clinical symptoms and total clinical symptoms in the observation group decreased more significantly compared with the control group ( $P < 0.05$ ). After treatment, the levels of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , and CRP decreased significantly in both groups compared with the values before treatment ( $P < 0.05$ ). In the observation group, the scores of IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ , and IFN- $\gamma$  decreased more significantly than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The total effective rate in the observation group (93.75%) was significantly higher than that of the control group (73.44%), although there was no significant difference in adverse reactions or ulcer recurrence between the two groups ( $P > 0.05$ ).

## CONCLUSION

Esomeprazole combined with Kangfuxin is effective in the treatment of *H. pylori* negative gastric ulcer and can significantly reduce the level of inflammatory factors, reduce the body's immune response, promote the early healing of ulcer, and improve the prognosis of patients.

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

Key Words: Esomeprazole; Kangfuxin; *Helicobacter pylori* negative gastric ulcer; Inflammatory factors

Ma LL, Luo SQ, Tao HJ. Esomeprazole combined with Kangfuxin for treatment of *Helicobacter pylori* negative gastric ulcer: Efficacy and impact on inflammatory factor expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 961-966  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/961.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.961>

## 摘要

### 背景

上世纪发现幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)后,人们发现消化性溃疡90%以上的人均伴有*H. pylori*感染。然而近年来的流行病学研究显示,*H. pylori*与消化性溃疡并非联系那么密切,越来越多的*H. pylori*阴性胃溃疡在世界各地发现,且近年来呈逐年上升趋势。这可能与近年来*H. pylori*根治疗法的广泛应用,*H. pylori*感染率的下降有关,也可能是*H. pylori*阴性胃溃疡与*H. pylori*阳性溃疡具有独立的病理生理机制。

### 目的

探讨艾司奥美拉唑联合康复新治疗*H. pylori*阴性胃溃疡的疗效及炎症因子表达影响。

## 方法

选择天津医科大学第二医院2017-05/2018-05消化内科门诊及住院收治的胃溃疡患者共128例作为研究对象,按照随机数字法将其分为观察组和对照组,观察组对照组给予艾司奥美拉唑治疗,观察组在对照组的基础上给予康复新治疗,评价两者临床疗效、测量炎症因子白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ),白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、 $\gamma$ -干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )及C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)水平,临床症状评分,观察有无不良反应和复发情况。

## 结果

组内比较,两组患者经治疗后临床症状积分均较治疗前明显下降( $P < 0.05$ ),治疗后观察组各临床症状积分及总临床症状积分均较对照组明显下降( $P < 0.05$ );治疗后IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP均较治疗前明显下降( $P < 0.05$ ),观察组IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP均显著低于对照组( $P < 0.05$ );观察组总有效率为(93.75%)显著高于对照组有效率(73.44%);两组不良反应和溃疡复发情况无统计学差异( $P > 0.05$ )。

## 结论

艾司奥美拉唑联合康复新治疗*H. pylori*阴性胃溃疡的疗效明显,可显著降低炎症因子水平,促进溃疡的早期愈合,改善患者的预后。

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

关键词: 艾司奥美拉唑; 康复新; 幽门螺杆菌阴性胃溃疡; 炎症因子

**核心提要:** 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阴性胃溃疡采用艾司奥美拉唑联合康复新溶液治疗,可发现炎症因子(interleukin-1 $\beta$ 、interleukin-6、tumor necrosis factor- $\alpha$ 、interferon- $\gamma$ 、C-reactive protein)水平明显下降,临床症状积分明显降低,对目前临床上越来越多的*H. pylori*阴性胃溃疡的治疗有一定的参考意义。

马丽丽, 罗庆盛, 陶金红. 艾司奥美拉唑联合康复新治疗幽门螺杆菌阴性胃溃疡的疗效研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(15): 961-966  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/961.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.961>

## 0 引言

胃溃疡是消化科常见的一种胃肠道慢性疾病,具有发病率高、病程长、复发率高等特点,且胃溃疡病变常侵犯黏膜全层且深达黏膜肌层,发病后具有较高导致如消化



道出血、穿孔、梗阻等并发症的风险,若不积极治疗可严重威胁患者的生命健康<sup>[1,2]</sup>。现代研究认为胃溃疡的发病主要与饮酒、吸烟、胃酸侵袭、心理应激、蛋白酶攻击、遗传及幽门螺杆菌感染(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)等有关,其中*H. pylori*感染在国内人群中可占70%左右,仍有部分患者*H. pylori*为阴性<sup>[3,4]</sup>。对于*H. pylori*阴性的胃溃疡患者,治疗上主要以抑制胃酸分泌、保护胃黏膜、促进防御因子和抑制攻击因子为主要手段<sup>[5]</sup>。本研究通过对幽门螺杆菌阴性胃溃疡采用艾司奥美拉唑联合康复新治疗,取得了良好的疗效,现将结果报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择天津医科大学第二医院2017-05/2018-05消化内科门诊及住院收治的胃溃疡患者共128例作为研究对象。入选标准: (1)均符合人民卫生出版社《内科学》第八版教材及《胃肠道疾病内镜诊断与治疗学》中关于胃溃疡的诊断标准; (2)均行胃镜下检查证实为活动性胃溃疡(AI期或A2期); (3)14C呼气试验证实*H. pylori*阴性或者通过胃镜检查取胃黏膜组织快速尿素酶试验*H. pylori*阴性; (4)年龄18-70岁之间; (5)自愿参加本研究,服从性好,能坚持按照本研究要求按时服用药物。排除标准: (1)胃部巨大溃疡(溃疡直径>2.5 cm); (2)对本研究药物(艾司奥美拉唑联合康复新)不耐受或过敏; (3)有幽门梗阻及溃疡穿孔等严重溃疡并发症; (4)治疗前1 mo有外科手术史或者既往有上消化道手术病史; (5)有严重的心、肝、肾、肺、脑等重要脏器功能受损患者; (6)有严重血液疾病、恶性肿瘤及严重内分泌系统疾病患者; (7)治疗前1 wk有服用其他质子泵抑制剂、铋剂或有关中药抑酸制剂等。本研究所有患者均经医院伦理委员会批准并签署知情同意书。根据患者就诊序号编号,按照随机数字法将其随机分为观察组和对照组,每组64例,其中观察组男36例,女28例,年龄21-70岁,平均年龄54.65岁±11.63岁,病程4 mo-14年,平均病程4.65年±2.36年,对照组64例,男34例,女30例,年龄22-70,平均年龄55.31岁±11.42岁,病程4 mo-14年,平均5.10年±2.49年。两组患者在年龄、性别、病程等比较无统计学差异( $P>0.05$ ),具有可比性。

### 1.2 方法

**1.2.1 治疗方法:** 两组患者均要求戒除不良生活习惯(如吸烟、饮酒、熬夜)及饮食习惯(如吃辛辣刺激食物);保持心情舒畅,若伴有活动性出血、则给予止血、抑酸等相关治疗后,待活动性出血消失后再进一步治疗。在以上基础上对照组单纯给予艾司奥美拉唑(国药准字H20046379,阿斯利康制药有限公司生产,规格:20 mg×7片)20 mg, 1/d, 服用4 wk。对照组在观察组的基础上加

用康复新液(国药准字Z51021834,四川好医生攀西药业有限责任公司生产,规格:50 mL×2瓶)10 mL,口服,3/d,连续用药4 wk。

**1.2.2 观察指标:** (1)分别与患者治疗后4 wk复查胃镜,胃镜下观察溃疡愈合情况; (2)分别与治疗前后清晨抽取静脉血清采用酶联免疫吸附法(enzyme-linked immune sorbent assay, ELISA)测量IL-1 $\beta$ 、IL-6及TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ , ELISA试剂盒均购自江莱生物科技有限公司,严格按试剂盒内的说明书操作、CRP测量采用免疫比浊法; (3)记录两组患者在治疗期间出现的各类不良反应,同时分析是否与本次研究服用药物有关; (4)治疗结束半年内对所有患者进行跟踪随访,观察统计患者胃溃疡复发情况; (5)于治疗前及治疗第4周观察患者临床症状(腹胀、腹痛、嗝气、纳差、肢冷、反酸、呕血、黑便等)的变化,并按症状的轻重分别记为0分、1分、2分、3分。

**1.2.3 疗效评价:** 参照内镜下胃溃疡判定标准: (1)治愈: 溃疡及周围炎症完全消失; (2)显效: 溃疡消失,但仍存在炎症,内镜下分期为S1、S2表现,伴瘢痕周围黏膜水肿充血; (3)有效: 溃疡面积缩小达到50%以上,内镜下分期为H1、H2; (4)无效: 溃疡面积缩小50%以下,内镜下分期为A1、A2或H1、H2。总有效率=痊愈+有效+显效<sup>[6]</sup>。

**统计学处理** 用SPSS 18.0统计软件进行分析,对计量资料(临床症状评分、IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP)采用mean±SD,行成组 $t$ 检验,对计数资料行采用%形式表示,内镜下胃溃疡疗效评价结果比较采用采用 $\chi^2$ 检验,以 $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 临床症状积分** 治疗前后两组症状积分比较: 组内比较,两组患者经治疗后临床症状积分均较治疗前明显下降( $P<0.05$ ),差异有统计学意义。组间比较,两组治疗前临床症状积分无统计学差异( $P>0.05$ ),治疗后观察组各临床症状积分及总临床症状积分均较对照组明显下降( $P<0.05$ )(表1)。

**2.2 血清炎性因子水平** 治疗前后血清炎性因子水平比较: 组内比较,治疗后IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP均较治疗前明显下降( $P<0.05$ ),差异有统计学意义;组间比较,两组治疗前IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP各项指标均无统计学差异( $P>0.05$ ),经治疗后,观察组IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP均显著低于对照组( $P<0.05$ )(表2)。

**2.3 内镜下疗效评价** 结果显示,观察组总有效率为93.75%,对照组为73.44%,经卡方检验,观察组总有效率显著高于对照组( $P<0.05$ )(表3)。

**2.4 不良反应及复发情况** 治疗期间仅观察组出现1例头

表 1 治疗前后两组患者治疗前后临床症状积分比较(mean ± SD)

症状		观察组	对照组	t值	P值
腹痛	治疗前	2.26 ± 0.51	2.16 ± 0.46	1.165	0.123
	治疗后	0.36 ± 0.14	0.75 ± 0.21	-12.362	0.000
腹胀	治疗前	1.22 ± 0.25	1.16 ± 0.27	1.304	0.097
	治疗后	0.21 ± 0.06	0.45 ± 0.17	-10.650	0.000
纳差	治疗前	0.69 ± 0.13	0.65 ± 0.16	1.552	0.062
	治疗后	0.09 ± 0.05	0.24 ± 0.06	-11.245	0.000
暖气	治疗前	0.32 ± 0.17	0.36 ± 0.13	-1.495	0.069
	治疗后	0.09 ± 0.04	0.18 ± 0.05	-11.245	0.000
反酸	治疗前	0.30 ± 0.12	0.32 ± 0.08	-1.109	0.135
	治疗后	0.03 ± 0.08	0.11 ± 0.05	-6.784	0.000
肢冷	治疗前	0.35 ± 0.08	0.38 ± 0.13	-1.572	0.053
	治疗后	0.08 ± 0.05	0.19 ± 0.06	-11.267	0.000
呕血	治疗前	0.29 ± 0.12	0.31 ± 0.06	-1.193	0.118
	治疗后	0.00 ± 0.00	0.02 ± 0.06	-2.667	0.004
黑便	治疗前	0.59 ± 0.11	0.57 ± 0.08	1.176	0.121
	治疗后	0.00 ± 0.00	0.03 ± 0.05	-4.800	0.000
总积分	治疗前	5.56 ± 0.63	5.49 ± 0.62	0.634	0.264
	治疗后	1.08 ± 0.26	2.25 ± 0.43	-18.627	0.000

表 2 两组患者治疗前后血清炎症因子水平比较(mean ± SD)

测定项目		观察组	对照组	t值	P值
IL-1β (pg/mL)	治疗前	66.87 ± 15.21	65.12 ± 12.64	0.707	0.240
	治疗后	28.05 ± 10.42	44.21 ± 16.23	-6.762	0.000
IL-6 (pg/mL)	治疗前	221.63 ± 31.63	219.89 ± 35.83	0.291	0.386
	治疗后	80.98 ± 21.62	144.25 ± 26.21	-14.897	0.000
TNF-α (pg/mL)	治疗前	182.57 ± 27.35	186.37 ± 29.32	-0.758	0.225
	治疗后	69.82 ± 11.52	139.34 ± 26.21	-19.417	0.000
IFN-γ (pg/mL)	治疗前	105.63 ± 27.37	108.53 ± 32.54	-0.546	0.293
	治疗后	68.48 ± 18.85	82.57 ± 21.68	-3.934	0.000
CRP (mg/L)	治疗前	28.68 ± 11.05	27.84 ± 10.79	0.435	0.332
	治疗后	11.67 ± 11.52	18.66 ± 7.32	-4.097	0.000

IL: 白介素; TNF: 肿瘤坏死因子; IFN: 干扰素; CRP: C反应蛋白.

痛, 1例恶心, 对照组出现1例头痛, 1例恶心, 两组患者不良反应发生率无统计学差异( $P>0.05$ ). 查三大常规、肝肾功能, 仅观察组有1例轻度功能异常. 出现不良反应后均经过对症处理后好转, 不影响继续治疗. 随访半年内均无复发情况.

### 3 讨论

消化性是全球高发病, 常见病, 包含胃溃疡和十二指肠溃疡. 自从1983年Warren和Marshall证实*H. pylori*与消化性的关系后, 人们发现消化性溃疡90%以上的人均伴有*H. pylori*感染, 上世纪80-90年代, 世界各地甚至建议只要确诊消化性溃疡, 无需进行*H. pylori*检测, 直接性*H. pylori*

根治治疗<sup>[7,8]</sup>. 然而近年来的流行病学研究显示, *H. pylori*与消化性溃疡并非联系那么密切, 越来越多的幽门螺杆菌阴性胃溃疡在世界各地发现, 且近年来呈逐年上升趋势<sup>[9]</sup>. 我们推测, 这可能与近年来*H. pylori*根治疗法的广泛应用,*H. pylori*感染率的下降有关, 也可能是*H. pylori*阴性胃溃疡与*H. pylori*阳性溃疡具有独立的病理生理机制.

目前临床上关于*H. pylori*阴性溃疡的发病机制仍不明确, 可能与吸烟、饮酒、机体应激反应、胃酸分泌过多以及内分泌系统、免疫系统的失衡等综合因素有关<sup>[10,11]</sup>. 但最基本的发病机制主要是胃酸与胃蛋白酶对食物消化失常, 对自体胃黏膜进行了病理性消化, 导致胃黏膜受损, 随着时间的积累, 逐渐导致黏膜肌层

表 3 两组患者治疗前后内镜下疗效比较( $n = 64, n (\%)$ )

组别	痊愈	显效	有效	无效	总有效
观察组	30 (46.88)	8 (28.13)	12 (18.75)	4 (6.25)	60 (93.75)
对照组	16 (25.00)	20 (31.25)	11 (17.19)	17 (26.56)	47 (73.44)
$\chi^2$ 值					9.627
$P$ 值					0.002

的损伤, 最终导致胃溃疡的发生<sup>[12]</sup>. 因此临床上对于 *H. pylori* 阴性溃疡的治疗仍然是以抑制胃酸为主的治疗<sup>[13]</sup>. 本研究中采用的质子泵抑制剂艾司奥美拉唑是奥美拉唑一种左旋异构体, 其比奥美拉唑可以更有效的抑制胃壁细胞膜中 H、K-ATP 酶的活性, 显著抑制胃酸分泌, 保护胃黏膜免受损伤.

康复新液是从蜚蠊干燥虫体中提取的一种乙醇提取物, 属中药制剂. 其功能为生肌养阴, 通血利脉. 祖国医学认为, 消化性溃疡归属于“胃脘痛”、“痞满”、“嘈杂”、“吐酸”等范畴<sup>[14]</sup>. 与肝、脾有关, 其病位在胃, 气虚发病本质, 六淫、瘀血、郁热、痰饮等邪毒滞留于胃为发病之标, 虚实夹杂, 侵及脏腑内“痛”而发此病. 蜚蠊既为蟑螂, 是中医中常用中药材. 《神农本草经》中所述: “蜚蠊, 味咸寒, 主血瘀癥瘕寒热, 破积聚, 喉咽痹, 内寒无子.” 具有散瘀活血、消痞解毒、消肿利水的功效<sup>[15]</sup>. 现代药理学研究证实<sup>[16]</sup>: (1) 蜚蠊提取物具有促进肉芽组织生长和新生血管的生成, 改善局部血液循环, 促进溃疡的愈合; (2) 具有调节机体免疫功能, 可增强 NK 细胞和巨噬细胞的杀伤能力, 增强血清溶菌酶活力; (3) 具有较好的镇痛、抗炎效应, 可减轻炎性水肿、减少病理渗出; (4) 可减降低胃酸、胃蛋白酶的分泌水平, 保护胃黏膜免受损伤. 本研究结果显示, 观察组患者的疗效评价结果显著优于对照组 ( $P < 0.05$ ), 治疗后的临床症状评分均显著提高, 且高于对照组 ( $P < 0.05$ ), 差异有统计学意义. 这提示康复新液可能主要通过以上机制起到了“抑胃酸、护黏膜、敛溃疡、生新肌”的作用, 且无明显不良反应, 复发率也较低.

胃溃疡的本质是一种炎症性疾病. 胃溃疡的发生发展过程中, 外周血中的多种炎症细胞因子发挥了重要作用. 其中 IL-1 是一种多肽调节因子, 人体内有 IL-1 $\alpha$  和 IL-1 $\beta$  两种形式, IL-1 $\beta$  是一种促炎因子, 可激活多种免疫细胞产生免疫反应, 释放炎症介质进而诱发机体的炎症反应<sup>[17]</sup>. IL-6 是一种趋化因子, 一方面可促进免疫细胞和炎症细胞的生长分化, 另一方面可通过募集大量单核巨噬细胞和中性粒细胞, 释放更多的内源性炎症因子促进机体炎症反应<sup>[18]</sup>. TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  均是炎症过程中重要的炎症因子, 其中 TNF- $\alpha$  主要由巨噬细胞和活化的单核细胞

分泌, 可使血管上皮粘附因子 ICAM-1、ELAM-1 表达增加, 诱导内皮细胞释放 IL-8 和血小板活化因子等. IFN- $\gamma$  有 NK 细胞和 TH1 淋巴细胞分泌, 是中性粒细胞和巨噬细胞的强力激活物, 具有重要的免疫调节功能<sup>[19]</sup>. CRP 是一种急性期炎症反应蛋白, 可一定程度上反映机体炎症情况<sup>[20]</sup>. 本研究结果发现在治疗前两组患者 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP 水平均正常值增高, 经治疗后均较治疗前显著下降, 而观察组下降更明显 ( $P < 0.05$ ). 这表明艾司奥美拉唑联合康复新溶液可下调机体的炎症因子水平, 刺激胃黏膜上皮细胞增殖, 促进新生血管生成, 减轻胃黏膜损伤, 促进溃疡面愈合.

综上所述, 艾司奥美拉唑联合康复新治疗 *H. pylori* 阴性胃溃疡的疗效明显, 可显著降低炎症因子水平, 降低机体免疫反应, 促进溃疡的早期愈合, 改善患者的预后. 但本研究仍有一定的局限性, 首先样本量较少, 存在数据偏倚. 其次证据级别不够, 仅为单中心研究. 另外在纳入标准不严, *H. pylori* 阴性胃溃疡患者是通过 14C 呼气试验或者快速尿素酶试验 *H. pylori* 阴性, 其中快速尿素酶并不是非常准确. 实验停药 1 周时间过短, 可能且影响 Hp 检测. 因此仍需要进一步核查纳入标准和排除标准, 将来进行大样本、多中心临床研究.

## 文章亮点

### 实验背景

随着幽门螺杆菌 (*Helicobacter pylori*, *H. pylori*) 检测手段的普及, 抗 *H. pylori* 治疗的广泛应用, 胃溃疡合并 *H. pylori* 的感染率近年来逐渐下降, 但 *H. pylori* 阴性胃溃疡近年来呈逐年上升趋势. 因此了解 *H. pylori* 阴性胃溃疡的发病机制, 及对 *H. pylori* 阴性胃溃疡的治疗方法是国内外学者研究的热点问题.

### 实验动机

本研究采用康复新液和艾司奥美拉唑联合使用治疗 *H. pylori* 阴性胃溃疡, 通过观察胃溃疡部分炎症因子 (IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP) 的变化, 以探讨 *H. pylori* 阴性胃溃疡, 对 *H. pylori* 阴性胃溃疡的治疗具有一定的临床参考价值.



## 实验目标

本研究实验目标在于探讨 *H. pylori* 阴性胃溃疡的可能的机制及康复新液和艾司奥美拉唑联用的药理作用。

## 实验方法

试验方法为双盲随机对照的临床实验, 随机数字法将 *H. pylori* 阴性胃溃疡患者分为观察组和对照组, 观察组对照组给予艾司奥美拉唑治疗, 观察组在对照组的基础上给予康复新治疗, 评价两者临床疗效、测量炎症因子、临床症状评分等相关指标。本研究结果可对 *H. pylori* 阴性胃溃疡可能发生发展的机制以及康复新液和艾司奥美拉唑联用效果证实。

## 实验结果

本研究结果达到实验目标, 临床症状积分显示, 观察组各临床症状积分治疗后优于对照组。IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$ 、CRP 等炎症因子水平也优于对照组。内镜下疗效评价观察组效果更佳, 且不良反应发生率很低。这提示对于 *H. pylori* 阴性的胃溃疡, 其本质是一种炎症反应, 艾司奥美拉唑联合康复新溶液可下调机体的炎症因子水平, 刺激胃黏膜上皮细胞增殖, 促进新生血管生成, 减轻胃黏膜损伤, 促进溃疡面愈合。

## 实验结论

本研究发现艾司奥美拉唑联合康复新溶液比单纯使用艾司奥美拉唑效果更好, 因此在治疗 *H. pylori* 阴性胃溃疡可使用中药制剂康复新。康复新具有生肌养阴, 通血利脉功效。

## 展望前景

本研究仍有一定的局限性, 首先样本量较少, 存在数据偏倚。其次证据级别不够, 仅为单中心研究。另外在纳入标准不严, *H. pylori* 阴性胃溃疡患者是通过 14C 呼气试验或者快速尿素酶试验 *H. pylori* 阴性, 其中快速尿素酶并不是非常准确。实验停药 1 wk 时间过短, 可能且影响 *H. pylori* 检测。未来研究方向是多中心研究, 因此仍需要进一步核查纳入标准和排除标准, 将来进行大样本、多中心临床实验。

## 4 参考文献

- 1 钱金丹, 葛惠男. 中医药治疗胃溃疡的研究进展. 吉林中医药 2015; (6): 644-646 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2015.06.036]
- 2 Graham DY. History of *Helicobacter pylori*, duodenal ulcer,

- gastric ulcer and gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5191-5204 [PMID: 24833849 DOI: 10.3748/wjg.v20.i18.5191]
- 3 陈翀. 幽门螺杆菌阴性消化性溃疡诊治现状. 国际消化病杂志 2015; 35: 113-115 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2015.02.012]
- 4 Raderer M, Wöhrer S, Kiesewetter B, Dolak W, Lagler H, Wotherspoon A, Muellauer L, Chott A. Antibiotic treatment as sole management of *Helicobacter pylori*-negative gastric MALT lymphoma: a single center experience with prolonged follow-up. *Ann Hematol* 2015; 94: 969-973 [PMID: 25579756 DOI: 10.1007/s00277-014-2298-3]
- 5 吴雅娴, 伍权华, 侯靖瑛. *H. pylori* 阴性溃疡与临床症状、溃疡部位以及是否发生出血之间的关系. 岭南急诊医学杂志 2019; 24: 144-146
- 6 国家中医药管理局. 中药新药临床研究指导原则. 北京: 中国医药科技出版社 2002; 151-155
- 7 庞火新. 消化性溃疡药物治疗进展分析. 临床医学研究与实践 2016; 1: 197-198 [DOI: 10.19347/j.cnki.2096-1413.2016.19.112]
- 8 Asano N, Iijima K, Koike T, Imatani A, Shimosegawa T. *Helicobacter pylori*-negative gastric mucosa-associated lymphoid tissue lymphomas: A review. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 8014-8020 [PMID: 26185372 DOI: 10.3748/wjg.v21.i26.8014]
- 9 赵延涛. 奥美拉唑治疗幽门螺杆菌阴性的消化溃疡效果分析. 转化医学电子杂志 2014; (3): 87-88 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-301X.2019.02.014]
- 10 陈翀, 张月华, 张艳, 叶学勇. 幽门螺杆菌阴性消化性溃疡临床特征及与出血关系的临床研究. 国际消化病杂志 2013; 33: 207-208 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2013.03.019]
- 11 Iijima K, Kanno T, Koike T, Shimosegawa T. *Helicobacter pylori*-negative, non-steroidal anti-inflammatory drug: negative idiopathic ulcers in Asia. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 706-713 [PMID: 24574744 DOI: 10.3748/wjg.v20.i3.706]
- 12 胡军. 幽门螺杆菌阴性消化性溃疡与出血的关系多中心研究. 中国医师进修杂志 2013; 36: 46-47 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4904.2013.31.016]
- 13 陆彩霞. 复方谷氨酰胺联合雷贝拉唑治疗幽门螺杆菌阴性十二指肠球部溃疡疗效观察. 中医临床研究 2014; (32): 122-123 [DOI: 10.3969/j.issn.1674-7860.2014.32.073]
- 14 樊秀琴. 康复新液联合 PPI 治疗胃溃疡的疗效观察. 中药材 2015; 38(4): 869-871 [DOI: 10.13863/j.issn1001-4454.2015.04.055]
- 15 于辉, 周连泉, 赵鹏. 康复新液联合胶体果胶铋或(和)奥美拉唑治疗胃溃疡有效性和安全性比较. 中国中西医结合消化杂志 2013; 21: 356-359 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-038X.2013.07.006]
- 16 刘辽, 杨代喜, 蒋丹, 范瑾. 康复新液联合泮托拉唑治疗消化性溃疡疗效及安全性的系统评价. 中成药 2014; 36: 491-497 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-1528.2014.03.010]
- 17 邹兰亭. 加味五七散治疗 NSAIDs 相关性胃溃疡的临床观察及对 PGE<sub>2</sub>、IL-1、TNF- $\alpha$  的影响. 南京: 南京中医药大学 2017
- 18 Ramis JB, Vianna JS, Gonçalves CV, von Groll A, Dellagostin OA, da Silva PEA. Polymorphisms of the IL-6, IL-8 and IL-10 genes and the risk of gastric pathology in patients infected with *Helicobacter pylori*. *J Microbiol Immunol Infect* 2017; 50: 153-159 [PMID: 25888319 DOI: 10.1016/j.jmii.2015.03.002]
- 19 Chen SW, Zhu J, Zuo S, Zhang JL, Chen ZY, Chen GW, Wang X, Pan YS, Liu YC, Wang PY. Protective effect of hydrogen sulfide on TNF- $\alpha$  and IFN- $\gamma$ -induced injury of intestinal epithelial barrier function in Caco-2 monolayers. *Inflamm Res* 2015; 64: 789-797 [PMID: 26249853 DOI: 10.1007/s00011-015-0862-5]
- 20 赵纯成, 周钢, 李远洪, 张林. 益生菌制剂对溃疡型结肠炎患者血清炎症介质的影响. 西南国防医药 2015; 25: 27-29 [DOI: 10.3969/j.issn.1004-0188.2015.01.010]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



# IgG4相关自身免疫性胰腺炎合并脾静脉血栓导致胃底静脉曲张破裂出血: 1例病例报告

梅雪灿, 王曦, 孔德润

梅雪灿, 王曦, 孔德润, 安徽医科大学第一附属医院消化内科 安徽省合肥市 237000

孔德润, 主任医师, 主要从事门脉高压症的研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 81271736; 安徽省转化医学研究院科研基金项目No. 2017zhxy18; 2018年度重点研究与开发计划项目, No. 1804h08020260.

作者贡献分布: 病例收集由梅雪灿与王曦共同完成; 论文写作由梅雪灿完成; 孔德润负责论文指导及审核.

通讯作者: 孔德润, 主任医师, 237000, 安徽省合肥市蜀山区绩溪路218号, 安徽医科大学第一附属医院消化内科. kongderun168@163.com  
电话: 0551-62928426

收稿日期: 2019-04-24  
修回日期: 2019-07-01  
接受日期: 2019-08-02  
在线出版日期: 2019-08-08

## IgG4-related autoimmune pancreatitis combined with splenic vein thrombosis leading to variceal bleeding of the fundus: A case report

Xue-Can Mei, Xi Wang, De-Run Kong

Xue-Can Mei, Xi Wang, De-Run Kong, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 237000, Anhui Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81271736; Research Project of Anhui Institute of Translational Medicine, No. 2017zhxy18; 2018 Key Research and Development Program, No. 1804h08020260.

Corresponding author: De-Run Kong, Chief Physician, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, 218 Jixi Road, Shushan District, Hefei 237000, Anhui Province, China. kongderun168@163.com

Received: 2019-04-24

Revised: 2019-07-01

Accepted: 2019-08-02

Published online: 2019-08-08

## Abstract

### BACKGROUND

Bleeding from isolated gastric varices, though uncommon, may be life-threatening. There are few reports of autoimmune pancreatitis (AIP) with splenic vein thrombosis and subsequent left-sided portal hypertension complicated by gastric varices, and the effect of steroid therapy on gastric varices is unknown. We herein present one case of AIP complicated by gastric varices.

### CASE SUMMARY

A 43-year-old man was diagnosed with AIP complicated by gastric varices, splenic vein obstruction, and splenomegaly. Although the AIP was improved after steroid therapy, gastric varices and splenic vein obstruction did not resolve.

### CONCLUSION

For bleeding from isolated gastric varices with left portal hypertension, the cause should be actively sought after hemostasis therapy. Gastric varices or splenic vein obstruction may be an indication for steroid therapy, and splenic vein thrombosis may play a key role in the disappearance of gastric varices. Factors affecting the efficacy in splenic vein thrombosis are expected to be explored by future studies with more cases and longer follow-up.

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

**Key Words:** Autoimmune pancreatitis; Gastric varices; Splenic vein thrombosis

Mei XC, Wang X, Kong DR. IgG4-related autoimmune pancreatitis combined with splenic vein thrombosis leading to variceal bleeding of the fundus: A case report. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 967-971  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/967.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.967>

## 摘要

### 背景

食管胃底静脉曲张破裂出血是肝硬化严重及危急的并发症, 相对于食道静脉曲张, 孤立胃底静脉曲张发生率低, 但一旦发生出血, 出血量大且死亡率高. 急诊出血时可考虑行内镜下组织胶注射治疗, 但对于非结节型曲张静脉内镜下注射治疗效果差, 且病因多为左侧门脉高压. 左侧门静脉高压最常见原因为胰源性, 其中慢性胰腺炎的发生率最高. 免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG)4相关自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)为慢性胰腺炎的特殊类型, 其引起胃底静脉曲张破裂出血的报道相对较少.

### 病例概述

一例以胃底静脉曲张破裂出血就诊患者, 最终诊断为IgG4相关AIP, 合并脾静脉及肠系膜上静脉血栓形成, 经激素治疗后, 胰腺体积、血清IgG4明显好转, 未再出血, 但脾静脉及肠系膜静脉血栓较前好转, 胃底曲张静脉未完全消失.

### 结论

对于孤立胃底静脉曲张破裂出血, 左侧门脉高压的患者, 在止血治疗后应积极寻找病因. AIP患者, 脾静脉血栓治疗对于胃底静脉曲张的消失可能起关键作用. 对于影响脾静脉血栓治疗效果的因素期待更多病例数及更长时间随访的报道.

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

**关键词:** 自身免疫性胰腺炎; 胃底静脉曲张; 脾静脉血栓

**核心提要:** 对于孤立胃底静脉曲张破裂出血的病例, 在出血时应积极行止血治疗, 待患者出血停止后积极寻找病因. 对于免疫球蛋白G4相关自身免疫性胰腺炎, 激素的治疗改善胰腺肿胀同时, 可减轻脾静脉及肠系膜血栓和胃底静脉曲张程度. 激素治疗时间, 是否加用抗血栓治疗及是否会加重患者再次出血风险, 本病例资料有限, 期待更多的病例及报道.

梅雪灿, 王曦, 孔德润. IgG4相关自身免疫性胰腺炎合并脾静脉血栓导致胃底静脉曲张破裂出血: 1例病例报告. *世界华人消化杂志* 2019; 27(15):

967-971

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/967.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.967>

## 0 引言

自身免疫性胰腺炎(autoimmune pancreatitis, AIP)在近50年来逐渐被认识, 其主要特点是胰腺淋巴浆细胞浸润、慢性炎症性席文状纤维化、闭塞性静脉炎和高球蛋白血症, 但因胃底静脉曲张破裂出血为首发症状就诊病例较少, 且其引起胃底静脉曲张的原因, 激素治疗时间和效果仍存在争议. 本文报道了一列胃底静脉曲张破裂出血为首发症状的免疫球蛋白G(immunoglobulin G, IgG) 4相关AIP的病例, 经激素治疗后未再发生消化道出血, 胃底静脉曲张较前改善.

## 1 病例报告

患者, 男, 43岁, 因“黑便1 mo余”入院. 患者1 mo前无明显诱因下解稀糊状黑便3次, 总量约500 mL左右, 当地医院查血红蛋白74 g/L, 血小板 $84 \times 10^9/L$ , 抑酸、补液对症治疗患者黑便停止. 胃镜提示食管静脉未见曲张, 胃底见数条蔓状分布曲张静脉, 并有可疑的出血病灶. 腹部电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)示脾稍大, 未见肝硬化征象. 于当地医院行胃底曲张静脉组织胶+硬化剂治疗. 后无呕血及黑便, 为进一步诊治入住我科. 查体: 入院时脾肋下2 cm. 血常规示白细胞 $3.87 \times 10^9/L$ , 中性粒细胞百分比53.90%, 血红蛋白70 g/L, 血小板 $80 \times 10^9/L$ , 肝功能示白蛋白38.3 g/L, 球蛋白29.2 g/L, 总胆红素6.96  $\mu\text{mol/L}$ , 谷丙转氨酶9 U/L, 谷草转氨酶12 U/L, 碱性磷酸酶56 U/L,  $\gamma$ -谷氨酰转氨酶20 U/L. 甲乙丙丁戊肝炎及肿瘤指标均阴性. 腹部增强CT示胰腺形态饱满, 呈“腊肠样改变”, 边缘条状低密度影, 密度均匀(图1), 脾静脉及肠系膜上静脉血栓形成, 胰腺段狭窄, 脾动脉见血栓形成(图2). 胃镜示胃底静脉曲张, 内镜治疗后改变(图3). 完善抗核抗体阳性(核均质1:320), 自免肝全套、抗中性粒细胞胞浆抗体、抗心磷脂抗体均阴性, IgG 16.26 g/L, IgG 4种亚型: IgG1 9.07 g/L, IgG2 5.69 g/L, IgG3 0.540 g/L, IgG4 3.940 g/L. 超声内镜示胰腺体积明显肿大, 形态尚规则, 呈低回声改变, 散在强回声点, 胰管规整, 黏膜层回声增强, 内未见强回声. 穿刺病理提示为胰腺组织及炎症细胞浸润, 未见肿瘤细胞(图4), 免疫组化示取材较少, 未见IGG4阳性浆细胞(图5).

## 2 最后诊断

IgG4相关AIP左侧门脉高压, 胃底静脉曲张, 脾静脉血



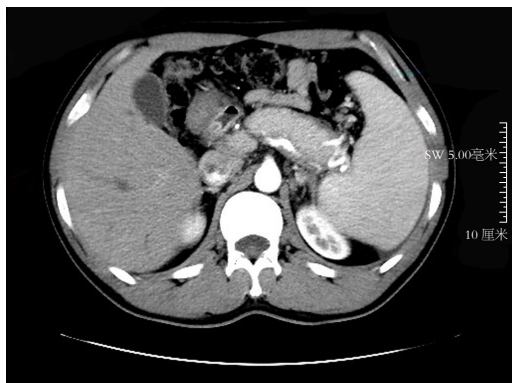


图 1 胰腺形态饱满, 呈“腊肠样改变”, 边缘条状低密度影, 密度均匀.

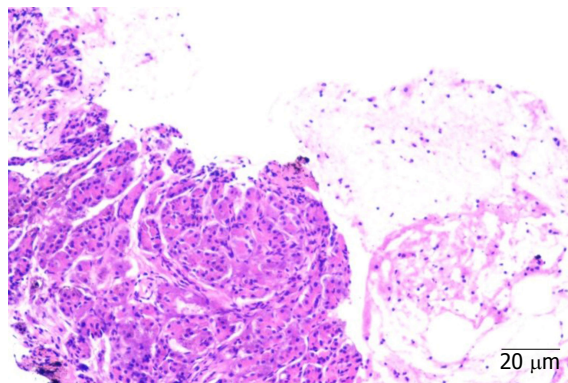


图 4 胰腺组织及炎症细胞浸润, 未见肿瘤细胞(HE × 100).

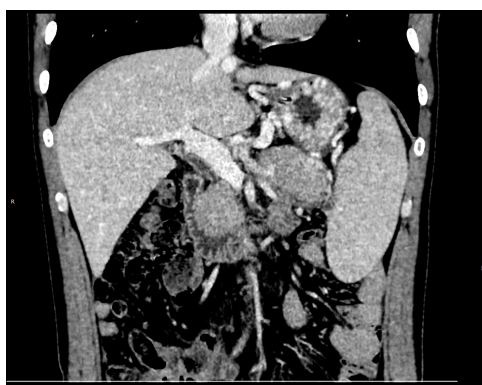


图 2 脾静脉及肠系膜静脉血栓形成, 胰腺段狭窄, 脾动脉见血栓形成.

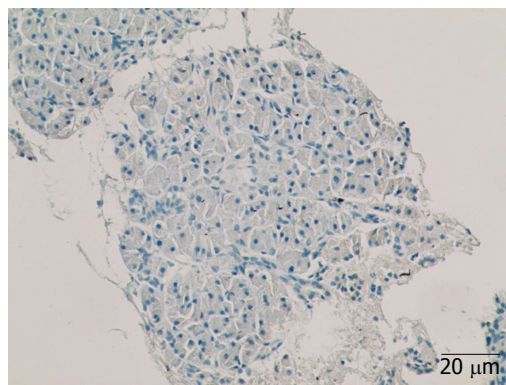


图 5 免疫组化示取材较少, 未见IGG4阳性浆细胞(IHC × 400).

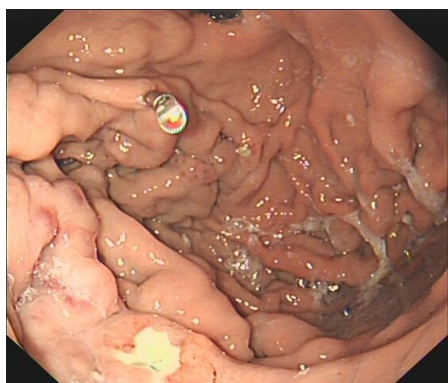


图 3 胃底静脉曲张, 内镜治疗后改变.

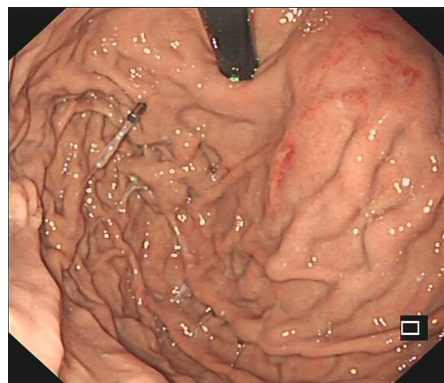


图 6 胃镜示曲张静脉较3 mo前改善.

栓, 肠系膜静脉血栓, 脾动脉血栓, 贫血.

### 3 治疗

口服强的松40 mg/d, 持续4 wk后, 每周减量5 mg, 至5 mg后继续维持治疗. 口服激素期间同时口服艾司奥美拉唑20 mg/d.

### 4 结果和随访

口服激素40 mg/d, 持续4 wk后, 复查IgG 12.64 g/L, IgG4 2.55 g/L, 后激素每周减量5 mg-5 mg/d维持疗程3 mo后复

查, 患者无呕血黑便, 血红蛋白较前明显升高(103 g/L), 胃镜示曲张静脉较3 mo前改善(图6), CT示胰腺肿胀较前好转, 脾静脉及肠系膜静脉胰腺段血栓较前改善.

### 5 讨论

孤立胃底静脉曲张形态分为结节隆起型、条索型、葡萄串型及树枝型. 临床常见结节隆起型, 对于非结节型曲张静脉, 病因多为区域性门脉高压(regional portal hypertension, RPH), 应该积极寻找及针对原发病治疗, 内镜下组织胶及硬化剂治疗效果差<sup>[1,2]</sup>. 通常胃底体的静

脉血通过两条途径回流至门静脉, (1)胃贲门区附近的静脉血→胃左静脉→门静脉; (2)胃底体静脉血→胃短静脉及胃后静脉或胃网膜左静脉→脾静脉→门静脉, 当脾静脉及肠系膜上静脉受阻时, 胃底静脉回流不畅, 则会出现侧支循环开放及胃底静脉曲张形成。而RPH最常见原因为胰源性门脉高压, 其中慢性胰腺炎的发生率最高, 约占总病例的60%, 胰腺肿瘤是第二个最常见的原因(约10%)。RPH的其他不太常见的原因是腹膜后肿瘤, 恶性淋巴结肿大, 淋巴瘤和医源性原因, 如脾切除术和部分胃切除术<sup>[3]</sup>。而我们此次报道的是一例特殊的慢性胰腺炎, 罕见的IgG4相关AIP合并胃底静脉曲张破裂出血的病例。

自1995年Yoshida等<sup>[4]</sup>人首次提出AIP的概念, 现在AIP已被世界公认为一种特殊类型的慢性胰腺炎AIP分为1型和2型两种亚型, 其中1型AIP在亚洲人群更常见。特点是淋巴细胞和浆细胞的大量浸润, 尤其是IgG4阳性浆细胞, 席文状纤维化, 闭塞性静脉炎, 和其他脏器的受累。本病例患者有典型CT下AIP表现包括胰腺弥漫性肿大及包膜样的低密度边缘<sup>[5]</sup>、IgG4升高大于135 mg/dL, 符合AIP国际诊断共识及JPS-2011标准<sup>[6]</sup>。诊断为1型AIP明确。关于AIP引起胃底静脉曲张破裂出血的报道很少, 考虑原因可能是脾静脉及肠系膜上静脉的闭塞或血栓形成, Agarwal等<sup>[7]</sup>人报道了156例AIP中34例出现门静脉血栓, 其中15%病人出现胃底静脉曲张破裂出血Ishikawa等<sup>[8]</sup>报道中AIP发生胰周血管病变的概率在44%(24/54), 其中胰腺呈弥漫性改变, 其胰周血管发生闭塞概率增加, 发生血管病变的机制暂未完全明确。静脉闭塞可由外在因素引起, 因脾静脉在胰腺包膜内, 伴随胰腺背行走形, 在胰腺弥漫性肿大或局灶性病变时可导致脾静脉受压而闭塞。而对于脾静脉内血栓形成, Kamisawa等<sup>[9]</sup>人6例AIP组织学中发现胰周静脉几乎完全闭塞, 具有淋巴浆细胞浸润和壁内及周围的成纤维细胞增殖, 呈闭塞性静脉炎样改变, 另有4例发现门静脉狭窄及8例发现胰周小动脉的改变。无论脾静脉阻塞是由机械性还是炎性浸润形成, 脾静脉内皮损伤, 及脾静脉血流速度减慢等都增加脾静脉血栓发生的几率, 且随着时间推移, 可形成不可逆的血栓, 从而进一步加重左侧门脉高压及胃底静脉曲张。在日本的3例AIP合并脾静脉血栓形成的报道, 病例1无脾脏肿大, 治疗后曲张静脉消失, 病例3合并脾肿大及门脉血栓, 治疗后脾静脉血栓及曲张静脉均未消失。类固醇激素治疗可改善闭塞性静脉炎及患者免疫状况, 进而改善脾静脉血栓, 且建议对于有脾静脉血栓的病人尽早加用激素的治疗<sup>[10]</sup>。同样近期报道也建议对于有胰周血管病变, 尚未出现血栓及胃底静脉曲张的AIP患者可早期加用类固醇治疗, 因为早期类固醇

治疗可减少脾静脉血栓的发生, 从而降低胃底静脉曲张破裂出血等并发症的发生<sup>[11]</sup>。近期庞桃红等也报道一例AIP合并胃底静脉曲张, 脾静脉受压但无脾静脉血栓形成的病例, 再使用激素治疗后, 胃底静脉曲张静脉迅速得到缓解, 该患者胃底静脉曲张迅速改善可能为脾静脉受压导致狭窄, 无血栓形成, 在胰腺肿大缓解后, 脾静脉血流恢复, 胃底静脉曲张缓解明显<sup>[12]</sup>。Lin等<sup>[13]</sup>也报道了一例因黑便就诊, 诊断为AIP合并胃底和十二指肠静脉曲张的病例, 同时因胰腺肿大至十二指肠狭窄行胃空肠吻合术, 术中见脾静脉及肠系膜上静脉血栓形成。口服类固醇激素治疗3 mo后再次出现黑便并追加内镜下套扎治疗, 出血停止后继续口服激素治疗, 随访一年未再出血, 但未复查血栓及血管消失情况本例病例口服激素前脾静脉及肠系膜静脉重度狭窄, 脾静脉胰腺段几乎完全闭塞, 同时肠系膜静脉及脾动脉也发现有血栓形成及狭窄, 3 mo后胃镜见胃底曲张静脉好转, 复查CT提示胰腺肿胀较前明显好转, 脾静脉及肠系膜静脉狭窄较前好转, 但脾静脉血栓尚未完全消失。目前尚未有对AIP合并脾静脉血栓使用低分子肝素及华法林等溶栓治疗报道。Loffredo等<sup>[14]</sup>人的一个大型系统回顾和Meta分析显示低分子肝素对于肝硬化合并门脉血栓形成病例有较好的疗效, 且不增加其食管胃底静脉曲张破裂出血风险。合并脾静脉血栓的AIP患者, 在使用激素治疗的同时是否可使用低分子肝素抗凝治疗改善血栓情况, 期待更多的病例报道及长期的随访。

## 6 结论

对于孤立胃底静脉曲张破裂出血, 左侧门脉高压的患者, 在止血治疗后应积极寻找病因。AIP患者, 脾静脉血栓治疗对于胃底静脉曲张的消失可能起关键作用。对于影响脾静脉血栓治疗效果的因素和更多治疗方法, 期待更多病例数及更长时间随访的报道。

## 7 参考文献

- 1 Sarin SK, Lahoti D, Saxena SP, Murthy NS, Makwana UK. Prevalence, classification and natural history of gastric varices: a long-term follow-up study in 568 portal hypertension patients. *Hepatology* 1992; 16: 1343-1349 [PMID: 1446890]
- 2 朱燕华, 吴云林, 吴巍, 范嵘, 孙萍胡, 李晨, 胡月亮. 孤立性胃静脉曲张的内外形态分型及临床特点. *胃肠病学和肝病杂志* 2017; 20: 637-640 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2011.07.014]
- 3 Liu QD, Zhou NX, Zhang WZ, Wang MQ. Diagnosis and management of regional portal hypertension. *Chin J Dig Dis* 2005; 6: 87-92 [PMID: 15904427 DOI: 10.1111/j.1443-9573.2005.00.198.x]
- 4 Yoshida K, Toki F, Takeuchi T, Watanabe S, Shiratori K, Hayashi N. Chronic pancreatitis caused by an autoimmune abnormality. Proposal of the concept of autoimmune pancreatitis. *Dig Dis Sci* 1995; 40: 1561-1568 [PMID: 7628283]
- 5 Suzuki K, Itoh S, Nagasaka T, Ogawa H, Ota T, Naganawa



- S. CT findings in autoimmune pancreatitis: assessment using multiphase contrast-enhanced multisection CT. *Clin Radiol* 2010; 65: 735-743 [PMID: 20696301 DOI: 10.1016/j.crad.2010.06.002]
- 6 Sumimoto K, Uchida K, Mitsuyama T, Fukui Y, Kusuda T, Miyoshi H, Tomiyama T, Fukata N, Koyabu M, Sakaguchi Y, Ikeura T, Shimatani M, Fukui T, Matsushita M, Takaoka M, Nishio A, Okazaki K. A proposal of a diagnostic algorithm with validation of International Consensus Diagnostic Criteria for autoimmune pancreatitis in a Japanese cohort. *Pancreatol* 2013; 13: 230-237 [PMID: 23719593 DOI: 10.1016/j.pan.2013.02.010]
  - 7 Agarwal AK, Raj Kumar K, Agarwal S, Singh S. Significance of splenic vein thrombosis in chronic pancreatitis. *Am J Surg* 2008; 196: 149-154 [PMID: 18585674 DOI: 10.1016/j.amjsurg.2007.07.039]
  - 8 Ishikawa T, Itoh A, Kawashima H, Ohno E, Itoh Y, Nakamura Y, Hiramatsu T, Miyahara R, Ohmiya N, Haruta J, Goto H, Hirooka Y. Peripancreatic vascular involvements of autoimmune pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; 27: 1790-1795 [PMID: 22849535 DOI: 10.1111/j.1440-1746.2012.07.248.x]
  - 9 Kamisawa T, Egawa N, Nakajima H. Extrapaneatic Lesions in Autoimmune Pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2009; 10: 904-907
  - 10 Goto N, Mimura J, Itani T, Hayashi M, Shimada Y, Matsumori T. Autoimmune pancreatitis complicated by gastric varices: a report of 3 cases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 4228-4232 [PMID: 22919259 DOI: 10.3748/wjg.v18.i31.4228]
  - 11 Juarez LA, Gupta RR, Ruhnke GW. Gastric varices and splenic vein obstruction during steroid treatment for autoimmune pancreatitis: A case report and literature review. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97: e11940 [PMID: 30142813 DOI: 10.1097/MD.00000000000011940]
  - 12 庞桃红, 胡青青, 曹守莉, 吕瑛, 王雷, 诸葛宇征, 邹晓平, 徐桂芳. 自身免疫性胰腺炎合并左侧门静脉高压胃底静脉曲张破裂出血一例. *中华消化内镜杂志* 2018; 35: 446-447 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2018.06.021]
  - 13 Lin TC, Chang WL. Multifocal gastrointestinal varices: a rare manifestation of immunoglobulin G4-related disease. *Postgrad Med* 2019; 131: 176-181 [PMID: 30632442 DOI: 10.1080/0032548.1.2019.1568018]
  - 14 Loffredo L, Pastori D, Farcomeni A, Violi F. Effects of Anticoagulants in Patients With Cirrhosis and Portal Vein Thrombosis: A Systematic Review and Meta-analysis. *Gastroenterology* 2017; 153: 480-487.e1 [PMID: 28479379 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.04.042]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

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



# 以急性消化道大出血为表现的青年小肠多发间质瘤1例并文献复习

马兴彬, 刘丽娟, 牛琼, 尚炳英, 李扬扬, 刘成霞

马兴彬, 刘丽娟, 牛琼, 尚炳英, 刘成霞, 滨州医学院附属医院消化内科  
山东省滨州市 256603

李扬扬, 滨州医学院附属医院病理科 山东省滨州市 256603

马兴彬, 主治医师, 主要研究消化道早癌, 胃食管反流病.

**作者贡献分布:** 论文撰写由马兴彬完成; 修改由刘丽娟完成; 整理及审校由牛琼完成; 研究过程由尚炳英、李扬扬协助完成; 论文设计及理论指导由刘成霞完成.

**通讯作者:** 刘成霞, 教授, 256603, 山东省滨州市黄河二路661号, 滨州医学院附属医院消化内科. phdlcx@163.com

收稿日期: 2019-06-06

修回日期: 2019-06-25

接受日期: 2019-08-02

在线出版日期: 2019-08-08

## Multiple intestinal stromal tumors in a young patient with acute gastrointestinal hemorrhage: A case report and literature review

Xing-Bin Ma, Li-Juan Liu, Qiong Niu, Bing-Ying Shang, Yang-Yang Li, Cheng-Xia Liu

Xing-Bin Ma, Li-Juan Liu, Qiong Niu, Bing-Ying Shang, Cheng-Xia Liu, Department of Gastroenterology, Binzhou Medical College Affiliated Hospital, Binzhou 256603, Shandong Province, China

Yang-Yang Li, Department of Pathology, Binzhou Medical College Affiliated Hospital, Binzhou 256603, Shandong Province, China

**Corresponding author:** Cheng-Xia Liu, Professor, Department of Gastroenterology, Binzhou Medical College Affiliated Hospital, Binzhou 256603, Shandong Province, China. phdlcx@163.com

Received: 2019-06-06

Revised: 2019-06-25

Accepted: 2019-08-02

Published online: 2019-08-08

## Abstract BACKGROUND

Acute small intestinal bleeding in clinical diagnosis and treatment is not specific, and the diagnosis of small intestinal bleeding is still a major clinical challenge because of its high mobility, tortuosity, and difficulty in endoscopic examination.

## CASE SUMMARY

This case is a young patient with multiple stromal tumors of the small intestine complicated with acute massive hemorrhage of the digestive tract. After correction of shock, abdominal computed tomography (CT) and emergency enteroscopy were performed, followed by multi-disciplinary team discussion to develop a reasonable and standardized treatment plan and subsequent therapy to save the patient's life and maximize the benefits of the patient.

## CONCLUSION

Small intestinal stromal tumor has an insidious onset and lacks specific clinical manifestations. According to the characteristics of this disease, B-mode ultrasound, CT, magnetic resonance imaging, digital subtraction angiography, gastrointestinal endoscopy, capsule endoscopy, and other examinations should be used to make a preoperative diagnosis and conduct accurate clinical staging. Multidisciplinary discussion is helpful to develop standardized treatment options to improve the prognosis of patients.

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

**Key words:** Small intestine; Gastrointestinal multiple stromal tumors; Gastrointestinal bleeding

Ma XB, Liu LJ, Niu Q, Shang BY, Li YY, Liu CX. Multiple intestinal stromal tumors in a young patient with acute gastrointestinal hemorrhage: A case report and literature review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(15): 972-976  
 URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/972.htm>  
 DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.972>

## 摘要

### 背景

临床诊疗中急性小肠出血无特异性, 且因小肠活动度大, 迂回曲折, 内镜检查不易操作, 故对小肠出血的诊断仍是临床上的一大挑战。

### 病例概述

本案例为一例青年患者发生小肠多发间质瘤合并急性消化道大出血, 在积极纠正休克后, 以腹部电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)为导向, 完善急诊小肠镜检查, 而后经过多学科综合会诊讨论迅速制定合理规范治疗方案及后续治疗计划, 挽救患者生命, 使患者获得最大受益。

### 结论

小肠间质瘤起病隐匿, 缺乏特异性临床表现, 可结合特点联合应用B超、CT、磁共振成像及相关血管造影, 胃肠镜, 胶囊内镜等检查明确术前诊断、精确临床分期, 经多学科讨论制定规范的治疗方案, 改善患者预后。

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

关键词: 小肠; 胃肠道多发间质瘤; 消化道出血

**核心提要:** 临床诊疗中不明原因的消化道出血多为小肠出血, 由于其特有的解剖结构及复杂的病因导致快速诊断困难, 严重时危及生命。通过分析该病例的诊治过程, 在稳定生命体征基础上, 可根据疾病特点有效的借助于多种影像学 and 内镜检查明确病因, 同时需联合多学科讨论, 制定合理规范的治疗方案及后续治疗计划, 对于降低患者死亡率及改善患者预后具有重要意义。

马兴彬, 刘丽娟, 牛琼, 尚炳英, 李扬扬, 刘成霞. 以急性消化道大出血为表现的青年小肠多发间质瘤1例并文献复习. *世界华人消化杂志* 2019; 27(15): 972-976

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i15/972.htm>  
 DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i15.972>

## 0 引言

小肠出血疾病的诊断及治疗在临床工作中漏诊、误诊及误治的比率高<sup>[1]</sup>, 其中小肠肿瘤是常见病因, 而胃肠道间质瘤则是最常见的小肠肿瘤<sup>[2]</sup>, 本例为青年患者发

生小肠多发间质瘤合并急性消化道大出血实属罕见, 现报道如下。

## 1 病例报告

1.1 患者 男, 36岁, 因“黑便伴意识丧失3 d, 再发1 d”于2018-09-16入住滨州医学院附属医院消化内科。患者入院前3 d无明显诱因出现黑便, 为暗红色稀便, 共5次, 量约750 mL, 伴心慌、大汗, 无呕血, 至当地医院就诊途中出现短暂意识丧失, 持续约30 s逐渐恢复, 于当地住院期间仍有柏油样黑便, 每日1次, 量约150 mL, 给予补液扩容、抑酸、止血等治疗后生命体征相对稳定, 期间完善胃镜提示“慢性浅表性胃炎”, 完善腹部电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)提示腹部多发肿物。入本院前1 d前患者再次出现暗红色血便2次, 夹杂黑色血凝块, 量约300 mL, 伴心慌、大汗, 为求进一步诊疗急诊入住滨州医学院附属医院。既往史无特殊。

1.2 查体 T: 37.2 °C, P: 84次/分, R: 15次/分, BP: 130/98 mmHg, 偏胖体型, 贫血貌, 睑结膜苍白, 腹软, 腹部未触及显著肿物, 全腹无压痛及反跳痛, 肠鸣音8次/分, 余查体未见明显阳性体征。

1.3 实验室检查 血常规: WBC  $7.5 \times 10^9/L$ , Hb 84 g/L, HCT 23%, PLT  $223 \times 10^9/L$ ; CEA: 0.61 ng/mL, 余未见显著异常。胸部+腹部平扫、强化: 双肺炎症、腹部多发病变。腹腔内可见多个混杂密度影, 大小约2-10 cm不等, 呈不均匀显著强化, 部分可见液化灶、钙化灶, 包膜相对完整(图1A), 腹膜后未见肿大淋巴结。

## 2 入院诊断

不明原因消化道大出血: 消化系统肿瘤并出血?

## 3 治疗

患者入院后给予补液、奥曲肽50 μg/h持续微量泵泵入, 卡络磺钠、血凝酶止血, 艾司奥美拉唑抑酸, 保持内环境稳定及营养支持等治疗, 入院当天夜间再次出现暗红色血便3次, 共约300 mL, 伴乏力, 无心慌、头晕等不适, 复查血常规提示Hb降至72 g/L, 于次日给予输注去白悬浮红细胞2.5 U, 当天于夜间再次出现血便2次, 共约150 mL, 生命体征尚稳定。为进一步明确病变及出血情况, 排除禁忌症第3 d行肠道准备后行急诊单气囊小肠镜检查, 于空肠、十二指肠水平段分别见4处黏膜下隆起, 镜下评估约2.0-2.5 cm, 其中最大者表面可见一处溃疡, 有血痂形成(图1B、C), 并行内镜下止血治疗。因肠道内残留血液严重影响观察, 经肛进镜回肠末端约50 cm未见器质性病变。患者于第4 d行全院多学科综合会诊, 考虑患者小肠多发恶性间质瘤可能性大, 目前虽相对稳



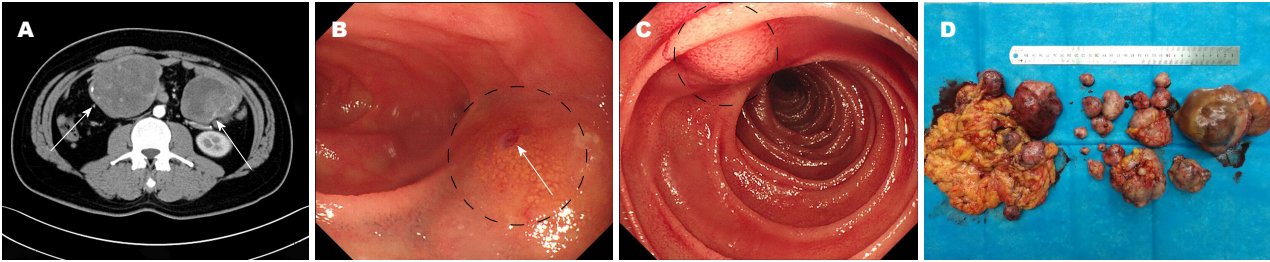


图 1 患者部分影像结果及手术标本。A: 腹部强化CT-动脉期箭头所指为瘤体不均匀强化; B、C: 单气囊小肠镜下空肠第一组瘤体凸向肠腔, 其中B图瘤体表面可见溃疡; D: 术后大体标本。

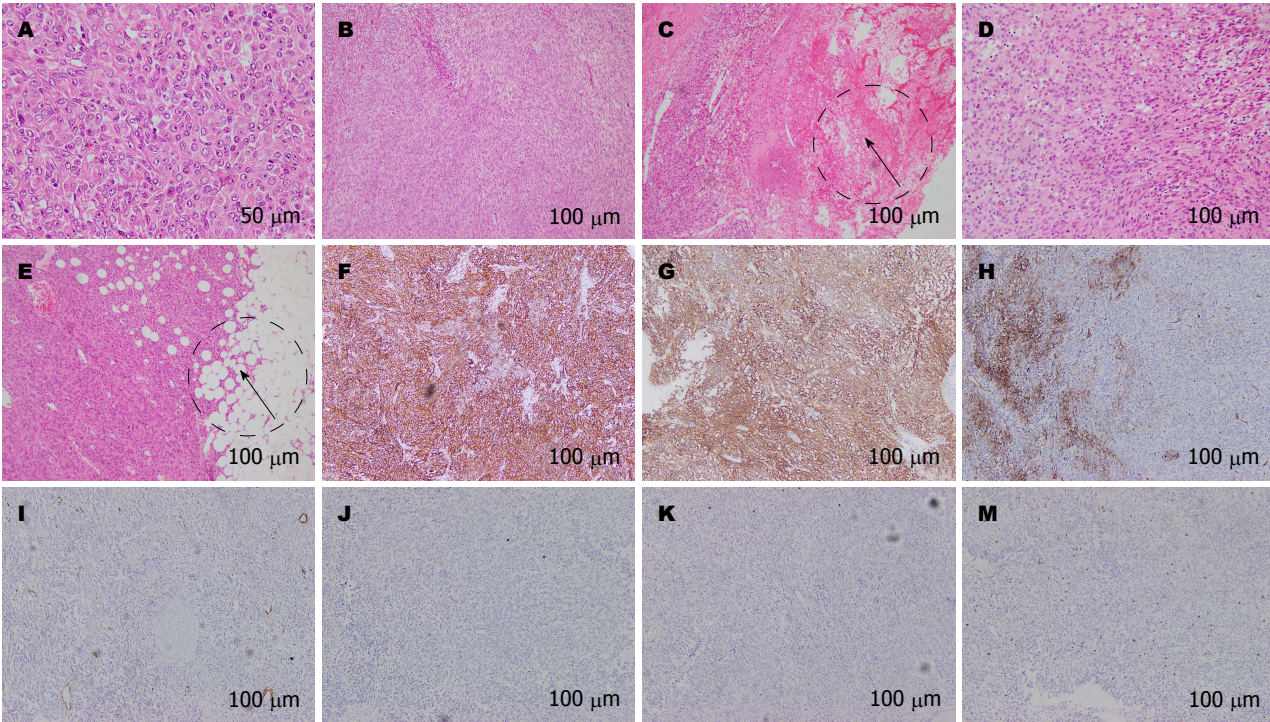


图 2 间质瘤术后病理图片。A: 小肠标本上皮细胞性, 细胞呈圆形, 胞浆透明HE20×; B: 小肠标本梭型细胞性, 细胞呈束状排列HE 20×; C: 小肠标本箭头示中央坏死区HE 10×; D: 腹膜标本混合细胞性HE 10×; E: 网膜标本可见脂肪细胞HE 10×; F-H: 免疫组化染色分别为CD117+、DOG-1+、CD34灶状+; I-K: 免疫组化染色分别为SMA-、S-100-、Desmin-; M: 免疫组化染色 Ki-67约为2%。

定, 但不除外再次突发大出血可能, 病情允许下可行急诊手术治疗, 待术后病理, 必要时追加靶向治疗药物等综合治疗。

患者入院第5 d于滨州医学院附属医院肝胆外科行剖腹探查术, 术中探查见: 探查屈氏韧带40 cm处有直径约10 cm大小肿块, 浸润侵犯小肠壁约8 cm包绕相应小肠系膜血管, 切开肠管见肿瘤浸润侵透黏膜层, 局部溃疡形成并可见活动性渗血, 将包括肿瘤在内的部分小肠壁一并切除, 行断端吻合, 其余可见多枚质硬肿物。大网膜及肠系膜可见大小约0.5-7 cm大小不等肿块10余枚, 均予以完整切除。探查壁层腹膜可见多发质硬结节, 切除结节一枚送检。探查腹腔其余重要脏器未见转移结

节, 术后大体标本(图1D)。术后标本部分肿瘤剖开切面呈囊实性, 囊性区内容血块, 并见坏死。

#### 4 结果和随访

术后病理示(小肠、腹壁、网膜、腹膜)考虑胃肠道间质瘤, 上皮样细胞-梭形细胞混合型, 多发性(图2 A-E), 肿瘤长径0.3-12.5 cm, 核分裂像>5个/50HPF, 大者肿瘤有出血、坏死。免疫组化结果(图2F-K): CD117+, DOG-1+, CD34灶+, S-100-, SMA-, Desmin-, Ki-67约2%。网膜、腹膜与小肠病变同源, 结合小肠间质瘤体积大且坏死, 网膜或腹膜体积小无坏死, 考虑小肠病变为原发灶可能。术后口服甲磺酸伊马替尼400 mg/d治疗, 于第



14 d恢复良好出院。

## 5 最后诊断

胃肠道多发间质瘤并出血。

## 6 讨论

胃肠道出血以上消化道和结直肠疾病较多见, 小肠出血的发病率仅占消化道出血的3%-5%<sup>[1]</sup>。小肠出血检查方法多样, 但由于小肠冗长, 弯曲度大, 常规项目不能对小肠进行全面检查, 小肠出血疾病的诊断及治疗在临床工作中始终存在盲区, 临床上常规检查阳性率低, 其漏诊、误诊及误治的比率较高。小肠出血的病因与胃肠道其他部位出血的病因类似, 主要有肿瘤、炎症性病变、憩室及血管病变<sup>[2,3]</sup>等。国内外临床研究显示, 小肠肿瘤是小肠出血患者的首要病因, 而胃肠道间质瘤则是最常见的小肠肿瘤, 大多数引发出血的间质瘤是良性的, 其引起的消化道出血多与黏膜相关性溃疡有关<sup>[4]</sup>。

胃肠间质瘤(gastrointestinal stromal tumor, GIST)是胃肠道最常见的间叶源性肿瘤, 目前认为其主要来源于Cajal间质细胞<sup>[5]</sup>, GIST可发生于消化道任何部位, 以单发灶为主, 约占全消化道肿瘤的1%-3%<sup>[6]</sup>。GIST可发生于各年龄段, 中老年偏多, 40岁以下罕见<sup>[7]</sup>, 本例GIST患者年龄36岁, 病灶位于小肠, 且呈多发性, 共10余枚, 临床上较罕见。

GIST临床特征可以根据肿瘤的解剖位置、大小和侵袭性而变化, 而小肠间质瘤起病隐匿, 缺乏特异性临床表现, 鉴于上述特点, 能否早期诊断、术前临床分期是否准确直接影响到治疗方案的确立和预后的判断, 因此术前诊断至关重要。

超声显像具有简便易行、无创、无辐射、实时动态观察肠管蠕动等优点, 并可进行超声引导下穿刺活检而明确诊断。有研究显示, 超声对大于2 cm的小肠肿瘤的显示率可达91.7%, 但易受胃肠道气体干扰, 产生漏诊及定位错误<sup>[8]</sup>。腹部CT检查操作简便且无创, 检出率、定位准确率高, 及时了解肿瘤的大小、形态、与临近组织的关系、转移, 对良恶性诊断具有参考价值, 且可为小肠镜进镜提供线索。但CT易受小肠间质瘤溃疡面血管破裂的大小及肠内容物重叠影响<sup>[9]</sup>。GIST在磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)上主要表现为类圆形或不规则肿块, 平扫T1WI上呈均匀或不均匀低信号, 如果瘤体内有出血可呈高信号, T2WI上呈均匀或不均匀高信号, 如果瘤体内有液化坏死, 则呈高低混杂信号, 瘤体增强扫描后, 呈轻中度不均匀强化, 静脉期较动脉期强化程度略高<sup>[10]</sup>。数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)往往在GIST合并消

化道出血, 且出血达到1.5-2.0 mL/min以上, 血管造影方能显示出出血部位。文献报道出血活动期DSA检出率为59.3%-62.5%<sup>[11,12]</sup>, 而非持续性出血或大面积黏膜糜烂出血者检出率低, 且不能显示小肠形态及小肠与出血之间关系。胶囊内镜因其无创手段, 常作为小肠疾病检查一线方法, 但易受肠内情况干扰、不能反复检查、不能取活检, 仅作为一种无创筛查手段<sup>[13]</sup>。小肠镜因其可操作性、图像清晰、可在内镜下活检及治疗等优势, 目前是临床诊断常用手段。内镜下的GIST具有黏膜下肿瘤的特点, 呈半球状隆起, 可形成桥形皱襞。但常规内镜难以诊断和辨别GIST的良恶性, 且GIST多起源于固有肌层, 普通内镜下活检几乎无法取到病变组织, 不适当的活检可能引起肿瘤的破溃、出血和增加肿瘤播散的危险性<sup>[14]</sup>。期间我们通过CT影像学发现病灶, 完善小肠CT成像及单气囊小肠镜检查进一步明确病变位置及性质的推测。

因GIST具有潜在恶性的特点, 因此首选治疗方式是手术将其完整切除<sup>[15]</sup>。而小肠间质瘤恶性程度较胃间质瘤高, 且易复发转移, 据统计GIST术后1年、3年及5年无病生存率分别为95%、83%及74%, 亚组分析提示小肠及直肠GIST更易复发<sup>[16]</sup>, 原发高危GIST患者的中位复发时间约为术后2年, 对传统放化疗不敏感。手术联合分子靶向的新治疗模式使GIST患者从中获益, 提高了患者生存率。甲磺酸伊马替尼(imatinib mesylate, IM)是一种选择性kit/PDGFRα受体酪氨酸激酶抑制剂, 作为新一代的分子靶向治疗药物, 为无法切除、复发或转移的GIST患者带来希望<sup>[17]</sup>。本例患者术后病理核分裂像>5个/50HPF, Ki-67约2%, 大者肿瘤有出血、坏死。根据NIH 2008版(中国共识改良版)危险度评估<sup>[18]</sup>, 患者属于高危危险度分级, 而具有中高危复发风险的患者作为辅助治疗的适应人群, 给予IM 400 mg/d, 持续3年。应每3 mo进行CT或MRI检查, 持续3年, 然后每6 mo 1次, 直至5年, 5年后每年随访1次。笔者已对该患者建立完整的病历档案, 进行系统的随访。

综合本病例分析, 对于不明原因的消化道出血患者, 在生命体征稳定的情况下, 借助于无创或微创检查明确初步病因, 同时联合多学科讨论, 迅速判断病情, 制定合理规范的治疗方案及后续治疗计划, 对于降低患者死亡率及改善患者预后具有重要意义。

## 7 参考文献

- 1 Kuo JR, Pasha SF, Leighton JA. The Clinician's Guide to Suspected Small Bowel Bleeding. *Am J Gastroenterol* 2019; 114: 591-598 [PMID: 30747768 DOI: 10.1038/s41395-018-0424-x]
- 2 Ohmiya N, Nakagawa Y, Nagasaka M, Tahara T, Shibata T, Nakamura M, Hirooka Y, Goto H, Hirata I. Obscure gastrointestinal bleeding: diagnosis and treatment. *Dig Endosc*

- 2015; 27: 285-294 [PMID: 25559549 DOI: 10.1111/den.12423]
- 3 Kovacs TO. Small Bowel Bleeding. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2005; 8: 31-38 [PMID: 15625032]
- 4 Popivanov G, Tabakov M, Mantese G, Cirocchi R, Piccinini I, D'Andrea V, Covarelli P, Boselli C, Barberini F, Tabola R, Pietro U, Cavaliere D. Surgical treatment of gastrointestinal stromal tumors of the duodenum: a literature review. *Transl Gastroenterol Hepatol* 2018; 3: 71 [PMID: 30363779 DOI: 10.21037/tgh.2018.09.04]
- 5 Adela Avila S, Peñaloza J, González F, Abdo I, Rainville I, Root E, Carrero Valenzuela RD, Garber J. Dysphagia, melanosis, gastrointestinal stromal tumors and a germinal mutation of the KIT gene in an Argentine family. *Acta Gastroenterol Latinoam* 2014; 44: 9-15 [PMID: 24847623]
- 6 Beham AW, Schaefer IM, Schüller P, Cameron S, Ghadimi BM. Gastrointestinal stromal tumors. *Int J Colorectal Dis* 2012; 27: 689-700 [PMID: 22124674 DOI: 10.1007/s00384-011-1353-y]
- 7 Hakimé A, Le Cesne A, Deschamps F, Farouil G, Boudabous S, Aupérin A, Domont J, Debaere T. A role for adjuvant RFA in managing hepatic metastases from gastrointestinal stromal tumors (GIST) after treatment with targeted systemic therapy using kinase inhibitors. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2014; 37: 132-139 [PMID: 23589213 DOI: 10.1007/s00270-013-0615-1]
- 8 Fujita M, Manabe N, Honda K, Murao T, Osawa M, Kawai R, Akiyama T, Shiotani A, Haruma K, Hata J. Usefulness of Ultrasonography for Diagnosis of Small Bowel Tumors: A Comparison Between Ultrasonography and Endoscopic Modalities. *Medicine (Baltimore)* 2015; 94: e1464 [PMID: 26448000 DOI: 10.1097/MD.0000000000001464]
- 9 Liu B, Ramalho M, AlObaidy M, Busireddy KK, Altun E, Kalubowila J, Semelka RC. Gastrointestinal imaging-practical magnetic resonance imaging approach. *World J Radiol* 2014; 6: 544-566 [PMID: 25170393 DOI: 10.4329/wjr.v6.i8.544]
- 10 Jiang ZX, Zhang SJ, Peng WJ, Yu BH. Rectal gastrointestinal stromal tumors: imaging features with clinical and pathological correlation. *World J Gastroenterol* 2013; 19: 3108-3116 [PMID: 23716991 DOI: 10.3748/wjg.v19.i20.3108]
- 11 Tan KK, Wong D, Sim R. Superselective embolization for lower gastrointestinal hemorrhage: an institutional review over 7 years. *World J Surg* 2008; 32: 2707-2715 [PMID: 18843444 DOI: 10.1007/s00268-008-9759-6]
- 12 Chen YT, Sun HL, Luo JH, Ni JY, Chen D, Jiang XY, Zhou JX, Xu LF. Interventional digital subtraction angiography for small bowel gastrointestinal stromal tumors with bleeding. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 17955-17961 [PMID: 25548494 DOI: 10.3748/wjg.v20.i47.17955]
- 13 Rey JF. The future of capsule endoscopy. *Keio J Med* 2013; 62: 41-46 [PMID: 23708295]
- 14 Joensuu H, Hohenberger P, Corless CL. Gastrointestinal stromal tumour. *Lancet* 2013; 382: 973-983 [PMID: 23623056 DOI: 10.1016/S0140-6736(13)60106-3]
- 15 Lamba G, Gupta R, Lee B, Ambrale S, Liu D. Current management and prognostic features for gastrointestinal stromal tumor (GIST). *Exp Hematol Oncol* 2012; 1: 14 [PMID: 23210689 DOI: 10.1186/2162-3619-1-14]
- 16 Bischof DA, Kim Y, Dodson R, Jimenez MC, Behman R, Cocieru A, Fisher SB, Groeschl RT, Squires MH 3rd, Maithel SK, Blazer DG 3rd, Kooby DA, Gamblin TC, Bauer TW, Queresby FA, Karanicolas PJ, Law CH, Pawlik TM. Conditional disease-free survival after surgical resection of gastrointestinal stromal tumors: a multi-institutional analysis of 502 patients. *JAMA Surg* 2015; 150: 299-306 [PMID: 25671681 DOI: 10.1001/jamasurg.2014.2881]
- 17 Grignol VP, Termuhlen PM. Gastrointestinal stromal tumor surgery and adjuvant therapy. *Surg Clin North Am* 2011; 91: 1079-1087 [PMID: 21889030 DOI: 10.1016/j.suc.2011.06.007]
- 18 中国临床肿瘤学会胃肠间质瘤专家委员会. 中国胃肠间质瘤诊断治疗共识(2017年版). *肿瘤综合治疗电子杂志* 2018; 4: 31-43 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-5324.2018.01.007]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011 年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

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

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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



## 2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;



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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079



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

# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 8 月 28 日      第 27 卷      第 16 期      (Volume 27 Number 16)



## 16/2019

ISSN 1009-3079



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





### 述评

977 罕见的息肉病-Cronkhite-Canada综合征

陈鑫, 李变霞, 朱兰平, 马双, 赵经文, 仲威龙, 王邦茂

### 基础研究

984 瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响

孙成成, 刘宇, 胡旭明

991 miR-7a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响及机制

楼一波, 王晓华, 傅志成

### 临床研究

999 超声内镜下上消化道黏膜下病变的临床特征及内镜下治疗效果观察

张艳, 张伟, 张莹

### 文献综述

1007 脑肠轴传输中的胃肠肽类激素

刘娅薇, 惠华英, 谭周进

1013 肠神经胶质细胞对肠上皮屏障的调节与功能紊乱疾病

狄治杉, 杨泽俊, 朱敏佳, 王菲菲, 李利生, 徐敬东

### 研究快报

1022 某三级医院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征研究

刘佳

### 临床实践

1027 经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入治疗恶性胆道梗阻对比研究

柴慈曼, 宋国栋, 范绪



病例报告

1035 外伤后以囊内出血为首发症状的胃囊肿一例及文献回顾

吴川林, 汝贝贝, 侯国方, 徐铂然, 杜祖超, 孙备, 白雪巍

更正

1041 更正“ERO1 $\alpha$ 介导同型半胱氨酸诱导的肝细胞内质网应激” [世界华人消化杂志 2014; 22(34): 5228-5234]

周龙霞, 杨安宁, 陈久凯, 赵丽, 王艳华, 刘现梅, 蔡欣, 张鸣号, 姜怡邓, 曹军

## 消 息

- 983 《世界华人消化杂志》外文字符标准  
1006 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标  
1012 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事  
1021 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
1026 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

## 封面故事

江学良, 山东中医药大学第二附属医院及山东省中西医结合医院消化中心主任, 医学博士, 博士后, 世界华人消化学会会长, 中国中西医结合学会炎症性肠病专家委员会主任委员, 承担国家重点研发项目子课题及国家博士后科研基金项目, 擅长炎症性肠病与内镜诊治, 在《WGJ》等杂志发表论文近100篇, 主编专著4部. 获军队及省部级科技成果奖6项.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-08-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [wjgd@wjgnet.com](mailto:wjgd@wjgnet.com)<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

E-mail: [bpgoffice@wjgnet.com](mailto:bpgoffice@wjgnet.com)<https://www.wjgnet.com>

制作

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

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.





Contents

Volume 27 Number 16 Aug 28, 2019

EDITORIAL

- 977 Cronkhite-Canada syndrome: A rare polyposis

*Chen X, Li BX, Zhu LP, Ma S, Zhao JW, Zhong WL, Wang BM*

BASIC RESEARCH

- 984 Remifentanyl inhibits proliferation and promotes apoptosis of gastric cancer cells by regulating miR-519d-3p/STAT3 expression

*Sun CC, Liu Y, Hu XM*

- 991 Effects of miR-7a-5p expression on proliferation and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis

*Lou YB, Wang XH, Fu ZC*

CLINICAL RESEARCH

- 999 Upper gastrointestinal submucosal lesions: Endoscopic ultrasonographic features and endoscopic curative effects

*Zhang Y, Zhang W, Zhang Y*

REVIEW

- 1007 Gastrointestinal peptide hormones associated with brain-intestinal axis

*Liu YW, Hui HY, Tan ZJ*

- 1013 Regulation of intestinal epithelial barrier by and dysfunction of intestinal glial cells

*Di ZS, Yang ZJ, Zhu MJ, Wang FF, Li LS, Xu JD*

RAPID COMMUNICATION

- 1022 Pathological characteristics of gastric polyps in 1995 patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy in a tertiary hospital

*Liu J*

CLINICAL PRACTICE

- 1027 Comparative study of biliary stent placement by percutaneous transhepatic cholangial drainage and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of malignant biliary obstruction

*Chai CM, Song GD, Fan X*



**CASE REPORT**

1035 Gastric duplication cyst with internal hemorrhage after trauma: A case report and literature review

*Wu CL, Ru BR, Hou GF, Xu BR, Du ZC, Sun B, Bai XW*

**CORRECTION**

1041 Corrigendum to "Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J. Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1 $\alpha$  mediates homocysteine-induced hepatocyte endoplasmic reticulum stress" [Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(34): 5228-5234]

*Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J*

## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 16 Aug 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Jiang Xue-Liang, Professor, Digestive Center, Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine, No. 1 Jingba Road, Jinan 250001, Shandong Province, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

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

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

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

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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



## 罕见的息肉病—Cronkhite-Canada综合征

陈鑫, 李变霞, 朱兰平, 马双, 赵经文, 仲威龙, 王邦茂

陈鑫, 李变霞, 朱兰平, 马双, 赵经文, 仲威龙, 王邦茂, 天津医科大学总医院消化科 天津市 300052

陈鑫, 副主任医师, 主要从事消化道早癌临床与基础相关研究。

基金项目: 天津市科技计划项目, No. 15ZXJZSY00020; 天津市自然科学基金, No. 18JCZDJC45200; 天津市自然科学基金, No. 18JCQNJC80700.

作者贡献分布: 本述评由陈鑫、李变霞、朱兰平、马双、赵经文、仲威龙及王邦茂撰写; 陈鑫与王邦茂审校; 其中陈鑫与李变霞贡献均等。

通讯作者: 陈鑫, 副主任医师, 300052, 天津市和平区鞍山道154号, 天津医科大学总医院消化科, chenxindoc@163.com  
电话: 022-60362608

收稿日期: 2019-04-18

修回日期: 2019-05-29

接受日期: 2019-07-15

在线出版日期: 2019-08-28

### Cronkhite-Canada syndrome: A rare polyposis

Xin Chen, Bian-Xia Li, Lan-Ping Zhu, Shuang Ma, Jing-Wen Zhao, Wei-Long Zhong, Bang-Mao Wang

Xin Chen, Bian-Xia Li, Lan-Ping Zhu, Shuang Ma, Jing-Wen Zhao, Wei-Long Zhong, Bang-Mao Wang, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Supported by: Science and Technology Program of Tianjin, No. 15ZXJZSY00020; Natural Science Foundation of Tianjin, No. 18JCZDJC45200; Natural Science Foundation of Tianjin, No. 18JCQNJC80700.

Corresponding author: Xin Chen, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, Tianjin Medical University General Hospital, 154 Anshan Road, Heping District, Tianjin 300052, China. chenxindoc@163.com

Received: 2019-04-18

Revised: 2019-05-29

Accepted: 2019-07-15

Published online: 2019-08-28

### Abstract

Cronkhite-Canada syndrome (CCS) is a rare non-genetic disease whose clinical manifestations are diffuse polyps of the gastrointestinal tract, finger-nail malnutrition, alopecia, skin pigmentation, diarrhea, weight loss, and taste disorders. The majority of CCS cases have a poor prognosis and often have life-threatening complications. The etiology of and appropriate treatments for CCS are still in the exploratory stage. This paper aims to improve the understanding of CCS and explore its best treatments by summarizing the common causes, clinical manifestations, endoscopic features, and treatment options of CCS.

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

Key Words: Cronkhite-Canada syndrome; Autoimmunity; IgG4; *Helicobacter pylori*; Intestinal flora

Chen X, Li BX, Zhu LP, Ma S, Zhao JW, Zhong WL, Wang BM. Cronkhite-Canada syndrome: A rare polyposis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 977-983

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/977.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.977>

### 摘要

Cronkhite-Canada综合征(Cronkhite-Canada syndrome, CCS)是一组以胃肠道弥漫性息肉、指(趾)甲营养不良、脱发、皮肤色素沉着、腹泻、体重减轻和味觉障碍等为表现的非遗传性罕见病。多数CCS临床预后不良,常合并危及生命的严重并发症。目前关于CCS疾病的病因、发病机制及合理的治疗方案仍处于探索阶段。本文通过综述CCS目前常见病因、临床表现、内镜特点以及治疗方案,旨在提高临床工作中对CCS认识水平的同时并探索其病因及最佳的治疗

策略.

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

关键词: Cronkhite-Canada综合征; 自身免疫; IgG4; 幽门螺杆菌; 肠道菌群

**核心提要:** Cronkhite-Canada综合征(Cronkhite-Canada syndrome, CCS)是一组病因不明的以外胚层异常改变和胃肠道黏膜弥漫性息肉为主要临床特征的罕见病, 通过对CCS可能病因、临床表现、内镜特点以及治疗方案进行综述, 以提高临床医生对本病的认识, 并进一步探索该疾病的病因和治疗方法。

陈鑫, 李变霞, 朱兰平, 马双, 赵经文, 仲威龙, 王邦茂. 罕见的息肉病-Cronkhite-Canada综合征. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 977-983  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/977.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.977>

## 0 引言

Cronkhite-Canada综合征(Cronkhite-Canada syndrome, CCS)由Cronkhite和Canada于1955年首次报道<sup>[1]</sup>, 是一组以外胚层异常和胃肠道弥漫性息肉改变为特征伴有蛋白质丢失的非遗传性罕见病<sup>[2]</sup>, CCS的主要临床表现为脱发、皮肤色素过度沉着和指(趾)甲营养不良, 其他突出的症状包括体重减轻、蛋白丢失性肠病、腹泻、腹痛、恶心、呕吐、味觉障碍和萎缩性舌炎<sup>[1,3,4]</sup>. 国内又将CCS称为(胃肠道)息肉病-色素沉着-秃发-指(趾)甲营养不良(萎缩)综合征<sup>[5]</sup>. 迄今为止, 全世界关于CCS的文献报告约500余例, 以亚洲居多, 其中来源于日本的病例高达75%, 我国仅80余例<sup>[6]</sup>, 作为罕见的息肉病, 目前其病因和治疗尚不明确. 本文对该疾病进行文献综述, 以期提高临床医生对本病的认识, 并进一步探索该疾病的病因和治疗方法。

## 1 病因

**1.1 自身免疫反应** CCS的病因及发病机制尚未明确, 目前研究认为CCS的发生可能与自身免疫性疾病相关<sup>[7]</sup>. IgG4相关的自身免疫性疾病是近年来发现的一种以IgG4阳性浆细胞浸润为特征的多系统疾病<sup>[8]</sup>, 7例CCS患者中有6例患者至少有1个息肉被发现存在中等至强阳性的IgG4浆细胞浸润<sup>[9]</sup>. 另外有一例CCS临床病例报告显示其胃息肉和结肠息肉经免疫组化染色后IgG4均呈阳性, 应用泼尼松治疗后患者临床症状明显好转, 该组织学的发现进一步支持自身免疫反应可能是CCS疾病的重要发病机制<sup>[6,10-12]</sup>. 此外, CCS常合并自身免疫性

疾病, 如甲状腺功能减退症、系统性红斑狼疮、膜性肾病、风湿性关节炎、硬皮病、白癜风等, 同时部分患者血清学检查结果呈现较高滴度的抗核抗体<sup>[13]</sup>. 以上均表明, CCS可能是一种自身免疫性疾病。

**1.2 遗传易感因素与基因突变** 尽管现阶段临床数据多倾向支持CCS为非家族遗传性疾病, 但印度的一例病例报告显示父子二人先后被确诊为CCS, 经过3 mo的治疗后患者症状消失, 内镜随访发现二人胃肠道中息肉的数目及大小均显著下降, 预示CCS的发病过程中可能部分与遗传易感因素的参与调控相关<sup>[14]</sup>. 虽然CCS具体的发病机制尚不清楚, 但必定存在影响表型变化的分子生物学途径改变, 包括不同程度的炎症、错构瘤性息肉及癌前病变, 其发生不能排除种系突变或体细胞突变的可能. 在一项种系检测分析中发现CCS患者存在罕见的PRKDC变异<sup>[15]</sup>, 其参与编码DNA依赖性蛋白激酶催化亚基(DNA-PKcs), 而DNA-PKcs的作用是在T细胞和B细胞的发育过程中参与DNA双链断裂修复和重组<sup>[16,17]</sup>. 与prkdc<sup>+/+</sup>或prkdc<sup>+/-</sup>小鼠相比, prkdc<sup>-/-</sup>小鼠主要表现为胃肠道异常的改变, 包括小肠Peyer's斑显著减少、结肠炎、炎性息肉及癌症等一系列病变的变化<sup>[15,18]</sup>. 同样, DNA-PKcs失活后, 肠道黏膜更易显现出异型增生及异常隐窝病灶形成的倾向, 二者均被认为与癌前病变及恶性肿瘤的发生显著相关, 表明DNA-PKcs突变可能会加速胃肠道肿瘤的进展<sup>[18]</sup>, 因此PRKDC基因突变可能在CCS的发病过程中起至关重要的作用。

**1.3 感染因素或炎症** 幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)可能参与了CCS的发病过程. 多项研究显示, 部分CCS患者快速尿素酶试验检测结果呈阳性, 粪便*H. pylori*抗原检测亦呈阳性, 此结果表明*H. pylori*感染可能是CCS重要的致病因素, 同时患者经过抗*H. pylori*治疗后其临床症状及胃肠道异常表现均得以有效改善, 更进一步为*H. pylori*与CCS之间的强关联性提供了充分有力的临床证据<sup>[19-21]</sup>. 日本的一项回顾性研究发现, CCS患者中*H. pylori*阳性率为54.0%, 成功根除幽门螺杆菌后约53.3%的患者表现为内镜下缓解. 另外, 在19例合并胃癌的CCS的患者中同样发现存在*H. pylori*感染, 阳性率约为31.6%<sup>[2]</sup>.

此外, 在CCS临床表现中, 腹泻通常作为CCS的首发症状而就诊, 推测其可能与肠道细菌过度生长有关. 相关病例报告显示, 在CCS患者粪便检测中发现艰难梭菌毒素呈阳性, 这些患者经过甲硝唑治疗14 d后, 症状明显减轻<sup>[19]</sup>. 另外在患有精神分裂症的CCS患者中发现其肠道存在耐甲氧西林金黄色葡萄球菌感染<sup>[22]</sup>, 给予万古霉素治疗后肠道感染被彻底消除. 在一例以慢性腹泻

为主要症状的CCS患者中发现伴有小肠细菌过度生长的情况, 主要为空肠肺炎克雷伯杆菌过度生长, 经头孢克肟联合利福昔明口服治疗后, 患者临床症状及内镜下表现明显好转<sup>[23]</sup>。此外, 一例确诊为CCS的患者给予口服泼尼松治疗6 mo后, 其临床症状虽有所缓解, 但内镜随访结果发现结直肠中腺瘤的数目及大小较之前均无任何改变, 再次尝试给予非甾体抗炎药物舒林酸300 mg/d治疗一段时间后发现其内镜下结直肠中腺瘤均彻底消失<sup>[13,24]</sup>。其在证实CCS与感染、炎症相关的同时, 又部分程度强调了CCS与肠道菌群失调之间的关联, 为肠道菌群失调与CCS疾病之间的相互作用进一步提供了相应的临床证据和思路。

**1.4 精神压力、劳累、应激反应、微量元素缺乏** 一项关于110例日本CCS病例研究统计分析显示, 精神压力和劳累是CCS疾病发生的重要诱因, 约3% CCS患者合并精神疾病<sup>[7]</sup>, 精神压力可能会引发胃肠黏膜局部炎症反应<sup>[25]</sup>。先前国外一例患有精神分裂症的患者于30年后被诊断为CCS, 且于发病前病情恶化, 推测精神分裂症的恶化可能是CCS发病的导火索<sup>[22]</sup>。另外, 应激反应如骨折亦可能是CCS重要的诱因<sup>[26]</sup>。CCS并发的急性脑病综合征可能是因为机体吸收功能障碍导致电解质及重要营养物质缺乏<sup>[27]</sup>。另有文献报道一些微量元素如锌、铜的缺乏亦可导致CCS的发生<sup>[28]</sup>。

## 2 临床特征

一项我国83例CCS统计分析显示, CCS的平均发病年龄为53.94岁(18-80岁), 以男性居多, 男:女 = 2.61:1, 呈散发性, 其中以北京在全国的占比最高, 约为26.5%<sup>[29]</sup>。以前认为儿童不会存在患有CCS的风险, 但最近国外的一例案例报告显示CCS发病的最小年龄为15岁<sup>[30]</sup>。CCS主要的临床特征为胃肠道多发息肉和外胚层异常改变, 二者发生的先后顺序目前仍有争议, 主要表现为指甲营养不良(95.18%)、全身色素过度沉着(87.95%)、毛发脱落(87.95%)、外胚层三联征(80.73%)、腹泻(83.13%)、体重下降(67.47%)、腹痛(57.83%)、食欲下降(53.01%)、水肿(36.15%)、乏力(30.12%)和味觉障碍(25.30%)<sup>[15,29]</sup>。常伴发自身免疫疾病如甲状腺功能减退症、重症急性胰腺炎、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、硬皮病、白癜风和膜性肾病等, 偶尔伴有骨髓增生异常综合征、骨巨细胞瘤、精神分裂症、肺栓塞甚至癌变倾向<sup>[31,32]</sup>。外胚层异常改变可能与长期吸收功能障碍引发的营养不良相关<sup>[25,33]</sup>。临床表现多呈进行性加重, 偶呈自限性或易复发性<sup>[2]</sup>。CCS患者的实验室检查多呈非特异性改变, 包括缺铁性贫血、低蛋白血症、低钙血症、低镁血症和低钾血症等。另外, 与健康人相比, 部分CCS患者血清

学检查可发现抗核抗体、IgG4水平明显升高, 而且息肉组织经免疫组化检测发现IgG4阳性浆细胞明显增多<sup>[7]</sup>, 部分患者息肉组织中TNF- $\alpha$ 表达异常升高<sup>[34,35]</sup>。

## 3 内镜及病理学特点

CCS患者内镜下可见胃肠道弥漫性多发息肉, 以结直肠和胃多见, 也可累及十二指肠和小肠, 而在食管极为罕见。息肉多为无蒂或亚蒂, 形态不一, 呈结节状、葡萄状或珊瑚样, 直径多为2 mm-5 cm, 表面常充血水肿, 可伴有糜烂或出血。息肉的病理类型以增生性息肉、腺瘤性息肉和错构瘤性息肉较为常见, 主要的组织学表现为腺体囊性扩张伴间质水肿, 部分囊腺充满蛋白样液体或浓缩黏液, 伴有明显的炎性细胞浸润, 通常以嗜酸性粒细胞、淋巴细胞和中性粒细胞浸润为主<sup>[4,29,36,37]</sup>。

## 4 并发症

CCS息肉具有一定的恶变倾向, 癌变率约9%-15%, 近些年关于CCS合并癌症的病例报告逐渐增多, 主要以结直肠癌为主<sup>[11,24]</sup>, 还包括胃癌<sup>[38]</sup>、十二指肠乳头状腺癌<sup>[39]</sup>。同时CCS还可能出现其他的并发症, 包括严重的胃肠道出血、肺栓塞、肠套叠及脱垂等。因吸收障碍引起的电解质紊乱、脱水、蛋白质丢失性肠病及营养不良亦会促进疾病的恶化。目前关于CCS反复合并感染的机制仍不明确, 推测其可能与营养不良相关, 但也不排除原发免疫缺陷的可能<sup>[12,40]</sup>。

## 5 诊断及鉴别诊断

CCS的诊断应依据病史、体格检查、内镜检查和病理组织学结果综合考虑。以胃肠道弥漫性息肉、指(趾)甲营养不良、脱发、皮肤色素沉着、腹泻、体重减轻和味觉障碍为表现的患者需要考虑本病。国内有学者提出了: 中老年起病、无遗传背景、临床表现、内镜表现和病理改变的诊断五要素。但是五项中单独一项无诊断意义。CCS常需与Menetrier病以及其他息肉综合征鉴别, 例如幼年息肉病, Peutz-Jeghers综合征, Cowden综合征, Turcot综合征和家族性腺瘤性息肉病<sup>[41]</sup>。临床上根据息肉组织学, 息肉分布, 临床表现, 家族史和分子遗传学检测等方面进行鉴别诊断(表1)。

## 6 治疗

基于CCS疾病的罕见性及其对病因研究认识的缺乏性, 目前关于CCS最佳的临床治疗方案仍处于探索阶段(表2)。目前常推荐的治疗方案是糖皮质激素、PPI及营养支持联合治疗, 其临床症状及息肉数目和大小几乎均于治疗1年内得以有效缓解<sup>[36]</sup>。通常认为口服泼尼松



表 1 Cronkhite-Canada综合征消化道息肉病的鉴别诊断要点

疾病	好发年龄	遗传因素	息肉好发部位	肠外表现/伴发疾病	病理特点
Menetrier病	各年龄段, 40-60多发	无	胃	低蛋白血症	胃黏膜过度增生肥厚
幼年性息肉病	儿童	常染色体显性遗传	左半结肠	-	幼年性, 错构瘤性
Peutz-Jeghers综合征	青年	常染色体显性遗传	胃, 小肠和大肠, 大部 分在小肠	口唇黏膜, 指(趾)末端 黑斑	错构瘤性
Cowden综合征	青年	常染色体显性遗传	消化道	皮肤、口腔及乳腺错 构瘤样病变, 早发性乳 腺癌和甲状腺癌	错构瘤性
Turcot综合征	青年	遗传病	消化道	中枢神经系统恶性肿 瘤	腺瘤性
家族性腺瘤性息肉病	青年	常染色体显性遗传	小肠, 结肠	-	腺瘤性

表 2 Cronkhite-Canada综合征目前治疗方法及可能机制

治疗药物	可能机制
糖皮质激素	抗炎和免疫抑制作用
免疫抑制剂或英夫利昔	抑制免疫/抗TNF- $\alpha$
柳氮磺胺吡啶/美沙拉嗪	抗炎作用
非甾体抗炎药	抑制炎症
抗生素	控制感染/肠道菌群失调
质子泵抑制剂、谷氨酰胺、锌剂和维生素	营养支持, 对症治疗
抗抑郁药	针对可能的神经免疫反应

(30-49 mg/d)是治疗活动性CCS最有效的方法<sup>[2]</sup>, 但是目前关于糖皮质激素具体的用量和疗程在不同治疗中心仍存在差异, 同时激素治疗过程中可能会发生严重的不良反应, 例如脓毒血症和血栓的形成<sup>[2]</sup>. 另外需强调的是在激素减量过程中应重视疾病复发的可能<sup>[36]</sup>. 在营养支持方面, 全肠外营养治疗可有效减轻肠道负荷, 使肠道得以充分休息, 有研究显示给予全肠外营养一段时间后再行肠内营养治疗, 同时加用PPI、谷氨酰胺、锌剂和维生素可有效缓解临床症状<sup>[14]</sup>.

然而有些病例对于全肠外营养及激素治疗并不敏感, 鉴于CCS有明显的自身免疫特征, 有学者推荐免疫抑制剂西罗莫司作为CCS一种有价值的治疗方案<sup>[42]</sup>. 另外, 免疫组化染色发现部分患者息肉中TNF- $\alpha$ 表达异常升高, 每2 wk给予200 mg英夫利昔单抗治疗后, 患者症状明显好转, 内镜检查亦显示胃肠道息肉几乎完全消退<sup>[15,34,35]</sup>. 对于炎症性息肉病变, 研究发现给予柳氮磺吡啶(3 g/d)8 mo后, 胃肠道息肉及黏膜水肿均可明显缓解<sup>[37]</sup>. 早期发表的一例病例报告已证实泼尼松7.5 mg/d联合美沙拉嗪1500 mg/d可以有效缓解胃肠道症状, 同时伴随着胃肠道息肉完全消退. 而在另一例CCS病例报告中显示的治疗剂量与上述略存差异, 与泼尼松10 mg/d联合治

疗的情况下选用了较高剂量的美沙拉嗪(1000 mg, tid), 此剂量相当于治疗溃疡性结肠炎的常用剂量, 1年后停用泼尼松而仅给予美沙拉嗪治疗, 逐渐减量治疗后, 患者临床症状及胃肠道息肉完全消失, 且在随访14年之后患者仍处于完全缓解状态<sup>[43,44]</sup>.

有学者认为CCS与感染、肠道菌群失调有关, 对于不同的细菌感染可以选用敏感的抗生素, 例如头孢克肟联合利福昔明, 万古霉素, 甲硝唑等. 另有学者发现非甾体抗炎药如舒林酸对CCS治疗有效<sup>[13,19,22-24]</sup>. 由于CCS可能会合并*H. pylori*感染, 给予克拉霉素、阿莫西林和兰索拉唑根除*H. pylori*后, 其临床症状、外胚层改变及低蛋白血症均恢复正常<sup>[20]</sup>. 然而, 经过*H. pylori*根除及PPI抑酸治疗后, 虽然半数患者临床症状及内镜下表现可有效缓解, 甚至其症状及胃肠道息肉可以完全消退<sup>[21]</sup>, 但部分患者同时会伴发一些药物不良反应, 例如水样腹泻, 从而混淆CCS诊断<sup>[2,36]</sup>. 对于精神因素诱发的CCS治疗, 文献显示一例因工伤事故导致巨大精神压力的CCS患者, 除长期应用营养支持、抗炎和免疫抑制剂治疗外, 同时使用低剂量抗抑郁药物治疗效果非常显著, 在随访的8年期间患者临床症状和身心健康方面均持续得以改善<sup>[45]</sup>. 在治疗方案中, 当组织活检发现有嗜酸性粒

细胞和肥大细胞浸润时, 应选用抗组胺受体拮抗剂和色甘酸钠作为辅助治疗方案, 以缓解患者症状<sup>[46]</sup>. 还有文献报告显示抗纤溶酶氨甲环酸对CCS有较好的治疗效果<sup>[22]</sup>. 对于伴有明显味觉障碍的患者, 应及时补充锌剂<sup>[47,48]</sup>. 若伴有严重蛋白丢失性肠病、持续血便或恶变倾向等并发症时, 应及时行外科手术<sup>[36]</sup>.

## 7 预后

本病预后差, 目前研究认为CCS疾病5年死亡率高达55%, 其中营养不良、低蛋白血症、反复感染、败血症、心力衰竭和胃肠道出血为本病常见的死亡原因<sup>[6,41]</sup>. 一方面由于本病为罕见病, 临床医师可能会因为不能熟练掌握此疾病而误诊, 另一方面是因为本病存在恶性肿瘤发生的风险, 如腺瘤性息肉或锯齿状腺瘤, 二者均为结直肠癌的癌前病变, 同时本病容易复发, 因此在疾病的治疗进程中需要定期监测随访, 包括电话随访及内镜随访等, 以期降低CCS的死亡率.

## 8 结论

CCS是一组以外胚层异常和胃肠道弥漫性息肉改变为特征, 同时伴有蛋白质丢失的非遗传性罕见病. 现阶段对于CCS发病原因、机制及合理的治疗方案仍存争议. 鉴于多项研究表明CCS存在自身免疫因素的参与以及抗生素应用对其治疗的有效性, 我们推测可能某些细菌具有与皮肤干细胞共同的抗原成分, 从而导致免疫攻击, 出现胃肠道息肉、皮肤毛发指甲等共同的改变, 这也为我们的进一步研究提供可能的方向. 现阶段的诊断方法主要基于临床特征、内镜检查结果及病理学检查. 虽然现阶段内镜监测已在临床被广泛应用, 但由于CCS比较罕见, 目前关于如何早期有效筛查诊断CCS的国际及国内共识尚未形成. 因此提高临床工作中对本病的认识水平并探索其病因及最佳治疗策略至关重要.

## 9 参考文献

- 1 Cronkhite LW Jr, Canada WJ. Generalized gastrointestinal polyposis; an unusual syndrome of polyposis, pigmentation, alopecia and onychotrophy. *N Engl J Med* 1955; 252: 1011-1015 [PMID: 14383952 DOI: 10.1056/NEJM195506162522401]
- 2 Watanabe C, Komoto S, Tomita K, Hokari R, Tanaka M, Hirata I, Hibi T, Kaunitz JD, Miura S. Endoscopic and clinical evaluation of treatment and prognosis of Cronkhite-Canada syndrome: a Japanese nationwide survey. *J Gastroenterol* 2016; 51: 327-336 [PMID: 26216651 DOI: 10.1007/s00535-015-1107-7]
- 3 Firth C, Harris LA, Smith ML, Thomas LF. A Case Report of Cronkhite-Canada Syndrome Complicated by Membranous Nephropathy. *Case Rep Nephrol Dial* 2018; 8: 261-267 [PMID: 30643792 DOI: 10.1159/000494714]
- 4 Zhao R, Huang M, Banafae O, Zhao J, Cheng L, Zou K, Zhu L. Cronkhite-Canada syndrome: a rare case report and literature

- review. *BMC Gastroenterol* 2016; 16: 23 [PMID: 26911542 DOI: 10.1186/s12876-016-0436-1]
- 5 曹晓沧, 王邦茂, 张洁, 谭建, 李威, 丁娟娟, 连佳, 陆宁, 姜葵, 黄乃侠. Cronkhite—Canada综合征32例临床分析. *中国实用内科杂志* 2006; 9-11
- 6 Goto A. Cronkhite-Canada syndrome: epidemiological study of 110 cases reported in Japan. *Nihon Geka Hokan* 1995; 64: 3-14 [PMID: 8534187]
- 7 Sweetser S, Ahlquist DA, Osborn NK, Sanderson SO, Smyrk TC, Chari ST, Boardman LA. Clinicopathologic features and treatment outcomes in Cronkhite-Canada syndrome: support for autoimmunity. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 496-502 [PMID: 21881972 DOI: 10.1007/s10620-011-1874-9]
- 8 Kamisawa T, Funata N, Hayashi Y, Eishi Y, Koike M, Tsuruta K, Okamoto A, Egawa N, Nakajima H. A new clinicopathological entity of IgG4-related autoimmune disease. *J Gastroenterol* 2003; 38: 982-984 [PMID: 14614606 DOI: 10.1007/s00535-003-1175-y]
- 9 Riegert-Johnson DL, Osborn N, Smyrk T, Boardman LA. Cronkhite-Canada syndrome hamartomatous polyps are infiltrated with IgG4 plasma cells. *Digestion* 2007; 75: 96-97 [PMID: 17510553 DOI: 10.1159/000102963]
- 10 Fan RY, Wang XW, Xue LJ, An R, Sheng JQ. Cronkhite-Canada syndrome polyps infiltrated with IgG4-positive plasma cells. *World J Clin Cases* 2016; 4: 248-252 [PMID: 27574615 DOI: 10.12998/wjcc.v4.i8.248]
- 11 Flannery CM, Lunn JA. Cronkhite-Canada Syndrome: an unusual finding of gastro-intestinal adenomatous polyps in a syndrome characterized by hamartomatous polyps. *Gastroenterol Rep (Oxf)* 2015; 3: 254-257 [PMID: 24982130 DOI: 10.1093/gastro/gou041]
- 12 Lin HJ, Tsai YT, Lee SD, Lai KH, Ng WW, Tam TN, Lin HC, Liou LB, Tsay SH. The Cronkhite-Canada syndrome with focus on immunity and infection. Report of a case. *J Clin Gastroenterol* 1987; 9: 568-570 [PMID: 3680910 DOI: 10.1097/00004836-198710000-00018]
- 13 Chakrabarti S. Cronkhite-Canada Syndrome (CCS)—A Rare Case Report. *J Clin Diagn Res* 2015; 9: OD08-OD09 [PMID: 25954656 DOI: 10.7860/JCDR/2015/11919.5700]
- 14 Patil V, Patil LS, Jakareddy R, Verma A, Gupta AB. Cronkhite-Canada syndrome: a report of two familial cases. *Indian J Gastroenterol* 2013; 32: 119-122 [PMID: 23408256 DOI: 10.1007/s12664-012-0296-8]
- 15 Boland BS, Bagi P, Valasek MA, Chang JT, Bustamante R, Madlensky L, Sandborn WJ, Harismendy O, Gupta S. Cronkhite Canada Syndrome: Significant Response to Infliximab and a Possible Clue to Pathogenesis. *Am J Gastroenterol* 2016; 111: 746-748 [PMID: 27151126 DOI: 10.1038/ajg.2016.92]
- 16 Degg NL, Weil MM, Edwards A, Haines J, Coster M, Moody J, Ellender M, Cox R, Silver A. Adenoma multiplicity in irradiated Apc(Min) mice is modified by chromosome 16 segments from BALB/c. *Cancer Res* 2003; 63: 2361-2363 [PMID: 12750251]
- 17 Yu Y, Okayasu R, Weil MM, Silver A, McCarthy M, Zabriskie R, Long S, Cox R, Ullrich RL. Elevated breast cancer risk in irradiated BALB/c mice associates with unique functional polymorphism of the Prkdc (DNA-dependent protein kinase catalytic subunit) gene. *Cancer Res* 2001; 61: 1820-1824 [PMID: 11280730]
- 18 Kurimasa A, Ouyang H, Dong LJ, Wang S, Li X, Cordon-Cardo C, Chen DJ, Li GC. Catalytic subunit of DNA-dependent protein kinase: impact on lymphocyte development and tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 1999; 96: 1403-1408 [PMID: 9990036 DOI: 10.1073/pnas.96.4.1403]
- 19 Bandyopadhyay D, Hajra A, Ganesan V, Kar SS, Bhar D, Layek

- M, Mukhopadhyay S, Choudhury C, Choudhary V, Banerjee P. Cronkhite-Canada Syndrome: A Rare Cause of Chronic Diarrhoea in a Young Man. *Case Rep Med* 2016; 2016: 4210397 [PMID: 26941798 DOI: 10.1155/2016/4210397]
- 20 Okamoto K, Isomoto H, Shikuwa S, Nishiyama H, Ito M, Kohno S. A case of Cronkhite-Canada syndrome: remission after treatment with anti-Helicobacter pylori regimen. *Digestion* 2008; 78: 82-87 [PMID: 18948692 DOI: 10.1159/000165354]
  - 21 Kim MS, Jung HK, Jung HS, Choi JY, Na YJ, Pyun GW, Ryu JH, Moon IH, Jo MS. [A Case of Cronkhite-Canada syndrome showing resolution with Helicobacter pylori eradication and omeprazole]. *Korean J Gastroenterol* 2006; 47: 59-64 [PMID: 16434870]
  - 22 Nakayama M, Muta H, Somada S, Maeda T, Mutoh T, Shimizu K, Suehiro Y, Hisano T, Kurita R, Shiraishi T, Mori M, Yoshikawa Y, Tsunetomi N, Uchida A, Tani K. Cronkhite-Canada syndrome associated with schizophrenia. *Intern Med* 2007; 46: 175-180 [PMID: 17301512 DOI: 10.2169/internalmedicine.46.1735]
  - 23 Dawra S, Sharma V, Dutta U. Clinical and Endoscopic Remission in a Patient With Cronkhite-Canada Syndrome. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2018; 16: e84-e85 [PMID: 29627427 DOI: 10.1016/j.cgh.2017.09.023]
  - 24 Hizawa K, Nakamori M, Yao T, Matsumoto T, Iida M. A case of Cronkhite-Canada syndrome with colorectal adenomas: effect of the nonsteroidal anti-inflammatory drug sulindac. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1831-1832 [PMID: 17686082 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2007.01237.x]
  - 25 Choi YJ, Lee DH, Song EJ, Kim JW, Chae HS. Vitiligo: an unusual finding in Cronkhite-Canada syndrome. *J Dermatol* 2013; 40: 848-849 [PMID: 23957598 DOI: 10.1111/1346-8138.12197]
  - 26 Zong Y, Zhao H, Yu L, Ji M, Wu Y, Zhang S. Case report-malignant transformation in Cronkhite-Canada syndrome polyp. *Medicine (Baltimore)* 2017; 96: e6051 [PMID: 28178153 DOI: 10.1097/MD.00000000000006051]
  - 27 Peitl A, Vucić Peitl M, Pavlović E, Ljubicić D. Acute brain syndrome as a consequence of the Cronkhite-Canada syndrome. *Psychiatr Danub* 2005; 17: 90-93 [PMID: 16395849]
  - 28 Berzin TM, Greenberger NJ, Levy BD, Loscalzo J. Clinical problem-solving. Worth a second look. *N Engl J Med* 2012; 366: 463-468 [PMID: 22296081 DOI: 10.1056/NEJMcps0907563]
  - 29 晁帅恒, 李修岭, 张梦婷, 黄宇博, 吴贝贝, 高鹤云, 刘文丽. Cronkhite-Canada综合征83例临床分析. *中国临床研究* 2018; 31: 397-399 [DOI: 10.13429/j.cnki.cjcr.2018.03.028]
  - 30 Faria MAG, Basaglia B, Nogueira VQM, de Mendonca TBGF, Kaiser Junior RL, Filho IJZ, de Quadros LG. A Case of Adolescent Cronkhite-Canada Syndrome. *Gastroenterology Res* 2018; 11: 64-67 [PMID: 29511410 DOI: 10.14740/gr912w]
  - 31 Suzuki R, Irisawa A, Hikichi T, Takahashi Y, Kobayashi H, Kumakawa H, Ohira H. Cronkhite-Canada syndrome associated with myelodysplastic syndrome. *World J Gastroenterol* 2009; 15: 5871-5874 [PMID: 19998513 DOI: 10.3748/wjg.15.5871]
  - 32 Triantafillidis JK, Kougioumtzian A, Leivaditou A, Kostopoulos P. Cronkhite-Canada syndrome associated with a giant cell bone tumor. *J Gastrointest Liver Dis* 2012; 21: 345 [PMID: 23256113]
  - 33 Yasuda T, Ueda T, Matsumoto I, Shirasaka D, Nakajima T, Sawa H, Shinzeki M, Kim Y, Fujino Y, Kuroda Y. Cronkhite-Canada syndrome presenting as recurrent severe acute pancreatitis. *Gastrointest Endosc* 2008; 67: 570-572 [PMID: 18294523 DOI: 10.1016/j.gie.2007.07.041]
  - 34 Martinek J, Chvatalova T, Zavada F, Vankova P, Tuckova I, Zavoral M. A fulminant course of Cronkhite-Canada syndrome. *Endoscopy* 2010; 42 Suppl 2: E350-E351 [PMID: 21170844 DOI: 10.1055/s-0030-1256003]
  - 35 Watanabe D, Ooi M, Hoshi N, Kohashi M, Yoshie T, Ikehara N, Yoshida M, Yanagita E, Yamasaki T, Itoh T, Azuma T. Successful treatment of Cronkhite-Canada syndrome using anti-tumor necrosis factor antibody therapy. *Endoscopy* 2014; 46 Suppl 1 UCTN: E476-E477 [PMID: 25314205 DOI: 10.1055/s-0034-1377539]
  - 36 Jha AK, Kumar A, Singh SK, Madhawi R. Panendoscopic characterization of Cronkhite-Canada syndrome. *Med J Armed Forces India* 2018; 74: 196-200 [PMID: 29692494 DOI: 10.1016/j.mjafi.2017.03.007]
  - 37 Ueyama H, Fu KI, Ogura K, Murata S, Miyazaki A. Successful treatment for Cronkhite-Canada syndrome with endoscopic mucosal resection and salazosulfapyridine. *Tech Coloproctol* 2014; 18: 503-507 [PMID: 22847839 DOI: 10.1007/s10151-012-0863-0]
  - 38 Ito M, Matsumoto S, Takayama T, Wakatsuki K, Tanaka T, Migita K, Nakajima Y. Cronkhite-Canada syndrome associated with esophageal and gastric cancers: report of a case. *Surg Today* 2015; 45: 777-782 [PMID: 25008327 DOI: 10.1007/s00595-014-0977-2]
  - 39 Fuyuno Y, Moriyama T, Kumagai Y, Esaki M. Cronkhite-Canada Syndrome with a Major Duodenal Papillary Adenocarcinoma. *Intern Med* 2017; 56: 2805-2807 [PMID: 28924129 DOI: 10.2169/internalmedicine.8858-17]
  - 40 Ward EM, Wolfsen HC. Review article: the non-inherited gastrointestinal polyposis syndromes. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 333-342 [PMID: 11876685]
  - 41 Slavik T, Montgomery EA. Cronkhite-Canada syndrome six decades on: the many faces of an enigmatic disease. *J Clin Pathol* 2014; 67: 891-897 [PMID: 25004941 DOI: 10.1136/jclinpath-2014-202488]
  - 42 Langevin C, Chapdelaine H, Picard JM, Poitras P, Leduc R. Sirolimus in Refractory Cronkhite-Canada Syndrome and Focus on Standard Treatment. *J Investig Med High Impact Case Rep* 2018; 6: 2324709618765893 [PMID: 29619395 DOI: 10.1177/2324709618765893]
  - 43 Kornbluth A, Sachar DB; Practice Parameters Committee of the American College of Gastroenterology. Ulcerative colitis practice guidelines in adults (update): American College of Gastroenterology, Practice Parameters Committee. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1371-1385 [PMID: 15233681 DOI: 10.1111/j.1572-0241.2004.40036.x]
  - 44 Schulte S, Kütting F, Mertens J, Kaufmann T, Drebber U, Nierhoff D, Töx U, Steffen HM. Case report of patient with a Cronkhite-Canada syndrome: sustained remission after treatment with corticosteroids and mesalazine. *BMC Gastroenterol* 2019; 19: 36 [PMID: 30813906 DOI: 10.1186/s12876-019-0944-x]
  - 45 Dore MP, Satta R, Murino A, Pes GM. Long-lasting remission in a case of Cronkhite-Canada syndrome. *BMJ Case Rep* 2018; 2018: pii: bcr-2017-223527 [PMID: 29739761 DOI: 10.1136/bcr-2017-223527]
  - 46 Ward EM, Wolfsen HC. Pharmacological management of Cronkhite-Canada syndrome. *Expert Opin Pharmacother* 2003; 4: 385-389 [PMID: 12614190 DOI: 10.1517/14656566.4.3.385]
  - 47 Yoshida S, Tomita H. A case of Cronkhite-Canada syndrome whose major complaint, taste disturbance, was improved by zinc therapy. *Acta Otolaryngol Suppl* 2002; 546: 154-158 [PMID: 12132614 DOI: 10.1080/00016480260046553]



48 Blonski WC, Furth EE, Kinosian BP, Compher C, Metz DC. A case of Cronkhite-Canada syndrome with taste disturbance

as a leading complaint. *Digestion* 2005; 71: 201-205 [PMID: 15942207 DOI: 10.1159/000086135]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》外文字符标准

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

# 瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响

孙成成, 刘宇, 胡旭明

孙成成, 刘宇, 义乌市中心医院麻醉科 浙江省义乌市 322000

胡旭明, 浙江大学附属邵逸夫医院麻醉科 浙江省杭州市 310016

孙成成, 硕士, 主治医师, 研究方向为临床麻醉学.

**作者贡献分布:** 此课题由孙成成与刘宇设计; 研究过程由孙成成、刘宇及胡旭明操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由胡旭明提供; 数据分析由孙成成与胡旭明完成; 本论文写作由孙成成、刘宇及胡旭明完成.

**通讯作者:** 孙成成, 硕士, 主治医师, 322000, 浙江省义乌市江东路699号, 义乌市中心医院麻醉科. [kx5601057fantua@163.com](mailto:kx5601057fantua@163.com)  
电话: 0579-85209666

收稿日期: 2019-04-11

修回日期: 2019-06-26

接受日期: 2019-08-12

在线出版日期: 2019-08-28

## Remifentanyl inhibits proliferation and promotes apoptosis of gastric cancer cells by regulating miR-519d-3p/STAT3 expression

Cheng-Cheng Sun, Yu Liu, Xu-Ming Hu

Cheng-Cheng Sun, Yu Liu, Department of Anesthesiology, Yiwu Central Hospital, Yiwu322000, Zhejiang Province, China.

Xu-Ming Hu, Department of Anesthesiology, Shao Yifu Hospital Affiliated to Zhejiang University, Hangzhou310016, Zhejiang Province, China.

**Corresponding author:** Cheng-Cheng Sun, MSc, Chief Physician, Yiwu Central Hospital, Department of Anesthesiology, No. 699, Jiangdong Road, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. [kx5601057fantua@163.com](mailto:kx5601057fantua@163.com)

Received: 2019-04-11

Revised: 2019-06-26

Accepted: 2019-08-12

Published online: 2019-08-28

## Abstract BACKGROUND

Studies have shown that opioids can not only be used for tumor anesthesia and postoperative analgesia, but also have an inhibitory effect on the malignant biological behavior of tumor cells. As a highly efficient opioid receptor agonist, remifentanyl has been reported to inhibit the proliferation and migration and induce apoptosis of tumor cells such as colon cancer, liver cancer, and lung adenocarcinoma cells. However, the effect of remifentanyl on the proliferation and apoptosis of gastric cancer (GC) cells and the underlying mechanism are still unclear.

## AIM

To study the effect of remifentanyl on proliferation and apoptosis of GC cells and the potential mechanism involved.

## METHODS

Human GC SGC7901 and BGC823 cells were cultured, and the effects of different concentrations of remifentanyl on cell proliferation were detected by MTT assay. GC cells overexpressing miR-519d-3p, those with low expression of miR-519d-3p, and those overexpressing STAT3 were constructed and treated with remifentanyl. Cell proliferation activity was measured by MTT assay at 24 h, 48 h, and 72 h after remifentanyl treatment. Apoptosis was detected by flow cytometry at 48 h. qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression levels of miR-519d-3p and STAT3 in cells, respectively. The dual luciferase reporter assay was used to test whether miR-519d-3p targets STAT3.

## RESULTS

Remifentanyl could effectively inhibit the proliferation of GC cells, induce their apoptosis, and promote the

expression of miR-519d-3p. Overexpression of miR-519d-3p inhibited the proliferation of GC cells and induced their apoptosis, while inhibition of miR-519d-3p expression reversed the effect of remifentanyl on the proliferation and apoptosis of GC cells. Dual luciferase reporter gene assay confirmed that miR-519d-3p negatively regulated STAT3 activity in GC cells. Overexpression of STAT3 reversed the effect of remifentanyl on the proliferation and apoptosis of GC cells.

## CONCLUSION

Remifentanyl can inhibit the proliferation of GC cells and induce their apoptosis, which may be related to the regulation of miR-519d-3p/STAT3 expression.

**Key Words:** Gastric cancer; Remifentanyl; miR-519d-3p; STAT3; Proliferation; Apoptosis

Sun CC, Liu Y, Hu XM. Remifentanyl inhibits proliferation and promotes apoptosis of gastric cancer cells by regulating miR-519d-3p/STAT3 expression. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 984-990  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/984.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.984>

## 摘要

### 背景

研究表明, 阿片类药物不仅用于肿瘤手术麻醉及术后镇痛, 而且对肿瘤细胞恶性生物学行为具有一定抑制作用. 瑞芬太尼作为一种高效阿片受体激动剂, 已有报道瑞芬太尼可抑制结肠癌、肝癌、肺腺癌等多种肿瘤细胞增殖、迁移并诱导肿瘤细胞凋亡. 但目前瑞芬太尼对胃癌(gastric cancer, GC)细胞增殖和凋亡的影响及其机制尚不清楚.

### 目的

研究瑞芬太尼对GC细胞增殖、凋亡的影响及其潜在作用机制.

### 方法

培养人GC SGC7901细胞, MTT实验检测不同浓度瑞芬太尼对细胞增殖的影响. 构建过表达miR-519d-3p的GC细胞, 另构建抑制表达miR-519d-3p和过表达STAT3的细胞并给于瑞芬太尼处理, 分别于培养24 h、48 h和72 h时采用MTT法测定细胞增殖活性, 培养48 h时采用流式细胞仪测定细胞凋亡情况, qRT-PCR和Western blot实验分别用于检测细胞中miR-519d-3p和STAT3蛋白表达水平, 双荧光素酶报告基因实验检验miR-519d-3p是否靶向STAT3.

### 结果

瑞芬太尼能够有效抑制GC细胞增殖, 诱导细胞凋亡, 并促进细胞中miR-519d-3p表达; 过表达miR-519d-3p

抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡, 而抑制miR-519d-3p表达可逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用; 双荧光素酶报告基因实验证实GC细胞中miR-519d-3p靶向负调控STAT3的活性; 过表达STAT3逆转了瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用.

## 结论

瑞芬太尼具有抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡的作用, 其作用机制可能与调控miR-519d-3p/STAT3表达有关.

**关键词:** 胃癌; 瑞芬太尼; miR-519d-3p; STAT3; 增殖; 凋亡

**核心提要:** 瑞芬太尼体外处理胃癌(gastric cancer, GC)细胞, 可抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡, 并诱导GC细胞中miR-519d-3p表达上调. 功能验证发现, STAT3是miR-519d-3p的靶基因, 而抑制miR-519d-3p表达或过表达STAT3均能逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用.

孙成成, 刘宇, 胡旭明. 瑞芬太尼通过miR-519d-3p/STAT3对胃癌细胞增殖、凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2019; 27(16): 984-990  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/984.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.984>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)发病率和死亡率在中国恶性肿瘤中均居第3位, 是威胁中国居民生命健康的重大疾病之一<sup>[1]</sup>. 外科手术治疗是GC根治的唯一方式, 阿片类药物广泛用于肿瘤手术全麻及术后自控镇痛, 也是癌痛治疗的重要部分, 此外有研究表明, 阿片类药物可通过不同机制影响肿瘤细胞增殖、凋亡、侵袭和转移等恶性生物学行为<sup>[2-4]</sup>. 瑞芬太尼是一种高效阿片受体激动剂, 已有研究报道瑞芬太尼可抑制结肠癌、肝癌、肺腺癌等多种肿瘤细胞增殖、迁移并诱导肿瘤细胞凋亡<sup>[5-7]</sup>. 但目前瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响及其机制还不清楚. 本研究以GC SGC7901细胞为研究对象, 分析瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响, 并初步探讨其潜在作用机制.

## 1 材料与方法

**1.1 材料** GC细胞株SGC7901由中国科学院上海生科院细胞资源中心提供; 胎牛血清和RPMI 1640培养基(Gibco公司); 注射用盐酸瑞芬太尼(Remifentanyl, 湖北宜昌人福药业有限公司, 批号6120903); Lipofectamine<sup>TM</sup> 2000转染试剂(北京索莱宝科技有限公司); MTT试剂和二甲基亚砷(上海生工生物工程有限公司); Trizol试剂和RIPA裂解液(Invitrogen公司).



## 1.2 方法

**1.2.1 细胞培养、转染:** 将GC细胞SGC7901培养于含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基, 放于37℃, 5%CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 第2 d更换培养液, 待细胞长至80%作用融合时, 用0.25%胰酶消化细胞进行传代培养。

取对数生长期GC SGC7901细胞进行计数并按 $2 \times 10^5$ 个/孔接种于96孔板, 待细胞长至60%左右融合时, 使用Lipofectamine™ 2000转染试剂分别将miRNA-mimics、miR-519d-3p-mimics、miRNA-inhibitor、miR-519d-3p-inhibitor、pcDNA3.1空载体、pcDNA3.1-STAT3转染至细胞, 并分别记为miR-NC组、miR-519d-3p组、anti-miR-NC组、anti-miR-519d-3p组、pcDNA组、pcDNA3-STAT3组。

**1.2.2 MTT实验:** 取对数生长期的GC SGC7901细胞, 以 $5 \times 10^4$ 个/孔接种于24孔板中培养过夜, 分别加入Remifentanyl浓度1 mg/mL、1.5 mg/mL、2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL处理, 继续培养24 h、48 h、72 h时, 每孔分别加入20  $\mu$ L MTT溶液孵育4 h, 吸去上清, 每孔分别加入150  $\mu$ L二甲基亚砷反应10 min。酶标仪下测定各孔490 nm波长处吸光度(A)值。同样方法检测各转染组SGC7901细胞的增殖活性。

**1.2.3 流式细胞仪实验:** 将生长状态良好的细胞以 $1 \times 10^6$ 个/mL的密度加入流式管中, 1000 $\times$ g离心5 min弃上清, 使用PBS溶液洗涤细胞3次后1 $\times$ Binding Buffer重悬细胞, 采用Annexin V-FITC和PI双染法检测细胞凋亡情况。首先加入Annexin V-FITC 5  $\mu$ L混匀室温避光染色15 min, 再加入PI染色液10  $\mu$ L冰浴下染色5 min, 放入流式细胞仪上检测并计算细胞凋亡率。

**1.2.4 qRT-PCR实验:** 收集细胞加入Trizol试剂抽提总RNA, 紫外分光光度计下测定RNA样品质量和浓度, 以RNA为模板使用Takara逆转录酶进行逆转录反应合成cDNA, 以cDNA为模板、U6为内参基因使用ABI染料法实时荧光定量PCR试剂盒进行qPCR反应。结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算miR-519d-3p相对表达水平。

**1.2.5 Western blot实验:** 收集细胞加入RIPA裂解液提取总蛋白, BCA法测定蛋白样品浓度并定量, 将蛋白样品按1:5比例与上样缓冲液混合, 放入100℃水浴锅中变性3 min, 采用SDS-PAGE分离蛋白样品并转移至PVDF膜, 并放入封闭液中封闭1 h。TBST溶液洗膜, 加入稀释的STAT3抗体和GAPDH抗体一抗4℃下过夜, 洗膜, 加入相应二抗室温放置2 h。洗膜, 放入ECL显色液中显色, 紫外凝胶成像仪中曝光、拍照, 应用Image J软件分析蛋白条带灰度值, 以GAPDH为对照计算STAT3蛋白相对表达水平。

**1.2.6 双荧光素酶报告基因实验:** 为证实miR-519d-3p

靶向STAT3, 本研究分别构建STAT3的3'UTR和突变3'UTR的荧光素酶报告基因载体, 然后分别与miRNA-mimics、miR-519d-3p-mimics共转染GC细胞, 使用Promega双荧光素酶报告基因检测试剂盒检测荧光素酶活性。

**统计学处理** 统计学软件SPSS 19.0用于实验数据分析, 计量数据用mean $\pm$ SD表示, 多组间比较采用单因素方差分析检验, 两组间比较采用两独立样本t检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 Remifentanyl对GC细胞SGC 7901增殖及对miR-519d-3p表达的影响** 与Con组比较, 培养48 h和72 h时2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL Remifentanyl处理的GC SGC7901细胞增殖活性明显降低( $P < 0.05$ ), 2 mg/mL、2.5 mg/mL、3 mg/mL、3.5 mg/mL、4 mg/mL Remifentanyl处理的GC SGC7901细胞中miR-519d-3p表达水平逐渐升高( $P < 0.05$ )。说明Remifentanyl能够抑制GC细胞增殖, 并促进GC细胞miR-519d-3p表达。根据以上实验结果, 选用对细胞抑制效果较为明显的Remifentanyl(4 mg/mL)做后续实验(图1)。

**2.2 Remifentanyl对GC细胞SGC7901凋亡影响** 流式细胞仪检测结果, Con组、Remifentanyl组GC SGC7901细胞凋亡率分别为 $7.18\% \pm 1.24\%$ 、 $21.98\% \pm 5.37\%$ 。与Con组比较, Remifentanyl组GC细胞凋亡率明显升高( $P < 0.05$ )。说明Remifentanyl能够诱导GC细胞凋亡(图2)。

**2.3 过表达miR-519d-3p对GC细胞SGC7901增殖、凋亡的影响** 与miR-NC组比较, miR-519d-3p组GC SGC7901细胞中miR-519d-3p表达水平明显升高( $P < 0.05$ ), 培养48 h和72 h时细胞增殖活性明显降低( $P < 0.05$ ); miR-NC组和miR-519d-3p组GC细胞凋亡率分别为 $7.23\% \pm 1.31\%$ 、 $17.94\% \pm 4.38\%$ , miR-519d-3p组细胞凋亡率明显高于miR-NC组( $P < 0.05$ )。说明过表达miR-519d-3p能够抑制GC细胞增殖并诱导细胞凋亡(图3)。

**2.4 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对GC细胞SGC7901增殖、凋亡的作用** 与REM+anti-miR-NC组比较, REM+anti-miR-519d-3p组GC SGC7901细胞中miR-519d-3p相对表达水平明显降低( $P < 0.05$ ), 培养48 h和72 h时细胞增殖活性明显升高( $P < 0.05$ ); REM+anti-miR-NC组和REM+anti-miR-519d-3p组GC细胞凋亡率分别为 $22.37\% \pm 4.96\%$ 、 $14.08\% \pm 3.74\%$ , REM+anti-miR-519d-3p组细胞凋亡率明显低于REM+anti-miR-NC组( $P < 0.05$ )(图4)。

**2.5 STAT3为miR-519d-3p的靶基因** 生物信息学软件分析发现miR-519d-3p能够与STAT3的3'UTR区互补结合

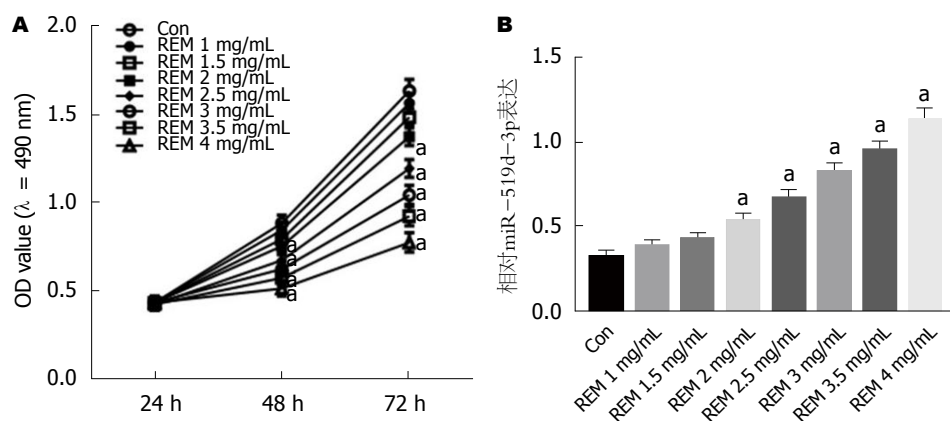


图 1 Remifentanyl对胃癌细胞SGC7901增殖及对miR-519d-3p表达的影响. A: Remifentanyl对细胞SGC7901增殖的影响; B: Remifentanyl对细胞SGC7901中miR-519d-3p表达的影响.  $^*P<0.05$ , 与Con组比较.

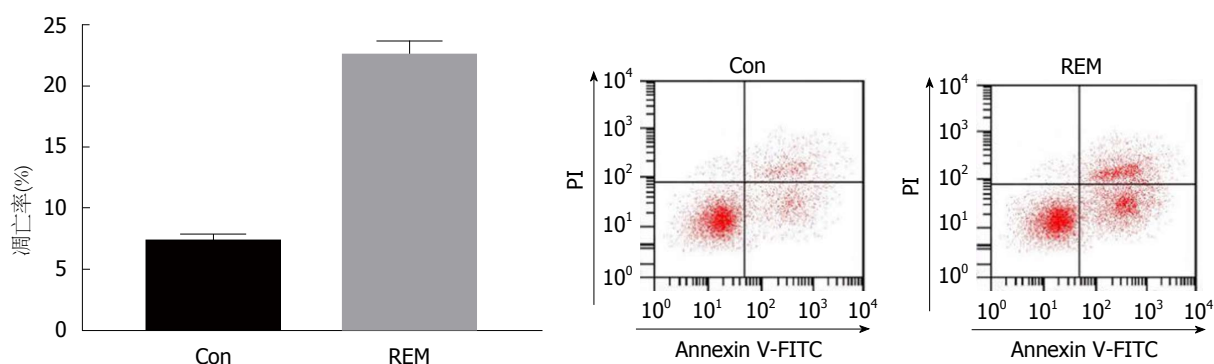


图 2 Remifentanyl对胃癌细胞凋亡影响.  $^*P<0.05$ , 与Con组比较.

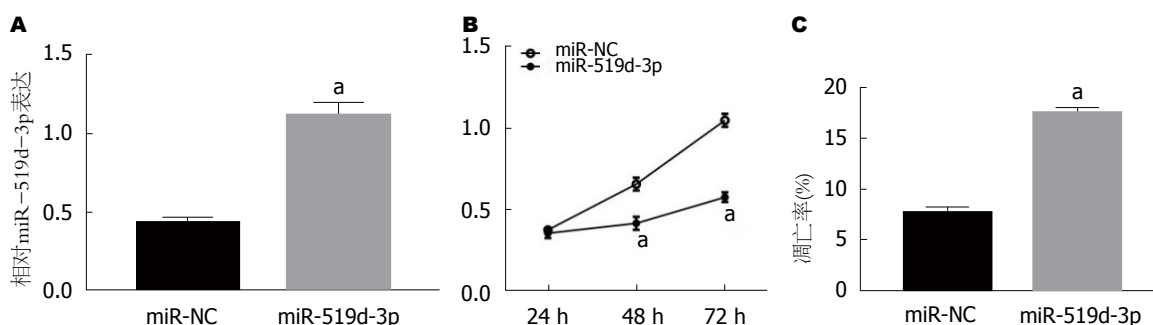


图 3 过表达miR-519d-3p对胃癌细胞SGC7901增殖、凋亡的影响. A: miR-519d-3p的表达; B: 过表达miR-519d-3p对SGC7901细胞增殖的影响; C: 过表达miR-519d-3p对SGC7901细胞凋亡的影响.  $^*P<0.05$ , 与miR-NC组比较.

(图5A). 双荧光素酶报告基因实验显示(图5B), 过表达miR-519d-3p抑制STAT3的转录活性, 而将STAT3的3' UTR区突变后miR-519d-3p的抑制作用消失. Western blot结果表明(图5C和D), 过表达miR-519d-3p的GC细胞中STAT3蛋白表达明显降低( $P<0.05$ ), 而抑制miR-519d-3p表达的GC细胞中STAT3蛋白表达明显升高( $P<0.05$ ). 说明STAT3是miR-519d-3p的靶基因.

2.6 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对GC细胞SGC 7901增殖、凋亡的作用 与REM+pcDNA组比较,

REM+pcDNA-STAT3组GC SGC7901细胞中STAT3蛋白相对表达水平明显升高( $P<0.05$ ), 培养48 h和72 h时细胞增殖活性明显增强( $P<0.05$ ); REM+pcDNA组和REM+pcDNA-STAT3组GC细胞凋亡率分别为 $19.17\% \pm 3.02\%$ 、 $13.76\% \pm 2.88\%$ , REM+pcDNA-STAT3组细胞凋亡率明显低于REM+pcDNA组( $P<0.05$ )(图6).

### 3 讨论

肿瘤细胞增殖和凋亡是肿瘤发生发展过程中的重要环

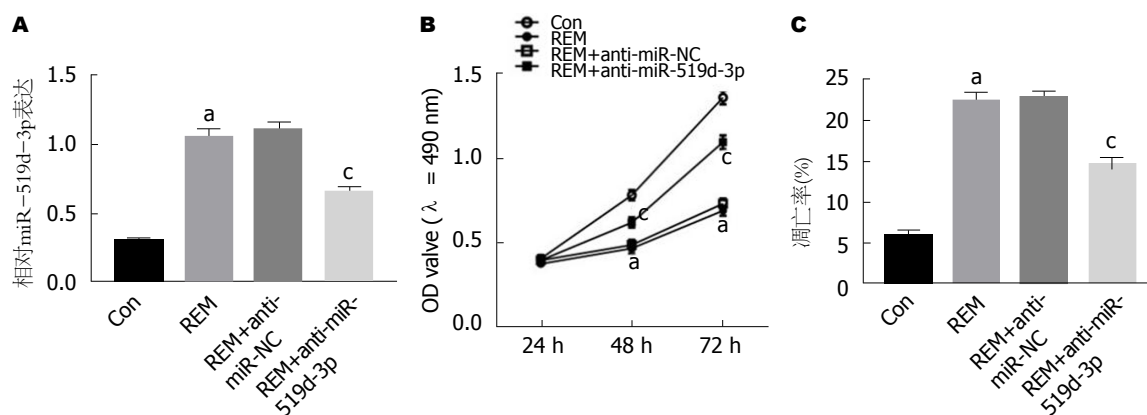


图 4 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901增殖、凋亡的作用。A: miR-519d-3p的表达; B: 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901增殖的抑制作用; C: 抑制miR-519d-3p表达能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901凋亡的促进作用。<sup>a</sup>*P*<0.05, 与Con组比较; <sup>c</sup>*P*<0.05, 与REM+anti-miR-NC组比较。

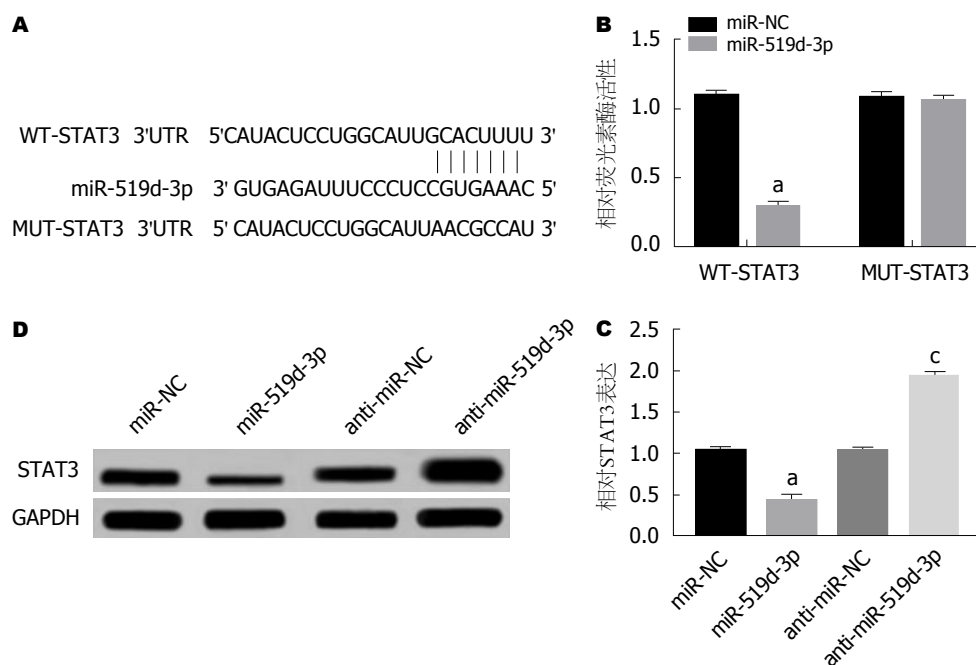


图 5 miR-519d-3p靶向调控STAT3。A: miR-519d-3p与STAT3的3'UTR区互补结合; B: 双荧光素酶报告实验; C、D: miR-519d-3p调控STAT3的表达。<sup>a</sup>*P*<0.05, 与miR-NC组比较; <sup>c</sup>*P*<0.05, 与anti-miR-NC组比较。

节<sup>[8]</sup>。阿片类药物是肿瘤治疗中重要的麻醉镇痛药, 近年来越来越多的研究证实其在肿瘤细胞增殖和凋亡中起重要作用。张海芳等<sup>[9]</sup>报道芬太尼可使GC细胞周期阻滞在G1期, 并显著抑制CyclinD1蛋白和Bcl-2蛋白表达, 进而抑制GC细胞增殖。瑞芬太尼的亲力和半衰期优于比芬太尼, 唐优仕等<sup>[10]</sup>报道瑞芬太尼可通过抑制Akt通路, 调节细胞凋亡相关蛋白表达, 发挥抑制胰腺癌细胞增殖并促进其凋亡的作用。本研究参考唐优仕等方法, 用不同浓度瑞芬太尼处理GC SGC7901和BGC823细胞, 结果发现瑞芬太尼明显抑制GC细胞增殖, 其中瑞芬太尼浓度为4 mg/mL时抑制作用最明显, 且GC SGC7901细胞对瑞芬太尼相对较为敏感。

microRNA(miRNA)是肿瘤细胞增殖和凋亡过程中的关键调控因子<sup>[11]</sup>。据报道<sup>[12]</sup>, miR-519d在GC组织和细胞系中表达下调, 与GC远处转移、淋巴结转移和临床分期有关, 且是GC不良预后的独立预测因子。功能分析表明, 抑制miR-519d表达能促进GC细胞增殖、迁移和侵袭, 而过表达miR-519d则显著抑制GC细胞上皮间质转化, 抑制肿瘤生长。提示miR-519d在GC中起肿瘤抑制剂作用。本研究发现, 瑞芬太尼可诱导GC细胞中miR-519d-3p表达升高。体外构建过表达miR-519d-3p的GC细胞表明miR-519d-3p能够抑制GC细胞增殖并促进细胞凋亡, 而抑制miR-519d-3p表达则逆转了瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响。说明瑞芬太尼对GC细胞增殖



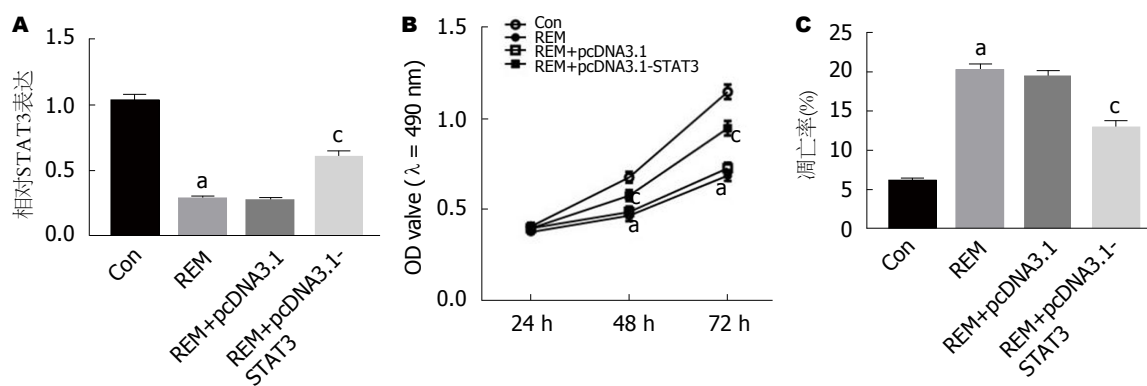


图6 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对胃癌细胞SGC 7901增殖、凋亡的作用. A: STAT3的表达; B: 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901增殖的抑制作用; C: 过表达STAT3能逆转Remifentanyl对细胞SGC 7901凋亡的促进作用. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与Con组比较; <sup>c</sup> $P < 0.05$ , 与Remifentanyl+pcDNA3.1组比较.

和凋亡的影响与miR-519d-3p表达有关.

Li等<sup>[13]</sup>报道, miR-519d-3p可通过靶向LIM结构域激酶1抑制乳腺癌细胞生长和转移. 另有研究表明<sup>[14]</sup>, miR-519d-3p在GC组织中低表达与GC组织分期和淋巴结转移有关, 并证实过表达miR-519d-3p延缓GC细胞周期G1/S期转换, 抑制细胞周期蛋白表达, 并靶向下调B细胞淋巴瘤6表达, 而发挥抑制GC细胞增殖和侵袭的作用. 信号转导与转录激活因子3(signal transducers and activators of transcription 3, STAT3)是细胞中参与生长因子、细胞因子等应答的信号转导蛋白, 负责调控细胞增殖、分化、凋亡等, 其持续活化与肿瘤发生发展密切相关<sup>[15,16]</sup>. 本研究通过生物信息学软件和相关实验发现GC细胞中miR-519d-3p靶向负调控STAT3的表达, 与Deng等<sup>[17]</sup>在乳腺癌中的研究结果基本一致. 进一步分析结果, 过表达STAT3也可逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响. 推测瑞芬太尼可能通过诱导GC细胞中miR-519d-3p表达, 进而靶向抑制STAT3的表达, 发挥抑制GC细胞增殖和凋亡的作用.

综上所述, 瑞芬太尼能够有效抑制GC细胞增殖并促进细胞凋亡, 其作用机制可能与调控GC细胞中miR-519d-3p/STAT3表达有关. 本研究为瑞芬太尼在GC治疗中的应用提供了实验参考, 但其在GC中是否存在其它作用途径尚需进一步研究.

## 文章亮点

### 实验背景

研究表明, 阿片类药物不仅用于肿瘤手术麻醉及术后镇痛, 而且对肿瘤细胞恶性生物学行为具有一定抑制作用. 瑞芬太尼作为一种高效阿片受体激动剂, 已有报道瑞芬太尼可抑制结肠癌、肝癌、肺腺癌等多种肿瘤细胞增殖、迁移并诱导肿瘤细胞凋亡. 但目前瑞芬太尼对胃癌

(gastric cancer, GC)细胞增殖和凋亡的影响及其机制尚不清楚.

### 实验动机

本研究分析瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响, 并进一步探讨其潜在分子作用机制, 对瑞芬太尼在GC治疗中应用具有指导意义.

### 实验目标

阐明瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响及其分子机制, 旨在为瑞芬太尼在临床GC治疗中的应用提供实验基础.

### 实验方法

体外培养人GC细胞SGC7901, 分别采用MTT实验和流式细胞术检测不同浓度瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响, 采用RT-qPCR实验检测不同浓度瑞芬太尼对GC细胞中miR-519d-3p表达的影响. 构建抑制表达miR-519d-3p的GC细胞, 观察瑞芬太尼对抑制miR-519d-3p表达后的GC细胞增殖和凋亡的影响. 双荧光素酶报告基因实验验证STAT3是否是miR-519d-3p的靶基因. 构建过表达STAT3的GC细胞, 观察瑞芬太尼对过表达STAT3的GC细胞增殖和凋亡的影响.

### 实验结果

瑞芬太尼能够有效抑制GC细胞增殖, 并诱导细胞凋亡, 诱导GC细胞中miR-519d-3p表达上调. 双荧光素酶报告基因实验证实miR-519d-3p能够靶向抑制STAT3的表达. 抑制miR-519d-3p表达或过表达STAT3均能逆转瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的影响作用.

### 实验结论

瑞芬太尼具有抑制GC细胞增殖, 并诱导细胞凋亡的作

用. 其分子作用机制之一是促进GC细胞中miR-519d-3p表达, 进而靶向抑制STAT3的表达.

## 展望前景

本研究通过体外实验, 阐明了瑞芬太尼对GC细胞增殖和凋亡的作用及其潜在分子机制, 对临床GC治疗具有一定指导意义. 下一步将构建GC大鼠模型, 研究瑞芬太尼在体内对GC细胞的作用及其最佳作用浓度.

## 4 参考文献

- 1 左婷婷, 郑荣寿, 曾红梅, 张思维, 陈万青. 中国胃癌流行病学现状. 中国肿瘤临床 2017; 44: 52-58 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2017.01.881]
- 2 Wallén Stefan, Eva S, Maria P E, Naslund I. Use of Opioid Analgesics Before and After Gastric Bypass Surgery in Sweden: a Population-Based Study. *Obesity Surgery* 2018; 28: 3518-3523 [DOI: 10.1007/s11695-018-3377-7]
- 3 田冬冬, 聂丽霞, 杨保仲, 邵旭萍. 阿片受体及阿片类药物治疗癌痛的研究进展. 肿瘤研究与临床 2016; 28: 645-648 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1006-9801.2016.09.019]
- 4 王茗芳, 金孝炬, 金孝炬. 阿片类受体及药物对肿瘤发生发展的影响. 国际麻醉学与复苏杂志 2017; 38: 1166 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2017.12.022]
- 5 赵莉, 王志红, 李学斌, 徐桂萍. 瑞芬太尼对人结肠癌COLO205细胞增殖及凋亡的影响. 国际麻醉学与复苏杂志 2017; 38: 401-403 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4378.2017.05.004]
- 6 刘震, 阮林. 芬太尼和瑞芬太尼对人肝癌细胞SMMC-7721生物学特性的影响. 临床麻醉学杂志 2014; 30: 792-795
- 7 吴远波, 李欣, 鲁胜强, 吴艳, 余鸣. 瑞芬太尼对人肺腺癌细胞转移能力和白细胞介素-7受体表达的影响. 中华麻醉学杂志 2017; 37: 1058-1060 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1416.2017.09.008]
- 8 X Y, Lv SX. The effect of JAK2 knockout on inhibition of liver tumor growth by inducing apoptosis, autophagy and anti-proliferation via STATs and PI3K/AKT signaling pathways. *Biomed Pharmacother* 2016; 84: 1202-1212 [PMID: 27788478 DOI: 10.1016/j.biopha.2016.09.040]
- 9 张海芳, 卫星, 陈海华, 张佳, 石婷娟, 王学玲. 芬太尼对胃癌细胞SGC-7901增殖影响及机制研究. 中国生化药物杂志 2015; 35: 38-40
- 10 唐优仕, 王龙, 马浩文, 夏中元, 赵博. 瑞芬太尼对胰腺癌BxPC-3细胞增殖、凋亡的影响及其机制. 中国热带医学 2017; 17: 1193-1197 [DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r.2017.12.07]
- 11 陈奇, 许建华, 余倩云, 李鳌. miRNA通过信号通路对中药抗癌作用及肿瘤细胞增殖/凋亡的影响. 国际中医中药杂志 2014; 36: 380-384 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4246.2014.04.034]
- 12 Yue H, Tang B, Zhao Y, Niu Y, Yin P, Yang W, Zhang Z, Yu P. MIR-519d suppresses the gastric cancer epithelial-mesenchymal transition via Twist1 and inhibits Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway. *Am J Transl Res* 2017; 9: 3654-3664 [PMID: 28861156]
- 13 Li D, Song H, Wu T, Xie D, Hu J, Zhao J, Shen Q, Fang L. MiR-519d-3p suppresses breast cancer cell growth and motility via targeting LIM domain kinase 1. *Mol Cell Biochem* 2018; 444: 169-178 [PMID: 29188531 DOI: 10.1007/s11010-017-3241-4]
- 14 Li YY, Shao JP, Zhang SP, Xing GQ, Liu HJ. miR-519d-3p Inhibits Cell Proliferation and Invasion of Gastric Cancer by Downregulating B-Cell Lymphoma 6. *Cytogenet Genome Res* 2018; 154: 12-19 [PMID: 29510377 DOI: 10.1159/000487372]
- 15 岳晓虹, 叶霁青, 孙丽萍. 信号转导与转录激活因子的生物学功能及相关疾病. 中国药科大学学报 2016; 47: 404-411 [DOI: 10.11665/j.issn.1000-5048.20160404]
- 16 张启芳. 信号转导与转录激活因子3在肿瘤发生发展中的研究进展. 贵阳医学院学报 2015; 40: 1145-1149
- 17 Deng X, Zhao Y, Wang B. miR-519d-mediated downregulation of STAT3 suppresses breast cancer progression. *Oncol Rep* 2015; 34: 2188-2194 [PMID: 26238950 DOI: 10.3892/or.2015.4160]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



# miR-7a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响及机制

楼一波, 王晓华, 傅志成

楼一波, 王晓华, 义乌市中心医院急诊科 浙江省义乌市 322000

傅志成, 义乌市中心医院消化科 浙江省义乌市 322000

楼一波, 医师, 主要从事急诊疾病方向的研究.

**作者贡献分布:** 此课题由楼一波、王晓华及傅志成共同设计; 研究过程由楼一波及傅志成操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王晓华提供; 数据分析由楼一波、王晓华及傅志成完成; 本论文写作由楼一波及傅志成完成.

**通讯作者:** 楼一波, 医师, 322000, 浙江省义乌市苏溪镇徐樟塘村30栋3单元401, 义乌市中心医院急诊科. [iq84559664ro@163.com](mailto:iq84559664ro@163.com)

收稿日期: 2019-04-04

修回日期: 2019-07-26

接受日期: 2019-08-19

在线出版日期: 2019-08-28

## Effects of miR-7a-5p expression on proliferation and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis

Yi-Bo Lou, Xiao-Hua Wang, Zhi-Cheng Fu

Yi-Bo Lou, Xiao-Hua Wang, Department of Emergency Medicine, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

Zhi-Cheng Fu, Department of Gastroenterology, Yiwu Central Hospital, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Yi-Bo Lou, physician, Emergency Department, Yiwu Central Hospital, No. 401, Unit 3, Building 30, Xu Zhang Tang Village, Suxi Town, Yiwu 322000, Zhejiang Province, China. [iq84559664ro@163.com](mailto:iq84559664ro@163.com)

Received: 2019-04-04

Revised: 2019-07-26

Accepted: 2019-08-19

Published online: 2019-08-28

## Abstract

### BACKGROUND

Pancreatic acinar cell proliferation and apoptosis are closely related to the development of acute pancreatitis (AP). MicroRNAs (miRNAs) participate in cell proliferation and apoptosis by regulating target gene expression, and identification of miRNA molecules related to pancreatic acinar cell proliferation and apoptosis is important for clinical diagnosis and treatment of AP.

### AIM

To investigate the effect of miRNA-7a-5p on the proliferation and apoptosis of acinar cells in AP and the underlying mechanism.

### METHODS

A caerulein-induced AP model was constructed using pancreatitis acinar AR42J cells. qRT-PCR and Western blot were used to detect the expression of miR-7a-5p and protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription 1 (PIAS1) in control AR42J cells and cerulein induced AR42J cells. After anti-miR-7a-5p and pcDNA-PIAS1 were transfected into AR42J cells, the proliferation of AR42J cells was detected by MTT assay, and the apoptosis of AR42J cells was detected by flow cytometry. The luciferase reporter system was used to detect the targeted regulation of PIAS1 gene by miR-7a-5p, and Western blot was used to detect the regulation of PIAS1 protein expression by miR-7a-5p. To silence PIAS1 expression by RNA interference, si-PIAS1 and its negative control plasmid were transfected into anti-miR-7a-5p treated AR42J cells, and the proliferation and apoptosis of AR42J cells were detected.



## RESULTS

Compared with control AR42J cells, the expression level of miR-7a-5p was significantly increased in cerulein induced AR42J cells ( $P < 0.05$ ), and the expression of PIAS1 protein was significantly decreased ( $P < 0.05$ ). Inhibition of miR-7a-5p expression promoted proliferation and inhibited apoptosis of AR42J cells. MiR-7a-5p could negatively regulate the expression of its target gene PIAS1. Overexpression of PIAS1 promoted proliferation and inhibited apoptosis of AR42J cells. Compared with the anti-miR-7a-5p + si-NC group, the activity of AR42J cells in the anti-miR-7a-5p + si-PIAS1 group was significantly decreased ( $P < 0.05$ ), and the apoptosis rate was significantly increased ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

MiR-7a-5p can promote the apoptosis of acinar cells and reduce the proliferation of cells in AP by inhibiting the expression of PIAS1.

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

Key Words: MiR-7a-5p; Acute pancreatitis; Pancreatic acinar cells; Proliferation; Apoptosis

Lou YB, Wang XH, Fu ZC. Effects of miR-7a-5p expression on proliferation and apoptosis of acinar cells in acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 991-998  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/991.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.991>

## 摘要

### 背景

胰腺腺泡细胞增殖及凋亡与急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发生密切相关, miRNA可通过调控靶基因表达从而参与细胞增殖及凋亡过程, 因而寻找与胰腺腺泡细胞增殖及凋亡相关的miRNA分子标志物对临床诊断及治疗AP具有重要意义。

### 目的

探讨微小RNA-7a-5p(miR-7a-5p)对AP腺泡细胞增殖、凋亡的影响及机制。

### 方法

构建雨蛙肽诱导的AP模型并收集胰腺炎腺泡细胞AR42J(雨蛙肽组), 采用qRT-PCR与Western blot分别检测未经雨蛙肽诱导的AR42J细胞(对照组)及雨蛙肽组AR42J细胞中miR-7a-5p相对表达量及活化信号转导和转录激活因子的蛋白抑制因子-1(protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription 1, PIAS1)表达。分别将anti-miR-7a-5p、pcDNA-PIAS1转染至雨蛙肽组AR42J细胞, 采用MTT法检测AR42J细胞增殖能力, 流式细胞术检测AR42J

细胞凋亡。荧光素酶报告系统检测miR-7a-5p对PIAS1基因的靶向调控作用, 并采用Western blot检测miR-7a-5p对PIAS1蛋白表达的调控作用。采用RNA干扰技术沉默PIAS1表达(si-PIAS1组), 分别将si-PIAS1及其阴性对照转染至anti-miR-7a-5p组AR42J细胞, 观察AR42J细胞增殖及凋亡能力。

## 结果

与对照组相比, 雨蛙肽组AR42J细胞中miR-7a-5p表达水平显著升高( $P < 0.05$ ), PIAS1蛋白表达显著降低( $P < 0.05$ ); 抑制miR-7a-5p表达可促进胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖并抑制其凋亡; miR-7a-5p可负向调控靶基因PIAS1表达; PIAS1过表达可促进AR42J细胞增殖并抑制其凋亡; 与anti-miR-7a-5p+si-NC组相比, anti-miR-7a-5p+si-PIAS1组AR42J细胞活性显著降低( $P < 0.05$ ), 细胞凋亡率显著升高( $P < 0.05$ )。

## 结论

miR-7a-5p可通过抑制PIAS1表达进而促进AP腺泡细胞凋亡并降低细胞增殖能力。

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

关键词: miR-7a-5p; 急性胰腺炎; 胰腺腺泡细胞; 增殖; 凋亡

**核心提要:** 本研究采用雨蛙肽处理AR42J细胞构建急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)细胞模型, 分析miR-7a-5p对胰腺炎细胞增殖及凋亡的影响, 初步验证其作用靶基因, 为揭示AP发病机制及治疗方法奠定理论基础。

楼一波, 王晓华, 傅志成. miR-7a-5p对急性胰腺炎腺泡细胞增殖、凋亡的影响及机制. *世界华人消化杂志* 2019; 27(16): 991-998  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/991.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.991>

## 0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是临床常见疾病, 胰腺腺泡细胞增殖及凋亡与AP发生及发展密切相关<sup>[1-3]</sup>. 因而寻找与胰腺腺泡细胞增殖及凋亡相关的分子标志物对临床诊断及治疗AP具有重要意义. 微小RNA-7a-5p(microRNA-7a-5p, miR-7a-5p)表达异常与缺血性脑损伤密切相关, miR-7在重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)和轻症急性胰腺炎(mild acute pancreatitis, MAP)患者血清中呈高表达<sup>[4,5]</sup>. 活化信号转导和转录激活因子的蛋白抑制因子-1(protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription 1, PIAS1)在AP腺泡细胞中呈低表达<sup>[6]</sup>. 雨蛙肽可刺激胆囊收缩及胰酶分泌并可促使胰腺腺泡细胞凋亡导致组织

损伤<sup>[7]</sup>. 但关于miR-7a-5p在AP中的表达及其对AP腺泡细胞增殖、凋亡的影响尚未见报道. 因此, 本研究采用雨蛙肽处理AR42J细胞构建AP细胞模型, 分析沉默miR-7a-5p表达及PIAS1过表达对雨蛙肽刺激胰腺腺泡细胞增殖及凋亡的影响, 为临床治疗AP及基础研究提供理论依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 大鼠胰腺AR42J腺泡细胞购自中国科学院上海细胞库. 雨蛙肽购自美国Sigma公司; 胎牛血清(fetal bovine serum, FBS)、RPMI1640培养基、磷酸盐缓冲液(phosphate buffer saline, PBS)及青链霉素均购自美国Gibco公司; Annexin V-FITC凋亡检测试剂盒、Trizol试剂及Lipofectamine2000转染试剂均购自美国Invitrogen公司; PVDF膜购自美国Millipore公司; 兔抗鼠GAPDH抗体、PIAS1抗体及辣根过氧化物酶(horseradish peroxidase, HRP)标记的IgG二抗均购自武汉博士德生物工程有限公司; BCA蛋白定量检测试剂盒、反转录试剂盒均购自美国Thermo Fisher公司; miR-7a-5p mimic、anti-miR-7a-5p及其各自阴性对照质粒均购自上海吉玛基因公司; qRT-PCR试剂盒购自日本TaKaRa公司; 蛋白裂解液购自上海生工生物工程有限公司; 荧光素酶活性检测试剂盒及荧光素酶报告载体均购自北京原平皓生物技术有限公司; pcDNA载体购自美国Addgene公司.

### 1.2 方法

**1.2.1 胰腺炎细胞模型的构建:** 大鼠胰腺腺泡细胞AR42J培养于RPMI1640培养基, 培养基含有10% FBS、青霉素(100 U/mL)、链霉素(100 g/L), 常规培养细胞, 48 h更换培养液. 收集AR42J细胞, 接种至6孔细胞培养板, 密度为 $1 \times 10^6$ 个/孔, 当细胞贴壁生长后加入浓度为100 nmol/L的雨蛙肽刺激细胞, 6 h后收集细胞上清液, 经酶联免疫吸附法检测淀粉酶、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)及肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )等炎症因子表达水平, 结果显示雨蛙肽处理后炎症因子表达水平显著高于对照细胞组, 提示建模成功<sup>[8]</sup>. 收集胰腺炎腺泡细胞AR42J用于后续研究.

**1.2.2 细胞转染及分组:** 未经雨蛙肽处理的AR42J细胞为对照组, 经雨蛙肽处理的AR42J细胞为雨蛙肽组. 收集雨蛙肽组对数生长期AR42J细胞接种于6孔板, 密度为 $3 \times 10^5$ 个/孔, 待细胞融合至50%左右时(2 d), 以anti-miR-NC和anti-miR-7a-5p分别与Lipofectamine2000转染试剂混合加入不含FBS的RPMI 1640培养液, 即分别为雨蛙肽组+anti-miR-NC组、雨蛙肽组+anti-miR-7a-5p组. 分别将pcDNA、pcDNA-PIAS1转染至AR42J细胞, 即分

别为雨蛙肽+pcDNA组、雨蛙肽+pcDNA-PIAS1组. 转染6 h后更换为完全培养基, 继续培养48 h, 收集细胞.

**1.2.3 qRT-PCR检测miR-7a-5p表达:** 用1.5 mL试管收集各组AR42J细胞, 利用离心机离心细胞, 弃上清, PBS洗涤, 分别加入Trizol试剂1 mL提取总RNA, 测定RNA浓度与纯度, 参照反转录试剂盒合成cDNA, 以cDNA为模板进行qRT-PCR反应. PCR扩增条件为95 °C 5 min循环1次, 95 °C变性15 s, 60 °C退火60 s, 72 °C延伸30 s, 共循环40次. miR-7a-5p以U6为内参基因, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法分析数据. 每组实验设置3次生物学重复.

**1.2.4 Western blot检测PIAS1蛋白表达:** 收集各组AR42J细胞, 加入蛋白裂解液提取总蛋白, 测定蛋白浓度及纯度, 将SDS-PAGE电泳结束后将蛋白凝胶转移至PVDF膜, 2 h后将其置于5%脱脂牛奶封闭液, 室温放置2 h, 加入1000倍稀释的PIAS1一抗, 4 °C孵育过夜, 次日采用Tis-HCl缓冲液(TBST)洗膜, 清洗3次, 每次15 min, 放入稀释2000倍二抗中, 室温反应2 h, TBST清洗, 加入ECL显色, 置于Bio-Rad凝胶电泳成像仪中分析蛋白条带, 利用Quantity One软件分析蛋白相对表达量, 每组实验设置3次生物学重复.

**1.2.5 MTT检测细胞增殖:** 取各组对数生长期AR42J细胞, 培养液重悬细胞( $1.5 \times 10^5$  /mL), 以每孔接种细胞体积20  $\mu$ L接种至96孔细胞培养板培养24 h, 每孔加入40  $\mu$ L MTT溶液, 继续培养4 h, 每孔加入200  $\mu$ L DMSO, 分别继续培养24 h、48 h、72 h, 置于酶标仪检测各孔在波长为490 nm时细胞光密度值(optical density, OD), OD值大小表示细胞增殖能力, 实验设置3次重复, 求取平均值.

**1.2.6 流式细胞术检测细胞凋亡:** 分别取各组AR42J细胞, 制备重悬细胞, 接种于6孔细胞培养板( $5 \times 10^5$ 个/孔), 分别加入5  $\mu$ L Annexin V-FITC, 室温避光孵育, 15 min后加入5  $\mu$ L PI染色液, 利用流式细胞仪检测细胞凋亡率.

**1.2.7 荧光素酶检测:** 通过TargetScan、miRanda等生物信息学软件预测PIAS1可能是miR-7a-5p的靶基因, 取对数生长期AR42J细胞, 接种于96孔板( $1.5 \times 10^4$ 个/孔), WT-PIAS1分别与miR-NC、miR-7a-5p mimics共转染; MUT-PIAS1分别与miR-NC、miR-7a-5p mimics共转染至AR42J细胞, 继续培养24 h后收集细胞, 检测AR42J细胞相对荧光素酶活性, 严格按照双荧光素酶活性检测试剂盒说明书操作.

**统计学处理** 采用统计学软件SPSS 21.0分析数据, 应用GraphPad Prism7软件作图, 计量资料以mean $\pm$ SD表示, 两组间比较采用独立样本t检验, 多组间比较采用单因素方差分析; 计数资料采用 $\chi^2$ 检验, 各组数据均以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

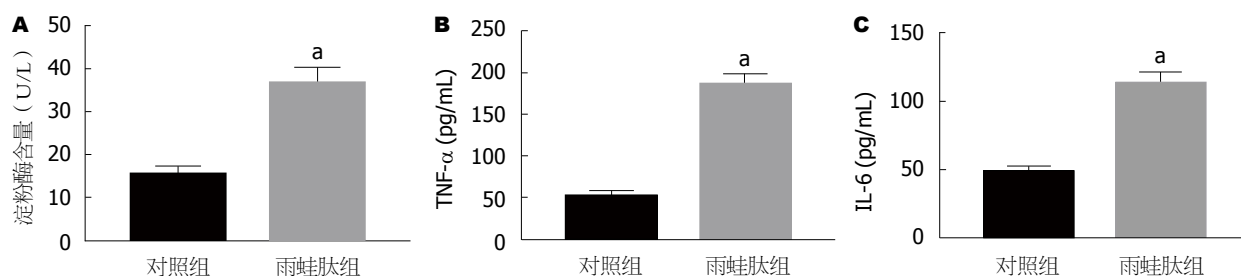


图1 淀粉酶、TNF- $\alpha$ 、IL-6含量. A: 雨蛙肽处理对AR42J细胞上清液中淀粉酶含量的影响; B: 雨蛙肽处理对AR42J细胞上清液中TNF- $\alpha$ 含量的影响; C: 雨蛙肽处理对AR42J细胞上清液中IL-6含量的影响.  $P<0.05$ , 与对照组比较. TNF- $\alpha$ : 肿瘤坏死因子- $\alpha$ ; IL-6: 白介素-6.

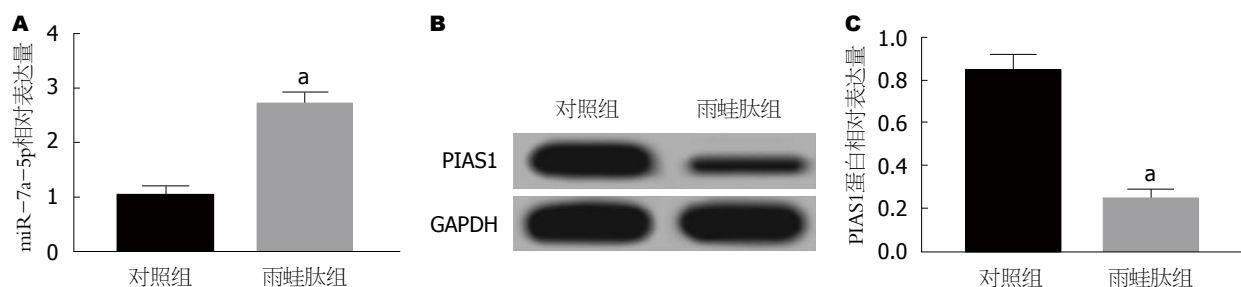


图2 miR-7a-5p和PIAS1在胰腺炎腺泡细胞AR42J中的表达. A: miR-7a-5p在胰腺炎腺泡细胞AR42J中的表达; B、C: PIAS1蛋白在胰腺炎腺泡细胞AR42J中的表达.  $P<0.05$ , 与对照组比较. PIAS1: 活化信号转导和转录激活因子的蛋白抑制因子-1.

## 2 结果

2.1 AP模型检测 与对照组相比, 雨蛙肽组AR42J细胞上清液中淀粉酶含量、TNF- $\alpha$ 含量、IL-6含量均显著升高(图1), 提示造模成功.

2.2 miR-7a-5p和PIAS1在胰腺炎腺泡细胞AR42J中的表达 对照组AR42J细胞中miR-7a-5p表达水平较低, 雨蛙肽组AR42J细胞中miR-7a-5p表达水平显著升高( $P<0.05$ )(图1A). Western blot检测结果显示雨蛙肽组AR42J细胞中PIAS1蛋白表达显著低于对照组( $P<0.05$ )(图1B、1C).

2.3 抑制miR-7a-5p表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖的影响 雨蛙肽+anti-miR-7a-5p组AR42J细胞中miR-7a-5p表达水平显著降低( $P<0.05$ ), 提示转染成功(图2A). 与对照组相比, 雨蛙肽组AR42J细胞活性显著降低( $P<0.05$ ); 与雨蛙肽+anti-miR-NC组相比, 雨蛙肽+anti-miR-7a-5p组AR42J细胞活性显著升高( $P<0.05$ )(图2B). 表明抑制miR-7a-5p表达可促进胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖.

2.4 抑制miR-7a-5p表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J凋亡的影响 与对照组相比, 雨蛙肽组AR42J细胞凋亡率显著升高( $P<0.05$ ), 雨蛙肽+anti-miR-7a-5p组AR42J细胞凋亡率显著低于雨蛙肽+anti-miR-NC组( $P<0.05$ )(图3). 结果表明抑制miR-7a-5p表达可抑制胰腺炎腺泡细胞AR42J凋亡.

2.5 miR-7a-5p靶向调控PIAS1的表达 共转染miR-7a-5p mimic与WT-PIAS1质粒后, 荧光强度相较于转染miR-7a-

5p对照质粒与WT-PIAS1质粒明显降低( $P<0.05$ ); 共转染miR-7a-5p mimic与MUT-PIAS1质粒后, 荧光强度相较于转染miR-7a-5p对照质粒与MUT-PIAS1质粒差异无统计学意义( $P>0.05$ ). miR-7a-5p组胰腺炎腺泡细胞AR42J中PIAS1蛋白表达水平较miR-NC组明显降低( $P<0.05$ ); anti-miR-7a-5p组AR42J细胞中PIAS1蛋白表达水平较miR-NC组明显升高( $P<0.05$ )(图4). 结果表明PIAS1是miR-7a-5p的靶基因, miR-7a-5p可负向调控PIAS1表达.

2.6 PIAS1过表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖和凋亡的影响 雨蛙肽+pcDNA-PIAS1组AR42J细胞中PIAS1蛋白表达水平显著升高( $P<0.05$ )(图5A、5B). 雨蛙肽+pcDNA-PIAS1组AR42J细胞活性显著高于雨蛙肽+pcDNA组( $P<0.05$ ), AR42J细胞凋亡率显著降低( $P<0.05$ )(图5C、5D).

2.7 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-7a-5p表达对雨蛙肽诱导的胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖和凋亡的作用 anti-miR-7a-5p+si-PIAS1组AR42J细胞活性低于anti-miR-7a-5p+si-NC组( $P<0.05$ ), 细胞凋亡率明显升高( $P<0.05$ )(图6). 结果表明抑制PIAS1表达可逆转抑制miR-7a-5p表达对雨蛙肽诱导的胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖和凋亡的作用.

## 3 讨论

胰腺腺泡细胞死亡方式为坏死时可造成重症胰腺炎, 若胰腺腺泡细胞死亡方式为凋亡时可造成轻度胰腺炎<sup>[9,10]</sup>. AR42J细胞属于大鼠胰腺腺泡细胞瘤细胞, 具有利于培



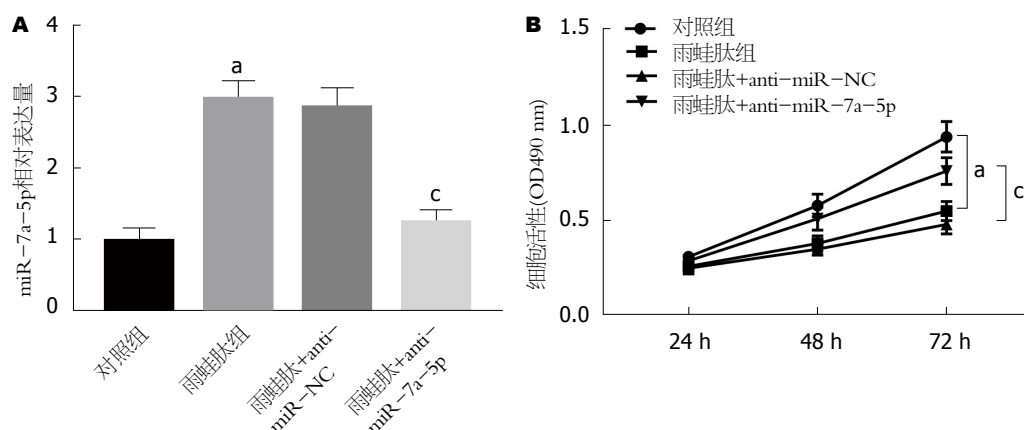


图3 抑制miR-7a-5p表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖的影响. A: miR-7a-5p相对表达量; B: 抑制miR-7a-5p表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖的影响. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组比较; <sup>c</sup> $P<0.05$ , 与雨蛙肽+anti-miR-NC组比较.

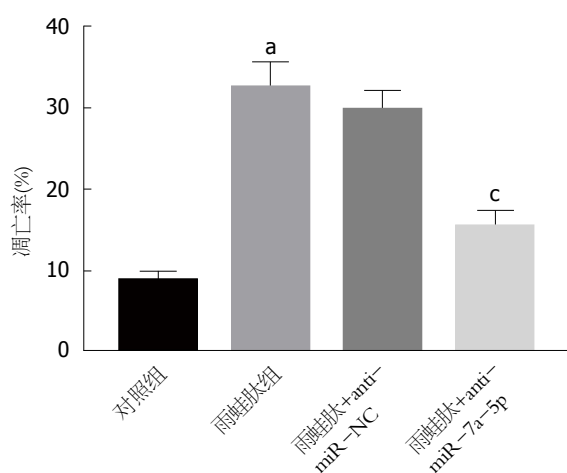


图4 抑制miR-7a-5p表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J凋亡的影响. <sup>a</sup> $P<0.05$ , 与对照组比较; <sup>c</sup> $P<0.05$ , 与雨蛙肽+anti-miR-NC组比较.

养、转染效率高及刺激反应敏感性较大等优点<sup>[11]</sup>. 故此本研究选用AR42J细胞为研究对象. 既往研究发现miRNA对AP早期诊断及评估病情进展均具有应用价值<sup>[12]</sup>. 本研究旨在揭示AP发生及发展过程中的作用机制, 为临床治疗胰腺炎提供新方向.

本研究结果显示雨蛙肽组AR42J细胞中miR-7a-5p表达水平显著升高, 研究表明AP患者血清中miR-7表达水平明显升高并可用于早期诊断AP及评估疾病进展<sup>[13,14]</sup>. Ballegaard等<sup>[15]</sup>报道指出miR-7可作为全身性炎症的标志物. 本研究结果与上述文献报道结果相似, 报道指出胰腺腺泡细胞增殖并抑制其凋亡可降低体内炎症反应, miR-7可减轻脑出血大鼠脑炎症<sup>[16,17]</sup>. Cao等<sup>[18]</sup>研究发现长非编码RNA SNHG1通过调节miR-7/NLRP3途径促进帕金森病神经炎症. 提示miR-7a-5p表达水平异常升高可能引发AP. 本研究发现雨蛙肽组AR42J细胞活力显著低于对照组, 细胞凋亡率升高, 抑制miR-7a-5p表达可促进AR42J细胞增殖并抑制细胞凋亡. 分析原因可

能为抑制miR-7a-5p表达可通过减少AR42J细胞凋亡进而缓解AP炎症反应. 提示miR-7a-5p表达水平升高可能通过促进AR42J细胞凋亡进而加重AP炎症反应. 本研究进一步探究miR-7a-5p在AP发生过程中的作用机制, 靶基因预测显示PIAS1可能为miR-7a-5p的靶基因, 双荧光素酶报告实验证明miR-7a-5p可靶向结合PIAS1, 并可负向调控PIAS1表达, 研究表明PIAS1在AP大鼠中呈低表达并与疾病严重程度呈负相关, 进一步分析发现PIAS1可通过调控STAT1等多种信号通路进而发挥抑制炎症作用<sup>[19,20]</sup>. 与上述研究报道结果相似, 本研究结果显示雨蛙肽组AR42J细胞中PIAS1表达降低, 说明PIAS1在雨蛙肽诱导的AP模型AR42J细胞中呈低表达. 探究AP发病机制发现炎症介质大量释放是引起全身炎症综合反应特征及患者死亡的主要原因<sup>[21,22]</sup>. Chen等<sup>[23]</sup>研究显示PIAS1可直接调控MAPK信号转导途径进而参与疾病发生及发展过程. 本研究结果发现PIAS1过表达可促进胰腺腺泡细胞AR42J增殖并抑制其凋亡, 分析原因可能为PIAS1水平升高增强其对MAPK信号转导途径的抑制作用而抑制炎症介质释放进而降低炎症反应, 但关于其是否通过MAPK信号转导途径发挥作用需深入探究.

综上所述, miR-7a-5p在AR42J细胞中呈高表达并可促进细胞凋亡、抑制细胞增殖, 本研究发现并证实miR-7a-5p可通过负向调控靶基因PIAS1表达进而促进AP发生及发展, 但关于其具体作用机制仍需进一步探索, 可为miR-7a-5p在AP发病机制中的研究及AP治疗提供理论基础.

## 文章亮点

## 实验背景

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)发病率逐年升高,严重影响患者生活质量, 目前关于AP发病机制尚未完全阐明,

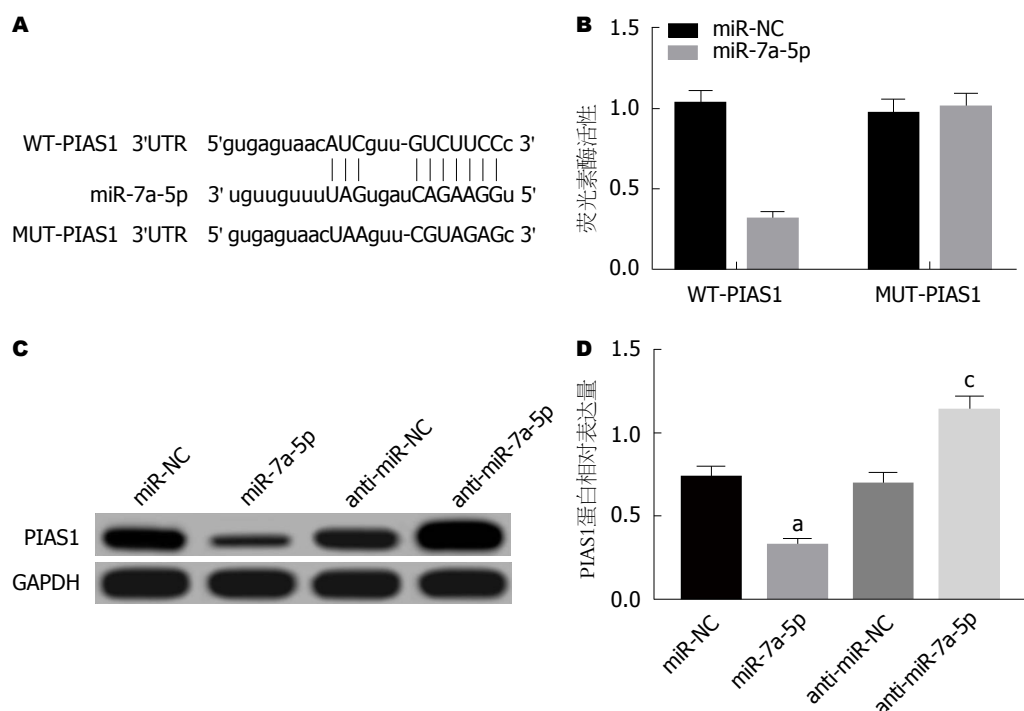


图 5 miR-7a-5p靶向调控PIAS1的表达. A: PIAS1的3'UTR中含有与miR-7a-5p互补的核苷酸序列; B: 双荧光素酶报告实验; C、D: miR-7a-5p调控PIAS1蛋白的表达.  $^aP<0.05$ , 与miR-NC组比较;  $^cP<0.05$ , 与anti-miR-NC组比较. PIAS1: 活化信号转导和转录激活因子的蛋白抑制因子-1.

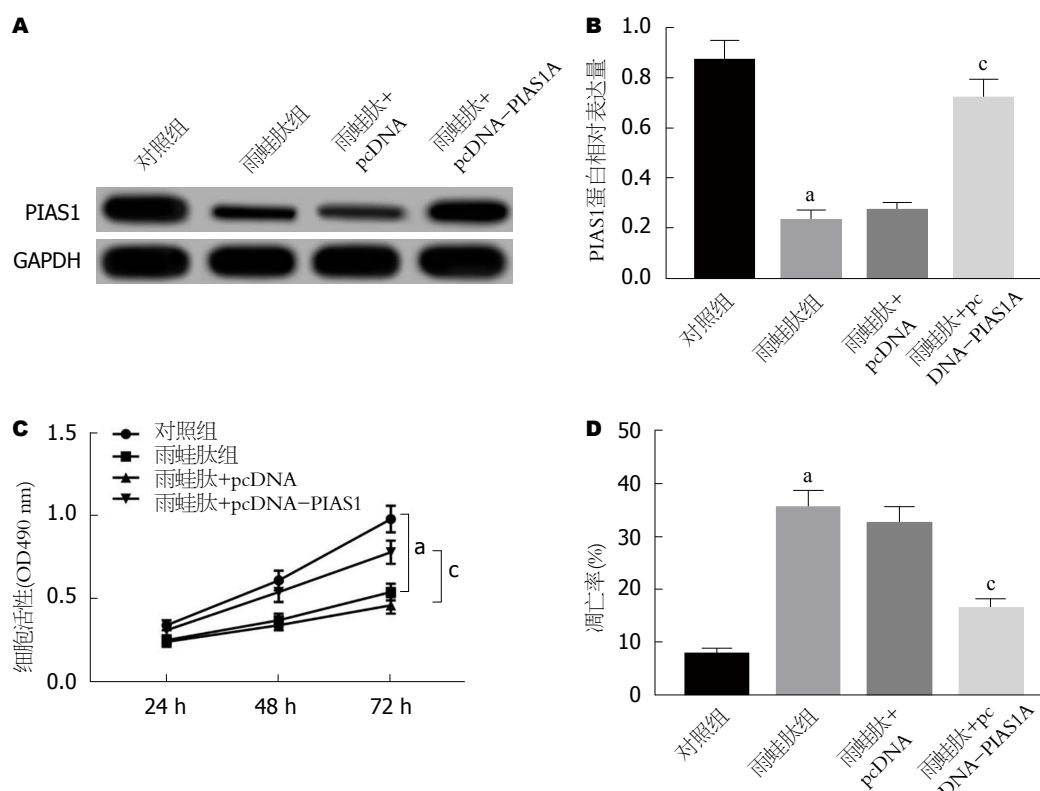


图 6 PIAS1过表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖和凋亡的影响. A、B: PIAS1蛋白表达; C: PIAS1过表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖的影响; D: PIAS1过表达对胰腺炎腺泡细胞AR42J凋亡的影响.  $^aP<0.05$ , 与对照组比较;  $^cP<0.05$ , 与雨蛙肽+pcDNA组比较. PIAS1: 活化信号转导和转录激活因子的蛋白抑制因子-1.

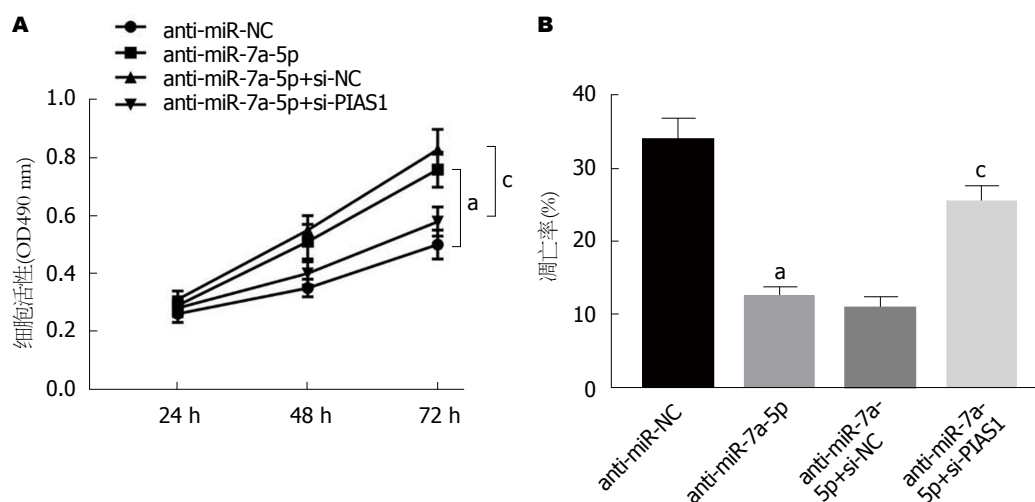


图7 胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖和凋亡. A: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-7a-5p表达对雨蛙肽诱导的胰腺炎腺泡细胞AR42J增殖的作用; B: 抑制PIAS1表达逆转了抑制miR-7a-5p表达对雨蛙肽诱导的胰腺炎腺泡细胞AR42J凋亡的作用. <sup>a</sup> $P < 0.05$ , 与anti-miR-NC组比较; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , 与anti-miR-7a-5p+si-NC组比较.

miRNA作为内源性非编码小RNA分子广泛分布于多种组织或器官中, 其异常表达可参与多种疾病发生及发展过程, 本研究试图寻找miRNA与AP发生及发展的相关性, 揭示其潜在作用机制, 为临床研发治疗药物或制定治疗方案提供依据.

### 实验动机

本研究主题为揭示miR-7a-5p与AP发生及发展的相关性及其潜在作用机制, 拟解决的问题是为揭示AP致病机制提供新方向, 为进一步揭示AP致病机制提供理论依据.

### 实验目标

本研究主要目标是揭示miR-7a-5p与活化信号转导和转录激活因子的蛋白抑制因子-1(protein inhibitor of activated signal transducer and activator of transcription 1, PIAS1)在AP致病机制的靶向关系, 可为下一步体内动物实验研究奠定基础, 对临床提高AP治疗效果提供参考.

### 实验方法

本研究选用雨蛙肽素构建AP模型, 检测胰腺炎细胞中miR-7a-5p与PIAS1表达水平, 检测抑制miR-7a-5p表达及PIAS1过表达对细胞增殖、凋亡的影响, 双荧光素酶报告基因检测miR-7a-5p与PIAS1的靶向作用. 在胰腺炎细胞中首次验证miR-7a-5p与PIAS1的靶向关系.

### 实验结果

本研究证实胰腺炎细胞中miR-7a-5p表达升高, PIAS1表达降低, 抑制miR-7a-5p表达或PIAS1过表达可抑制细胞凋亡, 双荧光素酶报告基因证实miR-7a-5p可负向调控靶基因PIAS1的表达活性, 抑制PIAS1表达可逆转抑制miR-

7a-5p表达对细胞增殖及凋亡的作用.

### 实验结论

本研究首次发现miR-7a-5p与PIAS1的靶向调控关系; 首次提出miR-7a-5p可负向调控PIAS1表达而参与胰腺细胞增殖及凋亡过程; 为miRNA与AP致病机制的细胞学基础提供新理论; 针对miR-7a-5p与AP的相关性可进一步进行体内实验, 还需研究其与相关信号通路的作用关系, 构建整体调控网络; 证实AP中miR-7a-5p可靶向负性调控PIAS1的表达, 为未来研究提供理论依据.

### 展望前景

经验教训: 选用适宜浓度的雨蛙肽构建AP模型, 收集细胞及处理细胞时需谨慎小心, 避免失误, 减少失误; 未来方向: 体内实验研究, 寻找miR-7a-5p上游调控基因LncRNA或circRNA; 最佳方法: 细胞实验, 体内实验, 测序分析.

### 4 参考文献

- 1 乐杨桦, 曹友德. 炎症反应与免疫抑制在急性胰腺炎中作用的研究进展. 标记免疫分析与临床 2019; 26: 173-176
- 2 Lin Z, Guo J, Xue P, Huang L, Deng L, Yang X, Xia Q. Chaiqinchengqi decoction regulates necrosis-apoptosis via regulating the release of mitochondrial cytochrome c and caspase-3 in rats with acute necrotizing pancreatitis. *J Tradit Chin Med* 2014; 34: 178-183 [PMID: 24783930]
- 3 Zhang XX, Deng LH, Chen WW, Shi N, Jin T, Lin ZQ, Ma Y, Jiang K, Yang XN, Xia Q. Circulating microRNA 216 as a Marker for the Early Identification of Severe Acute Pancreatitis. *Am J Med Sci* 2017; 353: 178-186 [PMID: 28183420 DOI: 10.1016/j.amjms.2016.12.007]
- 4 Kim T, Mehta SL, Morris-Blanco KC, Chokkalla AK, Chelluboina B, Lopez M, Sullivan R, Kim HT, Cook TD, Kim JY, Kim H, Kim C, Vemuganti R. The microRNA miR-7a-5p



- ameliorates ischemic brain damage by repressing  $\alpha$ -synuclein. *Sci Signal* 2018; 11: eaat4285 [PMID: 30538177 DOI: 10.1126/scisignal.aat4285]
- 5 Lu P, Wang F, Wu J, Wang C, Yan J, Li ZL, Song JX, Wang JJ. Elevated Serum miR-7, miR-9, miR-122, and miR-141 Are Noninvasive Biomarkers of Acute Pancreatitis. *Dis Markers* 2017; 2017: 7293459 [PMID: 29332987 DOI: 10.1155/2017/7293459]
- 6 陈平, 董文杰, 孙蕴伟, 姚玮艳, 章永平, 乔敏敏, 袁耀宗. PIAS1基因沉默对胰腺腺泡细胞炎症反应的影响. *中华胰腺病杂志* 2010; 10: 404-407 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2010.06.008]
- 7 陈平, 黄李雅, 章永平, 乔敏敏, 袁耀宗. PIAS1基因沉默对雨蛙肽诱导胰腺腺泡细胞凋亡的影响. *胃肠病学* 2010; 15: 395-399 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2010.07.003]
- 8 徐志刚, 郑帅, 杨泽冉, 陈雪, 肖鲁瑶, 孙亚梅, 张杰. NR5A2减弱雨蛙素诱导大鼠胰腺腺泡细胞的炎症反应. *基础医学与临床* 2018; 38: 28-35
- 9 王刚, 韩俊岭, 王放, 王增允, 孙腾飞, 连颖, 王丽君. 胃肠道动力障碍的相关因子在家兔重症急性胰腺炎模型的变化. *河北医学* 2019; 25: 229-233 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-6233.2019.02.015]
- 10 朱勇, 崔建娇, 张明智, 王萍. 甘氨酸对重症急性胰腺炎肺组织中髓样细胞触发受体-1 mRNA及高迁移率蛋白-1表达的影响及临床意义. *中国老年学杂志* 2016; 36: 1055-1056 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.05.014]
- 11 付兰英, 饶春燕, 赵晓晏. 硫化氢对离体大鼠胰腺腺泡细胞炎症因子表达的影响. *第三军医大学学报* 2013; 35: 784-788
- 12 傅冬阳, 黄元林, 陈建洪. miRNA在急性胰腺炎诊断和评估病情严重程度的作用. *临床和实验医学杂志* 2016; 15: 1398-1401 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-4695.2016.14.016]
- 13 Lee HB, Park HK, Choi HJ, Lee S, Lee SJ, Lee JY, Cho EH, Han HJ, Seok JH, Son WC. Evaluation of Circulating MicroRNA Biomarkers in the Acute Pancreatic Injury Dog Model. *Int J Mol Sci* 2018; 19: E3048 [PMID: 30301227 DOI: 10.3390/ijms19103048]
- 14 Liu P, Xia L, Zhang WL, Ke HJ, Su T, Deng LB, Chen YX, Lv NH. Identification of serum microRNAs as diagnostic and prognostic biomarkers for acute pancreatitis. *Pancreatology* 2014; 14: 159-166 [PMID: 24854610 DOI: 10.1016/j.pan.2014.03.019]
- 15 Ballegaard V, Ralfkiaer U, Pedersen KK, Hove M, Koplev S, Brændstrup P, Ryder LP, Madsen HO, Gerstoft J, Grønbaek K, Nielsen SD. MicroRNA-210, MicroRNA-331, and MicroRNA-7 Are Differentially Regulated in Treated HIV-1-Infected Individuals and Are Associated With Markers of Systemic Inflammation. *J Acquir Immune Defic Syndr* 2017; 74: e104-e113 [PMID: 27749601 DOI: 10.1097/QAI.0000000000001191]
- 16 付强, 秦涛, 刘传江, 陈琳, 楚皓源, 胡明星, 王玉柱, 张宏伟. 微小RNA-135a通过抑制其靶基因Sp3的表达促进大鼠胰腺腺泡细胞凋亡. *中华实验外科杂志* 2016; 33: 666-669 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-9030.2016.03.035]
- 17 Zhang XD, Fan QY, Qiu Z, Chen S. MiR-7 alleviates secondary inflammatory response of microglia caused by cerebral hemorrhage through inhibiting TLR4 expression. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2018; 22: 5597-5604 [PMID: 30229834 DOI: 10.26355/eurrev\_201809\_15824]
- 18 Cao B, Wang T, Qu Q, Kang T, Yang Q. Long Noncoding RNA SNHG1 Promotes Neuroinflammation in Parkinson's Disease via Regulating miR-7/NLRP3 Pathway. *Neuroscience* 2018; 388: 118-127 [PMID: 30031125 DOI: 10.1016/j.neuroscience.2018.07.019]
- 19 陈平, 赵德寿, 孙蕴伟, 姚玮艳, 章永平, 袁耀宗. 信号转导和转录激活因子1的活化抑制蛋白对急性胰腺炎的预后判断. *中华胰腺病杂志* 2012; 12: 250-253 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1935.2012.04.010]
- 20 Alagu J, Itahana Y, Sim F, Chao SH, Bi X, Itahana K. Tumor Suppressor p14ARF Enhances IFN- $\gamma$ -Activated Immune Response by Inhibiting PIAS1 via SUMOylation. *J Immunol* 2018; 201: 451-464 [PMID: 29848755 DOI: 10.4049/jimmunol.1800327]
- 21 Habtezion A. Inflammation in acute and chronic pancreatitis. *Curr Opin Gastroenterol* 2015; 31: 395-399 [PMID: 26107390 DOI: 10.1097/MOG.0000000000000195]
- 22 Cao MH, Xu J, Cai HD, Lv ZW, Feng YJ, Li K, Chen CQ, Li YY. p38 MAPK inhibition alleviates experimental acute pancreatitis in mice. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2015; 14: 101-106 [PMID: 25655298]
- 23 Chen P, Zhao D, Sun Y, Huang L, Zhang S, Yuan Y. Protein inhibitor of activated STAT-1 is downregulated in gastric cancer tissue and involved in cell metastasis. *Oncol Rep* 2012; 28: 2149-2155 [PMID: 22972521 DOI: 10.3892/or.2012.2030]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



# 超声内镜下上消化道黏膜下病变的临床特征及内镜下治疗效果观察

张艳, 张伟, 张莹

张艳, 厦门大学附属翔安医院消化内科 福建省厦门市 361005

张伟, 安阳市肿瘤医院普外一科 河南省安阳市 455000

张莹, 安阳市人民医院消化内科 河南省安阳市 455002

张艳, 副主任医师, 研究方向为消化系统早癌内镜下诊治.

**作者贡献分布:** 此课题由张艳、张伟及张莹设计; 研究过程由张艳完成; 研究所用新试剂及分析工具由张伟提供; 数据分析由张艳完成; 本论文写作由张艳、张伟及张莹完成.

**通讯作者:** 张伟, 副主任医师, 455000, 河南省安阳市洹滨北路1号, 安阳市肿瘤医院普外一科. [guon8417@163.com](mailto:guon8417@163.com)

收稿日期: 2019-05-07

修回日期: 2019-07-05

接受日期: 2019-08-09

在线出版日期: 2019-08-28

## Upper gastrointestinal submucosal lesions: Endoscopic ultrasonographic features and endoscopic curative effects

Yan Zhang, Wei Zhang, Ying Zhang

Yan Zhang, Department of Gastroenterology, Affiliated Xiang'an Hospital of Xiamen University, Xiamen 361005, Fujian Province, China

Wei Zhang, Department of General Surgery, Anyang Tumor Hospital, Anyang 455000, Henan Province, China

Ying Zhang, Department of Gastroenterology, Anyang People's Hospital, Anyang 455002, Henan Province, China

**Corresponding author:** Wei Zhang, associate chief physician, Department of General Surgery, Anyang Tumor Hospital, No. 1, Huanbin north road, Anyang 455000, Henan Province, China. [guon8417@163.com](mailto:guon8417@163.com)

Received: 2019-05-07

Revised: 2019-07-05

Accepted: 2019-08-09

Published online: 2019-08-28

## Abstract BACKGROUND

Upper gastrointestinal submucosal lesions (SMLs) are common gastrointestinal conditions, and their diagnosis and treatment are very complicated. Therefore, it is especially important to select a reasonable treatment method based on the clinical features of the patients. With the wide use of endoscopic techniques, the efficacy of endoscopic treatment of upper gastrointestinal SMLs has been greatly improved. It is important to improve the clinical diagnosis and treatment efficacy by summarizing clinical experience.

## AIM

To investigate the endoscopic ultrasonographic features of upper gastrointestinal SMLs and their endoscopic curative effects.

## Methods

Three hundred and twenty patients with SMLs treated at Department of Gastroenterology of Affiliated Xiang'an Hospital of Xiamen University from January 2015 to February 2017 were included. All the cases underwent ultrasonic endoscopic examination. The diseased region, disease type, the layer where lesions originated, disease type by location, lesion size, and endoscopic curative effects were analyzed.

## RESULTS

The lesions of 320 cases were mainly located in the stomach, which accounted for 53.75% of all cases, followed by 39.69% in the esophagus, 4.38% in the

duodenum, and 2.19% in the cardia of stomach. The common disease categories of SMLs were leiomyoma, interstitialoma, and heterotopic pancreas. The esophageal lesions mainly originated from the muscularis mucosa layer, followed by the muscularis propria layer; the duodenal lesions mainly originated from the submucosa layer; the lesions of the cardia of the stomach mainly originated from the muscularis mucosa layer and muscularis propria layer; the gastric lesions mainly originated from the muscularis propria layer and submucosal layer. The main types of lesions in the esophagus, the cardia of the stomach, the duodenum, and stomach were leiomyoma, interstitialoma and leiomyoma, interstitialoma and heterotopic pancreas, and interstitialoma and heterotopic pancreas, respectively. The majority of lesions had a size of 3 cm or below. Of all 320 cases, 128 (40.00%) underwent endoscopic treatment, including 56 (43.75%) cases of endoscopic mucosal resection (EMR), 4 (3.13%) cases of submucosal tunnel endoscopic resection (STER), and 68 (53.13%) cases of endoscopic submucosal dissection (ESD). The lesions in the ESD group were mainly located in the stomach, while those in the EMR group and STER group were mainly located in the esophagus; the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The lesions in the ESD group and STER group mainly originated from the muscularis propria layer, while those in the EMR group mainly originated from the muscularis mucosa; the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). The size of lesions in the ESD group, EMR group, and STER group was mainly 1-3 cm,  $< 1$  cm, and  $< 1$  cm, respectively, and the difference was statistically significant ( $P < 0.05$ ). There was no statistical difference in the incidence of perforation, bleeding, or the coincidence rate of ultrasonic endoscopic diagnosis of the source of lesions with the operative diagnosis among the three groups ( $P > 0.05$ ).

## CONCLUSION

The most common types of SMLs detected by ultrasonic endoscopy are leiomyoma, interstitialoma, and heterotopic pancreas, and the lesions mainly occur in the stomach, especially in the antrum of the stomach. The lesions mainly originate from the muscularis propria layer, muscularis mucosa layer, and submucosa layer. The size of lesions is mostly 3 cm or below. EMR and ESD are common procedures for the treatment of SML, and different procedures are suitable for patients with different lesion sources and sizes.

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

Key Words: Upper gastrointestinal submucosal lesions; Ultrasonic endoscopy; Clinical features

Zhang Y, Zhang W, Zhang Y. Upper gastrointestinal submucosal lesions: Endoscopic ultrasonographic features and endoscopic curative effects. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 999-1006  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/999.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.999>

## 摘要

### 背景

消化内科接诊的上消化道黏膜下病变患者较多且临床诊治较复杂,因此在总结患者临床特征的基础上选择合理的治疗方式尤为重要。而随着内镜技术的广泛使用,内镜下治疗上消化道黏膜下病变疗效已大大提高,通过总结临床诊疗经验为今后提高临床诊疗疗效有重要意义。

### 目的

探讨超声内镜下上消化道黏膜下病变(submucosal lesions, SML)的临床特征及内镜下治疗效果。

### 方法

选择2015-01/2017-02厦门大学附属翔安医院消化内科接诊的320例SML患者,行超声内镜检查,分析病变部位、病种分布情况、病变来源层次、病变来源部位、病变大小以及内镜下治疗情况。

### 结果

320例患者中病变主要位于胃,占53.75%,其次为食管,占39.69%,十二指肠和贲门分别占4.38%、2.19%; SML病种常见的为平滑肌瘤、间质瘤、异位胰腺;食管病变主要源自黏膜肌层,其次为固有肌层;十二指肠病变主要源自黏膜下层;贲门病变主要源自黏膜肌层、固有肌层;胃病变主要源自固有肌层、黏膜下层;食管病变主要类型为平滑肌瘤,贲门为间质瘤、平滑肌瘤,十二指肠主要为囊肿,胃病变主要类型为间质瘤、异位胰腺;各病种病变大小主要集中在3cm及以下;320例患者中接受内镜治疗128例(40.00%),其中行内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)56例(43.75%),内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunnel endoscopic resection, STER)4例(3.13%),内镜黏膜下层剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)68例(53.13%); ESD组病灶分布主要为胃,EMR组和STER组均为食管,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); ESD组和STER组病变层次主要为固有肌层,EMR组病变层次主要为黏膜肌层,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); ESD组病变多为1-3 cm, EMR组主要集中在 $< 1$  cm,而STER组病变均为 $< 1$  cm,差异具有统计学意义( $P < 0.05$ );三组穿孔、出血等并发症发生率以及超声内镜判断病变层次与手术符合例数比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。



## 结论

超声内镜下SML较常见的是平滑肌瘤、间质瘤、异位胰腺, 病变多发生于胃, 尤其是胃窦; 病变起源层次多为固有肌层、黏膜肌层、黏膜下层, 各病变之间存在一定的差异, 病变大小主要集中在3cm及以下; EMR与ESD是SML治疗SML常用术式, 各术式适用于病变层次、病变大小有一定的差异。

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

关键词: 上消化道黏膜下病变; 超声内镜; 临床特征

**核心提要:** 本文立足于320例上消化道黏膜下病变(submucosal lesions, SML)患者临床资料, 通过对SML临床特征进行汇总分析, 总结SML临床特征, 探讨内镜治疗疗效, 分析内镜下不同治疗方式在SML患者中的应用安全性。

张艳, 张伟, 张莹. 超声内镜下上消化道黏膜下病变的临床特征及内镜下治疗效果观察. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 999-1006

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/999.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.999>

## 0 引言

上消化道黏膜下病变(submucosal lesions, SML)为临床常见的消化系统疾病, 以良性病变为主, 多为膨胀性生长, 部分为恶性病变及具有恶变倾向的肿瘤<sup>[1-2]</sup>. 因SML无特异性临床表现, 普通内镜检查间质瘤、异位胰腺等病变类型有相似的表现, 仅可对病变外观观察, 难以判断病变性质; 常规活检无法获取病变组织, 仅能获取肿物表面的正常黏膜, 且容易引起穿孔、出血等并发症, 诊断难度较大<sup>[3-6]</sup>. 超声内镜可准确定位患者各层次病变, 清晰显示病变性质、大小、与周围组织的关系等, 是临床检查SML的重要手段, 能为对其内镜下治疗提供指导, 使治疗风险降低<sup>[7-8]</sup>. 本研究选择厦门大学附属翔安医院消化内科接诊的320例SML患者, 分析超声内镜下SML的临床特征及内镜下治疗效果. 现将研究结果报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选择2015-01/2017-02厦门大学附属翔安医院消化内科接诊的320例SML患者为研究对象, 其中男145例, 女175例; 年龄18-78岁, 平均年龄52.31岁±9.41岁。

### 1.2 方法

**1.2.1 入选标准:** (1) 纳入标准. 行内镜或外科手术治疗; 经术后病理诊断确诊为SML; 凝血功能正常者; 认知功能与精神正常, 依从性好者; 年龄≥18周岁; (2) 排除标准: 因消化道肿瘤性外科手术或内镜治疗者; 临床资料

不完整者; 胃癌; 食管癌; 心、肾等重要器官严重不全者。

**1.2.2 超声内镜检查:** 使用EU-M2000的内镜超声系统, 采用Olympus UM-3R和UM-2R微型导管式超声探头对患者实施检查, 探头频率为20 MHz和12 MHz. 叮嘱患者术前禁食8 h, 并向其讲解检查方式、可能出现的风险以及术中相关注意事项. 检查时告知患者尽可能保持合适体位, 必要时可给予适量的654-2、安定等镇剂. 经胃镜活检道插入微超声探头, 以脱气水充盈法显示. 对入组患者以多倍图像放大进行观察, 选择有完整结构的图像实施分析诊断. 记录病变部位、大小、来源层次等。

**1.2.3 手术方式:** (1) 内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR): 在病灶边缘将内镜注射针斜行刺入病灶中心, 将5-20 mL的1/10000肾上腺素生理盐水注入黏膜下层, 分离黏膜及其下层. 将隆起病灶以电圈套器套住, 套入部位以高出基底部黏膜2-4 mm最佳, 将息肉以高频电凝电切下. 用吸引器取出切除的病灶, 送至病理学检查; (2) 内镜黏膜下层剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD): 用染色法确定病灶大小、性质和边缘, 用APC氩气刀探头于病变边缘3-5 cm位置做点状环形电凝标记. 在病灶边缘以针状刀环形切开, 分离肿瘤及其黏膜层, 使肿瘤下黏膜下层充分显示. 在病变及其周围黏膜下多点注射适量的无菌生理盐水, 以充分隆起病变, 剥离黏膜下层于病变下方, 在此过程中多次黏膜下注射, 确保分离病变黏膜及肌层. 将切除病灶送至病理检查; (3) 内镜经黏膜下隧道肿瘤切除术(submucosal tunnel endoscopic resection, STER): 内镜下定位病灶位置后, 切口切点于病灶近口侧, 实施切除术, 并在该处黏膜下注射, 以隆起局部黏膜, 切开、分离黏膜组织, 在黏膜下层与肌层间创建一条纵行隧道, 并将黏膜组织分离至跨过病灶1-2 cm, 充分暴露病灶后, 沿着其周围将固有肌层分离, 切勿损伤病灶包膜的完整性, 剥离、取出病灶, 送至病理检查. 三种手术后观察创面是否有出血, 根据实际情况以电凝、热活检钳等处理. 告知患者术后绝对卧床休息, 禁食24-48 h, 给予抑酸、止血、补液、解痉等治疗。

**统计学处理** 采用SPSS 19.0统计学软件, 计数资料用例数(*n*)及百分率(%)表示, 组间比较采用卡方( $\chi^2$ )检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 SML患者病变部位分布情况** 320例患者中病变主要位于胃, 占53.75%(172/320), 其次为食管, 占39.69%(127/320), 十二指肠和贲门分别占4.38%(14/320)、2.19%(7/320)(图1)。

**2.2 SML病种分布情况** SML病种主要为平滑肌瘤、间

质瘤、异位胰腺(图2)。

**2.3 SML病变来源层次** 食管病变主要源自黏膜肌层, 其次为固有肌层; 十二指肠病变主要源自黏膜下层; 贲门病变主要源自黏膜肌层、固有肌层; 胃病变主要源自固有肌层、黏膜下层(表1)。

**2.4 SML各病变来源部位** 食管病变主要类型为平滑肌瘤, 贲门为间质瘤、平滑肌瘤, 十二指肠主要为囊肿, 胃病变主要类型为间质瘤、异位胰腺(表2)。

**2.5 SML各病变大小** 各病种病变大小主要集中在3 cm及以下(表3)。

**2.6 内镜下治疗情况** 320例患者中接受内镜治疗128例(40.00%), 所有患者均成功开展手术, 效果满意。其中行EMR 56例(43.75%), STER 4例(3.13%), ESD 68例(53.13%)。ESD组病灶分布主要为胃, EMR组和STER组均为食管, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); ESD组和STER组病变层次主要为固有肌层, EMR组病变层次主要为黏膜肌层, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); ESD组病变多为1-3 cm, EMR组主要集中在<1 cm, 而STER组病变均为<1 cm, 差异具有统计学意义( $P<0.05$ ); 三组穿孔、出血等并发症发生率以及超声内镜判断病变层次与手术符合例数比较, 差异无统计学意义( $P>0.05$ )(表4)。

### 3 讨论

SML泛指来自黏膜下隆起型一类的消化道病变, 病变较小时一般无症状, 多在体检时被发现, 随着疾病进展, 可出现如烧心、反酸等部分不典型的消化道症状<sup>[9,10]</sup>。常规胃镜能观察SML的黏膜表面情况、病变大小及部位, 但因SML表面覆盖消化道黏膜, 常规胃镜难以观察到病变的内在结构、血流情况、病变深度、周围淋巴结情况以及起源层次等, 无法进一步为诊断病变提供佐证<sup>[11-13]</sup>。因黏膜下肿瘤内镜活检取材小、浅, 故无法获取病灶组织, MRI、CT等影像学检查难以准确诊断黏膜下隆起病变。

本研究中, 320例SML经超声内镜检查显示病变位于胃172例, 食管127例, 十二指肠和贲门各14例、7例; 病种主要为平滑肌瘤、间质瘤、异位胰腺; 食管病变主要源自黏膜肌层, 其次为固有肌层; 十二指肠病变主要源自黏膜下层; 贲门病变主要源自黏膜肌层、固有肌层; 胃病变主要源自固有肌层、黏膜下层, 提示超声内镜检查探查SML肿物病变部位、病种来源以及来源层次。食管病变主要类型为平滑肌瘤, 贲门为间质瘤、平滑肌瘤, 十二指肠主要为囊肿, 胃病变主要类型为间质瘤、异位胰腺; 各病种病变大小主要集中在3 cm及以下, 提示超声内镜能探查SMT各病变来源部位以及大小, 利于临床对病变做出诊断。超声内镜是在内镜顶端

安置超声探头, 可实施超声扫描, 并可经内镜对体腔内病灶直接观察, 而获取周围脏器的超声图像与管壁层次的组织学特征, 提高超声与内镜的诊断水平<sup>[14-16]</sup>。因探头与病变距离较近, 图像分辨率较高, 能根据镜下黏膜病变表现特征为SML的大小、性质、位置进行初步判断, 为内镜下治疗方案的制定作指导, 尤其是超声内镜对恶性肿瘤的浸润深度和周围淋巴结转移情况有较为准确的判断, 对恶性肿瘤的可切除性、预后以及术前TNM分期判断起到重要的作用<sup>[17-20]</sup>。

EMR、ESD、STER是治疗SML的常用手段。本研究中, 320例患者中接受内镜治疗128例, 其中行EMR 56例, STER 4例, ESD 68例。不同术式治疗患者病灶分布、病变层次、大小各有不同。EMR是在圈套器切除的基础上发展而来的内镜技术, 适用于直径<2 cm以下的病变。EMR与传统根治术相比优势在于经黏膜下注射, 可完全分离黏膜下固有肌层与病变, 经全层切除法, 将病变处组织完全切除, 创伤小且并发症发生率较低<sup>[21-23]</sup>。但针对直径>2 cm且源自固有肌层、黏膜下层的SML, EMR无法将病灶彻底切除, 易残留病灶, 存在复发风险。ESD适用于黏膜下层、黏膜肌层及直径>2 cm的SML, 以及部分基底部较宽的病变, 切除范围更深、更大, 能获取的病理组织学资料完整<sup>[24-26]</sup>。与EMR相比, 其具有操作时间长、手术费用高、并发症多等不足<sup>[27,28]</sup>。STER是在病变上方5 cm位置建立黏膜下隧道, 使病变显露, 在内镜直视下将其剥离, 将隧道口以钛封闭, 适用于易并发穿孔和起源于固有肌层的病变, 且保护消化道黏膜的完整性, 即使有穿孔现象出现, 也能轻易快速闭合隧道口<sup>[29,30]</sup>。三组穿孔、出血等并发症发生率以及超声内镜判断病变层次与手术符合例数比较无明显差异, 提示三种术式安全性及术前评估准确度均较高。

综上所述, 超声内镜下SML较常见的是平滑肌瘤、间质瘤、异位胰腺, 病变多发生于胃, 尤其是胃窦; 病变起源层次多为固有肌层、黏膜肌层、黏膜下层, 各病变之间存在一定的差异, 病变大小主要集中在3 cm及以下; EMR与ESD是SML治疗SML常用术式, 各术式适用于病变层次、病变大小有一定的差异。

### 文章亮点

#### 实验背景

上消化道黏膜下病变(submucosal lesions, SML)为临床常见的消化系统疾病, 且良性居多, 因SML无特异性临床表现, 普通内镜难以判断病变性质; 常规活检无法获取病变组织, 仅能获取肿物表面的正常黏膜, 且容易引起穿孔、出血等并发症, 而超声内镜可准确定位患者各

表 1 SML各病变来源层次,  $n$  (%)

病变部位	黏膜下层	黏膜肌层	固有肌层	外压性
贲门 ( $n = 7$ )	1 (14.29)	3 (42.86)	3 (42.86)	0
食管 ( $n = 127$ )	11 (8.66)	82 (64.57)	34 (26.77)	0
十二指肠 ( $n = 14$ )	12 (85.71)	0	2 (14.29)	0
胃 ( $n = 172$ )	64 (37.21)	9 (5.23)	89 (51.74)	10 (5.81)

表 2 SML各病变来源部位,  $n$  (%)

病种	贲门	食管	十二指肠	胃
间质瘤 ( $n = 105$ )	4 (3.81)	2 (1.90)	2 (1.90)	97 (92.38)
异位胰腺 ( $n = 65$ )	0	0	1 (1.54)	64 (98.46)
平滑肌瘤 ( $n = 116$ )	3 (2.59)	113 (97.41)	0	0
脂肪瘤 ( $n = 6$ )	0	1 (16.67)	4 (66.67)	1 (16.67)
静脉曲张 ( $n = 4$ )	0	4 (100.00)	0	0
囊肿 ( $n = 14$ )	0	6 (42.86)	7 (50.00)	1 (7.14)
外压性病变 ( $n = 10$ )	0	1 (10.00)	0	9 (90.00)

表 3 SML各病变大小分布情况,  $n$  (%)

病种	< 1 cm	1–3 cm	> 3 cm
间质瘤 ( $n = 105$ )	47 (44.76)	55 (52.38)	3 (2.86)
异位胰腺 ( $n = 65$ )	43 (81.54)	22 (33.85)	0
平滑肌瘤 ( $n = 116$ )	90 (77.59)	26 (22.41)	0
脂肪瘤 ( $n = 6$ )	5 (83.33)	1 (16.67)	0
静脉曲张 ( $n = 4$ )	3 (75.00)	0	1 (25.00)
囊肿 ( $n = 14$ )	13 (92.86)	1 (7.14)	0

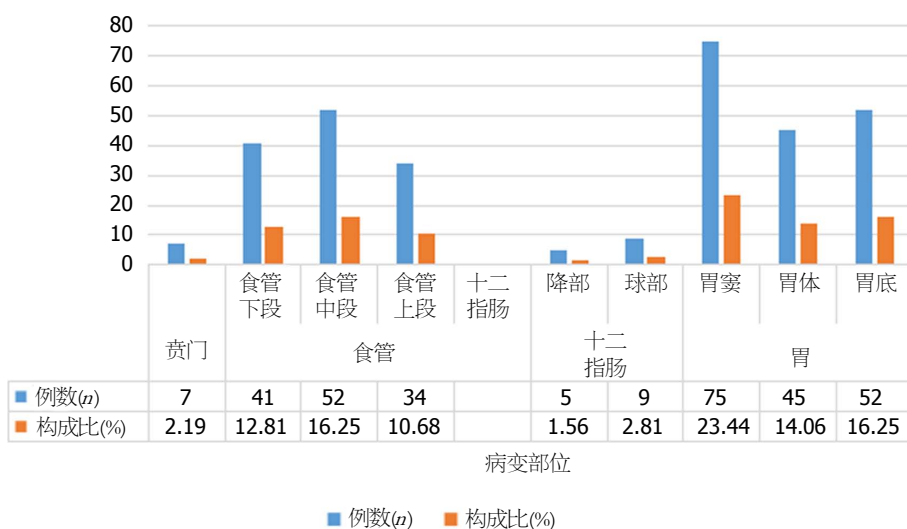


图 1 320例上消化道黏膜下病患者病变部位分布情况.



表 4 不同治疗方式情况比较, n (%)

分类	ESD (n = 68)	EMR (n = 56)	STER (n = 4)	$\chi^2$	P值
病变层次					
固有肌层	26 (38.24)	3 (5.36)	4 (100.00)	55.259	0.000
黏膜下沉	20 (29.41)	2 (3.57)	0		
黏膜肌层	22 (32.35)	51 (91.07)	0		
病变大小 (cm)					
< 1	28 (41.18)	51 (91.07)	4 (100.00)	35.883	0.000
1-3	38 (55.88)	5	0		
> 3	2 (2.94)	0	0		
病变部位					
贲门	5 (7.35)	0	0	82.417	0.000
食管	14 (20.59)	56 (100.00)	4 (100.00)		
十二指肠	0	0	0		
胃	49 (72.06)	0	0		
并发症					
穿孔	6 (8.82)	0	0	5.554	0.062
出血	1 (1.47)	1 (1.79)	0	0.085	0.958
超声内镜判断病变层次与手术符合例数	65 (95.59)	51 (91.07)	4 (100.00)	1.345	0.511

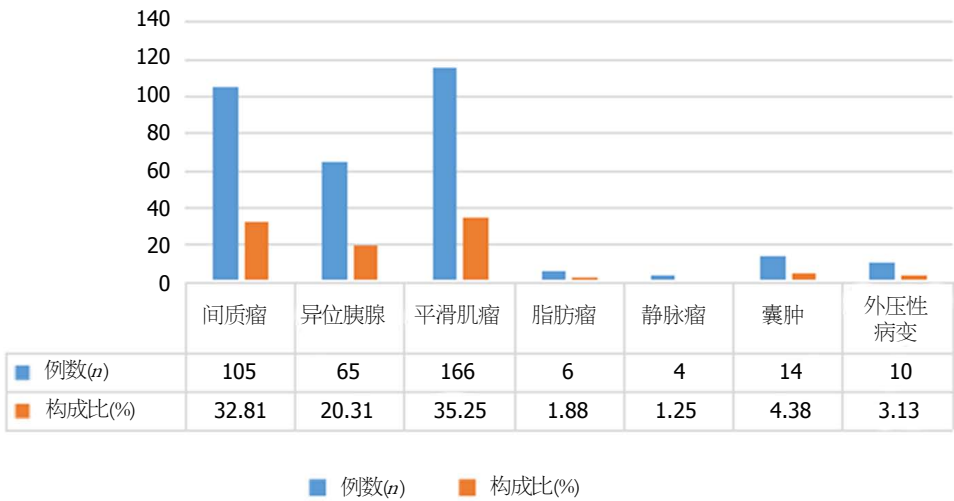


图 2 上消化道黏膜下病变病种分布情况.

层次病变, 清晰显示病变性质、大小、与周围组织的关系等, 是临床检查SML的重要手段, 通过分析超声内镜下SML的临床特征及内镜下治疗效果, 能够进一步提高SML治疗效果.

实验动机

本研究主要目的是为了提高SML的临床诊疗效果, 重点分析超声内镜下SML临床特征并分析内镜下治疗结果.

实验目标

通过统计分析, 发现SML在超声内镜下较常见的是平

滑肌瘤、间质瘤、异位胰腺, 病变多发生于胃, 尤其是胃窦; 病变起源层次多为固有肌层、黏膜肌层、黏膜下层, 各病变之间存在一定的差异, 病变大小主要集中在3 cm及以下; 内镜黏膜切除术(endoscopic mucosal resection, EMR)与内镜黏膜下层剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD)是SML治疗SML常用术式, 各术式适用于病变层次、病变大小有一定的差异. 这对于今后SML临床诊治有一定指导意义.

实验方法

本研究采取回顾性分析的方式, 在现有资料基础上, 最

大限度的将本研究结果进行全面统计分析, 避免了因前瞻性研究的结果、结论不确定性, 但也限制了研究的拓展性, 后期考虑结合回顾性分析结果设立前瞻性研究方案, 更进一步开展研究。

## 实验结果

本研究结果指明了SML的临床特征, 样本量较为充足, 对SML的诊断及内镜治疗均有参考价值。

## 实验结论

本研究主要是发现SML病变集中在胃部, 尤其是胃窦; 病变主要集中在3 cm及以下; EMR与ESD是SML治疗SML值得推荐且易开展的术式, 但各术式适用于病变层次、病变大小有一定差异。因此临床应完善早期诊断, 并基于此进一步选择合适术式进行治疗, 降低术后并发症。

## 展望前景

内镜治疗SML是未来的主要手段, 在微创设备未进一步更新发展之前, 内镜手术将是SML未来的主要治疗方式。

## 4 参考文献

- 1 王伟, 施新岗, 金震东, 李兆申. 上消化道黏膜下肿瘤内镜治疗的关键问题分析. 中华消化内镜杂志 2017; 34: 764-768 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2017.11.002]
- 2 曹伟军, 赵有才, 张振玉, 陈震球, 张予蜀. 超声内镜对上消化道黏膜下病变的诊断应用价值. 中国医师杂志 2017; 19: 1888-1891 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2017.12.042]
- 3 丁艳乐, 丰义宽, 周新玲, 刘燕, 张玉英. 超声内镜对上消化道黏膜下肿瘤的诊断价值. 胃肠病学和肝病学杂志 2017; 26: 1146-1149 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2017.10.020]
- 4 阿里木江·阿不都热合曼, 纪文静, 阿古再·热合曼. 超声内镜诊治上消化道黏膜下病变180例临床观察. 陕西医学杂志 2017; 46: 65-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-7377.2017.01.029]
- 5 Ye LP, Zhang Y, Mao XL, Zhu LH, Zhou X, Chen JY. Submucosal tunneling endoscopic resection for small upper gastrointestinal subepithelial tumors originating from the muscularis propria layer. *Surg Endosc* 2014; 28: 524-530 [PMID: 24013472 DOI: 10.1007/s00464-013-3197-8]
- 6 荣光宏, 刘芝兰, 马颖才, 杨永耿, 吉栋德, 许国彩, 蔡开琳, 王国斌. 819例上消化道黏膜下病变的超声内镜诊断分析. 中华消化内镜杂志 2017; 34: 437-438 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2017.06.014]
- 7 冉静, 李华, 李涛, 张耀仁, 杜伟. 超声内镜在上消化道黏膜下肿瘤诊断和鉴别诊断中的价值. 现代生物医学进展 2017; 17: 5917-5920 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.30.027]
- 8 杨宪武, 杨宏伟, 李红玉, 赵树巧, 刘春, 张晓博. 超声内镜下黏膜切除术在上消化道病变治疗中的应用观察. 临床误诊误治 2017; 30: 64-67 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-3429.2017.05.022]
- 9 Liu Z, Ren G, Zhang X, Pan Y, Zhang L, Huang R, Guo X, Wu K. A case of endoscopic enucleation of a large upper GI submucosal tumor originating from the muscularis propria. *Gastrointest Endosc* 2014; 80: 333-334 [PMID: 25034841 DOI: 10.1016/j.gie.2014.05.301]
- 10 Rustagi T, Aslanian HR. Endoscopic strangulation techniques for treatment of upper GI mucosal and submucosal lesions.

- Gastrointest Endosc* 2015; 81: 1002 [PMID: 25028275 DOI: 10.1016/j.gie.2014.06.016]
- 11 Mori H, Kobara H, Nishiyama N, Fujihara S, Masaki T. Open biopsy guided by endoscopic ultrasonography from a gastric submucosal tumor growing outside the stomach. *J Gastrointest Liver Dis* 2015; 24: 105-108 [PMID: 25822441 DOI: 10.15403/jgld.2014.1121.ssv]
- 12 李学彦, 郭道光, 邵晓东, 郭晓钟. 超声内镜检查在上消化道隆起性病变中应用价值. 临床军医杂志 2016; 44: 1190-1191 [DOI: 10.16680/j.1671-3826.2016.11.25]
- 13 张静, 黄凯莉, 丁士刚, 等. 超声内镜对上消化道黏膜下肿瘤的诊断价值. 中国微创外科杂志 2016; 16(05):385-389 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-6604.2016.05.001]
- 14 赵丽莎, 龙辉, 郝顺心. 超声胃镜对上消化道隆起性病变的诊疗价值. 临床内科杂志 2017; 34: 606-607 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-9057.2017.09.008]
- 15 孙晔, 杨维忠. 上消化道黏膜下肿瘤的超声内镜诊断价值及内镜下治疗效果. 国际消化病杂志 2016; 36: 378-380 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2016.06.015]
- 16 Ikehara H, Li Z, Watari J, Taki M, Ogawa T, Yamasaki T, Kondo T, Toyoshima F, Kono T, Tozawa K, Ohda Y, Tomita T, Oshima T, Fukui H, Matsuda I, Hirota S, Miwa H. Histological diagnosis of gastric submucosal tumors: A pilot study of endoscopic ultrasonography-guided fine-needle aspiration biopsy vs mucosal cutting biopsy. *World J Gastrointest Endosc* 2015; 7: 1142-1149 [PMID: 26468338 DOI: 10.4253/wjge.v7.i14.1142]
- 17 刘涛, 杜平, 梁仲惠, 苏莉雅, 彭丽琼. 超声内镜对上消化道黏膜下病变的诊断及治疗价值. 中国医药导刊 2015; 17: 453-454
- 18 吴爱荣, 李锐, 史冬涛, 李岭, 张德庆, 王超, 严苏. 超声内镜对上消化道黏膜下肿瘤的诊断价值. 中华胃肠外科杂志 2015; 18: 1136-1138 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2015.11.017]
- 19 李国华, 翟英姬, 陈晓东, 杜国平. 上消化道隆起性病变的超声内镜表现——附464例分析. 新医学 2015; 46: 328-332 [DOI: 10.3969/g.issn.0253-9802.2015.05.013]
- 20 罗小玲, 周传文, 潘峰, 李倩君. 微探头超声内镜联合内镜黏膜下剥离术诊治上消化道黏膜下隆起性病变的研究. 现代中西医结合杂志 2015; 24: 2698-2700 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8849.2015.24.030]
- 21 杨克利, 王拥军, 李鹏, 张澍田. 内镜下黏膜切除术在上消化道疾病诊断中的价值. 中国医刊 2016; 51: 89-91 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-1070.2016.01.023]
- 22 李清峰, 刘兆周, 丘文丹, 邱李华. 内镜黏膜切除术在诊治老年结肠直肠癌患者中的价值. 中华老年多器官疾病杂志 2017; 16: 925-928 [DOI: 10.11915/j.issn.1671-5403.2017.12.215]
- 23 王保健, 顾文芬, 胡志卓, 薛林. 内镜下黏膜切除术与内镜黏膜下剥离术治疗消化道神经内分泌肿瘤的对比研究. 中国内镜杂志 2017; 23: 75-78 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2017.09.014]
- 24 胡晓, 李良平, 肖迅, 刘晓岗, 阳运超, 宋彦, 韩盛玺. 内镜下黏膜剥离术治疗上消化道早期癌及癌前病变的临床疗效. 现代消化及介入诊疗 2017; 22: 9-12 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2017.01.003]
- 25 方雅丽. 内镜黏膜剥离术、黏膜切除术及全层切除术治疗上消化道黏膜下肿瘤的疗效. 胃肠病学和肝病学杂志 2017; 26: 1150-1153 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2017.10.021]
- 26 Nakamura M, Hirooka Y, Watanabe O, Yamamura T, Nagura A, Ando T, Goto H. Submucosal tumor in the small bowel resected by EMR at double-balloon endoscopy. *Gastrointest Endosc* 2015; 81: 1024-1025 [PMID: 25805471 DOI: 10.1016/j.gie.2014.11.024]
- 27 陈保银, 马竹芳, 刘畅. 上消化道黏膜下隆起性病变行微探头超声内镜联合内镜黏膜下剥离术的诊治研究. 现代消化及介入诊疗 2017; 22: 676-678 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-2159.2017.05.021]
- 28 王一卓, 李红, 张崑琪, 张宏博. 内镜黏膜下剥离术治疗上消化道黏膜下病变的疗效与并发症分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2015;

- 24: 519-521 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2015.05.008]
- 29 Wang XY, Xu MD, Yao LQ, Zhou PH, Pleskow D, Li QL, Zhang YQ, Chen WF, Zhong YS. Submucosal tunneling endoscopic resection for submucosal tumors of the esophagogastric junction originating from the muscularis propria layer: a feasibility study (with videos). *Surg Endosc* 2014; 28: 1971-1977

- [PMID: 24515260 DOI: 10.1007/s00464-014-3420-2]
- 30 Liu H, Wei LL, Zhang YZ, Sha QM, Huang Y, Qin CY, Xu HW. Submucosal tunnelling endoscopic resection (STER) for the treatment of a case of huge esophageal tumor arising in the muscularis propria: a case report and review of literature. *Int J Clin Exp Med* 2015; 8: 15846-15851 [PMID: 26629086]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》性质、刊登内容及目标

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

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

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

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



## 脑肠轴传输中的胃肠肽类激素

刘娅薇, 惠华英, 谭周进

刘娅薇, 惠华英, 谭周进, 湖南中医药大学 湖南省长沙市 410208

谭周进, 教授, 主要从事中医药微生态学的研究.

基金项目: 湖南省教育厅项目, No. 13B082.

作者贡献分布: 本文综述由刘娅薇与惠华英共同完成, 谭周进负责审核.

通讯作者: 谭周进, 教授, 410208, 湖南省长沙市含浦科教园区学士路300号, 湖南中医药大学. [tanzhjin@sohu.com](mailto:tanzhjin@sohu.com)  
电话: 0731-85381154

收稿日期: 2019-05-10

修回日期: 2019-07-03

接受日期: 2019-08-02

在线出版日期: 2019-08-28

### Gastrointestinal peptide hormones associated with brain-intestinal axis

Ya-Wei Liu, Hua-Ying Hui, Zhou-Jin Tan

Ya-Wei Liu, Hua-Ying Hui, Zhou-Jin Tan, Hu'nan University of Chinese Medicine, Changsha 410208, Hu'nan Province, China

Supported by: Hunan Education Department Project, No. 13B082.

Corresponding author: Zhou-Jin Tan, Professor, Hu'nan University of Chinese Medicine, 300 Xueshi Road, Hanpu Science and Education Park, Changsha 410208, Hu'nan Province, China. [tanzhjin@sohu.com](mailto:tanzhjin@sohu.com)

Received: 2019-05-10

Revised: 2019-07-03

Accepted: 2019-08-02

Published online: 2019-08-28

### Abstract

The brain-intestinal axis is the interaction between biochemical signals of the digestive tract and the central nervous system, controls the two-way information exchange between the intestine and brain, and is composed of immune, vagus nerve, and neuroendocrine

pathways. Brain-gut peptide (BGP) is a small molecule polypeptide that regulates gastrointestinal function and participates in regulating gastrointestinal physiological activities in the brain-intestinal axis, and is involved in the pathogenesis of gastrointestinal diseases by regulating brain-intestinal interaction. As a molecular basis of BGP, gastrointestinal peptide hormones not only affect the functional movement of the gastrointestinal tract, but also regulate the metabolism, cardiovascular function, and even human behavior of the whole body through inflammatory reactions and immune responses. This article reviews the interaction between gastrointestinal peptide hormones and the brain-intestinal axis, with an aim to provide clues and ideas for the treatment of related diseases.

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

Key Words: Gastrointestinal peptide hormone; Brain-gut peptide; Brain-gut axis

Liu YW, Hui HY, Tan ZJ. Gastrointestinal peptide hormones associated with brain-intestinal axis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 1007-1012

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1007.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.1007>

### 摘要

脑肠轴是消化道和中枢神经系统的生物化学信号, 控制着肠和脑之间的双向信息交流系统, 由免疫、迷走神经和神经内分泌途径构成. 脑肠肽(brain-gut peptide, BGP)是脑肠轴中调节胃肠功能、参与调节胃肠生理活动一种小分子多肽, 在脑肠互动中调控胃肠道疾病发挥重要作用. 而胃肠肽类激素作为BGP的分子基础, 不仅作用于胃肠道功能运动, 还通过炎症反应、免疫反应等影响全身的代谢、心血管功能

甚至人类行为. 本文对胃肠肽类激素与脑肠轴之间的相互作用机制作一综述, 期望能对相关疾病治疗提供线索及思路.

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

关键词: 胃肠肽激素; 脑肠肽; 脑肠轴

**核心提要:** 本文梳理了近年来关于胃肠肽类激素与中枢神经系统和肠道神经系统双向交互影响(脑肠轴)之间相关关系的研究. 并从疾病发生发展角度进一步分析了胃肠肽类激素在其中的作用及可能的治疗效果.

刘娅薇, 惠华英, 谭周进. 脑肠轴传输中的胃肠肽类激素. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 1007-1012

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1007.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1007>

## 0 引言

从广义上说, 脑肠轴是连接感情中枢与神经内分泌、肠神经系统和免疫系统的双向交通枢纽. 脑肠肽(brain-gut peptide, BGP)在胃肠和神经系统中双重分布, 由多种具有神经递质和激素双重功能的小分子多肽影响脑肠轴各个环节的交互作用. 目前已发现的BGP有60多种<sup>[1]</sup>, BGP在脑肠轴中介导细胞间信息传递, 发挥激素和局部递质效应, 起到搭建连接桥梁和调控功能的作用, 亦可直接作用于胃肠道感觉神经末梢或平滑肌细胞的相应受体而调节胃肠道功能<sup>[2]</sup>. BGP主要分为胃肠肽类激素、胃肠神经肽、神经肽3类<sup>[1]</sup>. 其中胃肠肽类激素可分为兴奋型和抑制型两类, 这些递质相互作用、相互影响, 共同发挥调节作用. 近年来, 胃肠肽类激素的基础研究向临床应用的转化取得了前所未有的进展, 在对胃肠肽类激素与疾病发病及预后的基础研究中, 或许调节胃肠肽类激素能成为新型的辅助治疗方法. 本文综述了近年来胃肠肽类激素的检测方法、分布位置、合成途径以及对脑肠轴的作用过程和保护机制. 本文从胃肠肽类激素的检测方法、分布位置、合成途径及作用机制来阐明其水平变化对脑肠轴的影响(图1).

## 1 兴奋型胃肠肽类激素

**1.1 胃动素** 胃动素(motilin, MTL)是由近端小肠Mo细胞分泌的胃肠道肽激素, 主要分布在十二指肠和上端空肠, 同时也存在于大脑、外周神经和肠壁内神经等神经系统中<sup>[3]</sup>. 研究表明<sup>[4]</sup>脑梗死急性期中脑组织水肿及颅内压增高, 引起丘脑下部自主神经功能紊乱, 十二指肠酸化均可刺激MTL分泌. MTL的动态变化说明了胃肠

损伤与脑梗死神经中枢的变化有密切相关性. 研究指出MTL水平降低下降会导致胃收缩减弱或消化间期肌电活动III相收缩缺乏, MTL通过影响消化间期复合肌电活动III相, 升高胃肠道平滑肌细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度, 加强胃平滑肌收缩, 促进小肠蠕动, 缩短内容物在小肠的传送时间, 调节胃肠道运动及水电解质转运<sup>[5]</sup>. MTL受体能够诱导血管平滑肌收缩, 在胃黏膜上的平滑肌细胞和神经细胞内存在直接发生的相互作用<sup>[6]</sup>. 该物质可以用放射免疫分析法<sup>[1]</sup>检测.

**1.2 胃泌素** 胃泌素(gastrin, GAS)是由十二指肠、胃窦及空肠黏膜中的1/3的G细胞分泌的胃肠道多肽激素, 同时也存在于中枢神经系统的下丘脑和延髓迷走神经背核<sup>[7]</sup>. GAS是目前唯一均能在中枢神经系统、肠神经系统和外周神经3个水平上兴奋胃肠道运动的BGP. GAS是公认与胃溃疡发病有密切关系的指标. GAS可直接刺激壁细胞或通过产生组胺作用于壁细胞增加胃酸的分泌, 促进胃肠黏膜细胞生长并能营养胃黏膜和壁细胞, 促进胃肠运动与收缩, 增加应激性溃疡的发生发展<sup>[8]</sup>. 近年研究表明<sup>[9]</sup>脑梗塞后的脑组织破坏及颅内压增高, 使迷走神经高度兴奋, 过度释放乙酰胆碱及GAS释放肽, 从而引起GAS分泌增加. 此外GAS参与胃黏膜炎症反应, 刺激正常黏膜组织的生长修复, 促进细胞因子和炎症介质的表达、释放<sup>[10]</sup>; GAS亦可与胃窦平滑肌细胞的受体相结合, 使胃窦和幽门括约肌进行舒缩活动. 该物质可以用放射免疫法<sup>[10]</sup>检测.

**1.3 P物质** P物质(substance P, SP)是最早发现的神经肽, 以十二指肠和结肠含量丰富. 在消化系统中SP主要以D细胞旁分泌的形式产生, 是维持胃肠激素环境稳定的重要BGP<sup>[11]</sup>. SP可直接作用于平滑肌纤维, 激活胃肠道胆碱能神经元、增强乙酰胆碱效应, 促进食管下括约肌及胃肠平滑肌收缩. 最近研究表明SP可以通过激活肌内神经节非胆碱能传递而增强其收缩效能<sup>[12]</sup>. SP可以通过下调炎症因子来减轻肠损伤、恢复隐窝结构, 保持肠屏障完整<sup>[13]</sup>. 研究发现<sup>[14]</sup>在肠道低度炎症状态下, 肥大细胞(mast cell, MC)易被活化, 产生类胰蛋白酶等物质刺激兴奋性递质SP等相关神经肽的释放, 导致内脏高敏感性症状出现. SP作为内脏感觉神经递质可启动活化和致敏机制的级联效应, 并向中枢神经系统传递伤害性疼痛信息. 该物质可用免疫组织化学方法<sup>[14]</sup>检测.

**1.4 5-羟色胺** 5-羟色胺(5-hydroxytryptamine, 5-HT)是一种参与中枢神经系统和胃肠道活动的神经递质<sup>[15]</sup>. 肠嗜铬细胞(enterochromaffin cells, EC)摄取色氨酸后, 先在羟化酶的催化下生成5-羟色氨酸, 然后通过5-羟色氨酸脱羧酶作用形成5-HT储存于囊泡内<sup>[16]</sup>. 在双向的脑-肠相

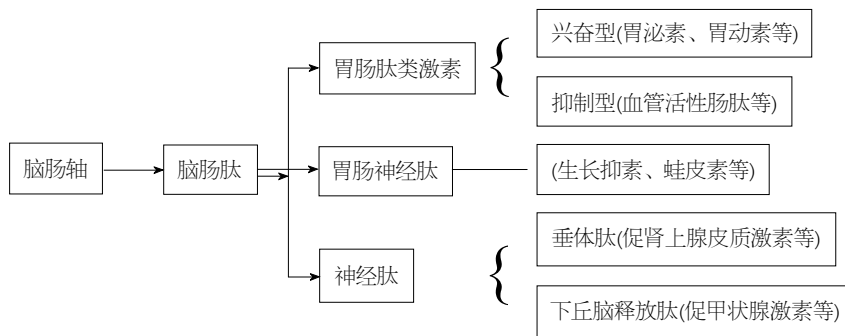


图1 脑肠轴中相关肽类物质。

相互作用中, 5-HT为其重要的神经递质和信号分子. 5-HT对肠道功能的具体调节作用方式有以下3种: (1) 5-HT通过5-HT<sub>2B</sub>受体直接作用于肠道黏膜上皮细胞或平滑肌细胞调节结肠的分泌及运动<sup>[17]</sup>; (2) 5-HT<sub>1</sub>、5-HT<sub>7</sub>受体可通过作用于中间神经元及内源性传入神经元, 参与并调节肠道的分泌、蠕动反射<sup>[18]</sup>; (3) 通过作用于外源性传入神经元上的5-HT<sub>3</sub>、5-HT<sub>4</sub>受体, 增加细胞内Ca<sup>2+</sup>的浓度, 调节中枢神经和外周神经元的兴奋性, 导致内脏高敏感性和腹部不适等胃肠道功能异常, 从而将不适感觉信号传入中枢神经系统<sup>[16]</sup>. 该物质可以用免疫组化法检测<sup>[19]</sup>(表1).

## 2 抑制型胃肠肽类激素

**2.1 胆囊收缩素** 胆囊收缩素(cholecystokinin, CCK)是一种由小肠黏膜I细胞分泌产生的激素, 通过多种分泌作用于消化系统、中枢及外周神经系统的BGP, CCK是通过肽CCK基因的翻译后修饰产生的, 由三肽酶II在胃的酶灭活<sup>[20]</sup>. CCK在胃肠道中主要通过作用于幽门及胃平滑肌上CCK-A受体, 使胃排空延缓、抑制食欲及摄食减少出现肠胃运动障碍; 在中枢调节方面, 通过迷走反射以及中枢边缘系统舒张近端胃、提高幽门括约肌张力<sup>[21]</sup>. 介导CCK抑制摄食活动的主要途径是迷走传入神经途径<sup>[22]</sup>, CCK可通过组织液的扩散作用进入机体微循环; 另一部分则与迷走神经传入末梢的CCK<sub>1R</sub>受体结合后, 影响了后脑中神经元产生饱感信号<sup>[23]</sup>. 该物质可以用ELISA分析<sup>[24]</sup>检测.

**2.2 血管活性肠肽** 血管活性肠肽(vasoactive intestinal peptide, VIP)是一个由28个氨基酸残基构成的多肽, 由中枢神经系统和胰岛D1细胞分泌, 副交感神经节后纤维和免疫细胞所释放, 广泛分布于中枢及外周神经系统, 以黏膜下层为最多<sup>[25]</sup>. 研究发现VIP神经元可以直接激活上皮隐窝细胞调节肠道离子和液体, 维持上皮屏障稳态<sup>[26]</sup>. Conlin等<sup>[27]</sup>研究发现VIP可以改善由柠檬酸杆菌引起的结肠炎所导致的肠屏障损伤, 并诱导细胞旁通

透性增加, 进一步维持肠屏障完整性. VIP有引起消化道环形肌松弛的独特能力, 能促进NO合成而引起环形肌舒张, 而NO则能使易于VIP释放, 与一氧化氮合酶共存于肌间神经丛及黏膜下神经丛<sup>[28]</sup>. 另外有研究<sup>[29]</sup>表明VIP对肠神经丛具有抗应激和稳定作用, VIP含量降低易发生肠道蠕动着收缩, 同时减小对肠道动力抑制作用, 使肠神经应激性增强. 该物质可用免疫组织化学方法<sup>[30]</sup>检测.

**2.3 酪神经肽** 酪神经肽(neuropeptide Y, NPY)是一种含有36个氨基酸残基的BGP. 消化系统中NPY主要分布于胃、食管下和肛门内外括约肌及支配小肠肠系膜的神纤维中<sup>[31]</sup>. 下丘脑中的NPY来源于弓状核中含有NPY的纤维束, 可参与调节下丘脑激素的释放, 下丘脑室旁核释放促肾上腺皮质激素, 使得这两个神经肽系统之间可实现交流<sup>[32]</sup>. 研究<sup>[33]</sup>认为NPY通过G蛋白相关膜受体与配体结合发挥作用, NPY与Y<sub>1</sub>或Y<sub>5</sub>受体结合后产生的信号抑制交感神经兴奋, 此外NPY与肠黏膜下神经节中的周围性胆碱乙酰转移酶相结合发挥作用能抑制胃的收缩和排空, 舒张小肠及结肠平滑肌, 抑制结肠的动力<sup>[34]</sup>. 该物质可以用放射免疫法<sup>[10]</sup>检测.

**2.4 生长抑素** 生长抑素(somatostatin, SS)是一个由14个氨基酸残基构成的短肽, 在胃肠道主要分布在胃窦和十二指肠及小肠和结肠. SS在消化系统主要由D细胞分泌<sup>[11]</sup>. SS与体内多种神经递质共存: SS通过调节G细胞的分泌, 抑制CCK、MOT等胃肠激素的分泌和释放, 对胃肠道进行直接和间接调节作用<sup>[35]</sup>. 研究发现SS在通过诱导或抑制炎症因子调节肠上皮细胞的黏膜炎症反应. 亦有研究证明<sup>[36]</sup>SS通过抑制猕猴回肠上皮细胞分泌IFN-γ间接阻止肥大细胞脱颗粒, 减少毛细血管通透性, 降低肠黏膜水肿, 维持结肠上皮细胞完整性改善肠缺血再灌注引起的全身炎症反应. 同时SS能够全面增强谷胱甘肽过氧化物酶系统的功能, 以维持黏膜内非蛋白结合巯基含量, 从而加强胃黏膜对氧自由基及其引起的脂质过氧化产物的清除能力, 以实现其胃黏膜保护



表 1 胃肠肽类激素信息表

	名称	分布位置	功能作用	检测方法
兴奋型胃肠肽类激素	MTL	十二指肠和上端空肠, 大脑、外周神经和肠壁内神经等神经系统	促进和影响胃肠运动及胃肠道对水、电解质的运输	放射免疫法
	GAS	十二指肠、胃窦及空肠黏膜中的1/3的G细胞	刺激胃窦与肠运动, 延缓胃排空	放射免疫法
	SP	十二指肠和结肠, 以D细胞旁分泌的形式产生	传递痛觉信息, 向脑内痛觉中枢传递痛觉信息	免疫组化法
	5-HT	约90%合成和分布于肠嗜铬细胞	参与神经系统和胃肠道活动	免疫组化法
	CCK	小肠黏膜i细胞分泌产生	刺激胃酸分泌, 抑制吸收	ELISA法
	VIP	神经系统, 以黏膜下层为最多	舒张肠道平滑肌	免疫组化法
抑制型胃肠肽类激素	NPY	胃、食管下和肛门内外括约肌及支配小肠肠系膜的神经纤维中	抑制胃的收缩和排空, 舒张肠道平滑肌, 抑制结肠动力	放射免疫法
	SS	胃窦和十二指肠及小肠和结肠	保护胃黏膜, 减少毛细血管通透性, 降低肠黏膜水肿	放射免疫法
	CGRP	广泛分布于中枢及外周神经系统, 主要分布于内脏感觉神经中	降低内脏的敏感性, 抑制胃酸分泌及胃肠运动	放射免疫法

MTL: 胃动素; GAS: 胃泌素; SP: P物质; 5-HT: 5-羟色胺; CCK: 胆囊收缩素; VIP: 血管活性肠肽; NPY: 酪神经肽; SS: 生长抑素; CGRP: 降钙素基因相关肽。

作用. 该物质可以用放射免疫法测定<sup>[37]</sup>检测。

2.5 降钙素基因相关肽 降钙素基因相关肽(calcitonin gene related peptide, CGRP)是由37个氨基酸组成的促炎症性感觉性神经肽, 广泛分布于中枢及外周神经系统, 其中主要分布于内脏感觉神经. 肠道中的CGRP主要有2种来源途径<sup>[38]</sup>: 一种为黏膜下血管壁的脊髓传入神经, 另一种为肠壁其他各层的壁内神经. CGRP发挥生物学效应的机制是通过与其相互关联的受体相互作用而产生的, CGRP受体主要存在血管内膜和中膜中由降钙素受体样受体、受体活性修饰蛋白质和受体组分蛋白质三部分组成<sup>[39]</sup>, CGRP与其相关的受体结合后, 腺苷酸环化酶被激活, 升高细胞内环磷酸腺苷水平, 进而促使细胞膜上的腺嘌呤核苷三磷酸敏感的钾离子通道被激活, 促使细胞膜发生超极化反应, 从而使电压依赖性钙离子通道关闭, 使细胞内Ca<sup>2+</sup>浓度降低, 从而发挥其效应<sup>[40]</sup>; 其次在痛觉的产生与传递过程中, CGRP作为神经调节介质在内脏疼痛调节中起重要作用, 可以通过调节脊髓初级传入神经元NK1R1表达, 降低血浆CGRP的水平, 减弱背角神经元兴奋性, 提高内脏的痛阈<sup>[41]</sup>, 降低内脏的敏感性, 也可以抑制胃酸分泌及胃肠运动<sup>[42]</sup>; 最后CGRP在扩张血管、抑制细胞过度增殖等方面的作用是通过刺激内皮细胞增加一氧化氮等舒血管因子的释放来实现的<sup>[43]</sup>. 该物质可以用放射免疫法测定检测<sup>[37]</sup>。

3 结论

综上所述, 近年来研究发现通过脑-肠轴进行沟通并调节肠道功能及大脑的发育和改变宿主的行为, 也重新阐释

了众多疾病尤其是代谢性疾病和精神异常性疾病的发生机制, 也为治疗及研究提供了新的方向. BGP分子胃肠肽类激素在参与脑肠轴功能中发挥着重要的生理功能, 通过自身调节与多种受体作用, 参与了胃肠道功能的调控和中枢系统的传导. 但关于BGP在脑肠轴中发挥作用的具体调节机制尚需要进一步深入研究及完善, 这将为临床预防、治疗及新药物的研发提供理论依据。

4 参考文献

1 毛兰芳, 汪龙德, 张宏伟, 刘俊宏, 杜晓娟, 彭志恒. 功能性消化不良与脑肠肽的研究进展. 世界华人消化杂志 2015; 23: 570-576 [DOI: 10.11569/wjcd.v23.i4.570]

2 关兴芳, 段志军. 脑肠肽对肠屏障损伤的保护作用和机制. 世界华人消化杂志 2017; 25: 2805-2812 [DOI: 10.11569/wjcd.v25.i31.2805]

3 Sanger GJ, Wang Y, Hobson A, Broad J. Motilin: towards a new understanding of the gastrointestinal neuropharmacology and therapeutic use of motilin receptor agonists. Br J Pharmacol 2013; 170: 1323-1332 [PMID: 23189978 DOI: 10.1111/bph.12075]

4 安朋朋, 史蕊, 唐明, 李芳, 张焕华. 脑梗死大鼠急性期胃动素的动态变化. 中国老年学杂志 2016; 36: 2582-2583 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.11.007]

5 Asano H, Tomita T, Nakamura K, Yamasaki T, Okugawa T, Kondo T, Kono T, Tozawa K, Ohda Y, Oshima T, Fukui H, Fukushima K, Hirota S, Watari J, Miwa H. Prevalence of Gastric Motility Disorders in Patients with Functional Dyspepsia. J Neurogastroenterol Motil 2017; 23: 392-399 [PMID: 28423481 DOI: 10.5056/jnm.16173]

6 饶珈琦, 布小玲, 陈浩, 沙卫红. 功能性消化不良患者外周胃动素、神经肽Y和瘦素水平研究. 胃肠病学 2015; 20: 486-488 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-7125.2015.08.008]

7 马佳佳, 闫亚南, 关翰宇. 针刺对应激性胃溃疡模型大鼠血清和下丘脑中GAS、SS和MT表达的影响. 环球中医药 2018; 11: 486-491

8 Lee KJ, Cha DY, Cheon SJ, Yeo M, Cho SW. Plasma ghrelin

- levels and their relationship with gastric emptying in patients with dysmotility-like functional dyspepsia. *Digestion* 2009; 80: 58-63 [PMID: 19494492 DOI: 10.1159/000215389]
- 9 唐明, 杨秀丽, 安朋朋, 李玲玲, 孙莉莉, 周景想. 枳实对脑梗塞急性期大鼠胃动素、胃泌素的调节作用. *中国中医药科技* 2015; 22: 39-40
  - 10 滕金艳, 李志刚, 白妍, 赛音朝克图. 不同电针对抑郁模型大鼠结肠黏膜脑肠肽GAS、NPY、CGRP含量的影响. *世界中西医结合杂志* 2013; 8: 226-229 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-6613.2013.03.005]
  - 11 刘红玉, 李志婷. 功能性消化不良患者焦虑、抑郁状态与胃窦黏膜GAS及SS表达的关系. *山东医药* 2016; 56: 57-58 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2016.18.020]
  - 12 Welgan P, Meshkinpour H, Hoehler F. The effect of stress on colon motor and electrical activity in irritable bowel syndrome. *Psychosom Med* 1985; 47: 139-149 [PMID: 4048360 DOI: 10.1097/00006842-198503000-00005]
  - 13 Hong HS, Hwang DY, Park JH, Kim S, Seo EJ, Son Y. Substance-P alleviates dextran sulfate sodium-induced intestinal damage by suppressing inflammation through enrichment of M2 macrophages and regulatory T cells. *Cytokine* 2017; 90: 21-30 [PMID: 27750083 DOI: 10.1016/j.cyt.2016.10.002]
  - 14 裴丽霞, 张伟, 宋亚芳, 耿昊, 陈璐, 吴晓亮, 周俊灵, 孙建华. 电针“天枢”穴对感染后肠易激综合征内脏高敏感模型大鼠结肠肥大细胞活化和P物质的影响. *针刺研究* 2018; 43: 419-423 [DOI: 10.13702/j.1000-0607.180211]
  - 15 汤伯宗, 李熠萌, 丛军, 林江. 痛泻要方对RIN-m细胞TRPA1表达及5-HT分泌的影响. *中华中医药杂志* 2017; 3: 1283-1286
  - 16 Yu FY, Huang SG, Zhang HY, Ye H, Chi HG, Zou Y, Lv RX, Zheng XB. Comparison of 5-hydroxytryptophan signaling pathway characteristics in diarrhea-predominant irritable bowel syndrome and ulcerative colitis. *World J Gastroenterol* 2016; 22: 3451-3459 [PMID: 27022227 DOI: 10.3748/wjg.v22.i12.3451]
  - 17 Okamoto T, Barton MJ, Hennig GW, Birch GC, Grainger N, Corrigan RD, Koh SD, Sanders KM, Smith TK. Extensive projections of myenteric serotonergic neurons suggest they comprise the central processing unit in the colon. *Neurogastroenterol Motil* 2014; 26: 556-570 [PMID: 24460867 DOI: 10.1111/nmo.12302]
  - 18 杨晨玉, 韩亚楠, 王子旭. 5-HT转运体/受体在肠道疾病发生中的作用研究进展. *神经解剖学杂志* 2014; 30: 720-724 [DOI: 10.11670/1000-7547.201406020]
  - 19 陈富丽, 窦志芳. 痛泻要方治疗肠易激综合征肝郁脾虚证5-羟色胺作用机制研究. *世界中西医结合杂志* 2017; 12: 1686-1690 [DOI: 10.13935/j.cnki.sjzx.171214]
  - 20 张洪领, 杨春敏. 功能性消化不良的脑肠轴机制研究进展. *实用医学杂志* 2010; 26: 3265-3266 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5725.2010.17.086]
  - 21 Rehfeldt JF. Cholecystokinin-From Local Gut Hormone to Ubiquitous Messenger. *Front Endocrinol (Lausanne)* 2017; 8: 47 [PMID: 28450850 DOI: 10.3389/fendo.2017.00047]
  - 22 Mirza KB, Alenda A, Eftekhar A, Grossman N, Nikolic K, Bloom SR, Toumazou C. Influence of Cholecystokinin-8 on Compound Nerve Action Potentials from Ventral Gastric Vagus in Rats. *Int J Neural Syst* 2018; 28: 1850006 [PMID: 29631504 DOI: 10.1142/S0129065718500065]
  - 23 王鑫, 陈京, 白波. 胆囊收缩素及受体调节食欲研究进展. *济宁医学院学报* 2015; 4: 278-280 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-9760.2015.04.015]
  - 24 薛亚楠, 曲怡, 王建波. 针刺“足三里”穴对脾气虚模型大鼠下丘脑及小肠组织CCK、CCK-AR表达的影响. *针灸临床杂志* 2017; 33: 46-49 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-0779.2017.01.014]
  - 25 Bell LA, Bell KA, McQuiston AR. Activation of muscarinic receptors by ACh release in hippocampal CA1 depolarizes VIP but has varying effects on parvalbumin-expressing basket cells. *J Physiol* 2015; 593: 197-215 [PMID: 25556796 DOI: 10.1113/jphysiol.2014.277814]
  - 26 Bednarska O, Walter SA, Casado-Bedmar M, Ström M, Salvo-Romero E, Vicario M, Mayer EA, Keita ÅV. Vasoactive Intestinal Polypeptide and Mast Cells Regulate Increased Passage of Colonic Bacteria in Patients With Irritable Bowel Syndrome. *Gastroenterology* 2017; 153: 948-960.e3 [PMID: 28711627 DOI: 10.1053/j.gastro.2017.06.051]
  - 27 Conlin VS, Wu X, Nguyen C, Dai C, Vallance BA, Buchan AM, Boyer L, Jacobson K. Vasoactive intestinal peptide ameliorates intestinal barrier disruption associated with *Citrobacter rodentium*-induced colitis. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2009; 297: G735-G750 [PMID: 19661153 DOI: 10.1152/ajpgi.90551.2008]
  - 28 Vicario M, Alonso C, Guilarte M, Serra J, Martínez C, González-Castro AM, Lobo B, Antolín M, Andreu AL, García-Arumí E, Casellas M, Saperas E, Malagelada JR, Azpiroz F, Santos J. Chronic psychosocial stress induces reversible mitochondrial damage and corticotropin-releasing factor receptor type-1 upregulation in the rat intestine and IBS-like gut dysfunction. *Psychoneuroendocrinology* 2012; 37: 65-77 [PMID: 21641728 DOI: 10.1016/j.psyneuen.2011.05.005]
  - 29 Askar B, Ibrahim H, Barrow P, Foster N. Vasoactive intestinal peptide (VIP) differentially affects inflammatory immune responses in human monocytes infected with viable *Salmonella* or stimulated with LPS. *Peptides* 2015; 71: 188-195 [PMID: 26206287 DOI: 10.1016/j.peptides.2015.06.009]
  - 30 李林, 茹立强. 大鼠肠道内ACh能、SP、VIP-肽能和NO能神经的分布模式及相互关系. *华中科技大学学报(医学版)* 2009; 38: 575-580 [DOI: 10.3870/j.issn.1672-0741.2009.05.003]
  - 31 马庆宇. 肝郁脾虚证大鼠下丘脑nesfatin-1-POMC/OT网络的变化及逍遥散的调节作用. *北京中医药大学*, 2017
  - 32 Aveleira CA, Botelho M, Cavadas C. NPY/neuropeptide Y enhances autophagy in the hypothalamus: a mechanism to delay aging? *Autophagy* 2015; 11: 1431-1433 [PMID: 26086271 DOI: 10.1080/15548627.2015.1062202]
  - 33 Holzer P, Reichmann F, Farzi A. Neuropeptide Y, peptide YY and pancreatic polypeptide in the gut-brain axis. *Neuropeptides* 2012; 46: 261-274 [PMID: 22979996 DOI: 10.1016/j.npep.2012.08.005]
  - 34 Wu HG, Jiang B, Zhou EH, Shi Z, Shi DR, Cui YH, Kou ST, Liu HR. Regulatory mechanism of electroacupuncture in irritable bowel syndrome: preventing MC activation and decreasing SP VIP secretion. *Dig Dis Sci* 2008; 53: 1644-1651 [PMID: 17999187 DOI: 10.1007/s10620-007-0062-4]
  - 35 陈淮军. 生长抑素治疗非静脉曲张性上消化道大出血疗效观察. *中国医药* 2011; 6: 1504-1505 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2011.12.029]
  - 36 刘苓, 谭庆华, 胡兵. 生长抑素对猕猴肠缺血再灌注后回肠黏膜IFN- $\gamma$ 的影响. *现代免疫学* 2007; 27: 120-124 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-2478.2007.02.007]
  - 37 于林, 吴升伟, 禚正正, 伍远菲, 徐琰, 丁国安, 吴宝峰, 郭建雄. 加味逍遥散对胃肠功能失调的抑郁大鼠脑肠肽SS、GAS表达的影响. *时珍国医国药* 2017; 28: 1290-1292
  - 38 代巧妹, 梁慧, 尚艳琦, 颜培宇, 王美娇, 于晓红, 刘澜澜. 针刺对降钙素基因相关肽的影响研究进展. *河北中医* 2018; 40: 1582-1585 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-2619.2018.10.033]
  - 39 孙飞, 秦旭平. 降钙素基因相关肽(CGRP)受体. *生命的化学* 2009; 29: 731-734
  - 40 Zeng SY, Yang L, Hong CL, Lu HQ, Yan QJ, Chen Y, Qin XP. Evidence That ADAM17 Mediates the Protective Action of CGRP against Angiotensin II-Induced Inflammation in Vascular Smooth Muscle Cells. *Mediators Inflamm* 2018; 2018: 2109352 [PMID: 30046277 DOI: 10.1155/2018/2109352]
  - 41 Schou WS, Ashina S, Amin FM, Goadsby PJ, Ashina M. Calcitonin gene-related peptide and pain: a systematic review.

*J Headache Pain* 2017; 18: 34 [PMID: 28303458 DOI: 10.1186/s10194-017-0741-2]

- 42 陈阳. 腹泻型肠易激综合征重叠胃食管反流病中医证与脑肠肽相关性研究. 扬州: 扬州大学 2017
- 43 Yamawaki K, Zamami Y, Kawasaki H, Takatori S. Effects

of endogenous nitric oxide on adrenergic nerve-mediated vasoconstriction and calcitonin gene-related peptide-containing nerve-mediated vasodilation in pithed rats. *Eur J Pharmacol* 2017; 802: 69-75 [PMID: 28246028 DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.02.041]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

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

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

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

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

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

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



## 肠神经胶质细胞对肠上皮屏障的调节与功能紊乱疾病

狄治杉, 杨泽俊, 朱敏佳, 王菲菲, 李利生, 徐敬东

狄治杉, 杨泽俊, 朱敏佳, 王菲菲, 徐敬东, 北京市首都医科大学基础医学与病理生理学系 北京市 100069

李利生, 北京市首都医科大学基础医学院机能学实验中心 北京市 100069

狄治杉, 本科, 研究方向为消化生理学及临床医学.

基金项目: 国家自然科学基金, Nos. 81274173, 81673671 和 81270443; 首都医科大学创新基金, Nos. XSKY2018008和CXZDS2018011.

作者贡献分布: 本文综述由狄治杉、李利生及徐敬东完成; 图片由狄治杉与徐敬东绘制; 杨泽俊、王菲菲及朱敏佳负责部分文献搜集与整理; 徐敬东审核.

通讯作者: 徐敬东, 副教授, 100069, 北京市丰台区右安门外西头条10号, 北京市首都医科大学基础医学与病理生理学系. [xu\\_jdd@ccmu.edu.cn](mailto:xu_jdd@ccmu.edu.cn)

收稿日期: 2019-05-08

修回日期: 2019-07-11

接受日期: 2019-08-02

在线出版日期: 2019-08-28

### Regulation of intestinal epithelial barrier by and dysfunction of intestinal glial cells

Zhi-Shan Di, Ze-Jun Yang, Min-Jia Zhu, Fei-Fei Wang, Li-Sheng Li, Jing-Dong Xu

Zhi-Shan Di, Ze-Jun Yang, Min-Jia Zhu, Fei-Fei Wang, Jing-Dong Xu, Department of Physiology and Pathophysiology, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Li-Sheng Li, School of Basic Medicine, Capital Medical University, Beijing 100069, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81673671, No. 81270443, and No. 81274173; Innovation Fund of Capital Medical University, No. XSKY2018008 and No. CXZDS2018011.

Corresponding author: Jing-Dong Xu, Associate Professor, Department of Physiology and Pathophysiology, Capital Medical University, 10 Xitoutou, Youanmen, Fengtai District, Beijing 100069, China. [xu\\_jdd@ccmu.edu.cn](mailto:xu_jdd@ccmu.edu.cn)

Received: 2019-05-08

Revised: 2019-07-11

Accepted: 2019-08-02

Published online: 2019-08-28

### Abstract

The enteric glia is an important component of the enteric nervous system and forms a broad network in the mucosa of the gastrointestinal tract. Enteric glial cells (EGC) are located in all layers of the intestinal wall and respond to neurotransmitters and neuromodulators through signal transduction pathways. The enteric nervous system interacts with resident glial cells in the gut, and there is increasing evidence that EGC are involved in the regulation of epithelial function. Epithelial cells have important absorption and secretion functions and are also involved in the formation of intestinal epithelial barrier. Studies have found that the enteric glia is not only involved in the regulation of gastrointestinal motility and epithelial barrier function, but also in the formation of cellular molecular bridges between intestinal neurons, enteroendocrine cells, immune cells, and epithelial cells. This article reviews the recent progress in the understanding of the role of EGC in the intestinal barrier and defense functions.

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

Key Words: Enteric glial cells; Intestinal epithelial barrier; Dysfunction; Gastrointestinal disease

Di ZS, Yang ZJ, Zhu MJ, Wang FF, Li LS, Xu JD. Regulation of intestinal epithelial barrier by and dysfunction of intestinal glial cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 1013-1021

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1013.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.1013>

## 摘要

肠神经胶质是肠神经系统的重要组成部分, 其在胃肠道的黏膜中共同组成完整的神经调节体系. 肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)分布于肠壁的全层, 并通过多条信号转导途径参与到了神经递质和神经调质对肠道功能的调节中. 肠神经系统与肠道中的固有神经胶质细胞相互作用, 参与上皮功能的调节. 上皮细胞具有吸收和分泌的重要功能, 同时参与到了肠道的屏障中. 研究表明肠神经胶质不仅参与调控胃肠道的运动和上皮屏障功能, 还参与形成肠神经元、肠内分泌细胞、免疫细胞和上皮细胞之间的细胞分子桥. 本文主要对EGCs在肠道屏障和防御功能中的作用进展加以综述.

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

关键词: 肠神经胶质细胞; 肠上皮屏障; 肠上皮细胞; 功能紊乱; 肠道疾病

**核心提要:** 胶质细胞广泛分布于整个消化道. 具有神经营养支持和神经免疫的属性. 在消化系统疾病以及非消化系统疾病中发挥不可或缺的作用. 特别是近年来发现胶质细胞在免疫调控中的作用, 成为目前消化领域备受关注的治疗靶点.

狄治彬, 杨泽俊, 朱敏佳, 王菲菲, 李利生, 徐敬东. 肠神经胶质细胞对肠上皮屏障的调节与功能紊乱疾病. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 1013-1021  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1013.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1013>

## 0 引言

肠神经胶质细胞(enteric glial cells, EGCs)作为肠神经系统的重要组成部分, 可将肠神经系统的各种组分粘合在一起, 在人体扮演了重要的粘合剂角色. 除此之外, EGC还具有调节肠道稳态、参与神经保护等作用, 是肠道生理功能和炎症反应的复杂相互关系中的积极参与者. EGC可以调节肠上皮屏障(intestinal epithelial barrier, IEB)的完整性, 在此过程中可作为抗原呈递细胞影响肠上皮细胞的增殖与分化. 因此, EGC在维持IEB的完整性、保持肠道微生物生态平衡和调节肠道稳态中发挥了不可替代的作用. 最近, 大量的研究表明EGCs的改变可能在肠道疾病的引发中有重要的作用. 因此, 本综述的重点将放在基础, 转化和/或临床研究支持的新兴概念上, 探讨EGCs在通讯、肠道微环境中其他细胞的相互调节以及感染和炎症中的作用. 另外在临床上, EGCs正在成为神经胃肠病学的新领域和潜在的治疗靶点.

## 1 EGCs

“神经胶质”源于希腊语, 意为肠道神经系统的粘合剂. 多年来, EGCs被认为主要提供结构支持. 然而, 作为中枢神经系统(central nervous system, CNS)中的星形胶质细胞的EGC可以在肠神经系统和胃肠功能的稳态调节中的作用不可小觑.

EGCs最早是从肠壁中发现, 但是由于研究手段的限制, 直到1971年真正开启了神经胶质的研究时代<sup>[1]</sup>. 直到20世纪70年代电子显微镜的发现, 科学家才观察到了EGCs与中枢系统的星形胶质细胞在形态学中的相似性. 在1971年将肠壁内的神经胶质细胞, 描述这种多分支, 单细胞周围没有基底膜而在整个神经节周围观察到基底膜的细胞, 确定为一种单独的细胞类型. 此后越来越多的证据表明, 肠神经系统的EGCs与CNS中的星形胶质细胞相对应. 从分子学角度看, 成熟的EGCs能表达与星形胶质细胞相似的分子标记物如: 胶质纤维酸性蛋白(glial fibrillary acidic protein, GFAP)、波形蛋白(vimentin)<sup>[1,2]</sup>、连接蛋白-43(connexin, Cx)<sup>[3]</sup>和S100β<sup>[1]</sup>.

目前发现有两种主要的EGCs群, 一种位于神经节内, 称为神经节内神经胶质细胞. 其功能有: 释放生物活性分子、为神经元提供神经递质前体、螯合和降解胞外神经活性分子和接收神经递质等功能; 另一种分布于在黏膜上皮细胞下方, 与黏膜紧密连接, 广泛分布, 称为黏膜胶质细胞. 其影响着上皮细胞的分化、支持粘附、迁移、增殖等功能<sup>[4]</sup>(图1). Van等<sup>[5]</sup>人通过将EGC和肠上皮细胞(intestinal epithelial cell, IEC)共培养24 h后, 发现与单独培养的IEC相比, 在用EGC培养的IEC中, IEC的116个基因表达发生变化, 其中70个发生上调, 46个发生下调. 通过使用ingenuity pathway analysis对其中116个鉴定的基因进行功能分析, 发现EGC诱导了有利于细胞-细胞、细胞-基质粘附以及细胞分化的基因表达. 并且此实验用基因芯片证明EGC诱导了IEC的细胞粘附、分化和运动加强, 这有利于促进细胞修复和减少细胞增殖的效果.

## 2 IEB

IEB由排列在胃肠道上的单层柱状上皮细胞组成. 它的机械屏障作用的功能完整性受到多种因素调节, 其中受微生物调节的报道比较多, 而EGCs在其中的作用报道比较少. 有研究表明在小鼠模型中, 敲除神经胶质可以诱导炎症和肠紊乱, 这可能与IEB有关. 由此可见正常EGC功能可能是缓解炎症的有效策略.

2.1 IEB的生理学结构 IEB由单层IEC组成, 受上皮细胞与肠神经和免疫系统之间的多向相互作用调节. 当这些

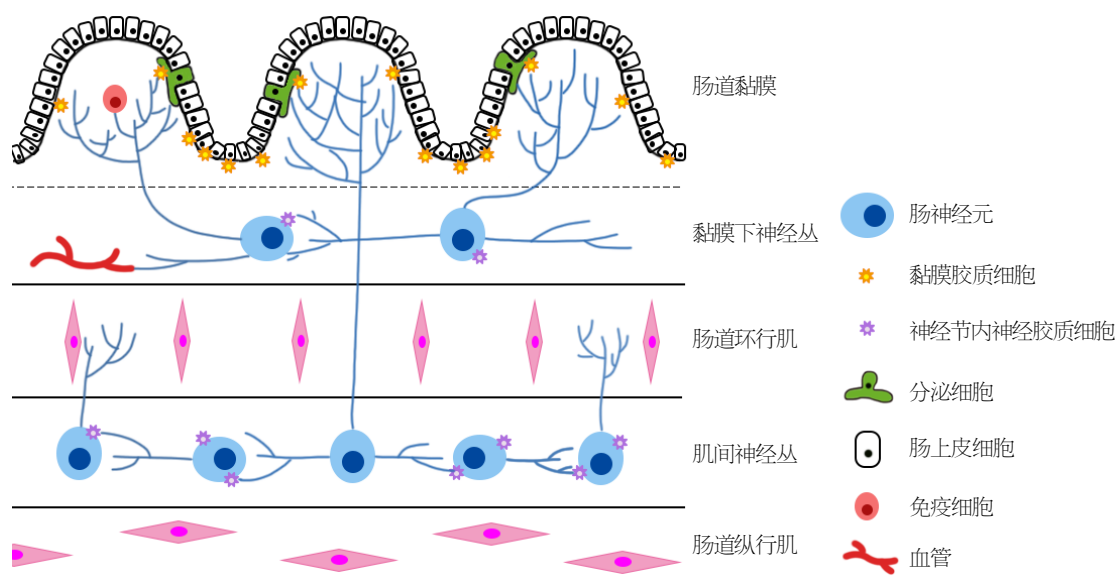


图1 肠壁中肠神经胶质细胞的分布模式图. 黏膜胶质细胞位于肠上皮细胞下方的黏膜中, 神经节内神经胶质细胞主要存在于肌间神经丛的肠神经节中. 在肠神经系统中, 肠神经胶质略多于肠神经元. 越来越多的人发现肠神经胶质细胞在健康和疾病中发挥的关键作用, 这种广泛分布的细胞不仅仅起结构作用, 还参与调节胃肠蠕动、分泌和免疫调节<sup>[1,4,63-65]</sup>.

调节出现紊乱时, 肠道微生物群可跨越上皮屏障发生易位, 肠道微生物群与宿主之间的平衡被破坏, 肠道发生紊乱, 导致疾病的发生. 电镜观察显示EGCs、肠神经元轴突和IEC之间有直接的联系, 这成为相互作用和调节的结构基础<sup>[6,7]</sup>.

从微观角度上来讲, IEB主要由相邻IEC的三种连接复合物组成——紧密连接、黏着连接和桥粒<sup>[8]</sup>. 黏着连接是由跨膜蛋白E-钙粘着蛋白和细胞内成分通过E-钙粘着蛋白、细胞内成分和肌动蛋白细胞骨架(actin cytoskeleton, AC)之间的相互联系, 保持细胞形状, 维持组织整体性. 除此之外, 黏着连接的另一作用是参与组装紧密连接, 密封细胞间隙<sup>[9]</sup>. 而桥粒是跨膜蛋白桥粒芯蛋白和桥粒胶蛋白的连接复合物, 增强了组织抵抗外界压力与张力的机械强度. 黏着连接和桥粒是IEC之间的粘着剂, 为IEB提供了机械加固作用, 保持细胞间的近距离, 并且是细胞间通信的位点<sup>[8]</sup>.

然而, 三种连接复合物中, 肠神经胶质影响最大的是紧密连接. 其主要作用是封闭细胞间隙, 调控细胞旁离子和溶质分子的通过. 在紧密连接的组成成分中, 最重要的跨膜蛋白属于闭合蛋白家族(closed protein family, CPF), CPF是一种组织特异性蛋白, 其决定紧密连接渗透性特性. Claudin家族成员具有相同的结构, 均由4个跨膜结构域组成, 细胞外形成2个环状结构, 氨基和羧基末端位于细胞质内, 羧基末端在信号传导上发挥重大作用, 其上存在特异性PDZ(PSD-95/DLG/ZO1)结合区, 可以和胞浆内的其他紧密连接蛋白直接相连<sup>[10]</sup>, 例如ZO-1、ZO-2和ZO-3、PDZ结构蛋白-1和PALS-1关联

的紧密连接蛋白. 这段序列与细胞质支架蛋白ZO-1、ZO-2相互作用, 可以使闭合蛋白与肌动蛋白间接作用, 在维持紧密连接之间的稳定性和选择性通透方面起到非常重要的作用<sup>[11]</sup>.

**2.2 IEB通透性的调节** IEB完整性对机体健康十分重要, 多种因素参与其完整性的调节. 旁细胞通透性由紧密连接和黏着连接有关F-AC的从属关系调节. 过程涉及重要的酶, 如: 肌球蛋白调节轻链激酶(myosin-regulated light chain kinase, MLCK)<sup>[12,13]</sup>、PhoA、Rac1<sup>[11]</sup>、CDC42<sup>[14,15]</sup>、蛋白激酶C<sup>[16]</sup>. MLCK可以催化肌球蛋白20KD轻链(MLC)的磷酸化并诱导紧密连接蛋白分布. 并且 MLCK的上调可能导致屏障功能障碍和IBD发病机制<sup>[17]</sup>. 相反, 使用药理学抑制剂和显性失活突变体抑制Rac1、CDC42, 发现抑制细胞增殖、IEC的恢复<sup>[18]</sup>. 除此之外, 旁细胞通透性还由关键的紧密连接相关蛋白的转译变化调节, 如ZO-1<sup>[19-21]</sup>、闭合蛋白(occludin)或密封蛋白(claudins)<sup>[22]</sup>的磷酸化作用. 旁细胞通透性还由闭合蛋白或密封蛋白的内吞穿梭作用来调节<sup>[23]</sup>. 以上众所周知, 但是随着研究的继续深入, 发现还有其他通路参与其中. 有研究表明, 促炎细胞因子: 肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素-1 $\beta$ 和干扰素- $\gamma$ 可以通过对紧密连接的破坏引起肠道紧密连接通透性的增加, 并通过允许抗原渗透入体内以促进炎症过程<sup>[24-26]</sup>. Ye等<sup>[27]</sup>人证明了肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor, TNF)诱导的增加肠上皮紧密连接通透性由NF-增加肠上皮紧密连接通结合和MLCK启动子的活化介导. 而IL-10则通过调节IEB的渗透性, 促进肠道屏障功能<sup>[28]</sup>.



### 3 肠神经胶质对IEB通透性的调节

肠神经和神经胶质细胞与IEC密切相关, 并在维护上皮完整性和肠道内环境稳定功能中起关键作用. 最近的研究表明, 肠神经系统的作用特别是肠神经胶质与上皮固有层中成纤维细胞(subepithelial myofibroblasts, ISEMF)<sup>[29]</sup>, 通过调控S-亚硝基谷胱甘肽(nitrosogluthathione, GSNO)、转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor, TGF- $\beta$ )等细胞因子的产生来调节IEB的功能<sup>[30-34]</sup>. GSNO是通过影响紧密连接蛋白的表达而影响IEB的功能, 而TGF则通过调节IEC的增殖而影响IEB的功能(图2).

**3.1 肠神经胶质通过衍生GSNO促进紧密连接相关蛋白的表达** 肠神经胶质衍生的GSNO在体内外可担任黏膜屏障功能有效诱导物的角色. Savidge等<sup>[30]</sup>人发现, 在GFAP-HSVtk转基因小鼠中减少肠神经胶质可以导致组织炎症, 注射了GCV(ganciclovir, GCV)的GFAP-HSVtk转基因小鼠注射GSNO, 发现可有效降低EGC减少导致的肠道通透性的增高. 这说明GSNO在体内对黏膜屏障功能具有保护功能. 同样的Cheadle等<sup>[35]</sup>使用HT29与EGC共培养或与GSNO共培养后再加入肿瘤坏死因子- $\alpha$ 、白细胞介素-1 $\beta$ 和干扰素- $\gamma$ 后, 发现EGC不但阻止与其共培养的上皮细胞通透性增加, 而且增加紧密连接蛋白ZO-1、occludin和磷酸化MLC(P-MLC)的表达, 降低了黏膜的通透性. 此外GSNO也有类似的作用. 以上结果提示EGCs衍生的GSNO可防止损伤后上皮屏障失效并改善紧密连接蛋白表达, 该作用与不仅与F-Actin的表达有关, 还部分地受到紧密连接相关蛋白和闭合蛋白与Actin-细胞骨架关联的影响<sup>[30]</sup>. 有趣的是, Savidge等<sup>[30]</sup>人发现, GSNO的功能与其浓度的大小有关系. 在低浓度下, GSNO促进紧密连接相关蛋白与细胞骨架结合, 而在较高浓度和潜在药理剂量下, GSNO直接破坏F-Actin的合成, 导致IEB渗透压升高. 这种现象可能与NO信号有关. 值得关注的是, 有研究表明, NO信号对上皮的屏障功能具有双向调节作用<sup>[36-38]</sup>. 这种双重作用可能与GSNO的剂量有关. 因此, 该结果提示临床医务工作者在临床上可使用低浓度的GSNO来恢复肠炎患者的IEB功能.

**3.2 肠神经胶质通过衍生神经营养因子降低IEC的死亡** 除了GSNO, 由EGCs合成并分泌的神经营养因子(glial cell derived neurotrophic factor, GDNF)使机体存在自我挽救机制. Fettucciari等<sup>[39]</sup>人用毒素B(toxin B, TcdB)处理大鼠的EGC, 发现在TcdB的细胞毒性作用下存活的EGC没有完全恢复, 并且不仅表现出持久的Rac1葡萄糖基化, 细胞周期停滞和低凋亡, 同时也增加GDNF的产生, 表明GDNF可通过降低TNF诱导的IEC死亡来维持肠炎期间的黏膜稳态.

**3.3 肠神经胶质通过衍生TGF- $\beta$ 抑制IEC的增殖** EGCs衍生的转化生长因子 $\beta$ (transforming growth factor, TGF $\beta$ )可以抑制IEC增殖, 从而降低IEB通透性<sup>[6]</sup>. 小鼠通过转基因使EGC减少的同时, IEC增殖的研究表明隐窝细胞增殖明显, 此外结肠腺癌中黏膜胶质网络间的联系显著降低. 与单独培养的Caco-2相比, 混合EGC的体外共培养模型的Caco-2细胞密度显著降低. 然而EGC可以诱导Caco-2细胞表面积显著增加. 外源性添加TGF- $\beta$ 1部分地复制了EGC介导的对细胞密度和表面积的影响. 当中和TGF- $\beta$ 1抗体之后, EGC对Caco-2细胞增殖效应明显降低<sup>[6]</sup>. 这表明EGC分泌的TGF- $\beta$ 1在抑制IEC增殖中起到关键作用. EGC的此功能的发现提示其在治疗肠道癌症治疗中的发挥的重要潜能.

除TGF- $\beta$ 之外, 由EGCs释放的GSNO可抑制IEC增殖并降低IEB通透性<sup>[6,30]</sup>, GSNO有维持黏膜屏障功能, 并在体内肠道胶质细胞受损时保护肠道免受炎症损伤, 同时降低CD炎症反应<sup>[30]</sup>. 弗氏志贺氏菌(*Shigella freundi*)是一种导致IEC的破坏和主要的肠道炎症反应的一种侵袭性病原体. 从人结肠黏膜与*Shigella freundi*共培养的试验中发现, GSNO可降低*Shigella freundi*诱导的IEB损伤<sup>[40]</sup>. 这项研究为治疗、预防与IEB功能障碍相关的胃肠道疾病, 特别在感染期疾病提供理论依据.

**3.4 激活EGC增强肠道屏障功能** 基于EGCs和其衍生物在IEB损坏时起到的保护作用. 有研究表明激活EGC可增强肠道屏障功能, 而刺激迷走神经可通过胆碱能信号传导增加表皮生长因子(epidermal growth factor, EGF)活性. 当Caco-2单独培育或与EGC共培养, 然后在使用或不使用烟碱胆碱能激动剂尼古丁的情况下用Cytomix刺激细胞24 h, 并通过免疫印迹评估磷酸化的NF- $\kappa$ B抑制因子(I- $\kappa$ B)和磷酸化的NF- $\kappa$ B(P-NF- $\kappa$ B)的变化. 通过GFAP表达的增加证明, 用尼古丁刺激导致EGC活化. Cytomix刺激增加了单独或与EGCs一起培养的Caco-2细胞的通透性. 尼古丁可使Caco-2/EGC共培养物降低通透性. 尼古丁不能单独阻止Caco-2细胞的屏障通透性. 刺激的Caco-2细胞与尼古丁激活的EGC的共培养阻止了Cytomix诱导的I- $\kappa$ B和P-NF- $\kappa$ B表达的增加. 由此可见药理学烟碱胆碱能激动剂在肠损伤的体外模型中增加EGC活化并改善IEB功能. 而过程有NF- $\kappa$ B途径的激活来调节屏障功能<sup>[41]</sup>. 当然, 一些药物会对肠神经胶质产生影响, 从而影响到肠道的正常机能, 例如阿片类药物吗啡会参与到GDNF的机制, 损害IEB的功能<sup>[42]</sup>. 这个研究提示在临床上激活EGCs的疗法有望成为改善损伤后肠屏障功能的新的治疗途径<sup>[41]</sup>(图2).

除此之外, 肠道胶质细胞与IEC和肠内分泌细胞等非神经细胞相互作用在维持肠道环境的稳态中是十分

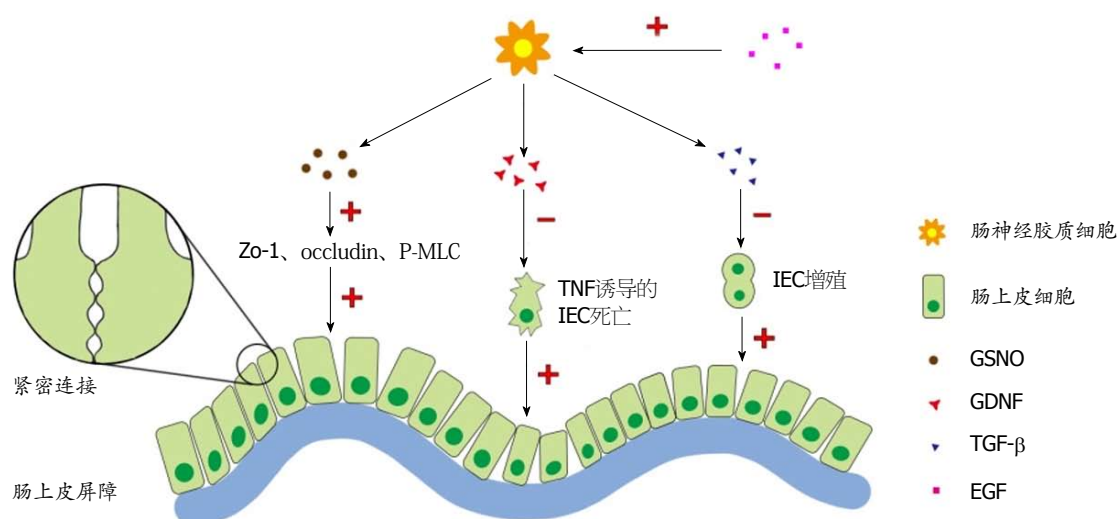


图2 肠神经胶质对肠上皮屏障通透性的调节的作用机理模式图. 肠神经胶质衍生的 $s$ -亚硝基谷胱甘肽通过增加紧密连接蛋白ZO-1、occludin和磷酸化肌球蛋白调节轻链的表达, 防止损伤后上皮屏障的失效, 增加炎症诱导的上皮通透性. 除了 $s$ -亚硝基谷胱甘肽, 由肠神经胶质细胞合成并分泌的神经营养因子F可通过降低肿瘤坏死因子诱导的肠上皮细胞死亡来维持结肠炎期间的黏膜稳态. 而由肠神经胶质细胞释放的转化生长因子 $\beta$ 可以通过抑制肠上皮细胞增殖, 从而降低肠上皮屏障通透性. 表皮生长因子等刺激物可以通过激活肠神经胶质细胞, 从而维护肠道屏障功能, 调节肠上皮屏障的通透性<sup>[6,35,39,41]</sup>.

重要的. 胶质细胞通过影响肠细胞的发育和成熟调节IEB的完整性<sup>[43]</sup>. 但是, 目前关于黏膜胶质细胞-肠内分泌相互作用知之甚少, 然而, 两种细胞之间的特殊结构特征提示胶质细胞可能对胃肠激素释放调节的候选细胞之一<sup>[44]</sup>.

#### 4 IEB、肠神经胶质与疾病

在正常条件下, IEB具有高度选择性, 可以阻止促炎分子从外部环境进入黏膜下层和血液循环. 然而, 当IEB受损内毒素或一些病原微生物通过黏膜屏障, 进入机体可引发一系列的炎症疾病. 另外, 除IBD、IBS的发生发展与肠屏障功能障碍相关性已有大量的报道, 然而近年来结肠癌、帕金森综合征与之相关性引起了高度关注.

4.1 结肠癌 研究表明, 长期的慢性炎症是导致癌症发病的一个重要基础. IBD、UC是结肠癌的主要风险之一, 这种疾病的发生与肠上皮受损密切相关<sup>[45]</sup>. EGC释放的TGF- $\beta$ 可以抑制IEC的增殖, 降低肠道癌症的发生几率, 维护IEB<sup>[46]</sup>. 与此同时有研究表明微血管和EGC之间的相关活动. 已经证明GDNF是炎症条件下肠神经元和微血管之间自分泌抗细胞凋亡环的效应物<sup>[47]</sup>. 当在暴露于致癌物的大鼠中用化学方法去肌间神经丛的神经支配, 使神经元数量减少63%, 阻止了结肠肿瘤的发展<sup>[48]</sup>. 而EGCs不仅可以引起肠神经元的生成, 还可以控制IEC的增殖. 在肠炎过程中, 胶质细胞出现变化, 而肠神经元在这种情况下数量增加, 可增加肠道癌症的发生几率<sup>[49]</sup>. 以上结果提示肠神经胶质对结肠癌的发生发展有显著影响. 由此可见激活EGC可能成为结肠癌治的新策略.

4.2 帕金森病 在过去的二十年里, 帕金森病(parkinson's disease, PD)和肠道失调存在联系这一现象已经变得越来越明显. 在某些时候, 几乎每个帕金森患者都会出现肠胃的不适, 这也是该疾病中最使人虚弱的非运动特征. 临床的数据和病理学研究也证明了肠神经系统中路易病理学(路易小体和神经突)的存在. PD的病因现在尚不清楚, 但已有证据表明慢性神经炎症可以导致神经变性<sup>[50-56]</sup>. 然而神经炎症的来源尚不清楚. 但最近通过对PD患者的研究表明, PD患者肠道对乳果糖/甘露醇比值的增高, 以及倡导紧密连接蛋白ZO-1和occludin降低, 表明肠道的通透性明显降低<sup>[57]</sup>. 同时ELISA检测发现PD患者胃肠道中神经胶质标志物GFAP和Sox-10的表达增加<sup>[58]</sup>. GFAP和Sox-10的水平与若干促炎性细胞因子的数量密切相关, 而这些促炎性细胞因子是被EGCs活化后释放. 这些观察结果支持PD期间患者胃肠道中发生胶质反应的观点. 同时发现, 神经胶质标志物的水平与疾病的持续时间呈负相关, 这表明肠道胶质细胞反应在疾病发作时高, 随后随着时间降低<sup>[58]</sup>. 当疾病发作时, 活化细胞释放其细胞因子, EGCs反应可能很高. 随后肠胶质细胞反应在保持疾病活动(如脑中小胶质细胞激活)的同时减少.

在PD中, EGCs失调的作用可能是什么呢? 首先尸检结果表明, PD中肠道化学表型中没有明显的神经元丢失与改变, 这提示肠神经系统的神经病理学不太可能称为PD相关胃肠功能障碍的致病因素<sup>[59,60]</sup>. 因此人们假设, 是PD中EGCs的生化变化导致了胶质的机能失衡. 这反过来会导致突触功能障碍, 并且肠道蠕动也会改变. 这

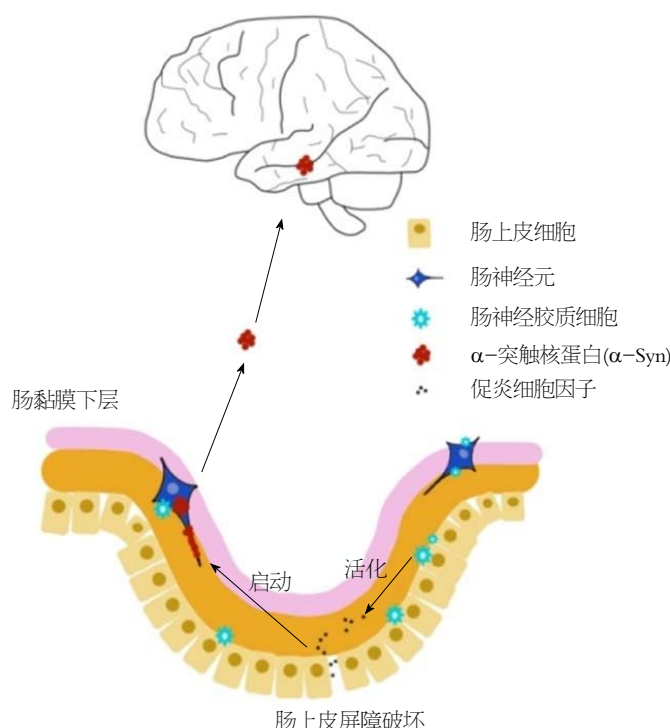


图3 帕金森综合症的胶质细胞发病机制示意图. 促炎性细胞因子被肠神经胶质细胞活化后释放, 随后破坏肠上皮屏障以启动黏膜下神经丛末端轴突中的 $\alpha$ 突触核蛋白(alpha synuclein,  $\alpha$ -Syn)聚集.  $\alpha$ -Syn由通过轴浆运输到中枢神经系统, 引发相关核团病变, 帕金森综合征.

种假设已经被用于慢性便秘中<sup>[61]</sup>. 其次, PD中EGCs功能障碍支持了Braak的假设. Braak提出PD可能由某种的神经营养因子触发, 该神经营养因子破坏IEB以启动黏膜下神经丛末端轴突中的 $\alpha$ 突触核蛋白(alpha synuclein,  $\alpha$ -Syn)聚集. 同时由于肠道过度渗透和微生物生态失调, 促炎性肠环境会引发或加剧PD发病机制(图3). 更有趣的是肠细胞外 $\alpha$ -Syn可能的作用, 它能促进局部神经胶质细胞反应. 肠胶质细胞会反过来诱导局部促炎细胞因子的分泌和炎症, 从而促进PD的进一步加重<sup>[62-65]</sup>.

## 5 结论

总之, 肠神经胶质不仅仅是一个简单的“粘合剂”. 肠神经胶质可以通过其分泌的细胞因子和紧密连接相关蛋白调节IEB的功能. 肠神经胶质产生s-GSNO、GDNF、TGF- $\beta$ 增强IEB的功能. 而且EGCs还可以与非神经细胞相互作用, 维持肠道环境的稳态. 胶质细胞调节肠细胞的发育和成熟, 以维持IEB的完整性. 在临床肠神经胶质对于IEB的保护作用已成为治疗结肠癌和帕金森综合征等疾病的新靶点.

## 6 参考文献

- Neunlist M, Van Landeghem L, Mahé MM, Derkinderen P, des Varannes SB, Rolli-Derkinderen M. The digestive neuronal-glia-epithelial unit: a new actor in gut health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2013; 10: 90-100 [PMID: 23165236 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.221]
- Jessen KR, Mirsky R. Astrocyte-like glia in the peripheral nervous system: an immunohistochemical study of enteric glia. *J Neurosci* 1983; 3: 2206-2218 [PMID: 6138397]
- McClain J, Grubišić V, Fried D, Gomez-Suarez RA, Leininger GM, Sévigny J, Papura V, Gulbransen BD.  $\text{Ca}^{2+}$  responses in enteric glia are mediated by connexin-43 hemichannels and modulate colonic transit in mice. *Gastroenterology* 2014; 146: 497-507.e1 [PMID: 24211490 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.10.061]
- Gulbransen BD, Sharkey KA. Novel functional roles for enteric glia in the gastrointestinal tract. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* 2012; 9: 625-632 [PMID: 22890111 DOI: 10.1038/nrgastro.2012.138]
- Van Landeghem L, Mahé MM, Teusan R, Léger J, Guisle I, Houlgatte R, Neunlist M. Regulation of intestinal epithelial cells transcriptome by enteric glial cells: impact on intestinal epithelial barrier functions. *BMC Genomics* 2009; 10: 507 [PMID: 19883504 DOI: 10.1186/1471-2164-10-507]
- Neunlist M, Aubert P, Bonnaud S, Van Landeghem L, Coron E, Wedel T, Naveilhan P, Ruhl A, Lardeux B, Savidge T, Paris F, Galmiche JP. Enteric glia inhibit intestinal epithelial cell proliferation partly through a TGF- $\beta$ 1-dependent pathway. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 292: G231-G241 [PMID: 16423922 DOI: 10.1152/ajpgi.00276.2005]
- Van Landeghem L, Chevalier J, Mahé MM, Wedel T, Urvil P, Derkinderen P, Savidge T, Neunlist M. Enteric glia promote intestinal mucosal healing via activation of focal adhesion kinase and release of proEGF. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G976-G987 [PMID: 21350188 DOI: 10.1152/ajpgi.00427.2010]
- Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009; 9: 799-809 [PMID: 19855405 DOI: 10.1038/nri2653]
- Capaldo CT, Macara IG. Depletion of E-cadherin disrupts establishment but not maintenance of cell junctions in Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *Mol Biol Cell* 2007; 18: 189-200 [PMID: 17093058 DOI: 10.1091/mbc.e06-05-0471]



- 10 Bazzoni G. Pathobiology of junctional adhesion molecules. *Antioxid Redox Signal* 2011; 15: 1221-1234 [PMID: 21254840 DOI: 10.1089/ars.2010.3867]
- 11 Gonzalez JE, DiGeronimo RJ, Arthur DE, King JM. Remodeling of the tight junction during recovery from exposure to hydrogen peroxide in kidney epithelial cells. *Free Radic Biol Med* 2009; 47: 1561-1569 [PMID: 19733232 DOI: 10.1016/j.freeradbiomed.2009.08.024]
- 12 Shen L, Black ED, Witkowski ED, Lencer WI, Guerriero V, Schneeberger EE, Turner JR. Myosin light chain phosphorylation regulates barrier function by remodeling tight junction structure. *J Cell Sci* 2006; 119: 2095-2106 [PMID: 16638813 DOI: 10.1242/jcs.02915]
- 13 Su L, Shen L, Clayburgh DR, Nalle SC, Sullivan EA, Meddings JB, Abraham C, Turner JR. Targeted epithelial tight junction dysfunction causes immune activation and contributes to development of experimental colitis. *Gastroenterology* 2009; 136: 551-563 [PMID: 19027740 DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.081]
- 14 Bruewer M, Hopkins AM, Hobert ME, Nusrat A, Madara JL. RhoA, Rac1, and Cdc42 exert distinct effects on epithelial barrier via selective structural and biochemical modulation of junctional proteins and F-actin. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287: C327-C335 [PMID: 15044152 DOI: 10.1152/ajpcell.00087.2004]
- 15 Rojas R, Ruiz WG, Leung SM, Jou TS, Apodaca G. Cdc42-dependent modulation of tight junctions and membrane protein traffic in polarized Madin-Darby canine kidney cells. *Mol Biol Cell* 2001; 12: 2257-2274 [PMID: 11514615 DOI: 10.1091/mbc.12.8.2257]
- 16 Ivanov AI, Samarin SN, Bachar M, Parkos CA, Nusrat A. Protein kinase C activation disrupts epithelial apical junctions via ROCK-II dependent stimulation of actomyosin contractility. *BMC Cell Biol* 2009; 10: 36 [PMID: 19422706 DOI: 10.1186/1471-2121-10-36]
- 17 Blair SA, Kane SV, Clayburgh DR, Turner JR. Epithelial myosin light chain kinase expression and activity are upregulated in inflammatory bowel disease. *Lab Invest* 2006; 86: 191-201 [PMID: 16402035 DOI: 10.1038/labinvest.3700373]
- 18 Babbitt BA, Jesaitis AJ, Ivanov AI, Kelly D, Laukoetter M, Nava P, Parkos CA, Nusrat A. Formyl peptide receptor-1 activation enhances intestinal epithelial cell restitution through phosphatidylinositol 3-kinase-dependent activation of Rac1 and Cdc42. *J Immunol* 2007; 179: 8112-8121 [PMID: 18056353]
- 19 Chen YH, Lu Q, Schneeberger EE, Goodenough DA. Restoration of tight junction structure and barrier function by down-regulation of the mitogen-activated protein kinase pathway in ras-transformed Madin-Darby canine kidney cells. *Mol Biol Cell* 2000; 11: 849-862 [PMID: 10712504 DOI: 10.1091/mbc.11.3.849]
- 20 Ciccocioppo R, Finamore A, Ara C, Di Sabatino A, Mengheri E, Corazza GR. Altered expression, localization, and phosphorylation of epithelial junctional proteins in celiac disease. *Am J Clin Pathol* 2006; 125: 502-511 [PMID: 16627260 DOI: 10.1309/DTYR-A91G-8R0K-TM8M]
- 21 Resta-Lenert S, Smitham J, Barrett KE. Epithelial dysfunction associated with the development of colitis in conventionally housed mdr1a<sup>-/-</sup> mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289: G153-G162 [PMID: 15774938 DOI: 10.1152/ajpgi.00395.2004]
- 22 Findley MK, Koval M. Regulation and roles for claudin-family tight junction proteins. *IUBMB Life* 2009; 61: 431-437 [PMID: 19319969 DOI: 10.1002/iub.175]
- 23 Ivanov AI, Nusrat A, Parkos CA. Endocytosis of epithelial apical junctional proteins by a clathrin-mediated pathway into a unique storage compartment. *Mol Biol Cell* 2004; 15: 176-188 [PMID: 14528017 DOI: 10.1091/mbc.e03-05-0319]
- 24 Al-Sadi R, Ye D, Dokladny K, Ma TY. Mechanism of IL-1beta-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *J Immunol* 2008; 180: 5653-5661 [PMID: 18390750]
- 25 Ma TY, Iwamoto GK, Hoa NT, Akotia V, Pedram A, Boivin MA, Said HM. TNF-alpha-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappa B activation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 286: G367-G376 [PMID: 14766535 DOI: 10.1152/ajpgi.00173.2003]
- 26 Nusrat A, Turner JR, Madara JL. Molecular physiology and pathophysiology of tight junctions. IV. Regulation of tight junctions by extracellular stimuli: nutrients, cytokines, and immune cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G851-G857 [PMID: 11052980 DOI: 10.1152/ajpgi.2000.279.5.G851]
- 27 Ye D, Ma I, Ma TY. Molecular mechanism of tumor necrosis factor-alpha modulation of intestinal epithelial tight junction barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006; 290: G496-G504 [PMID: 16474009 DOI: 10.1152/ajpgi.00318.2005]
- 28 Mazzon E, Puzzolo D, Caputi AP, Cuzzocrea S. Role of IL-10 in hepatocyte tight junction alteration in mouse model of experimental colitis. *Mol Med* 2002; 8: 353-366 [PMID: 12393933]
- 29 Lei NY, Jabaji Z, Wang J, Joshi VS, Brinkley GJ, Khalil H, Wang F, Jaroszewicz A, Pellegrini M, Li L, Lewis M, Stelzner M, Dunn JC, Martin MG. Intestinal subepithelial myofibroblasts support the growth of intestinal epithelial stem cells. *PLoS One* 2014; 9: e84651 [PMID: 24400106 DOI: 10.1371/journal.pone.0084651]
- 30 Savidge TC, Newman P, Pothoulakis C, Ruhl A, Neunlist M, Bourreille A, Hurst R, Sofroniew MV. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitrosoglutathione. *Gastroenterology* 2007; 132: 1344-1358 [PMID: 17408650 DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.051]
- 31 Rühl A, Franzke S, Collins SM, Stremmel W. Interleukin-6 expression and regulation in rat enteric glial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2001; 280: G1163-G1171 [PMID: 11352809 DOI: 10.1152/ajpgi.2001.280.6.G1163]
- 32 Neunlist M, Toumi F, Oreschkova T, Denis M, Leborgne J, Laboisse CL, Galmiche JP, Jarry A. Human ENS regulates the intestinal epithelial barrier permeability and a tight junction-associated protein ZO-1 via VIPergic pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003; 285: G1028-G1036 [PMID: 12881224 DOI: 10.1152/ajpgi.00066.2003]
- 33 Al-Sadi R, Ye D, Boivin M, Guo S, Hashimi M, Ereifej L, Ma TY. Interleukin-6 modulation of intestinal epithelial tight junction permeability is mediated by JNK pathway activation of claudin-2 gene. *PLoS One* 2014; 9: e85345 [PMID: 24662742 DOI: 10.1371/journal.pone.0085345]
- 34 von Boyen GB, Steinkamp M, Geerling I, Reinshagen M, Schäfer KH, Adler G, Kirsch J. Proinflammatory cytokines induce neurotrophic factor expression in enteric glia: a key to the regulation of epithelial apoptosis in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis* 2006; 12: 346-354 [PMID: 16670534 DOI: 10.1097/01.MIB.0000219350.72483.44]
- 35 Cheadle GA, Costantini TW, Lopez N, Bansal V, Eliceiri BP, Coimbra R. Enteric glia cells attenuate cytomix-induced intestinal epithelial barrier breakdown. *PLoS One* 2013; 8: e69042 [PMID: 23840906 DOI: 10.1371/journal.pone.0069042]
- 36 Gookin JL, Duckett LL, Armstrong MU, Stauffer SH, Finnegan CP, Murtaugh MP, Argenzio RA. Nitric oxide synthase stimulates prostaglandin synthesis and barrier function in C. parvum-infected porcine ileum. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2004; 287: G571-G581 [PMID: 15155179 DOI: 10.1152/ajpgi.00413.2003]
- 37 Han X, Fink MP, Yang R, Delude RL. Increased iNOS activity is essential for intestinal epithelial tight junction dysfunction

- in endotoxemic mice. *Shock* 2004; 21: 261-270 [PMID: 14770040 DOI: 10.1097/01.shk.0000112346.38599.10]
- 38 Lee NP, Mruk DD, Wong CH, Cheng CY. Regulation of Sertoli-germ cell adherens junction dynamics in the testis via the nitric oxide synthase (NOS)/cGMP/protein kinase G (PRKG)/beta-catenin (CATNB) signaling pathway: an in vitro and in vivo study. *Biol Reprod* 2005; 73: 458-471 [PMID: 15858215 DOI: 10.1095/biolreprod.105.040766]
  - 39 Fettucciari K, Ponsini P, Gioè D, Macchioni L, Palumbo C, Antonelli E, Coaccioli S, Villanacci V, Corazzi L, Marconi P, Bassotti G. Enteric glial cells are susceptible to *Clostridium difficile* toxin B. *Cell Mol Life Sci* 2017; 74: 1527-1551 [PMID: 27891552 DOI: 10.1007/s00018-016-2426-4]
  - 40 Flamant M, Aubert P, Rolli-Derkinderen M, Bourreille A, Neunlist MR, Mahé MM, Meurette G, Marteyn B, Savidge T, Galmiche JP, Sansonetti PJ, Neunlist M. Enteric glia protect against *Shigella flexneri* invasion in intestinal epithelial cells: a role for S-nitrosoglutathione. *Gut* 2011; 60: 473-484 [PMID: 21139062 DOI: 10.1136/gut.2010.229237]
  - 41 Cheadle GA, Costantini TW, Bansal V, Eliceiri BP, Coimbra R. Cholinergic signaling in the gut: a novel mechanism of barrier protection through activation of enteric glia cells. *Surg Infect (Larchmt)* 2014; 15: 387-393 [PMID: 24828283 DOI: 10.1089/sur.2013.103]
  - 42 Bauman BD, Meng J, Zhang L, Louiselle A, Zheng E, Banerjee S, Roy S, Segura BJ. Enteric glial-mediated enhancement of intestinal barrier integrity is compromised by morphine. *J Surg Res* 2017; 219: 214-221 [PMID: 29078884 DOI: 10.1016/j.jss.2017.05.099]
  - 43 Meir M, Flemming S, Burkard N, Wagner J, Germer CT, Schlegel N. The glial cell-line derived neurotrophic factor: a novel regulator of intestinal barrier function in health and disease. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2016; 310: G1118-G1123 [PMID: 27151942 DOI: 10.1152/ajpgi.00125.2016]
  - 44 Bohórquez DV, Samsa LA, Roholt A, Medicetty S, Chandra R, Liddle RA. An enteroendocrine cell-enteric glia connection revealed by 3D electron microscopy. *PLoS One* 2014; 9: e89881 [PMID: 24587096 DOI: 10.1371/journal.pone.0089881]
  - 45 Waldner MJ, Wirtz S, Jefremow A, Warntjen M, Neufert C, Atreya R, Becker C, Weigmann B, Vieth M, Rose-John S, Neurath MF. VEGF receptor signaling links inflammation and tumorigenesis in colitis-associated cancer. *J Exp Med* 2010; 207: 2855-2868 [PMID: 21098094 DOI: 10.1084/jem.20100438]
  - 46 Moradi-Marjaneh R, Khazaei M, Ferns GA, Aghaee-Bakhtiari SH. The Role of TGF- $\beta$  Signaling Regulatory MicroRNAs in the Pathogenesis of Colorectal Cancer. *Curr Pharm Des* 2018; 24: 4611-4618 [PMID: 30636580 DOI: 10.2174/1381612825666190110150705]
  - 47 Steinkamp M, Schulte N, Spaniol U, Pflüger C, Hartmann C, Kirsch J, von Boyen GB. Brain derived neurotrophic factor inhibits apoptosis in enteric glia during gut inflammation. *Med Sci Monit* 2012; 18: BR117-BR122 [PMID: 22460084]
  - 48 Garcia SB, Oliveira JS, Pinto LZ, Muccillo G, Zucoloto S. The relationship between megacolon and carcinoma of the colon: an experimental approach. *Carcinogenesis* 1996; 17: 1777-1779 [PMID: 8761443]
  - 49 Margolis KG, Stevanovic K, Karamooz N, Li ZS, Ahuja A, D'Autréaux F, Saurman V, Chalazonitis A, Gershon MD. Enteric neuronal density contributes to the severity of intestinal inflammation. *Gastroenterology* 2011; 141: 588-598, e1-598.e2 [PMID: 21635893 DOI: 10.1053/j.gastro.2011.04.047]
  - 50 Bartels AL, Leenders KL. Neuroinflammation in the pathophysiology of Parkinson's disease: evidence from animal models to human in vivo studies with [11C]-PK11195 PET. *Mov Disord* 2007; 22: 1852-1856 [PMID: 17592621 DOI: 10.1002/mds.21552]
  - 51 Block ML, Hong JS. Microglia and inflammation-mediated neurodegeneration: multiple triggers with a common mechanism. *Prog Neurobiol* 2005; 76: 77-98 [PMID: 16081203 DOI: 10.1016/j.pneurobio.2005.06.004]
  - 52 Hirsch EC, Hunot S. Neuroinflammation in Parkinson's disease: a target for neuroprotection? *Lancet Neurol* 2009; 8: 382-397 [PMID: 19296921 DOI: 10.1016/S1474-4422(09)70062-6]
  - 53 McGeer PL, McGeer EG. Inflammation and neurodegeneration in Parkinson's disease. *Parkinsonism Relat Disord* 2004; 10 Suppl 1: S3-S7 [PMID: 15109580 DOI: 10.1016/j.parkreldis.2004.01.005]
  - 54 Norden DM, Muccigrosso MM, Godbout JP. Microglial priming and enhanced reactivity to secondary insult in aging, and traumatic CNS injury, and neurodegenerative disease. *Neuropharmacology* 2015; 96: 29-41 [PMID: 25445485 DOI: 10.1016/j.neuropharm.2014.10.028]
  - 55 Sekiyama K, Sugama S, Fujita M, Sekigawa A, Takamatsu Y, Waragai M, Takenouchi T, Hashimoto M. Neuroinflammation in Parkinson's Disease and Related Disorders: A Lesson from Genetically Manipulated Mouse Models of  $\alpha$ -Synucleinopathies. *Parkinsons Dis* 2012; 2012: 271732 [PMID: 22550610 DOI: 10.1155/2012/271732]
  - 56 Xanthos DN, Sandkühler J. Neurogenic neuroinflammation: inflammatory CNS reactions in response to neuronal activity. *Nat Rev Neurosci* 2014; 15: 43-53 [PMID: 24281245 DOI: 10.1038/nrn3617]
  - 57 Clairembault T, Leclair-Visonneau L, Coron E, Bourreille A, Le Dily S, Vavasseur F, Heymann MF, Neunlist M, Derkinderen P. Structural alterations of the intestinal epithelial barrier in Parkinson's disease. *Acta Neuropathol Commun* 2015; 3: 12 [PMID: 25775153 DOI: 10.1186/s40478-015-0196-0]
  - 58 Devos D, Lebouvier T, Lardeux B, Biraud M, Rouaud T, Pouclet H, Coron E, Bruley des Varannes S, Naveilhan P, Nguyen JM, Neunlist M, Derkinderen P. Colonic inflammation in Parkinson's disease. *Neurobiol Dis* 2013; 50: 42-48 [PMID: 23017648 DOI: 10.1016/j.nbd.2012.09.007]
  - 59 Annerino DM, Arshad S, Taylor GM, Adler CH, Beach TG, Greene JG. Parkinson's disease is not associated with gastrointestinal myenteric ganglion neuron loss. *Acta Neuropathol* 2012; 124: 665-680 [PMID: 22941241 DOI: 10.1007/s00401-012-1040-2]
  - 60 Lebouvier T, Neunlist M, Bruley des Varannes S, Coron E, Drouard A, N'Guyen JM, Chaumette T, Tasselli M, Paillusson S, Flamand M, Galmiche JP, Damier P, Derkinderen P. Colonic biopsies to assess the neuropathology of Parkinson's disease and its relationship with symptoms. *PLoS One* 2010; 5: e12728 [PMID: 20856865 DOI: 10.1371/journal.pone.0012728]
  - 61 Bassotti G, Villanacci V, Maurer CA, Fisogni S, Di Fabio F, Cadei M, Morelli A, Panagiotis T, Cathomas G, Salerni B. The role of glial cells and apoptosis of enteric neurones in the neuropathology of intractable slow transit constipation. *Gut* 2006; 55: 41-46 [PMID: 16041063 DOI: 10.1136/gut.2005.073197]
  - 62 Lema Tomé CM, Tyson T, Rey NL, Grathwohl S, Britschgi M, Brundin P. Inflammation and  $\alpha$ -synuclein's prion-like behavior in Parkinson's disease—is there a link? *Mol Neurobiol* 2013; 47: 561-574 [PMID: 22544647 DOI: 10.1007/s12035-012-8267-8]
  - 63 Neunlist M, Rolli-Derkinderen M, Latorre R, Van Landeghem L, Coron E, Derkinderen P, De Giorgio R. Enteric glial cells: recent developments and future directions. *Gastroenterology* 2014; 147: 1230-1237 [PMID: 25305504 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.09.040]
  - 64 Grubišić V, Verkhatsky A, Zorec R, Parpura V. Enteric glia regulate gut motility in health and disease. *Brain Res Bull* 2018; 136: 109-117 [PMID: 28363846 DOI: 10.1016/j.brainresbull.2017.03.011]

65 Chow AK, Gulbransen BD. Potential roles of enteric glia in bridging neuroimmune communication in the gut. *Am J*

*Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2017; 312: G145-G152 [PMID: 28039160 DOI: 10.1152/ajpgi.00384.2016]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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



# 某三级医院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征研究

刘佳

刘佳, 浙江中医药大学附属第三医院病理科 浙江省杭州市 310000

刘佳, 主要从事临床病理学研究工作。

作者贡献分布: 本文课题的设计、研究过程、数据分析及论文写作均由刘佳完成。

通讯作者: 刘佳, 310000, 浙江省杭州市西湖区西溪街道莫干山路219号, 浙江中医药大学附属第三医院病理科. [wenminghuangwz@126.com](mailto:wenminghuangwz@126.com)  
电话: 0571-88393562

收稿日期: 2019-04-24

修回日期: 2019-06-08

接受日期: 2019-08-19

在线出版日期: 2019-08-28

## Pathological characteristics of gastric polyps in 1995 patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy in a tertiary hospital

Jia Liu

Jia Liu, Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Jia-Liu, Department of Pathology, the Third Affiliated Hospital of Zhejiang University of Traditional Chinese Medicine, 219 Moganshan Road, Xixi Street, Xihu District, Hangzhou 310000, Zhejiang Province, China. [wenminghuangwz@126.com](mailto:wenminghuangwz@126.com)

Received: 2019-04-24

Revised: 2019-06-08

Accepted: 2019-08-19

Published online: 2019-08-28

## Abstract

### Background

Gastric polyps are a clinically common disease. In recent

years, with the change of the dietary style, the incidence of gastric polyps is rising gradually. They are usually detected during electronic gastroscopy. Some polyp have a tendency of malignant transformation. Therefore, early detection and biopsy are of important value and significance clinically.

### AIM

To analyze the pathological features of gastric polyps in 1995 patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy in a tertiary hospital.

### Methods

A retrospective analysis was performed on the incidence, diameter, pathological type, and location of gastric polyps in 1995 patients who underwent upper gastrointestinal endoscopy at our hospital from September 2017 to December 2018.

### Results

Among the 1995 cases who underwent upper gastrointestinal endoscopy, 390 (19.55%) had polyps, including 146 (37.43%) males and 244 (62.56%) females. Polyp diameter ranged from 3 to 75 mm (mean,  $10.2 \pm 6.4$ ); 220 (56.41%) cases were  $\leq 5$  mm, 155 (39.74%) were 6-10 mm, 12 (3.08%) were 11-22 mm, and 3 (0.77%) were  $> 20$  mm. Among the 390 gastric polyps, 266 (68.21%) were hyperplastic polyps (HPs), 98 (25.13%) were fundus glandular polyps (FGPs), and 26 (6.67%) were adenomatous polyps (APs). HPs were found in the gastric angle in 103 (40.55%) cases, FGPs found in the gastric fundus in 42 cases (42.86%) cases, and APs in the gastric angle in 11 (42.31%). All 390 patients with gastric polyps underwent polypectomy, among whom 220 with a polyp diameter  $\leq 5$  mm were excised with hot biopsy forceps, and 170 with a diameter  $> 6$  mm were excised by

snare resection.

## Conclusion

The overall incidence of gastric polyps is 19.55% in this study cohort. The incidence of HPs is 68.21%, which may be caused by the high rate of *Helicobacter pylori* infection in China. The incidence of APs is 6.67%, which may be due to the long-term use of proton pump inhibitors after infection with *Helicobacter pylori*.

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

Key Words: Upper gastrointestinal endoscopy; Gastric polyps; Pathological characteristics

Liu J. Pathological characteristics of gastric polyps in 1995 patients undergoing upper gastrointestinal endoscopy in a tertiary hospital. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 1022-1026  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1022.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1022>

## 摘要

### 背景

胃息肉是临床常见疾病之一,近年来随着饮食结构的改变,该病发病率逐渐呈上升趋势,通常是在行电子胃镜检查时被发现。在一定程度上具有恶变,其发生是由于某些息肉具有恶变倾向或与某些遗传疾病有关所致。因此,早期检查并活检对临床具有重要价值和意义。

### 目的

观察分析某三级医院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征。

### 方法

对2017-09/2018-12期间在浙江中医药大学附属第三医院行上消化道内镜检查的1995例患者胃息肉发生率,息肉直径,病理类型及好发部位等进行回顾性分析。

### 结果

在1995例上消化道内镜检查中有息肉病变者390例(占19.55%),其中男性146例(37.43%),女性244例(62.56%);息肉直径3-75 mm,平均为10.2 mm±6.4 mm,其中直径≤5 mm者220例(56.41%),直径为6-10 mm者155例(39.74%),直径为11-22 mm者12例(3.08%),直径>20 mm者3例(0.77%)。390例胃息肉患者中增生性息肉(hyperplastic polyp, HPs)266例(68.21%),胃底腺息肉(fundus glandular polyp, FGPs)98例(25.13%),腺瘤性息肉(adenomatous polyp, APs)26例(6.67%)。HPs好发于胃角部103例(40.55%),FGPs好发于胃底部42例(42.86%),APs好发于胃角部11例

(42.31%)。390例胃息肉患者均行息肉切除术,其中220例息肉直径≤5 mm者采用热活检钳切除,直径>6 mm 170例患者采用圈套式切除。

## 结论

本研究中,胃息肉发生率为390例(19.55%),其中HPs发生率较高68.21%,这可能与我国幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率高所导致;APs发生率较低6.67%,可能是由于*H. pylori*高感染率后长期使用质子泵抑制剂所致。

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

关键词: 上消化道内镜; 胃息肉; 病理特征

**核心提要:** 影响胃息肉发生的因素较多,最主要可能与幽门螺杆菌感染有很大关系。本研究对某三级医院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征进行分析,旨在为临床诊疗提供重要价值。

刘佳. 某三级医院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(16): 1022-1026

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1022.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1022>

## 0 引言

息肉通常是无症状的,约90%的息肉是由于其他原因在行上消化道内镜检查时发现。较大的息肉可能导致出血、贫血、腹痛或梗阻(极少数是由息肉发生部位所导致)<sup>[1,2]</sup>。息肉的确诊需要进行组织学检查。胃息肉的发生率和息肉类型因所研究人群不同而存在很大差异。胃息肉大致分为增生性息肉(hyperplastic polyp, HPs)、胃底腺息肉(fundus glandular polyp, FGPs)和腺瘤性息肉(adenomatous polyp, APs),其发生实际上是由于某些息肉具有恶变倾向或与某些遗传疾病有关所致。虽然在一些先天性疾病(如家族性APs病变、青少年息肉病和Peutz-Jeghers综合征等)中也可见到胃息肉,但大多数息肉均是在偶然检查时发现,息肉癌变的风险也在增加。有研究表明,HPs恶变风险较低,而APs的恶变相对较高<sup>[3,4]</sup>。胃息肉的治疗主要通过内镜下手术切除。本研究对我院上消化道内镜检查1995例患者胃息肉病理特征进行回顾性分析。现报告如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 对2017-09/2018-12在浙江中医药大学附属第三医院门诊或住院行上消化道内镜检查的1995例患者资料进行回顾性分析。该研究均经过患者知情同意。

1.2 方法 使用仪器EG530 WR内镜检查, 经患者同意后行普通或无痛麻醉检查, 检查前要求患者空腹. 息肉大小的评估主要通过对比息肉与活检钳开口的大小评估. 对于多发性息肉患者, 通常测量最大息肉的直径来计算.

1.3 观察指标 对1995例患者的资料详尽筛查, 包括年龄、性别、内镜检查适应症、内镜检查结果、息肉直径和部位、诊断方法(组织学)以及内镜治疗等进行评估, 同时对年龄和息肉直径、数量之间的相关性进行分析.

**统计学处理** 采用SPSS 23.0进行数据分析. 计数资料以百分数(%)表示, 采用卡方检验. 计量资料以mean±SD表示, 采用 $t$ 检验.  $P<0.05$ 为差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 性别、年龄分布特征分析 1995例中男性1104例(55.33%), 平均年龄65.2岁±11.6岁; 女性891例(44.67%), 平均年龄63.5岁±12.4岁. 患者年龄分布: <51岁者223例(11.2%), 51-60岁者443例(22.2%), 61-70岁者665例(33.3%), 71-80岁者443例(22.2%), >80岁者221例(11.1%)(图1).

2.2 胃息肉发生率及其直径大小分析 1995例患者有息肉病变者390例(占19.55%), 其中男性146例(37.43%), 女性244例(62.56%). 息肉直径3-75 mm, 平均直径10.2 mm±6.4 mm, 其中直径≤5 mm者220例(56.41%), 直径6-10 mm者155例(39.74%), 直径11-22 mm者12例(3.08%), 直径>20 mm者3例(0.77%).

2.3 胃息肉病理组织类型及好发部位 390例胃息肉患者中HPs 254例(65.13%), FGPs 98例(25.13%), APs 26例(6.67%). HPs好发于胃角部103例(40.55%), FGPs好发于胃底部42例(42.86%), APs好发于胃角部11例(42.31%)(表1).

2.4 息肉切除手术方式分析 390例胃息肉患者均行息肉切除术, 其中220例息肉直径≤5 mm者采用热活检钳切除, 170例患者息肉直径>6 mm采用圈套式切除(表2).

## 3 讨论

本研究结果表明, 1995例患者中胃息肉发生率为19.55%, 与其他学者研究有一定的异同性. 国外学者Carmack等在1万多例上消化道内镜检查操作中发现胃息肉的发病率为6.35%, 最常见的息肉类型为FGPs, 占有息肉的66%, 而HPs和APs占17%<sup>[5]</sup>, 这可能与长期使用PPI或幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率有关. 学者Elhanafi等<sup>[6]</sup>报道, 在7090例内镜治疗患者中最常见的是HPs, 与*H. pylori*感染率增加有很大关系. 还有学者Roseau等<sup>[7]</sup>进行的一项研究表明, 在13000上消化道内镜检查患者中发现191例(1.31%)患者有胃息肉, 其中48例

患者组织学是炎症或正常组织<sup>[8]</sup>.

有众多学者研究表明, 胃息肉发病率为0.59%-3.4%<sup>[9,10]</sup>. 而本研究中胃息肉的发病率为19.55%, 明显高于其他学者研究结果, 这可能与患者选取时纳入标准不同和*H. pylori*感染高低有很大关系. 本研究表明, HPs是最常见息肉类型. 由于我国*H. pylori*的感染率较高, 与其他染*H. pylori*感染率同样高的国家相比, 最常见的息肉类型也为HPs, 与本研究结果一致. 在一些研究中, FGPs是最常见的息肉类型. 这类息肉发病率增加可能与*H. pylori*感染率的降低以及质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)使用率的增加有关. Graham<sup>[11]</sup>首次描述了在1992年使用奥美拉唑治疗的3名患者的FGPs的发展过程<sup>[12]</sup>. 此后, 在许多研究中均表明了使用PPI制剂会使FGPs的发病率增加. 这一关系的存在, 使得那些需要长期使用或服用PPI治疗的医患双方均变得焦虑<sup>[13,14]</sup>. 在我国APs发生率较低, 可能与感染*H. pylori*有很大关系. 还有APs发病率可能与长期使用PPI有关, 这类息肉在胃癌群体中较为常见, 且通常具有高度恶变倾向. APs的恶变率大约为6.8%-55.3%, 这类息肉的大小、低分化以及肠上皮化生的存在是导致恶变的危险因素. 即使是高分化腺瘤在长期随访过程中也发现具有恶变倾向<sup>[15]</sup>. 因此, 这类病变建议切除.

总之, 本研究中胃息肉发生率为390例(19.55%), 其中HPs发生率较高68.21%, 这可能与我国*H. pylori*感染率高所导致; APs发生率较低6.67%, 可能是由于*H. pylori*高感染率和短期使用PPI所致.

## 文章亮点

### 实验背景

胃息肉通常是没有任何症状的, 主要通过行电子胃镜检查发现. 近年来随着饮食结构的改变, 该病发病率逐渐呈上升趋势, 影响其发生因素较多, 最为关键的是幽门螺杆菌感染. 较大的胃息肉在一定程度上具有恶变, 其发生是由于某些息肉具有恶变倾向或与某些遗传疾病有关所致. 因此, 早期检查并活检对临床具有重要价值和意义.

### 实验动机

对行上消化道内镜检查的1995例患者胃息肉发生率, 息肉直径, 病理类型及好发部位等进行回顾性分析, 旨在为临床诊疗提供重要价值.

### 实验目标

分析1995例患者胃息肉特征, 为临床诊疗提供客观依据.



表 1 胃息肉病理组织类型及发病部位[n = 390, n (%)]

息肉病理组织类型	n (%)	好发部位		
		胃体	胃底	胃角
增生性息肉	254 (68.21)	84 (33.07)	67 (26.38)	103 (40.55)
胃底腺息肉	98 (25.13)	28 (28.57)	42 (42.86)	28 (28.57)
腺瘤性息肉	26 (6.67)	8 (30.77)	7 (26.92)	11 (42.31)
腺癌	12 (3.08)	4 (33.33)	5 (41.67)	3 (25.0)

表 2 圈套式息肉切除术的分布情况, n (%)

热活检钳切除术	220 (56.41)
圈套息肉切除术	170 (43.59)
总数	390 (100)

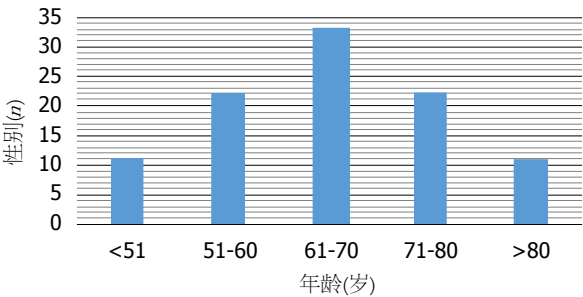


图 1 患者性别、年龄分布特征。

实验方法

通过回顾性资料分析1995例患者的年龄、性别、内镜检查适应症、内镜检查结果、息肉直径和部位、诊断方法(组织学)以及内镜治疗等相关性。

实验结果

分析1995例上消化道内镜检查中有息肉病变者390例(占19.55%); 其中直径≤5 mm者220例(56.41%), 直径为6-10 mm者155例(39.74%), 直径为11-22 mm者12例(3.08%), 直径>20 mm者3例(0.77%)。390例胃息肉患者中增生性息肉(hyperplastic polyp, HPs)最多, 其次为胃底腺息肉(fundus glandular polyp, FGPs), 再者是腺瘤性息肉(adenomatous polyp, APs)。HPs好发于胃角部, FGPs好发于胃底部, APs好发于。390例胃息肉患者均行息肉切除术, 其中220例息肉直径≤5 mm者采用热活检钳切除, 直径>6 mm 170例患者采用圈套式切除。

实验结论

本研究中, 胃息肉发生率为19.55%, 其中HPs发生率较高, 可能与我国幽门螺旋杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染率高所导致; APs发生率较低, 可能是由于*H. pylori*

高感染率后长期使用质子泵抑制剂所致。

展望前景

明确胃息肉病理组织结果对预防癌变具有重要意义。

4 参考文献

- 1 Gonzalez RS, Adsay V, Graham RP, Shroff SG, Feely MM, Drage MG, Lewin DN, Swanson EA, Yantiss RK, Bağcı P, Krasinskas AM. Massive gastric juvenile-type polyposis: a clinicopathological analysis of 22 cases. *Histopathology* 2017; 70: 918-928 [PMID: 27991685 DOI: 10.1111/his.13149]
- 2 Alférez-Andía J, Benites-Goñi H, Palacios-Salas F. Focal Intramucosal Adenocarcinoma Occurring in Gastric Hyperplastic Polyps Treated with Endoscopic Mucosal Resection. *Case Rep Gastrointest Med* 2018; 2018: 7431290 [PMID: 30345123 DOI: 10.1155/2018/7431290]
- 3 Chen MJ, Wu W, Pan S, Lin CJ, Dong LM, Chen ZF, Wu JS, Huang ZM. Sedated gastroscopy improves detection of gastric polyps. *Exp Ther Med* 2018; 16: 3116-3120 [PMID: 30214534 DOI: 10.3892/etm.2018.6525]
- 4 Corral JE, Keihanian T, Diaz LI, Morgan DR, Sussman DA. Management patterns of gastric polyps in the United States. *Frontline Gastroenterol* 2019; 10: 16-23 [PMID: 30651953 DOI: 10.1136/flgastro-2017-100941]
- 5 Olmez S, Sayar S, Saritas B, Savas AY, Avcioglu U, Tenlik I, Ozaslan E, Koseoglu HT, Altiparmak E. Evaluation of patients with gastric polyps. *North Clin Istanbul* 2018; 5: 41-46 [PMID: 29607431 DOI: 10.14744/nci.2017.50480]
- 6 Elhanafi S, Saadi M, Lou W, Mallawaarachchi I, Dwivedi A, Zuckerman M, Othman MO. Gastric polyps: Association with *Helicobacter pylori* status and the pathology of the surrounding mucosa, a cross sectional study. *World J Gastrointest Endosc* 2015; 7: 995-1002 [PMID: 26265993 DOI: 10.4253/wjge.v7.i10.995]
- 7 Roseau G, Ducreux M, Molas G, Ponsot P, Amouyal P, Palazzo L, Amouyal G, Paolaggi JA. [Epithelial gastric polyps in a series of 13000 gastroscopies]. *Presse Med* 1990; 19: 650-654 [PMID: 2139948]
- 8 Fan NN, Yang J, Sun G, Lu ZS, Ling Hu EQ, Wang XD, Yang YS. Changes in the spectrum of gastric polyps in the Chinese population. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 9758-9764 [PMID: 26361423 DOI: 10.3748/wjg.v21.i33.9758]
- 9 Ozaydin N, Turkyilmaz SA, Cali S. Prevalence and risk factors of *Helicobacter pylori* in Turkey: a nationally-representative, cross-sectional, screening with the <sup>13</sup>C-Urea breath test. *BMC Public Health* 2013; 13: 1215 [PMID: 24359515 DOI: 10.1186/1471-2458-13-1215]
- 10 何金龙, 陈磊, 代剑华, 张昊翔, 冯吉, 魏周玲, 房殿春. 10137例胃息肉的临床及病理特征分析. *第三军医大学学报* 2018; 40: 248-254 [DOI: 10.16016/j.1000-5404.201709178]
- 11 Graham JR. Gastric polyposis: onset during long-term therapy

- with omeprazole. *Med J Aust* 1992; 157: 287-288 [PMID: 1435464]
- 12 程艳艳. 老年常见胃息肉的病理分析及内镜观察. 临床医药文献电子杂志 2016; 3: 3759-3760
- 13 张瑞梅, 张健康. 1063例胃息肉的临床及病理特点分析. 中华临床医师杂志(电子版) 2017; 11: 860-862 [DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2017.05.033]
- 14 刘雪梅, 骆子义, 邱智辉, 韦小兰, 张东旭, 韩玉星. 312例胃底腺息肉临床及病理分析. 中华实用诊断与治疗杂志 2016; 30: 270-272 [DOI: 10.13507/j.issn.1674-3474.2016.03.021]
- 15 俞媛洁, 谭诗云. 老年人单发胃息肉的病例特点与内镜下治疗效果分析. 胃肠病学和肝病学杂志 2018; 27: 50-53 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2018.05.010]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

**本刊讯** 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

# 经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入治疗恶性胆道梗阻对比研究

柴慈曼, 宋国栋, 范 绪

柴慈曼, 天津医科大学第二医院甲状腺乳腺外科 天津市 300211

宋国栋, 天津医科大学第二医院胃肠外科 天津市 300211

范绪, 天津医科大学第二医院病理科 天津市 300211

柴慈曼, 医师, 研究方向为乳腺癌发生发展机制.

**作者贡献分布:** 此课题由柴慈曼、宋国栋及范绪设计; 研究过程由柴慈曼、宋国栋及范绪操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由宋国栋与范绪提供; 数据分析由柴慈曼、宋国栋及范绪完成; 本论文写作由柴慈曼、宋国栋及范绪完成.

**通讯作者:** 柴慈曼, 医师, 300211, 天津市河西区平江道23号, 天津医科大学第二医院甲状腺乳腺外科. sipqu16@163.com

收稿日期: 2019-06-06

修回日期: 2019-08-10

接受日期: 2019-08-19

在线出版日期: 2019-08-28

## Comparative study of biliary stent placement by percutaneous transhepatic cholangial drainage and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of malignant biliary obstruction

Ci-Man Chai, Guo-Dong Song, Xu Fan

Ci-Man Chai, Department of Thyroid and breast Surgery, Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Guo-Dong Song, Department of Gastrointestinal Surgery, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

Xu Fan, Department of Pathology, the Second Hospital of Tianjin Medical University, Tianjin 300211, China

**Corresponding author:** Ci-Man Chai, surgeon, Department of Thyroid and breast Surgery, the Second Hospital of Tianjin Medical University, No. 23, Pingjiang Road, Hexi District, Tianjin 300211, China. sipqu16@163.com

Received: 2019-06-06

Revised: 2019-08-10

Accepted: 2019-08-19

Published online: 2019-08-28

## Abstract BACKGROUND

Metallic biliary stent implantation by endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP) or percutaneous transhepatic cholangial drainage (PTCD) is often used to treat patients with malignant biliary obstruction.

## AIM

To compare the effect of metallic biliary stent implantation by PTCD and ERCP on jaundice and liver function in patients with malignant biliary obstruction.

## METHODS

The clinical data of 156 patients with malignant biliary obstruction treated at our hospital from June 2012 to June 2017 were retrospectively analyzed. All the patients were divided into either an ERCP group or a PTCD group by treatment method, with 72 cases in each group. The ERCP group underwent metallic biliary stent implantation by ERCP, while the PTCD group underwent metallic biliary stent implantation by PTCD. The liver function [total bilirubin (TbIL), glutamyl transferase (GGT), alkaline phosphatase (ALP), and alanine transaminase (ALT)], success rate of surgery, hospital stays and expense, improvement of jaundice, survival time, and



complications were compared between the two groups.

## RESULTS

After surgery, the levels of TBiL, GGT, ALP, and ALT in both groups decreased compared with those before surgery, but there was no statistical difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). The success rates of surgery in the ERCP group and PTCD group were 91.67% (66/72) and 95.24% (80/84), respectively, and there was no statistical difference between the two groups ( $P > 0.05$ ). The length of hospital stays and hospitalization expense in the ERCP group (13.54 d  $\pm$  4.01 d; 47940.39 yuan  $\pm$  4638.94 yuan) and PTCD group (19.11 d  $\pm$  4.33 d; 51347.61 yuan  $\pm$  6123.55 yuan) differed significantly ( $P < 0.05$ ). The improvement rates of jaundice in the ERCP group and PTCD group were 87.88% (48/66) and 90.00% (72/80), respectively, and there was no statistical difference between them ( $P > 0.05$ ). The survival times of the ERCP group and PTCD group were 11.02 mo  $\pm$  1.23 mo and 11.27 mo  $\pm$  1.19 mo, respectively, and there was no statistical difference between them ( $P > 0.05$ ). The total incidence of complications in the ERCP group [5.56% (4/72)] was significantly lower than that of the PTCD group [21.43% (18/84)] ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Metallic biliary stent implantation by PTCD and ERCP are both effective methods in treating malignant biliary obstruction, and they can improve jaundice and realize biliary drainage. Their effects on liver function and postoperative survival time are similar. Compared with PTCD, ERCP has less complications, shorter hospital stays, and lower hospitalization expense.

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

Key Words: Malignant biliary obstruction; Percutaneous transhepatic cholangial drainage; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Jaundice; Liver function

Chai CM, Song GD, Fan X. Comparative study of biliary stent placement by percutaneous transhepatic cholangial drainage and endoscopic retrograde cholangiopancreatography in treatment of malignant biliary obstruction. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 1027-1034

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1027.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1027>

## 摘要

### 背景

本文通过对恶性胆道梗阻患者内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)与经皮肝穿刺胆道引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)两种途径进行

胆道金属支架置入治疗, 观察两种手术方式对患者肝功能及黄疸的影响, 分析两种手术方式临床应用优劣。

## 目的

探讨对恶性胆道梗阻患者行ERCP和PTCD途径胆道金属支架置入治疗对肝功能与黄疸的影响。

## 方法

回顾性分析2012-06/2017-06天津医科大学第二医院接诊的156例恶性胆道梗阻患者临床资料, 按治疗方式不同将其分为两组。ERCP组72例患者行经ERCP途径胆道金属支架置入治疗, PTCD组84例患者经PTCD途径胆道金属支架置入治疗。比较两组肝功能[总胆红素(total bilirubin, TBiL)、谷氨酰转氨酶(glutamyl transferase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)]、手术成功率、住院时间和费用、黄疸改善情况、生存时间和并发症发生情况。

## 结果

术后各时点两组TBiL、GGT、ALP、ALT水平较术前均有明显降低, 组间比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); ERCP组和PTCD组手术成功率分别为91.67%(66/72)、95.24%(80/84), 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); ERCP组和PTCD组住院时间分别为13.54 d  $\pm$  4.01 d、19.11 d  $\pm$  4.33 d, 住院费用分别为47940.39元  $\pm$  4638.94元、51347.61元  $\pm$  6123.55元, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ ); ERCP组和PTCD组黄疸改善率分别为87.88%(58/66)、90.00%(72/80), 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); ERCP组生存时间为11.02 mo  $\pm$  1.23 mo, PTCD组生存时间为11.27 mo  $\pm$  1.19 mo, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); ERCP组总并发症发生率为5.56%(4/72)低于PTCD组的21.43%(18/84), 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 结论

经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入均是治疗恶性胆道梗阻患者的有效方式, 能改善黄疸、实现胆道引流, 对肝功能影响与术后生存时间相似; 与PTCD相比, ERCP并发症较低且住院时间和费用较少。

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

关键词: 恶性胆道梗; 经皮肝穿刺胆道引流术; 内镜下逆行胰胆管造影; 黄疸; 肝功能

核心提要: 经皮肝穿刺胆道引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)与经内镜下逆行胰胆

管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)途径胆道金属支架置入治疗恶性胆道梗阻均能改善黄疸、实现胆道引流, 但ERCP在并发症、医疗花费方面与PTCD相比有更明显的优势。

柴慈曼, 宋国栋, 范绪. 经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入治疗恶性胆道梗阻对比研究. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 1027-1034

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1027.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1027>

## 0 引言

恶性胆道梗阻为临床常见病症, 是因肝外胆管受恶性肿瘤侵犯或压迫而出现胆道狭窄, 阻碍胆汁排泄所致<sup>[1,2]</sup>。以上腹痛、继发性肝功能恶化、进行性加重的黄疸为主要表现, 病情严重时其诱发肝功能衰竭、脓毒血症、凝血功能异常, 有极高的病死率<sup>[3-5]</sup>。若不及时给予患者正确有效的干预, 一般自然病程不足3 mo。引流和切除是治疗恶性胆道梗阻的主要手段。但因肿瘤自身解剖结构的特殊性以及其恶性程度较高, 多数患者就诊时已错失行根治性手术的机会<sup>[6,7]</sup>。经皮经肝胆道穿刺引流、内镜下支架置入是治疗恶性胆道梗阻的常用手段, 其中经内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)和经皮肝穿刺胆道引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)两种途径较为常见。本研究分析经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入对恶性胆道梗阻患者黄疸及肝功能的影响, 为临床医生的选择提供参考依据。现报道如下。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 收集2012-06/2017-06天津医科大学第二医院接诊的156例恶性胆道梗阻患者临床资料, 按治疗方式不同分为两组, ERCP组72例, 男40例, 女32例; 年龄45-89岁, 平均年龄68.42岁±3.41岁; 病因: 壶腹癌8例, 肝门部胆管癌28例[6例Bismuth I型(肿瘤位于肝总管, 且未涉及分叉部及左右肝管)、6例II型(肿瘤自肝总管开始向左右肝管分叉部侵犯)、16例III型(肿瘤自肝总管向单侧一级肝管分支侵犯)], 十二指肠乳头癌4例, 中下段胆管癌20例, 胰头癌12例。PTCD组84例, 男48例, 女36例; 年龄45-90岁, 平均年龄68.45岁±3.38岁; 病因: 壶腹癌8例, 肝门部胆管癌28例[8例Bismuth I型(肿瘤位于肝总管, 且未涉及分叉部及左右肝管)、6例II型(肿瘤自肝总管开始向左右肝管分叉部侵犯)、14例III型(肿瘤自肝总管向单侧一级肝管分支侵犯)], 十二指肠乳头癌6例, 中下段胆管癌26例, 胰头癌16例。两组性别、病因及年龄对比, 差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性。

## 1.2 方法

**1.2.1 入选标准:** 纳入标准: (1) 经术前增强CT、MRCP、腹部彩超和术后病理证实为恶性胆道梗阻; (2) 凝血功能、肝功能、肿瘤标志物、血常规等均存在一定程度的异常; (3) TNM肿瘤分期为III期级以上; (4) 血清总胆红素 $\geq 171 \mu\text{mol/L}$ , 有明显胆道梗阻症状; (5) 伴有黄疸; (6) 肿瘤体积太大, 或侵犯周围脏器或转移, 无法行外科根治性切除; (7) 年龄 $\geq 45$ 岁; (8) 临床资料完整; 同一时期患者。排除标准: (1) 精神异常; (2) 合并其他引起胆红素升高的疾病; (3) 第二次或多次接受PTCD、ERCP治疗者。

**1.2.2 手术方式:** 两组手术均由同一治疗团队实施。术前给予两组患者纠正电解质紊乱、静脉营养、抑酸、改善凝血功能等常规治疗。金属支架均为购自南京微创医学科技有限公司的自膨式记忆钛镍合金胆道支架, 直径为8 mm。ERCP组行经ERCP途径胆道金属支架置入治疗(图1)。静脉滴注生长抑素针于手术当日, 术前30 min肌注100 mg盐酸哌替啶、10 mg地西洋、10 mg盐酸消旋山莨菪碱注射液。患者取左侧卧位, 通过口腔、食管、胃将十二指肠镜插入至十二指肠降段, 对镜身行适当调整, 使其对准十二指肠乳头口, 注入30 mL对比剂, 对胆道梗阻范围、部位及其程度密切观察。采用球囊或探调扩张后, 经导丝引导和金属支架行内镜下胆管内支架引流术。X线透视下确认支架位置与通畅情况。PTCD组行经PTCD途径胆道金属支架置入治疗(图2)。手术当日禁食, 术前30 min肌注100 mg盐酸哌替啶。患者在数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查台上取仰卧位, 常规消毒铺巾后, 密切观察胆道梗阻的程度、范围及部位于DSA透视下, 按患者实际情况选择适宜的穿刺点。以2%利多卡因5 mL实施局部浸润麻醉, 在相应肝管中刺入穿刺针, 并将铂金导丝经其引入, 交换置入PTCD三件套。将内芯推出, 并注入对比剂30 mL。置入5F椎动脉导管和水膜导丝, 打通闭塞段进入十二指肠。在十二指肠远端置入加强导丝, 将引流管沿着导丝置入胆道内外, 于十二指肠打袢(远端)。在DSA透视下观察对比剂流通情况, 确保其经引流管进入十二指肠。固定引流管。术后处理: 叮嘱患者术后24 h禁食、禁水, 并密切监测患者生命体征, 并常规行抗炎、保肝、营养支持、抑酸、抑制胰酶分泌和对症治疗。

**1.2.3 观察指标:** (1) 肝功能。于患者入院时、术后3 d、术后5 d、术后7 d清晨抽取4 mL空腹外周静脉血, 静置30 min后离心取血清, 在-70 °C保存待检测, 测定血清总胆红素(total bilirubin, TBiL)、谷氨酰转移酶(glutamyl transferase, GGT)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase,

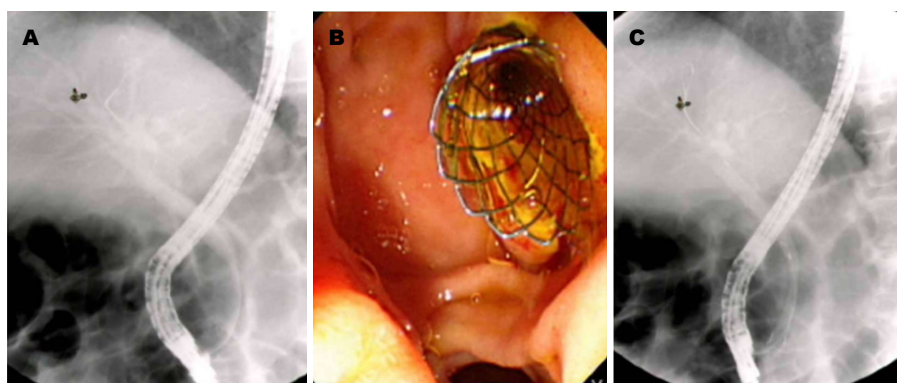


图1 内镜下逆行胰胆管造影胆道金属支架置入前、后情况。A: 胆道造影; B: 支架外露情况(胆道支架置入术后); C: 术后造影。

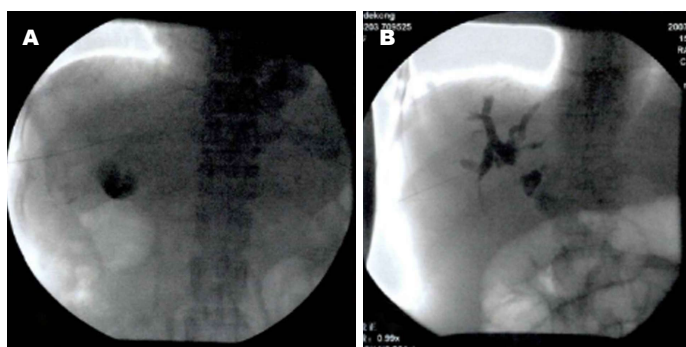


图2 经皮肝穿刺胆道引流术胆道金属支架置入前、后情况。A: 千叶针穿刺胆道造影; B: 叶针穿刺成功后胆道造影。

ALP)、丙氨酸转氨酶(alanine transaminase, ALT)含量。仪器为BACTEC9050全自动血生仪(美国BD公司)。(2)记录并比较两组手术成功率、住院时间和费用、黄疸改善情况和并发症发生情况。黄疸改善: 手术成功患者, 与术前相比, 术后第5 d检测胆红素指标降低 $>1/3$ 。并发症: 包括胆漏、胆道感染、急性胰腺炎、脱管等。术后随访2年, 记录两组患者术后生存时间。

**统计学处理** 应用SPSS 19.0统计学软件, 以 $n(\%)$ 表示计数资料, 采用 $\chi^2$ 检验; 以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示表示计量资料, 组间比较采用非独立样本 $t$ 检验, 多时点计量资料采用一般线性模型重复度量分析, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 肝功能** 两组TBiL、GGT、ALP、ALT水平与术前比较均明显降低, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ), 组间比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )(表1和表2)。

**2.2 手术成功率、住院时间和费用** ERCP组和PTCD组手术成功率分别为91.67%(66/72)、95.24%(80/84), 差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.336, P = 0.364$ ); 而两组因肝门部胆管癌导致的恶性胆道梗阻患者经手术治疗后手术成功率均为100%(28/28、28/28)。ERCP组住院时间短

于对照组, 住院费用少于对照组, 差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表3)。

**2.3 黄疸改善情况、并发症及生存时间** ERCP组和PTCD组黄疸改善率分别为87.88%(58/66)、90.00%(72/80), 差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.167, P = 0.683$ )。ERCP组生存时间为 $11.02 \text{ mo} \pm 1.23 \text{ mo}$ , PTCD组生存时间为 $11.27 \text{ mo} \pm 1.19 \text{ mo}$ , 组间比较差异无统计学意义( $t = 1.244, P = 0.215$ ); ERCP组术后出血、急性胰腺炎、胆漏、脱管、胆道感染(全部56例因肝门部胆管癌导致的恶性胆道梗阻患者ERCP组无胆道感染发生, PTCD组发生2例胆道感染)等并发症发生率与PTCD组比较, 差异无统计学意义( $P > 0.05$ ); 与PTCD组相比, ERCP组总并发症发生率较低, 组间比较差异具有统计学意义( $P < 0.05$ )(表4)。

## 3 讨论

因恶性胆道梗阻无明显的临床症状且发病隐匿, 不易被察觉, 多数患者在出现明显症状到医院就诊时已经发展为晚期, 加上部分患者体质欠佳、年龄偏大等, 外科手术切除率仅为20%左右<sup>[8-11]</sup>。若不早期将胆道梗阻解除, 在短时间内患者的功能可出现迅速恶化, 且因合并胆道感染、严重的消化道出血、休克、肾功能衰竭等而发



表 1 两组患者TBil、GGT水平变化情况对比(mean ± SD)

组别	TBil (μmol/L)				GGT (U/L)			
	术前	术后第3天	术后第5天	术后第7天	术前	术后第3天	术后第5天	术后第7天
ERCP组 (n = 72)	262.01 ± 125.36	222.02 ± 90.51	183.14 ± 95.12	143.28 ± 97.60	768.91 ± 285.36	623.96 ± 202.14	480.14 ± 149.79	332.98 ± 147.95
	260.95 ± 125.28	221.12 ± 92.47	181.24 ± 94.57	140.58 ± 100.06	739.10 ± 255.74	603.14 ± 231.26	464.97 ± 151.52	330.75 ± 117.84
F <sub>组别</sub>			0.010				0.346	
F <sub>时点</sub>			0.239				1.404	
F <sub>组别×时点</sub>			0.064				3.342	
P <sub>组别</sub>			0.922				0.557	
P <sub>时点</sub>			0.625				0.238	
P <sub>组别×时点</sub>			0.801				0.069	

TBil: 血清总胆红素; GGT: 谷氨酰转氨酶; PTCD: 经皮肝穿刺胆道引流术; ERCP: 内镜下逆行胰胆管造影。

表 2 都两组患者ALP、ALT水平变化情况对比(mean ± SD, U/L)

组别	ALP (U/L)				ALT (U/L)			
	术前	术后第3天	术后第5天	术后第7天	术前	术后第3天	术后第5天	术后第7天
ERCP组 (n = 72)	582.63 ± 218.54	513.63 ± 201.12	444.95 ± 191.65	375.61 ± 172.59	194.57 ± 95.72	157.15 ± 81.24	119.69 ± 65.24	82.10 ± 46.57
	585.61 ± 202.47	522.59 ± 197.69	458.97 ± 201.24	395.08 ± 166.74	192.40 ± 92.85	155.51 ± 82.01	118.64 ± 71.25	81.59 ± 57.10
F <sub>组别</sub>			0.131				1.531	
F <sub>时点</sub>			0.019				25.410	
F <sub>组别×时点</sub>			0.063				5.682	
P <sub>组别</sub>			0.718				0.218	
P <sub>时点</sub>			0.891				0.000	
P <sub>组别×时点</sub>			0.803				0.018	

ALP: 碱性磷酸酶; ALT: 丙氨酸转氨酶; PTCD: 经皮肝穿刺胆道引流术; ERCP: 内镜下逆行胰胆管造影。

生死亡。肠黏膜的细菌和内毒素会因黄疸的影响出现移位, 诱发多种严重的并发症, 如全身炎症反应综合征, 其会使患者术前感染风险增加, 增多术后并发症的发生<sup>[12-15]</sup>。胆汁淤积则会造成机体的细胞免疫因高胆红素血症而受损, 使肿瘤的转移、生长加速, 并增加内毒素血症和感染发生的危险性<sup>[12,13]</sup>。

微创介入手段将胆道梗阻解除, 是临床治疗恶性梗阻性黄疸的重要方式, 对延长患者生存期、提高生活质量具有重要的意义<sup>[15-17]</sup>。本研究中, 经PTCD与ERCP途径治疗恶性胆道梗阻均取得满意效果, 在改善肝功能、减轻黄疸方面、术后生存时间相似, 提示两者均可作为治疗恶性胆道梗阻的有效措施。较PTCD, ERCP住院时间短、住院费用低且并发症发生率低, 说明ERCP安全性更高, 能减轻患者家庭经济负担。PTCD属侵袭性操作, 具有恢复胆汁生理引流和选择适宜的靶胆管等优

势。PTCD术后恶性胆道梗阻患者携带引流袋的时间相对较长, 容易出现胆盐的大量丢失, 可引起酸碱与水电解质平衡紊乱, 患者术后恢复缓慢, 生活质量改善差<sup>[18-20]</sup>。PTCD是经肝穿刺胆道, 易发生胆道感染、胆漏等并发症。主要依靠DSA定位释放支架, 可能会出现支架放置不准确, 若支架末端位于十二指肠主乳头内, 会刺激其组织增生, 造成支架下端狭窄; 支架的轴向多与主乳头成角, 阻碍胆汁排出, 会阻塞支架; 乳头括约肌的收缩会引起胆管胆汁淤积和支架末端膨胀不全, 缩短支架有效开通时间<sup>[21-24]</sup>。若超出主乳头过多, 易造成对侧十二指肠肠壁损伤, 食物残渣易滞留于十二指肠腔内的支架中, 阻塞支架。此外, PTCD术后易出现并发症, 临床应加以注意。

ERCP具有并发症少、痛苦小、无胆盐丢失、住院时间短等优势, 其属微创介入手段。ERCP术后并发症较

表 3 两组患者住院时间和费用对比(mean ± SD)

组别	住院时间 (d)	住院费用 (元)
ERCP组 (n = 72)	13.54 ± 4.01	47940.39 ± 4638.94
PTCD组 (n = 84)	19.11 ± 4.33	51347.61 ± 6123.55
t	8.286	3.865
P值	0.000	0.000

PTCD: 经皮肝穿刺胆道引流术; ERCP: 内镜下逆行胰胆管造影。

表 4 两组并发症发生情况对比, n (%)

组别	术后出血	急性胰腺炎	胆漏	脱管	胆道感染	合计
ERCP组 (n = 72)	0	2 (2.78)	0	0	2 (2.78)	4 (5.56)
PTCD组 (n = 84)	2 (2.39)	0	6 (7.14)	4 (4.76)	6 (7.14)	18 (21.43)
χ <sup>2</sup>	0.407	0.621	3.592	1.871	0.754	8.064
P值	0.524	0.431	0.058	0.061	0.218	0.005

PTCD: 经皮肝穿刺胆道引流术; ERCP: 内镜下逆行胰胆管造影。

PTCD少, 这与下述几点有关: (1) 不穿刺肝组织, 为自然腔道, 更符合生理结构, 无胆道出血、肝脏损伤的潜在风险; (2) 可在DSA和内镜直视下实施支架定位释放, 双重定位, 准确性更高; (3) 无需内外放置引流管, 术后胆道感染、发热等出现风险小。虽ERCP存在诸多优势, 但其也有不足之处: (1) 因解剖结构的因素, 胰管和胆总管多形成共同通道, 并于十二指肠主乳头共同开口; (2) 虽器械改进和操作技术提高, 各种导丝、导管、切开到等使胆管的插管成功率大大提高, 但操作过程中难免会出现导丝、导管进入胰管, 可能会引起急性胰腺炎<sup>[25-27]</sup>; (3) 胰头癌浸润十二指肠, 或十二指肠肿瘤和乳头部肿瘤累及主乳头, 均可阻碍肠腔, 造成十二指肠镜无法达到十二指肠降段, 或可能诱发十二指肠穿孔<sup>[28-30]</sup>; (4) 对肝门部阻塞者治疗时, 导丝和导管进入肝内胆管困难性较高, 操作易失败, 或进入右侧或左侧胆管, 增加放置双支架难度, 甚至仅能对一侧胆管引流。

临床在对恶性胆道梗阻患者行手术治疗时应严格掌握PTCD与ERCP的适应症。PTCD适应症: 不能实施手术切除的十二指肠癌、胰头癌等胆总管下段恶性肿瘤引起的梗阻性黄疸; 无手术指征的中晚期胆管癌侵犯胆管; 原发于肝门、肝内、胆总管的胆管癌; 肝、胆管系的转移性肿瘤或重大淋巴结侵犯压迫胆管; 中晚期肝癌压迫或侵犯胆管, 或胆管内癌栓形成; 合并其他脏器严重疾患、年老体弱等致使外科手术危险大, 或手术部位解剖结构复杂, 外科手术苦难患者。禁忌症: 脓毒血症; 存在大量腹水; 终末期患者; 凝血功能严重障碍者; 肝门

以上多支肝段胆管阻塞, 无法建立有效引流者。ERCP适应症: 胆囊术后症状再发者或疑有先天性胆道异常; 疑有肝外胆道梗阻者; 胰腺肿瘤、慢性胰腺炎、胰腺囊肿等胰腺疾病; 疑有肿瘤、结石、硬化性胆管炎等诊断不明的胆道疾病等。此外需强调的是ERCP的实施对患者身体素质要求高, 对于部分合并重度高血压、严重的心肺衰竭、重症休克等严重情况者不适合使用。本研究中, 两组因肝门部胆管癌导致的恶性胆道梗阻患者经手术治疗成功率均为100%, 说明对于肝门部胆管癌所致恶性胆道梗阻, PTCD与ERCP均有较高的应用价值, 但由于ERCP相对要求更高, 临床对于此类患者在考虑适应症符合的基础上可以选择较为简单的PTCD术式。本研究仍存在诸多不足, 如纳入样本量偏小、未分析两组手术失败案例原因, 后期仍需加大样本量行多中心研究。

综上所述, 经PTCD与ERCP途径胆道金属支架置入均是治疗恶性胆道梗阻患者的有效方式, 能改善黄疸、实现胆道引流, 对肝功能影响相似; 与PTCD相比, ERCP并发症较低且住院时间和费用较低, 临床应根据患者情况选择适宜的手术方式治疗。

文章亮点

实验背景

恶性胆道梗阻是因肝外胆管受恶性肿瘤侵犯或压迫而出现胆道狭窄, 阻碍胆汁排泄所致, 因肿瘤自身解剖结构的特殊性以及其恶性程度较高, 所以经皮经肝胆道穿

刺引流、内镜下支架置入是恶性胆道梗阻常见治疗方式, 其中经内镜下逆行胰胆管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)和经皮肝穿刺胆道引流术(percutaneous transhepatic cholangial drainage, PTCD)两种途径较为常见。本文分析PTCD与ERCP两种途径的优劣, 对于提高恶性胆道梗阻疗效有重要意义。

### 实验动机

本文主要对恶性胆道梗阻患者进行ERCP与PTCD两种途径的胆道金属支架置入治疗, 分析上述两种方式对患者肝功能、黄疸的影响。通过开展本研究, 能够准确的了解恶性胆道梗阻患者临床最佳治疗方式, 为提高患者预后同时降低患者医疗支出有重要意义。

### 实验目标

通过ERCP与PTCD两种途径胆道金属支架置入治疗结果的统计, 发现ERCP与PTCD两种途径各自的优劣, 总结两种途径的适应症, 为降低临床手术的并发症、提高手术安全性有积极意义。

### 实验方法

本文通过回顾性收集的方式, 对ERCP、PTCD两种方式治疗的患者进行总结分析, 应用SPSS统计学软件, 对患者手术效果、并发症及生存时间进行分析, 基于现有资料能够更真实的反应患者在两种不同手术治疗下的结果差异, 研究不确定性更低。

### 实验结果

本文已达到预设研究目的, 通过实验结果, 本文表明ERCP与PTCD两种途径的胆道金属支架置入治疗疗效无差异, 但ERCP在安全性方面更优于PTCD。

### 实验结论

本研究中, 经PTCD与ERCP途径治疗恶性胆道梗阻均获取满意效果, 两者均可作为治疗恶性胆道梗阻的有效措施。较PTCD, ERCP住院时间短、住院费用低且并发症发生率低, ERCP具有并发症少、痛苦小、无胆盐丢失、住院时间短等优势, 其属微创介入手段。临床在对恶性胆道梗阻患者行手术治疗时应严格掌握PTCD与ERCP的适应症, 但ERCP的实施对患者身体素质要求高, 对于部分合并重度高血压、严重的心肺衰竭、重症休克等严重情况者不适合使用。对于肝门部胆管癌导致的恶性胆道梗阻患者, 在考虑适应症符合的基础上可以选择较为简单的PTCD术式。

### 展望前景

本研究纳入样本量偏小、未分析两组手术失败案例原

因, 后期仍需加大样本量开展前瞻性研究, 发现研究过程中的不足, 为患者制定个性化手术方案, 从而提高患者预后。

### 参考文献

- 1 周琳 李敬东 李强 胡颖 刘健. 超声引导下经皮肝穿刺胆道引流术在治疗恶性梗阻性黄疸中的应用价值. 实用医院临床杂志 2017; 14: 9-11 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-6170.2017.03.003]
- 2 陈挺松, 李淑英. 恶性胆道梗阻经皮肝穿综合治疗. 临床军医杂志 2017; 45: 881-883 [DOI: 10.16680/j.1671-3826.2017.09.01]
- 3 沙俊峰, 安建立, 牛洪涛. 经皮肝穿刺胆道内射频消融联合胆道支架治疗恶性胆道梗阻的效果评价. 实用临床医药杂志 2017; 21: 133-134 [DOI: 10.7619/jcmp.201703041]
- 4 Park JK, Woo YS, Noh DH, Yang JI, Bae SY, Yun HS, Lee JK, Lee KT, Lee KH. Efficacy of EUS-guided and ERCP-guided biliary drainage for malignant biliary obstruction: prospective randomized controlled study. *Gastrointest Endosc* 2018; 88: 277-282 [PMID: 29605722 DOI: 10.1016/j.gie.2018.03.015]
- 5 闻瑜, 王敏荣, 许明辉, 郝建宏. 内镜下胆管金属支架引流术治疗恶性胆道梗阻的疗效观察. 中国医师杂志 2016; 18: 910-913 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1008-1372.2016.06.032]
- 6 黄平, 张筱凤, 张皞, 范震, 吕文, 黄海涛, 楼颂梅, 王霞. 超声内镜下胆道引流治疗逆行胰胆管造影失败的恶性梗阻性黄疸. 中华肝胆外科杂志 2016; 22: 464-467 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2016.07.010]
- 7 Dhir V, Itoi T, Khashab MA, Park DH, Yuen Bun Teoh A, Attam R, Messallam A, Varadarajulu S, Maydeo A. Multicenter comparative evaluation of endoscopic placement of expandable metal stents for malignant distal common bile duct obstruction by ERCP or EUS-guided approach. *Gastrointest Endosc* 2015; 81: 913-923 [PMID: 25484326 DOI: 10.1016/j.gie.2014.09.054]
- 8 武中林, 李顺宗, 杨光, 谷铁树, 吴勇超, 荣小翠, 李智岗. 超声引导肝内胆管穿刺在老年高位恶性胆道梗阻中的应用. 中国介入影像与治疗学 2017; 14: 365-369 [DOI: 10.13929/j.1672-8475.201611007]
- 9 蒋孙路, 黄强, 翟东升. 经内镜逆行胰胆管造影术和经皮肝穿刺胆道引流术治疗恶性梗阻性黄疸的疗效对比. 中国内镜杂志 2018; 24: 75-79 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2018.01.015]
- 10 李文龙. 经皮肝穿刺胆道支架置入术治疗恶性胆道梗阻性黄疸的临床效果研究. 肝胆外科杂志 2015; 23: 367-369
- 11 吴刚. 经皮肝穿刺胆道支架置入术治疗恶性胆道梗阻性黄疸的临床疗效. 中国现代普通外科进展 2017; 20: 555-557 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-9905.2017.07.015]
- 12 危安, 陈红天, 刘亮. 超声造影在低位胆道梗阻诊断中的应用价值. 医学临床研究 2016; 33: 45-48 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-7171.2016.01.015]
- 13 张汉洋, 庄志彬. 经皮肝穿刺胆管引流术联合金属支架置入姑息性治疗恶性胆道梗阻的效果分析. 中国普通外科杂志 2015; 24: 1145-1149 [DOI: 10.3978/j.issn.1005-6947.2015.08.018]
- 14 戚蕾, 薛苏阳, 庄树武, 李佳睿. 胆道支架联合经皮肝穿刺胆管引流术治疗恶性梗阻性黄疸的临床疗效. 中国老年学杂志 2016; 36: 4250-4251 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-9202.2016.17.056]
- 15 张小坚, 张联合, 张士良, 李东燕. 经内镜逆行胰胆管造影术与经皮肝穿刺胆道引流术治疗恶性梗阻性黄疸的比较. 中华全科医学 2016; 14: 575-577 [DOI: 10.16766/j.cnki.issn.1674-4152.2016.04.020]
- 16 陈磊, 吴益峰, 蒋存兵, 陈明良, 李定耀. 经ERCP胆道金属支架植入治疗不可切除肝外胆道恶性梗阻的安全性及疗效评价. 中国内镜杂志 2018; 24: 27-31 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2018.03.006]
- 17 许哲, 王珍, 李焕祥. 经ERCP置入胆道金属支架与PTCD治疗老年肝外胆道恶性梗阻患者临床疗效比较. 实用肝脏病杂志 2019; 22: 276-279 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5069.2019.02.031]
- 18 刘军, 陈超伍, 陈娟, 邓登豪, 陈娣, 鲁帮巧, 陆玲波. 经内镜逆行胰胆管造影术导丝辅助胆道活检技术在胆道恶性梗阻中的临床应用. 中国内镜杂志 2016; 22: 57-60 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.



- 2016.05.012]
- 19 Dhir V, Itoi T, Khashab MA, Park DH, Yuen Bun Teoh A, Attam R, Messallam A, Varadarajulu S, Maydeo A. Multicenter comparative evaluation of endoscopic placement of expandable metal stents for malignant distal common bile duct obstruction by ERCP or EUS-guided approach. *Gastrointest Endosc* 2015; 81: 913-923 [PMID: 25484326 DOI: 10.1016/j.gie.2014.09.054]
- 20 唐锐, 隋璐璐, 徐刚, 张桐, 刘小方. 不同姑息减黄方式对晚期恶性梗阻性黄疸病人免疫功能的影响. *临床外科杂志* 2017; 25: 919-922 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-6483.2017.12.012]
- 21 赵颖, 陆雷, 吴建伟, 王轩. 经皮经肝胆道支架置入及胆管引流治疗恶性梗阻性黄疸的临床分析. *东南国防医药* 2018; 20: 244-249 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-271X.2018.03.006]
- 22 蒋孙路, 黄强, 翟东升. 经内镜逆行胰胆管造影术和经皮肝穿刺胆道引流术治疗恶性梗阻性黄疸的疗效对比. *中国内镜杂志* 2018; 24: 75-79 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1989.2018.01.015]
- 23 卜苑雯, 孙蓉. 两种途径介入治疗低位胆道恶性梗阻的效果分析. *贵州医药* 2018; 42: 61-63 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-744X.2018.01.024]
- 24 孙敏志, 徐阿曼, 袁笑, 阮怀军, 曹伟. PTCD与胆肠内引流术治疗恶性梗阻性黄疸的临床分析. *肝胆外科杂志* 2018; 26: 191-194 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-4761.2018.03.012]
- 25 张鹏飞, 闫军. ERCP胆道取石后不同时段行LC治疗胆结石的疗效分析. *山西医科大学学报* 2018; 49: 284-286 [DOI: 10.13753/j.issn.1007-6611.2018.03.015]
- 26 Khashab MA, Valeshabad AK, Afghani E, Singh VK, Kumbhari V, Messallam A, Saxena P, El Zein M, Lennon AM, Canto MI, Kalloo AN. A comparative evaluation of EUS-guided biliary drainage and percutaneous drainage in patients with distal malignant biliary obstruction and failed ERCP. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 557-565 [PMID: 25081224 DOI: 10.1007/s10620-014-3300-6]
- 27 杨卓, 高峰, 麻树人. ERCP诊疗进展及热点. *医学与哲学* 2016; 37: 8-10 [DOI: 10.12014/j.issn.1002-0772.2016.03b.03]
- 28 Lenze F, Meister T, Matern P, Heinzow HS, Domschke W, Ullerich H. Single-balloon enteroscopy-assisted endoscopic retrograde cholangiopancreatography in patients with surgically altered anatomy: higher failure rate in malignant biliary obstruction - a prospective single center cohort analysis. *Scand J Gastroenterol* 2014; 49: 766-771 [PMID: 24694357 DOI: 10.3109/00365521.2014.904397]
- 29 金壮, 曹军英, 张筠, 蔡惠红, 里子戔. 超声引导下PTCD与ERCP联合治疗恶性梗阻性黄疸十例. *介入放射学杂志* 2015; 25: 223-225 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-794X.2015.03.11]
- 30 赵亚军, 赵旭辉, 王成, 魏忠, 戴寅, 虞炜, 权蕊良. 经ERCP胆道支架置入术联合碘125粒子植入治疗恶性梗阻性黄疸的临床应用. *肝胆外科杂志* 2015; 23: 289-291

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 外伤后以囊内出血为首发症状的胃囊肿一例及文献回顾

吴川林, 汝贝贝, 侯国方, 徐铂然, 杜祖超, 孙 备, 白雪巍

吴川林, 汝贝贝, 侯国方, 徐铂然, 杜祖超, 孙备, 白雪巍, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科 黑龙江省哈尔滨市 150000

吴川林, 研究生, 主要从事普外科相关疾病的研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81470887.

作者贡献分布: 本文写作由吴川林完成; 汝贝贝、侯国方、徐铂然及杜祖超参与资料收集和整理; 孙备与白雪巍审核.

通讯作者: 白雪巍, 副教授, 副主任医师, 150000, 黑龙江省哈尔滨市南岗区邮政街33号, 哈尔滨医科大学附属第一医院胰胆外科. [baixuewei78@outlook.com](mailto:baixuewei78@outlook.com)  
电话: 0451-85555734

收稿日期: 2019-05-08

修回日期: 2019-06-27

接受日期: 2019-08-02

在线出版日期: 2019-08-28

### Gastric duplication cyst with internal hemorrhage after trauma: A case report and literature review

Chuan-Lin Wu, Bei-Rei Ru, Guo-Fang Hou, Bo-Ran Xu, Zu-Chao Du, Bei Sun, Xue-Wei Bai

Chuan-Lin Wu, Bei-Rei Ru, Guo-Fang Hou, Bo-Ran Xu, Zu-Chao Du, Bei Sun, Xue-Wei Bai, Department of Pancreatic and Biliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 33 Youzheng Street, Nangang District, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81470887.

Corresponding author: Xue-Wei Bai, Associate Professor, Associate Chief Physician, Department of Pancreatic and Biliary Surgery, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 33 Youzheng Street, Nangang District, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China. [baixuewei78@outlook.com](mailto:baixuewei78@outlook.com)

Received: 2019-05-08

Revised: 2019-06-27

Accepted: 2019-08-02

Published online: 2019-08-28

### Abstract BACKGROUND

Gastric duplication cyst (GDC) is a special type of digestive tract cyst, which occurs mostly in infants and young children. The cyst wall is similar to the stomach wall and mainly consists of gastric mucosa and smooth muscle tissue.

### CASE SUMMARY

Here we report a case of GDC with internal hemorrhage. This patient had severe abdominal pain after trauma. Based on her medical history and related examinations, she was misdiagnosed with hepatic cyst with internal hemorrhage. Intraoperative exploration revealed that the base of the cyst was located on the large curved side of the stomach.

### CONCLUSION

The clinical symptoms of GDC are untypical, and it is easy to misdiagnose. The preoperative diagnosis is mainly based on imaging examination and surgery is the main therapy method.

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

Key Words: Gastric duplication cyst; Hemorrhage; Diagnosis; Surgery; Case report

Wu CL, Ru BR, Hou GF, Xu BR, Du ZC, Sun B, Bai XW. Gastric duplication cyst with internal hemorrhage after trauma: A case report and literature review. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(16): 1035-1040

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1035.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.1035>

## 摘要

### 背景

胃囊肿(gastric duplication cysts, GDCs)是一种特殊的消化道囊肿,多发于婴幼儿时期,囊肿壁与胃壁相似,主要含有胃黏膜和平滑肌组织。

### 病例概述

本文报道1例GDCs囊内出血病例。本例患者外伤后突发腹部剧烈疼痛,结合其病史及相关检查术前曾误诊为肝囊肿囊内出血,术中探查发现囊肿基底部位于胃大弯侧。

### 结论

GDCs临床症状不典型,易误诊,其术前诊断主要依据影像学检查,以手术治疗为主。

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

关键词: 胃囊肿; 出血; 诊断; 手术治疗; 病例报告

**核心提要:** 胃囊肿作为一种罕见的消化道疾病,多发于婴幼儿时期,囊肿壁与胃壁相似,主要含有胃黏膜和平滑肌组织。其临床症状不典型,易误诊,其术前诊断主要依据影像学检查,以手术治疗为主。

吴川林, 汝贝贝, 侯国方, 徐铂然, 杜祖超, 孙备, 白雪巍. 外伤后以囊内出血为首发症状的胃囊肿一例及文献回顾. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 1035–1040

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1035.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1035>

## 0 引言

胃囊肿,又称胃重复囊肿(gastric duplication cysts, GDCs),是一种特殊类型的消化道囊肿。囊肿壁和胃壁相似,存在肌层、黏膜层和腺体,并可分泌胃液。本院收治的1例GDCs患者,因其外伤后突发腹痛,误诊为“肝囊肿囊内出血”行手术治疗,术中明确诊断。在反思此病例的诊治过程并查阅相关文献后,我们小结如下,希望有助于提高这种罕见疾病的临床诊断及治疗。

## 1 病例报告

患者,女,55岁,因外伤后上腹部持续性疼痛3 h急诊入院。入院后疼痛无缓解,无恶心、呕吐,无呕血、黑便。查体:右上腹饱满,可触及质软肿物,触痛明显。血常规、肝功、肾功等实验室检查未见明显异常。腹部超声示:肝胰间可见大小约12 cm×12 cm囊性无回声区,其间可见分隔,囊内回声不均。腹部电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)示:右侧中上腹肝胃之间巨大

不规则肿物,边界清楚,病灶内密度均匀;但与患者8 mo前曾诊断为“肝囊肿”的CT片进行对比,发现囊肿体积增大、囊液密度增高(图1)。病人近一年内胃镜检查报告正常,自述“肝囊肿”病史多年。

## 2 最后诊断

根据患者病史及影像学检查诊断为肝囊肿囊内出血、局限性腹膜炎。

## 3 治疗

患者经非手术治疗6 h后,症状无明显缓解,因腹痛加剧要求手术治疗,遂于全麻下行剖腹探查。上腹正中切口,入腹后发现右上腹巨大囊性肿物,位于肝左外叶下方与胃前壁之间,被大网膜包裹(图2A);肿物与周围组织界限清楚,无粘连,仔细分离后见其基底部位于胃大弯侧,呈外生性生长,大小约14 cm×12 cm;肿物呈多囊状,形态饱满,表面张力大,囊内充满暗红色血性液体(图2B和C)。术中诊断为胃囊性占位,更改术式为胃部分切除术,以直线切割闭合器在胃大弯侧切除部分与肿物相连的胃组织,整块移除标本(图2D),大弯侧断面缝合加固,术程顺利,耗时2 h,出血量约50 mL。

## 4 结果和随访

患者术后恢复顺利,无并发症,7 d后痊愈出院。病理回报为“GDCs”(图3)。根据术中探查及病理结果修正诊断为“GDCs囊内出血”。术后随访1年,患者一般状态可,无腹痛等症状。

## 5 讨论

GDCs是一种罕见的消化道疾病。笔者在查阅相关文献后共收集31例GDCs病例供临床参考<sup>[1-22]</sup>(表1)。其中男患13例,女患17例。年龄为早期新生儿至73岁不等。除4例患者无任何症状外<sup>[3,5,6,22]</sup>,其余患者均出现腹痛、呕吐等症状。本组收集病例主要行X线、CT、磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)、核素扫描及超声内镜检查术(endoscopic ultrasonography, EUS)等影像学检查。除3例选择非手术治疗外<sup>[7,8,21]</sup>,其余27例患者均行手术治疗,术后效果满意;其中25例术后病理为良性,2例术后病理诊断为恶性,分别于术后6、7 mo后出现转移<sup>[12,13]</sup>。据相关文献报道,GDCs多发于婴幼儿期,约67%的患者在出生后一年内即可发现<sup>[7]</sup>。甚至在Ren等<sup>[5]</sup>报道病例中,有1例GDCs患者通过产前检查而被发现。目前认为GDCs是一种在胚胎时期发育不良所致的先天性疾病。关于GDCs的发病机制主要包括:胚胎期长期憩室形成假说(the persistence of fetal gut diverticula)、持续性空泡形成假说(the persistent vacuolation theory)及脊



表 1 文献病例资料

文献	年龄	性别	临床表现	相关检查	术前诊断	部位	病理	术式
Makhija等 <sup>[1]</sup>	3岁	男	腹痛, 咯血	X线CT MRI	—	胃大弯	胃囊肿	囊肿切除
Passos等 <sup>[2]</sup>	38岁	男	腹痛	X线CT MRI EUS	胰腺肿物	胃大弯	胃黏膜	囊肿切除
Gagné等 <sup>[3]</sup>	52岁	女	无	CT EUS	—	胃底	胃黏膜	囊肿切除
Ladd等 <sup>[4]</sup>	2 mo <sup>1</sup>	女	呕吐	X线核素扫描超声	Meckel憩室	回肠末端	胃黏膜	肠切除肠吻合
Ren等 <sup>[5]</sup>	1 h <sup>1</sup>	男	流涎, 呼吸困难	X线超声	食管闭锁	胃大弯	胃黏膜	囊肿切除
	1 d <sup>1,2</sup>	女	呕吐	X线超声	—	贲门	胃黏膜	囊肿切除
	26 d <sup>1</sup>	女	呕吐	X线CT MRI超声	胆总管囊肿	幽门	胃黏膜	囊肿切除
	28 d <sup>1,2</sup>	女	无	X线CT MRI超声	胃囊肿	幽门	胃黏膜	囊肿切除
	14岁 <sup>1</sup>	男	呕吐	X线超声	胃囊肿	贲门	胃黏膜	囊肿切除
Balakrishnan等 <sup>[6]</sup>	5岁 <sup>1</sup>	女	呕吐, 腹痛	CT	—	胃大弯	胃黏膜	囊肿切除
	2岁 <sup>1</sup>	男	无	超声	—	贲门	胃黏膜	囊肿切除, 部分胃切除
	10岁 <sup>1</sup>	女	腹痛	MRI	—	贲门	胃黏膜	囊肿切除
	9岁 <sup>1</sup>	男	呕吐, 腹痛	MRI	—	胃小弯	胃黏膜	囊肿切除
	12岁 <sup>1</sup>	男	腹痛	CT	—	胃底	胃黏膜	囊肿切除
Bhatti等 <sup>[7]</sup>	61岁	男	餐后恶心	CT EUS	胃囊肿	—	—	胃镜引导下抽吸囊液
Blinder等 <sup>[8]</sup>	26岁	女	腹痛	X线胃镜	—	—	—	药物治疗
Yang等 <sup>[9]</sup>	30岁 <sup>1</sup>	女	腹痛	CT超声	—	—	胃黏膜, 胰腺组织	部分胃切除
							胃黏膜, 支气管黏膜	囊肿切除
Leopalao等 <sup>[10]</sup>	29岁	女	腹痛	CT	—	胃大弯	胃黏膜	胃大部切除术
Lewitowicz等 <sup>[11]</sup>	73岁	女	腹痛, 呕血, 黑便	胃镜	—	—	胃黏膜	胃大部切除术
Barussaud等 <sup>[12]</sup>	67岁	女	体重下降, 腹部肿块	CT超声	—	—	腺癌	胃癌根治术
			发热				腺癌	胃部分切除术, 胆囊切除术
Kuraoka等 <sup>[13]</sup>	40岁	女	腹痛, 恶心, 呕吐	CT超声	脾囊肿	—	腺癌	胃大部切除术
Doepker等 <sup>[14]</sup>	28岁	女	腹痛, 恶心, 呕吐	CT EUS	胃囊肿	幽门	胃黏膜, 胰腺组织	胃大部切除术
Yoda等 <sup>[15]</sup>	24岁	男	餐后腹痛	CT MRI EUS	—	—	胃黏膜	胃大部切除术
Qinghua等 <sup>[16]</sup>	1 mo	女	呕吐, 高热	超声X线	—	胃大弯	胃黏膜	囊肿切除术
Takazawa等 <sup>[17]</sup>	2 mo <sup>1</sup>	男	呕吐	超声X线MRI	胃囊肿	胃大弯	胃黏膜	囊肿切除
顾剑峰等 <sup>[18]</sup>	36岁	男	腹痛, 恶心	超声	阑尾切除术后	回盲部	肠黏膜	肠切除肠吻合
					残株炎	—	—	—
廖宗源等 <sup>[19]</sup>	65岁	男	进食困难	CT EUS	—	贲门	胃囊肿	近端胃切除, 胃食管吻合
钟小军等 <sup>[20]</sup>	8岁	男	胸痛	X线CT	神经源性肿瘤	后纵膈	胃囊肿	囊肿切除
黄志刚等 <sup>[21]</sup>	39岁	女	腹痛	CT超声EUS	胃囊肿	—	—	胃镜引导下抽吸囊液
万厚民等 <sup>[22]</sup>	71岁	女	无	CT超声	—	胃小弯	纤毛柱状上皮, 平滑肌	囊肿切除

<sup>1</sup>腹腔镜手术; <sup>2</sup>产前发现. CT: 电子计算机断层扫描; MRI: 磁共振成像; EUS: 超声内镜检查术.

索分裂理论(the presence of separation of endoderm and notochord), 然而这些解释都未能完美的阐述GDCs的具体发病机制<sup>[8]</sup>.

GDCs囊壁与胃壁相似, 主要含有胃黏膜和平滑肌组织, 甚至还存在胰腺和支气管黏膜等其他组织<sup>[9,10,14,22]</sup>. Ren等<sup>[5]</sup>认为GDCs在病理学上具有以下特点: (1) GDCs壁与胃壁相连; (2) GDCs周围覆以平滑肌组织; (3) GDCs与胃肠道存在共同的血液供应; (4) GDCs与消化道相邻, 囊腔与消化道管腔存在着相通或相互隔离的关系. 根据

最后一点可将GDCs分为管型GDCs和球型GDCs, 囊肿腔与胃腔相通者则称为管型GDCs, 与胃腔互不相通者则称为球型GDCs. GDCs主要发生于胃大弯处, 而发生于胃小弯、贲门、幽门等其他部位则相对少见<sup>[8]</sup>. 此外, GDCs还可发生于小肠、结肠和纵膈等胃外组织器官内. 本次报道病例即为发生于胃大弯处的球型GDCs, 其镜下可见平滑肌等组织.

临床上, GDCs的症状无明显特异性, 主要与囊肿大小及部位相关. GDCs较小时, 患者可无任何症状, 或者

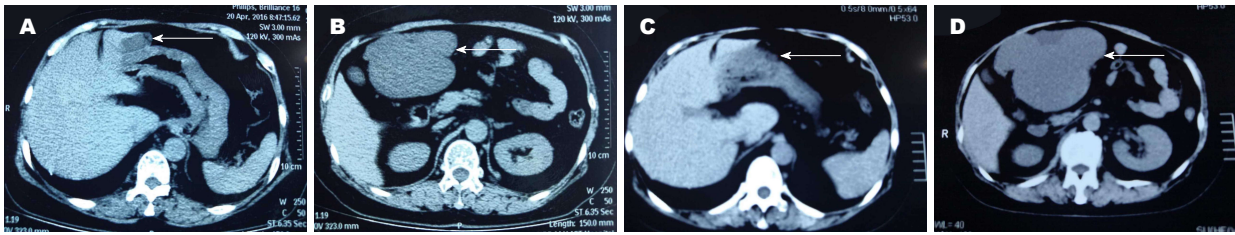


图 1 腹部电子计算机断层扫描前后变化。A、B: 8 mo前平扫电子计算机断层扫描(computed tomography, CT)检查可见右上腹肝胃间可见巨大囊性肿物(红色箭头所示); C、D: 本次平扫CT检查结果显示囊肿较8 mo前体积增大, 囊液密度增高(红色箭头所示)。

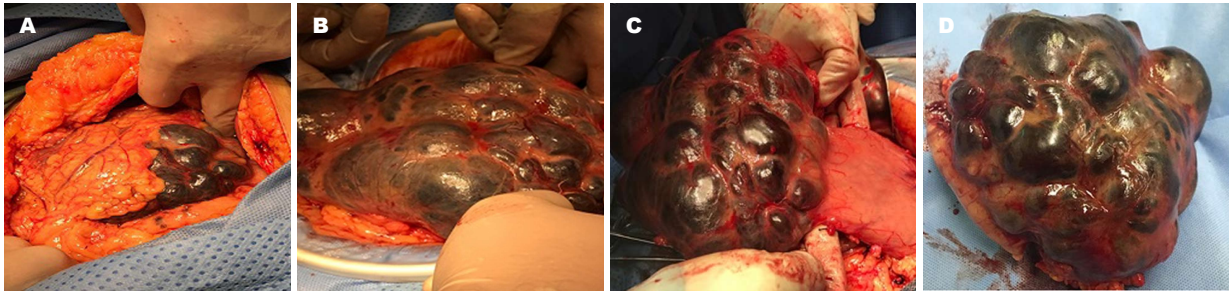


图 2 术中可见腹腔巨大囊肿。A: 进腹后见巨大囊性肿物; B: 囊肿呈多房性, 囊内充满暗红色血液液体; C: 囊肿底部与大弯侧相连; D: 将与囊肿相连的部分胃组织整块切除。

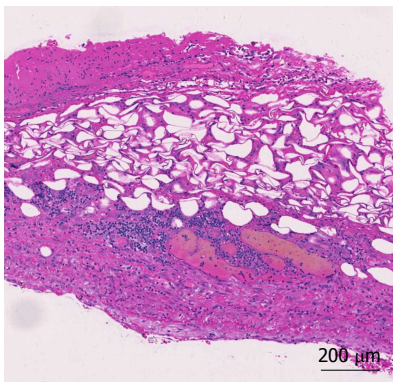


图 3 术后病理检查结果。镜下可见平滑肌组织和淋巴细胞, 其内可见血管结构(HE染色, 200 ×)。

出现轻微的腹部不适, 而囊肿逐渐增大后可引起机械性梗阻或压迫症状。当囊肿发生于食管时可导致进食困难, 甚至可压迫呼吸道引起呼吸困难等症状; 若囊肿发生于胃内, 患者可出现恶心、呕吐、腹痛、腹胀、食欲不振及消化不良等症状; 发生于小肠及结肠内的GDCs则可导致机械性梗阻。有时囊腔内压力过大而导致囊肿破裂出血时, 患者可表现为消化道大出血等症状<sup>[11]</sup>。本次病例报道中, 患者因囊内出血囊腔压力过大而出现腹部持续性剧烈疼痛, 此时亦存在囊肿破裂出血的风险。此外, GDCs的并发症还包括: 感染、出血、溃疡、穿孔、瘘道形成, 甚至癌变。如Barussaud等<sup>[12]</sup>和Kuraoka等<sup>[13]</sup>报道的两例病例中, 术后病理回报均为腺癌。本组资料中

GDCs的恶变率为6%, 应引起外科医生的重视, 如病人一般状态良好、无明确手术禁忌征, 手术治疗是一种积极稳妥的选择。

上消化道造影、CT、MRI、核素扫描、超声、内镜和EUS等影像学方法有助于GDCs的术前诊断。由于管型GDCs与胃腔相通, 上消化道造影可能是发现管型GDCs最便捷的检查。在Blinder等<sup>[8]</sup>报道病例中, 患者正是通过上消化道造影检查而被诊断为管型GDCs。然而, 对于球型GDCs而言, CT的作用则显得尤为重要, 它不仅可以发现囊肿, 还能评估囊肿的大小以及与周围脏器的关系<sup>[23]</sup>。而且CT检查能够根据囊液的CT值判断出囊内情况, 在本病例中, 正是经过对比患者两次的CT检查结果而发现囊内出血。由于胃黏膜能特异性摄取和分泌<sup>99m</sup>TcO<sub>4</sub><sup>-</sup>, 核医学影像表现为异位胃黏膜部位出现异常放射性浓聚, 据此可检出GDCs的异位胃黏膜, 因此核素扫描检查对于GDCs具有特殊的诊断意义<sup>[24]</sup>。此外, 由于EUS能够清晰地分辨出消化道管壁的各个层次, 较准确地判断出其病变部位, 并根据病变部位的回声性质对其作出诊断, 尤其是在鉴别诊断消化道壁内和壁外病变时具有重要意义。EUS引导下还能对囊肿行细针穿刺活检确定囊肿壁性质。因此在诊断GDCs时, EUS具有较高的诊断价值。然而, 由于GDCs缺乏特异性的临床症状及体征, 当其生长较大且对周围组织器官产生推挤和压迫时, 单纯依靠术前影像学诊断方法很难准确判断出其



起源,有时容易误诊为肝囊肿、淋巴管囊肿、胰腺囊性肿物、胆总管囊肿和脾脏囊肿等常见的腹腔囊性疾病<sup>[2,5,13]</sup>。本例患者由于急诊入院,未能完善EUS检查,仅根据术前CT检查结果而误诊为肝囊肿囊内出血。

随着囊液的不分泌, GDCs逐渐增大,可出现相应的临床症状,如未及时治疗,可诱发感染、穿孔、出血等严重并发症,甚至癌变<sup>[12,13]</sup>。如病人一般状态良好、无明确的手术禁忌征,应积极地进行外科干预。治疗方法包括:内镜下穿刺引流、腹腔镜或胸腔镜探查和开放性的手术治疗。内镜下穿刺引流损伤最小,适合年老体弱或暂时无法耐受手术的病人,可通过引流缓解GDCs造成的压迫或梗阻症状,但存在引流不畅、囊肿继续生长或癌变的风险。腹腔镜或胸腔镜探查不仅可以明确诊断,还可以对一些解剖结构清晰、体积较小的GDCs病灶直接进行切除;主要应用于儿童期及青少年阶段发现的GDCs的治疗。而对于一些囊肿体积较大、已经出现相关并发症或不排除病灶已经癌变的患者,传统的开腹手术比较积极、稳妥;能够最大限度的保留脏器功能,避免毗邻脏器的损伤,根据术中病理结果适时行根治性手术,并降低胃漏、肠漏、胰瘘、胆漏和腹腔感染等术后并发症。

## 6 结论

GDCs外伤后发生囊内出血在消化道囊性疾病中十分罕见。希望借此病例报道和相关文献分析,能够提高消化外科医生对GDCs的诊断意识,减少此类疾病的误诊。我们建议在明确GDCs诊断后,应选择适当方式进行积极的外科干预。

## 7 参考文献

- Makhija D, Shah H, Tiwari C, Jayaswal S. Gastric duplication cyst with hemoptysis: an unusual presentation. *Turk Pediatri Ars* 2018; 53: 255-258 [PMID: 30872929 DOI: 10.5152/TurkPediatriArs.2018.4176]
- Passos ID, Chatzoulis G, Miliadis K, Tzoi E, Christoforakis C, Spyridopoulos P. Gastric duplication cyst (gdc) associated with ectopic pancreas: Case report and review of the literature. *Int J Surg Case Rep* 2017; 31: 109-113 [PMID: 28131064 DOI: 10.1016/j.ijscr.2017.01.033]
- Gagné A, Sazonova O, Marceau S, Périgny M, Joubert P. A Foregut Duplication Cyst of the Stomach in Association with a Gastrointestinal Stromal Tumor and a Leiomyoma: A Case Report. *Case Rep Pathol* 2016; 2016: 1537240 [PMID: 28097030 DOI: 10.1155/2016/1537240]
- Ladd MR, Garcia AV, Allison DB, Lukish JR. Intraluminal Meckel's Duplication Cyst Causing Bowel Obstruction in an Infant: A Role for Laparotomy. *Case Rep Pediatr* 2016; 2016: 4717403 [PMID: 27818823 DOI: 10.1155/2016/4717403]
- Ren HX, Duan LQ, Wu XX, Zhao BH, Jin YY. Laparoscopic resection of gastric duplication cysts in newborns: a report of five cases. *BMC Surg* 2017; 17: 37 [PMID: 28403863 DOI: 10.1186/s12893-017-0234-x]
- Balakrishnan K, Fonacier F, Sood S, Bamji N, Bostwick H, Stringel G. Foregut Duplication Cysts in Children. *JSLs* 2017; 21 [PMID: 28642639 DOI: 10.4293/JSLs.2017.00017]
- Bhatti ZS, Anderson MA, Wasnik AP. Complete gastric duplication in an adult with associated anomalies. *Clin Imaging* 2016; 40: 244-246 [PMID: 26995580 DOI: 10.1016/j.clinimag.2015.11.016]
- Blinder G, Hiller N, Adler SN. A double stomach in an adult. *Am J Gastroenterol* 1999; 94: 1100-1102 [PMID: 10201493 DOI: 10.1111/j.1572-0241.1999.1024\_c.x]
- Yang DM, Kim HC, Choi SI, Lim SJ. Sonographic diagnosis of gastric duplication cyst communicating with the gastric lumen. *J Clin Ultrasound* 2011; 39: 550-552 [PMID: 21538375 DOI: 10.1002/jcu.20828]
- Leopalao M, Wernberg J. Multiple Bronchogenic and Gastroenteric Cysts Arising from the Stomach in a Patient with Abdominal Pain. *Case Rep Surg* 2015; 2015: 601491 [PMID: 26246929 DOI: 10.1155/2015/601491]
- Lewitowicz P, Matykiewicz J, Koziel D, Gluszek SZ, Sosnowski Z, Horecka-Lewitowicz A, Nasierowska-Guttmejer A. Gastric gastrointestinal stromal tumor with incomplete duplication cyst - a case with possibility of neoplasia in fetal-period malformed tissues. *Pol J Pathol* 2015; 66: 86-91 [PMID: 26017886 DOI: 10.5114/pjp.2015.51159]
- Barussaud ML, Meurette G, Cassagnau E, Dupasc B, Le Borgne J. Mixed adenocarcinoma and squamous cell carcinoma arising in a gastric duplication cyst. *Gastroenterol Clin Biol* 2008; 32: 188-191 [PMID: 18496895 DOI: 10.1016/j.gcb.2008.01.014]
- Kuraoka K, Nakayama H, Kagawa T, Ichikawa T, Yasui W. Adenocarcinoma arising from a gastric duplication cyst with invasion to the stomach: a case report with literature review. *J Clin Pathol* 2004; 57: 428-431 [PMID: 15047751 DOI: 10.1136/jcp.2003.013946]
- Doepker MP, Ahmad SA. Gastric duplication cyst: a rare entity. *J Surg Case Rep* 2016; 2016 [PMID: 27150283 DOI: 10.1093/jscr/rjw073]
- Yoda T, Furihata M, Nagao S, Wada T. An Adult Gastric Duplication Cyst Mimicking a Gastrointestinal Stromal Tumor. *Intern Med* 2016; 55: 2401-2404 [PMID: 27580540 DOI: 10.2169/internalmedicine.55.6402]
- Qinghua L, Shoucai W, Xiaofang L, Xincun Z, Lili M. Ultrasonographic diagnosis of congenital membranous jejunal stenosis and gastric duplication cyst in a newborn: a case report. *J Med Case Rep* 2015; 9: 162 [PMID: 26215850 DOI: 10.1186/s13256-015-0644-2]
- Takazawa S, Uchida H, Kawashima H, Tanaka Y, Sato K, Jimbo T, Iwanaka T. Laparoscopic partial gastrectomy of a huge gastric duplication cyst in an infant. *Nagoya J Med Sci* 2015; 77: 291-296 [PMID: 25797994 DOI: 10.18999/nagjms.77.1-2.291]
- 顾剑峰. 肠道重复畸形误诊阑尾炎一例. *中华胃肠外科杂志* 2006; 9: 516 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0274.2006.06.029]
- 廖宗源. 成人胃壁内囊肿1例报道. *中国普外基础与临床杂志* 2015; [DOI: 10.7507/1007-9424.20150072]
- 钟小军, 张利民, 宋平平, 刘希斌. 后纵隔胃囊肿一例. *中华外科杂志* 2005; 43: 478-479 [DOI: 10.3760/j.issn.0529-5815.2005.07.023]
- 黄志刚, 王兴鹏. 胃囊肿1例. *世界华人消化杂志* 2000; 8: 960 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2000.08.051]
- 万厚民, 王静. 胃壁支气管源性囊肿1例. *中国实用外科杂志* 2008; 24: 1005 [DOI: 10.3321/j.issn.1005-2208.2008.11.039]
- Liaqat N, Latif T, Khan FA, Iqbal A, Nayyar SI, Dar SH. Enteric duplication in children: A case series. *Afr J Paediatr Surg* 2014; 11: 211-214 [PMID: 25047310 DOI: 10.4103/0189-6725.137327]
- Kumar R, Tripathi M, Chandrashekar N, Agarwala S, Kumar



A, Dasan JB, Malhotra A. Diagnosis of ectopic gastric mucosa using  $^{99}\text{Tcm}$ -pertechnetate: spectrum of scintigraphic findings.

*Br J Radiol* 2005; 78: 714-720 [PMID: 16046423 DOI: 10.1259/bjr/16678420]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## 更正 “ERO1 $\alpha$ 介导同型半胱氨酸诱导的肝细胞内质网应激” [世界华人消化杂志2014; 22(34): 5228–5234]

周龙霞, 杨安宁, 陈久凯, 赵丽, 王艳华, 刘现梅, 蔡欣, 张鸣号, 姜怡邓, 曹军

周龙霞, 杨安宁, 刘现梅, 张鸣号, 姜怡邓, 曹军, 宁夏医科大学基础医学院病理学与病理生理学系 宁夏回族自治区银川市 750004

陈久凯, 赵丽, 王艳华, 蔡欣, 宁夏医科大学检验学院临床检验诊断学教研室 宁夏回族自治区银川市 750004

周龙霞, 在读硕士, 主要从事心血管病理生理的研究.

基金项目: 国家自然科学基金, Nos. 81260063, 81360073.

作者贡献分布: 此课题由曹军与姜怡邓共同设计; 实验由周龙霞、赵丽、蔡欣及刘现梅完成; 数据整理与分析由杨安宁、周龙霞、陈久凯及王艳华完成; 论文撰写由周龙霞、杨安宁及曹军完成; 实验监督由张鸣号完成.

通讯作者: 曹军, 教授, 750004, 宁夏回族自治区银川市兴庆区胜利南街1160号, 宁夏医科大学基础医学院病理学与病理生理学系. jwcjyd@163.com  
电话: 0951-6980998

收稿日期: 2019-05-20

修回日期: 2019-08-02

接受日期: 2019-08-19

在线出版日期: 2019-08-28

**Corrigendum to “Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J. Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1 $\alpha$  mediates homocysteine-induced hepatocyte endoplasmic reticulum stress” [Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(34): 5228-5234]**

Long-Xia Zhou, An-Ning Yang, Jiu-Kai Chen, Li Zhao, Yan-Hua

Wang, Xian-Mei Liu, Xin Cai, Ming-Hao Zhang, Yi-Deng Jiang, Jun Cao

Long-Xia Zhou, An-Ning Yang, Xian-Mei Liu, Ming-Hao Zhang, Yi-Deng Jiang, Jun Cao, Department of Preclinical Medicine College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Jiu-Kai Chen, Li Zhao, Yan-Hua Wang, Xin Cai, Department of Inspection College, Ningxia Medical University, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81260063 and No. 81360073.

Corresponding author: Jun Cao, Professor, Department of Pathology and Pathophysiology, Ningxia Medical University, 1160 Shengli South Street, Xingqing District, Yinchuan 750004, Ningxia Hui Autonomous Region, China. jwcjyd@163.com

Received: 2019-05-20

Revised: 2019-08-02

Accepted: 2019-08-19

Published online: 2019-08-28

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

Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J. Corrigendum to “Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J. Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1 $\alpha$  mediates homocysteine-induced hepatocyte endoplasmic reticulum stress” [Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2014; 22(34): 5228-5234]. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2019; 27(16): 1041-1042

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1041.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i16.1041>

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

周龙霞, 杨安宁, 陈久凯, 赵丽, 王艳华, 刘现梅, 蔡欣, 张鸣号, 姜怡邓, 曹军. 更正“ERO1 $\alpha$ 介导同型半胱氨酸诱导的肝细胞内质网应激”[世界华人消化杂志 2014; 22(34): 5228–5234]. 世界华人消化杂志 2019; 27(16): 1041–1042

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i16/1041.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i16.1041>

## 1 更正

《世界华人消化杂志》2014年12月第22卷第34期第5228-5234页《ERO1 $\alpha$ 介导同型半胱氨酸诱导的肝细胞内质网应激》一文做出如下更正:  
第5231页图3中的B图应为图1.

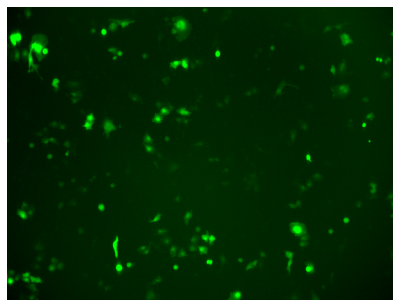


图 1 荧光倒置显微镜观察肝细胞转染效率( $\times 100$ ). B: pERO1 $\alpha$ 组.

## 2 参考文献

- 1 Zhou LX, Yang AN, Chen JK, Zhao L, Wang YH, Liu XM, Cai X, Zhang MH, Jiang YD, Cao J. Endoplasmic reticulum oxidoreductin 1 $\alpha$  mediates homocysteine-induced hepatocyte endoplasmic reticulum stress. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(34): 5228-5234 [DOI: 10.11569/wjcd.v22.i34.5228]





## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

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

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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

## 2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所



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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;

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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079





# 世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE  
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

**Shijie Huaren Xiaohua Zazhi**

**2019 年 9 月 8 日      第 27 卷      第 17 期      (Volume 27 Number 17)**



**17/2019**

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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



### 述评

- 1043 姜黄素抗肝细胞癌作用机制新进展

李苗, 任正刚, 崔杰峰

- 1050 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应中的作用

王瑶, 龚作炯

### 基础研究

- 1055 *ELMO1*基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值

宋健, 黎萍, 袁桂红, 贾真, 张荣琳, 王发宝, 钟国柄, 李依倪, 钟敦璟

- 1062 胃泌素在结肠癌患者中的表达及其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及其对P38信号转导通路的影响

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 黄锋

### 文献综述

- 1070 miR-155在炎症性肠病中的免疫作用机制研究进展

朱凤, 范恒, 刘星星

- 1076 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6在炎症性肠病中作用机制研究进展

朱凤, 刘星星, 范恒

- 1083 FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展

朱翠翠, 康海锋, 仇建伟, 钱俊波, 刘宏斌, 张冬梅

- 1088 失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复研究进展

李彬彬, 陈正阳, 郭松, 孙宏伟, 崔彦

- 1095 消化性溃疡合并高血压诊疗现状及其免疫功能研究进展

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊

### 临床实践

- 1100 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病与甲状腺功能的关系

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏

## 消 息

- 1049 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
1069 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费  
1087 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1099 《世界华人消化杂志》参考文献要求

## 封面故事

元海成, 南开大学附属南开医院胃肠外科副主任医师, 天津市中西医结合学会外科并发症专业委员会副主委、世界华人消化杂志编委, 论文、著作、科研成果: 第一作者在本专业核心期刊发表论文20篇, SCI论文6篇; 影响因子总计为9.776. 中华牌核心期刊论文3篇; 核心期刊11篇. 支持参与多项省市级临床研究课题5项. 获得“一种胆囊管撑开装置”的实用新型发明专利. 主持策划“腹腔镜胆囊切除术日间病房”及“无痛病房”组建工作. 组建天津市南开医院临床肠内肠外营养规范治疗小组, 开展微创外科“三师”(医师, 营养师, 护师)查房. 开展腹腔镜疝修补技术, 覆盖全部腹外疝病种, 丰富南开医院收治病种等.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-09-08

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<http://www.wjgnet.com>

出版

百世登出版集团有限公司

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 17 Sept 8, 2019

### EDITORIAL

1043 Advances in understanding of mechanism of anti-hepatocellular carcinoma effects of curcumin

*Li M, Ren ZG, Cui JF*

1050 Role of histone acetylation and DNA methylation in hepatic inflammatory response

*Wang Y, Gong ZJ*

### BASIC RESEARCH

1055 Value of *ELMO1* gene methylation detection in early diagnosis of gastric cancer

*Song J, Li P, Yuan GH, Jia Z, Zhang RL, Wang FB, Zhong GB, Li YN, Zhong DJ*

1062 Expression of gastrin in colon cancer and its effect on human colon cancer cell proliferation and P38 signal transduction pathway

*Wang BF, Zheng LF, Xu XH, Huang F*

### REVIEW

1070 Role of miR-155 in pathogenesis of inflammatory bowel disease

*Zhu F, Fan H, Liu XX*

1076 Role of NLRP6 in inflammatory bowel disease

*Zhu F, Liu XX, Fan H*

1083 Role of FHL2 in digestive system malignancies

*Zhu CC, Kang HF, Qiu JW, Qian JB, Liu HB, Zhang DM*

1088 Progress in research of digestive system trauma and stress injury under microgravity environment

*Li BB, Chen ZY, Guo S, Sun HW, Cui Y*

1095 Peptic ulcer complicated with hypertension: Diagnosis, treatment, and changes in immunologic function

*Xu SN, Chen X, Sun YT, Li GX*

### CLINICAL PRACTICE

1100 Relationship between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic hepatitis B

*Liu L, Li P, Mi YQ, Liu YG, Zhang P*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 17 Sept 8, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Yuan Hai-Cheng, Associate Chief Physician, Department of Minimally Invasive Surgery, Department of Gastrointestinal Surgery, Tianjin Nankai Hospital, No. 122, Sanwei Road, Nankai District, Tianjin 300100, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** September 8, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

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

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

## 姜黄素抗肝细胞癌作用机制新进展

李 苗, 任正刚, 崔杰峰

李苗, 任正刚, 崔杰峰, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所 上海市 200032

李苗, 主治医师, 主要从事肝癌侵袭转移的研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81573019.

作者贡献分布: 李苗文献准备与文章撰写; 崔杰峰与任正刚审阅修改.

通讯作者: 崔杰峰, 研究员, 200032, 上海市徐汇区斜土路1609号, 复旦大学附属中山医院肝癌研究所. [cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn](mailto:cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn)

收稿日期: 2019-04-06

修回日期: 2019-05-11

接受日期: 2019-06-04

在线出版日期: 2019-09-08

### Advances in understanding of mechanism of anti-hepatocellular carcinoma effects of curcumin

Miao Li, Zheng-Gang Ren, Jie-Feng Cui

Miao Li, Zheng-Gang Ren, Jie-Feng Cui, Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Fudan University, Shanghai 200032, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81573019.

Corresponding author: Jie-Feng Cui, Researcher, Liver Cancer Institute, Zhongshan Hospital, Fudan University, 1609 Xietu Road, Shanghai 200032, China. [cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn](mailto:cui.jiefeng@zs-hospital.sh.cn)

Received: 2019-04-06

Revised: 2019-05-11

Accepted: 2019-06-04

Published online: 2019-09-08

### Abstract

With the application of traditional drugs in the treatment of hepatocellular carcinoma (HCC), such as natural

medicinal herbs and metabolic regulators, the new functions of traditional drugs have been revealed in the study of anti-HCC drug therapy. Curcumin, a plant-derived drug with hypolipidemic and anti-inflammation effects, has recently been found to exhibit anti-cancer activity due to its inhibitory effects on HCC growth and metastasis. Therefore, it may act as a potential anti-cancer drug for HCC treatment. This article summarizes the advances in the understanding of the action mechanism of curcumin on HCC.

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

Key Words: Curcumin; Hepatocellular carcinoma; Anti-tumor; Mechanism

Li M, Ren ZG, Cui JF. Advances in understanding of mechanism of anti-hepatocellular carcinoma effects of curcumin. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1043-1049  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1043.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1043>

### 摘要

随着天然药物, 代谢调控药物等传统药物在肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)治疗的应用报道, 老药新用途成为HCC药物治疗研究的新亮点. 具有降脂, 抗炎作用的植物源性药物姜黄素近来被发现可抑制HCC生长, 转移而呈现抗癌活性, 成为潜在的抗HCC治疗药物. 本文针对姜黄素抗HCC作用机制的新进展进行总结, 综述.

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

关键词: 姜黄素; 肝细胞癌; 抗肿瘤; 机制

**核心提要:** 本文对姜黄素抗肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)作用机制的研究进展进行了总结综述, 重点介绍其抑制HCC生长, 侵袭转移, 干性, 血管生成, 肝星状细胞活性, 乙肝病毒表达复制的作用机制, 提出姜黄素抗HCC研究面临的问题及未来发展方向。

李苗, 任正刚, 崔杰峰. 姜黄素抗肝细胞癌作用机制新进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1043-1049

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1043.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1043>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是消化系统最常见的恶性肿瘤之一, 在世界范围内其发病率位列恶性肿瘤第六位, 癌症相关死亡原因位列第二位, 且近年呈增长趋势<sup>[1,2]</sup>. HCC起病隐匿, 早期无明显临床症状, 诊断时往往已处中晚期. 中晚期HCC治疗手段目前主要以肝动脉化疗栓塞, 索拉非尼, 化疗(奥沙利铂, 氟尿嘧啶, 顺铂, 多柔比星等)为主, 但预后不佳<sup>[3-8]</sup>. 靶向药物(如仑伐替尼, 瑞戈非尼, 卡博替尼等)及免疫治疗药物(如PD-1抗体, PD-L1抗体)在部分中晚期HCC患者中虽然显示出一定疗效, 但与索拉非尼相比, 靶向药物总生存期(overall survival, OS)并无明显优势, 中位生存期也仅11 mo左右<sup>[9]</sup>. 而免疫治疗药物无论单独应用, 亦或与靶向药物或血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)抑制剂等联合应用, 应答率也仅处10%-40%之间<sup>[10]</sup>. 药物毒副作用, 耐药, 以及应答患者比例偏低依然是HCC药物治疗亟待解决的主要问题<sup>[11]</sup>.

随着天然药物, 代谢调控药物等传统药物(姜黄素, 二甲双胍等)在HCC治疗的应用报道, 老药新用途逐渐成为近年HCC药物治疗研究的新亮点. 植物源性的天然药物具有低毒副作用, 较高抗癌效果等特征, 长期以来一直是抗肿瘤药物筛选宝库. 姜黄素是从姜科姜属植物姜黄根茎中提取的一种酚类色素<sup>[12]</sup>. 传统医学认为姜黄有通经止痛, 活血行气, 驱寒消炎等功效, 广泛用于降血脂, 消炎利胆, 保肝等<sup>[13]</sup>. 近年研究显示姜黄素可调控细胞周期, 抑制肿瘤发生, 转移而呈现抗癌活性<sup>[14-18]</sup>, 且其对正常细胞毒性低, 副作用小<sup>[15]</sup>, 成为肿瘤干预潜在的药物治疗选择. 本文针对姜黄素抗HCC作用机制的研究新进展进行总结, 综述.

## 1 姜黄素抑制HCC细胞增殖, 诱导HCC细胞凋亡

细胞生命活动基于完整细胞周期, 当某些因素导致G1/S和G2/M检测点控制功能阻断, 会使细胞持续增殖而失去控制, 细胞增殖与凋亡失去平衡, 导致肿瘤发生<sup>[19]</sup>. 研

究显示, 姜黄素可阻滞HCC细胞周期, 使其不能进行有效有丝分裂, 也可调控一些蛋白和基因产物的表达(如Cyclin-D1, Bcl-2, Bax, caspase-3等), 干扰或阻断肿瘤细胞增殖及凋亡信号转导, 导致HCC细胞增殖抑制, 凋亡增加, 且作用呈时间, 剂量依赖性<sup>[20,21]</sup>. 报道发现, 姜黄素可活化HCC细胞SMMC-7721中JNK信号通路, 抑制ERK和p38 MAPK信号通路, 下调Bcl-2和Survivin表达, 同时上调Bax和半胱天冬酶-3(caspase-3)表达, 而抑制HCC细胞增殖, 增加其凋亡<sup>[22,23]</sup>. 其他研究也显示, 姜黄素抑制HCC细胞SMMC-7721增殖, 促进其凋亡, 并发现姜黄素处理组HCC细胞Notch表达降低, 认为Notch信号通路可能参与姜黄素对HCC细胞的抑制作用<sup>[24]</sup>. 姜黄素也可刺激HCC细胞MHCC97H活性氧(reactive oxygen species, ROS)生成, 以浓度依赖性方式抑制细胞增殖, 同时胞内ROS增加激活TLR-4/MyD-88信号通路, 使caspase-8和caspase-3活化, 导致HCC细胞凋亡增加<sup>[25]</sup>. HCC细胞HepG2的相关研究发现, 姜黄素显著降低HepG2细胞内热休克蛋白70(heat shock protein 70, HSP70)和TLR4水平, 使HepG2保持在DNA合成S期, 抑制HepG2细胞增殖, 并促进细胞凋亡<sup>[26]</sup>. 姜黄素还可下调GPC3/wnt/ $\beta$ -catenin信号通路抑制HCC细胞HepG2增殖, 诱导凋亡, 并降低自噬途径标记蛋白Sequestosome-1(SQSTM1)浓度, 提示自噬途径激活可能参与姜黄素诱导HCC细胞凋亡过程<sup>[27,28]</sup>. 姜黄素与甘草酸联合应用使HCC细胞HepG2阻滞于G1期, 细胞增殖受阻, 且细胞凋亡增加, 裸鼠皮下移植瘤模型证实姜黄素和甘草酸通过上调PTEN表达, 抑制PI3K/Akt通路活化, 发挥抗癌作用<sup>[29]</sup>. 此外, 姜黄素诱导细胞色素C(cytochrome C), caspase-3, caspase-9释放和聚ADP核糖聚合酶(poly ADP-ribose polymerase, PARP)裂解, 通过线粒体凋亡途径诱导HCC细胞H22凋亡<sup>[30]</sup>. 姜黄素也可抑制头颈部鳞状细胞癌转录因子NF- $\kappa$ B的转录活性, 使其下游基因产物(COX-2, Cyclin-D1)表达降低, 从而显著降低癌细胞增殖<sup>[31]</sup>.

## 2 姜黄素抑制HCC细胞侵袭转移

侵袭转移是肿瘤细胞重要恶性特征之一, 也是绝大多数肿瘤致死原因, 能否降低, 抑制肿瘤细胞侵袭转移是抗癌药物评估的关键. Lin等<sup>[32]</sup>发现, 姜黄素抑制基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinases 9, MMP-9)分泌, 从而抑制HCC细胞SK-Hep-1侵袭转移能力. 应用姜黄素类似物处理HCC细胞Huh7和HepG2, HCC细胞MMP-2, MMP-9和N-钙粘蛋白表达明显减少, 而E-钙粘蛋白表达上调, HCC细胞迁徙转移能力显著降低, 上述改变与ROS依赖性JNK通路活化关联, 而姜黄素抑制剂可逆转上述改变, 恢复HCC细胞运动, 转移能力<sup>[33]</sup>. 另一种姜黄



素类似物二苯基二氟酮(diphenyl difluoroketone, EF24), 可减少HCC细胞HCCLM-3和HepG2膜表面丝状伪足形成, 还可抑制HCC细胞中整合素-细胞外基质相互作用信号通路的关键调节因子Src磷酸化, 而抑制HCC迁移, 侵袭<sup>[34]</sup>.

上皮间质转化(epithelial-mesenchymal transitions, EMT)是肿瘤侵袭转移的早期分子事件. TGF- $\beta$ 1通过Smad依赖性和Smad非依赖性途径诱导HCC EMT发生, 姜黄素被发现通过抑制Smad2磷酸化及核转位, 下调Snail转录表达, 逆转TGF- $\beta$ 1诱导的HCC细胞EMT<sup>[35]</sup>. 此外, 姜黄素通过分别抑制MAPK/AP-1信号通路激活, 阻断PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B信号通路活化, 抑制c-Met 依赖性PI3K/Akt/mTOR信号通路活化, 导致E-钙粘蛋白表达增加, N-钙粘蛋白和波形蛋白表达降低, 而相应地逆转乳腺癌<sup>[36]</sup>, 胰腺癌<sup>[37]</sup>和肺癌<sup>[38]</sup>细胞EMT发生.

### 3 姜黄素抑制HCC干细胞干性特征

肿瘤干细胞(cancer stem cells, CSCs)能够维持肿瘤形成和分化, 具有自我更新特征, 是肿瘤复发和治疗抵抗的重要原因<sup>[39]</sup>. Wang等<sup>[40]</sup>评估姜黄素对HCC干细胞(liver cancer stem cells, LCSCs)增殖和凋亡的影响, 发现姜黄素通过抑制PI3K/AKT/mTOR信号通路活化而抑制LCSCs增殖, 同时上调凋亡相关蛋白(caspase-3, caspase-9, Bax)表达, 下调Bcl-2表达, 释放细胞色素C, 诱导LCSCs凋亡. 也有报道显示, 在对姜黄素敏感HCC细胞(Huh7, PLC)中, 姜黄素可导致CSCs选择性耗竭, 包括侧群细胞减少, 成球减少, CSCs标志物下调及致瘤性抑制等, 并认为该作用是通过抑制NF- $\kappa$ B活化, 降低组蛋白去乙酰化酶活性实现的<sup>[41]</sup>. 还有研究发现, 姜黄素通过抑制芳香烃受体表达及其下游ERK, SK1磷酸化, 进而抑制邻苯二甲酸酯诱导的HCC细胞(Huh7, PLC/PRF/5)中CSC样细胞比例增加及CSC样细胞干性特征增强<sup>[42]</sup>.

### 4 姜黄素抑制肿瘤血管生成

肿瘤的发生, 进展与其诱发新生血管的生成密切相关. VEGF/VEGFR通路是血管内皮细胞生长, 增殖, 迁移最重要分子调控信号<sup>[43,44]</sup>. 研究显示, 姜黄素能显著下调HCC细胞HepG2和H22中VEGF表达, 抑制血管生成进而抑制HCC进展<sup>[21,45]</sup>. 在HCC细胞SK-Hep-1中的研究发现, 姜黄素通过降低AKT和STAT3磷酸化而抑制AKT/STAT3活化, 抑制肿瘤血管形成<sup>[46]</sup>. Tang等<sup>[47]</sup>联合应用姜黄素和黄芪多糖干预HepG2来源裸鼠HCC原位移植瘤, 发现肿瘤血管稀疏, 生长均匀, 形态规则且有完整血管壁, 血管分支较少, 血管内皮细胞排列紧密, CD31表达降低, 硫酸软骨素蛋白多糖2(neuron-gial antigen 2, NG2)

表达增加, 提示干预后的肿瘤组织血管趋于正常化. 故姜黄素除对血管生成有抑制作用外, 还可诱导肿瘤血管正常化, 改善肿瘤血管形态结构, 促进肿瘤血管成熟.

### 5 姜黄素抑制肝星状细胞的作用

肝星状细胞(hepatic stellate cells, HSCs)是HCC微环境重要细胞组分, 其活化及其表型改变在HCC侵袭转移中发挥重要作用, 静息HSCs在肝纤维化期间被激活, 分泌生长因子和细胞因子, 且过度生成胞外基质蛋白, 促进癌细胞的侵袭和增殖<sup>[48,49]</sup>. 姜黄素可通过多途径, 靶向多位点抑制HSCs活化, 如血小板衍生生长因子- $\beta$ 受体(platelet-derived growth factor- $\beta$ receptor, PDGF- $\beta$ R), toll样受体(toll-like receptors, TLRs), MMPs, 过氧化物酶体增殖物激活受体(peroxisome proliferator-activated receptors, PPARc), 炎性细胞因子等; 姜黄素还可阻断HSCs瘦素信号通路; 调节HSCs葡萄糖代谢, 脂质代谢; 调节组织MMP抑制剂(tissue inhibitor of matrix metalloproteinases, TIMPs)和MMPs平衡<sup>[49]</sup>, 进而影响HCC侵袭转移. 研究发现, 活化HSCs分泌可溶性因子如白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6), VEGF和基质衍生因子-1(stromal-derived factor-1, SDF-1), 促进HCC细胞 HepG2进展; 活化的HSCs还可促进HepG2细胞ROS产生, 上调缺氧诱导因子-1 $\alpha$ (hypoxia-inducible factor-1 $\alpha$ , HIF-1 $\alpha$ )表达, 促进血管生成, EMT及侵袭能力; 姜黄素可显著抑制HSCs的上述作用, 减少HepG2细胞 ROS和HIF-1 $\alpha$ 表达, 在HepG2细胞中敲除HIF-1 $\alpha$ 或其下游基因结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)可逆转姜黄素的抑制作用; 此外, 姜黄素可上调核因子E2相关因子2(nuclear factor E2-related factor 2, Nrf2)和谷胱甘肽诱导ROS清除, 降低HIF-1 $\alpha$ 稳定性以抑制CTGF表达, 从而起到干预HCC作用<sup>[50]</sup>. Jin等<sup>[48]</sup>研究分析姜黄素对活化HSCs衰老的影响, 发现姜黄素上调衰老标志物P16, P21和Hmgal表达诱导HSCs衰老, 同时下调HSCs活化标志物 $\alpha$ -平滑肌肌动蛋白和 $\alpha$ 1(1)前胶原含量, 认为姜黄素诱导HSCs衰老与PPAR $\gamma$ 激活依赖性机制促进P53表达有关<sup>[50]</sup>.

### 6 姜黄素抑制乙肝病毒基因表达和复制

乙肝病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是我国HCC患者主要病因, HBV基因复制与HCC不良预后相关<sup>[51,52]</sup>, 针对HBV治疗可减少HCC肺转移<sup>[52]</sup>, 改善HCC预后<sup>[53]</sup>. 姜黄素可通过抑制HBV基因表达和复制发挥抑制HCC进展作用. 研究发现, 姜黄素治疗降低HBsAg和HBeAg表达, 以及细胞内HBV DNA复制中间体和HBV cccDNA, 且该作用呈时间, 剂量依赖性; 此外, 姜黄素处理后, 组蛋



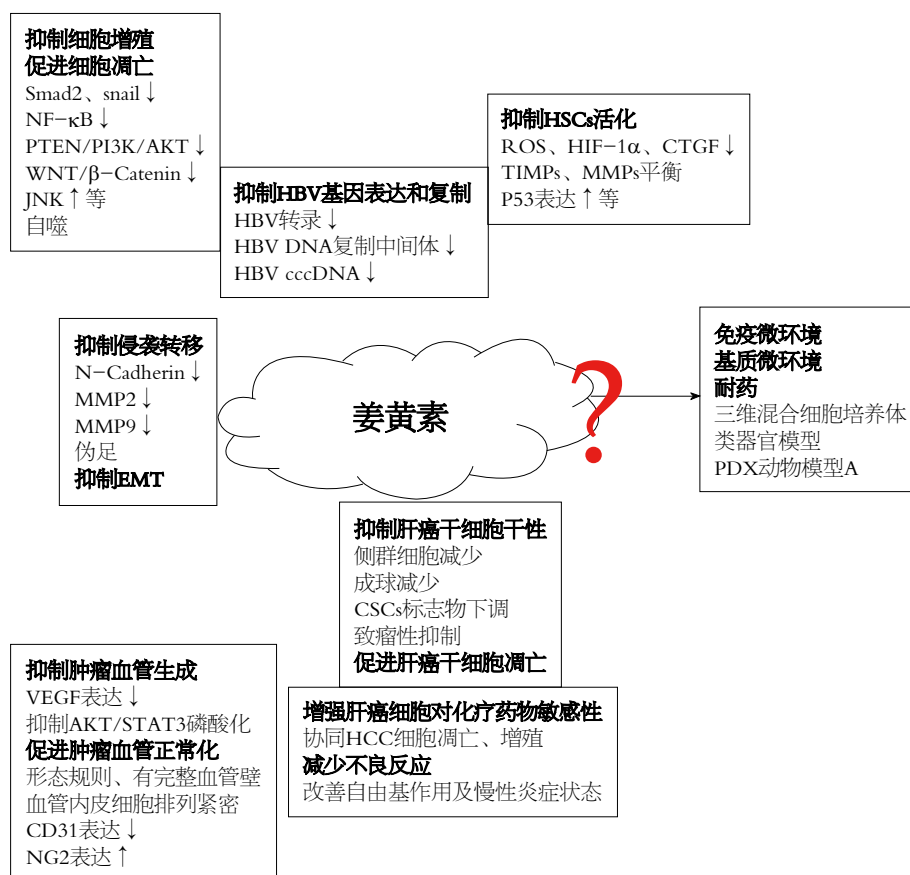


图1 姜黄素抑制肝癌作用机制示意图。HSCs: 肝星状细胞; ROS: 活性氧; HIF-1α: 缺氧诱导因子-1α; CTGF: 结缔组织生长因子; HBV: 乙肝病毒; CSCs: 肿瘤干细胞; NG2: 硫酸软骨素蛋白多糖2; MMP: 基质金属蛋白酶。

白H3乙酰化水平降低, 并伴随H3-和H4-结合的cccDNA减少, 提示姜黄素通过下调cccDNA结合的组蛋白乙酰化抑制HBV基因复制<sup>[54]</sup>。过氧化物酶体增殖物激活受体γ共激活因子1α(peroxisome proliferator-activated receptor γ coactivator-1α, PGC-1 α)是一种饥饿诱导蛋白质, 可启动糖原异生级联, 有效地共激活HBV转录, 有研究认为姜黄素通过下调PGC-1α抑制HBV基因表达和复制<sup>[55]</sup>。故姜黄素可作为HBV补充治疗, 通过控制HBV感染间接对HCC发挥抑制作用。

## 7 姜黄素增强HCC细胞对化疗药物敏感性

姜黄素可增强HCC细胞对化疗药物敏感性。姜黄素与化疗药物顺铂<sup>[56]</sup>、多柔比星<sup>[57,58]</sup>等制成共载脂质体联合应用, 比化疗药物单独使用具有更强抗肿瘤活性, 更高的细胞毒性及更低的IC<sub>50</sub>。其中原因可能与姜黄素协同HCC细胞凋亡, 抑制HCC增殖和血管生成有关, 研究显示, 与多柔比星单药比较, 姜黄素与多柔比星联合用药, HCC细胞SMC 7721 Caspase-3和Bax/Bcl-2比例明显增加, C-myc, PCNA和VEGF表达明显降低<sup>[57]</sup>。其他学者相关研究还发现, 与多柔比星单药比较, 姜黄素与多柔比星联合用药组HCC细胞BEL7402的MDR1, Bcl-2和HIF-

1α基因mRNA水平以及P-gp, Bcl-2和HIF-1α蛋白水平平均明显降低, 提示姜黄素可能参与逆转多柔比星耐药<sup>[58]</sup>。此外, 姜黄素具有抗炎作用, 靶向各种炎症介质, 如环氧合酶-2, 诱导型一氧化氮合酶和NF-κB, 削弱促炎和促纤维化细胞因子释放, 抑制自由基产生, 改善自由基作用及慢性炎症状态, 增强HCC细胞对化疗药物敏感性, 减少不良反应<sup>[59]</sup>。

## 8 结论

尽管植物源性的天然药物姜黄素抑制HCC机制研究取得一些进展, 但由于HCC发生与进展多伴随炎症(HBV/丙型肝炎病毒)和硬度背景(纤维化/硬化), 加之HCC细胞周边物化微环境调控认识的相对滞后与不足, 姜黄素对HCC细胞抑制研究目前依然多集中于其对HCC细胞增殖, 凋亡的体外细胞机制研究(图1)。而姜黄素对HCC基质微环境, 免疫微环境的影响, 炎性, 硬度背景对姜黄素抑制作用的抵抗, 以及姜黄素体内药物敏感情况及耐药机制等研究尚处于探索起步阶段。随着三维混合细胞培养体系, 组织硬度模拟培养平台, 类器官模型及人源肿瘤异种移植模型(PDX动物模型)等新型研究手段的成熟与应用, 必将极大地推动姜黄素对HCC抑制作用机

制再认识, 加速其抗HCC治疗的临床应用.

## 9 参考文献

- Torre LA, Bray F, Siegel RL, Ferlay J, Lortet-Tieulent J, Jemal A. Global cancer statistics, 2012. *CA Cancer J Clin* 2015; 65: 87-108 [PMID: 25651787 DOI: 10.3322/caac.21262]
- Mak LY, Cruz-Ramón V, Chinchilla-López P, Torres HA, LoConte NK, Rice JP, Foxhall LE, Sturgis EM, Merrill JK, Bailey HH, Méndez-Sánchez N, Yuen MF, Hwang JP. Global Epidemiology, Prevention, and Management of Hepatocellular Carcinoma. *Am Soc Clin Oncol Educ Book* 2018; 38: 262-279 [PMID: 30231359 DOI: 10.1200/edbk\_200939]
- Colombo M, Sangiovanni A. Treatment of hepatocellular carcinoma: beyond international guidelines. *Liver Int* 2015; 35 Suppl 1: 129-138 [PMID: 25529098 DOI: 10.1111/liv.12713]
- European Association For The Study Of The Liver; European Organisation For Research And Treatment Of Cancer. EASL-EORTC clinical practice guidelines: management of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 908-943 [PMID: 22424438 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.12.001]
- Goossens N, Koessler T, Spahr L, Negro F. [Hepatocellular carcinoma: updated management guidelines]. *Rev Med Suisse* 2018; 14: 1508-1511 [PMID: 30156784]
- Lu X, Zhao H, Yang H, Mao Y, Sang X, Miao R, Xu Y, Du S, Xu H, Chi T, Yang Z, Zhong S, Huang J. A prospective clinical study on early recurrence of hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Surg Oncol* 2009; 100: 488-493 [PMID: 19653238 DOI: 10.1002/jso.21354]
- Drewns RE, Shulman LN. Update in hematology and oncology. *Ann Intern Med* 2010; 152: 655-662 [PMID: 20410447 DOI: 10.7326/0003-4819-152-10-201005180-00244]
- Bruix J, Gores GJ, Mazzaferro V. Hepatocellular carcinoma: clinical frontiers and perspectives. *Gut* 2014; 63: 844-855 [PMID: 24531850 DOI: 10.1136/gutjnl-2013-306627]
- Bruix J, Qin S, Merle P, Granito A, Huang YH, Bodoky G, Pracht M, Yokosuka O, Rosmorduc O, Breder V, Gerolami R, Masi G, Ross PJ, Song T, Bronowicki JP, Ollivier-Hourmand I, Kudo M, Cheng AL, Llovet JM, Finn RS, LeBerre MA, Baumhauer A, Meinhardt G, Han G; RESORCE Investigators. Regorafenib for patients with hepatocellular carcinoma who progressed on sorafenib treatment (RESORCE): a randomised, double-blind, placebo-controlled, phase 3 trial. *Lancet* 2017; 389: 56-66 [PMID: 27932229 DOI: 10.1016/s0140-6736(16)32453-9]
- Okusaka T, Ikeda M. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives. *ESMO Open* 2018; 3: e000455 [PMID: 30622744 DOI: 10.1136/esmoopen-2018-000455]
- Eso Y, Marusawa H. Novel approaches for molecular targeted therapy against hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res* 2018; 48: 597-607 [PMID: 29689631 DOI: 10.1111/hepr.13181]
- Gupta SC, Kismali G, Aggarwal BB. Curcumin, a component of turmeric: from farm to pharmacy. *Biofactors* 2013; 39: 2-13 [PMID: 23339055 DOI: 10.1002/biof.1079]
- Khan H, Ullah H, Nabavi SM. Mechanistic insights of hepatoprotective effects of curcumin: Therapeutic updates and future prospects. *Food Chem Toxicol* 2019; 124: 182-191 [PMID: 30529260 DOI: 10.1016/j.fct.2018.12.002]
- Bose S, Panda AK, Mukherjee S, Sa G. Curcumin and tumor immune-editing: resurrecting the immune system. *Cell Div* 2015; 10: 6 [PMID: 26464579 DOI: 10.1186/s13008-015-0012-z]
- Sak K. Chemotherapy and dietary phytochemical agents. *Chemother Res Pract* 2012; 2012: 282570 [PMID: 23320169 DOI: 10.1155/2012/282570]
- Park W, Amin AR, Chen ZG, Shin DM. New perspectives of curcumin in cancer prevention. *Cancer Prev Res (Phila)* 2013; 6: 387-400 [PMID: 23466484 DOI: 10.1158/1940-6207.capr-12-0410]
- Chikara S, Nagaprashantha LD, Singhal J, Horne D, Awasthi S, Singhal SS. Oxidative stress and dietary phytochemicals: Role in cancer chemoprevention and treatment. *Cancer Lett* 2018; 413: 122-134 [PMID: 29113871 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.002]
- Li W, Guo Y, Zhang C, Wu R, Yang AY, Gaspar J, Kong AN. Dietary Phytochemicals and Cancer Chemoprevention: A Perspective on Oxidative Stress, Inflammation, and Epigenetics. *Chem Res Toxicol* 2016; 29: 2071-2095 [PMID: 27989132 DOI: 10.1021/acs.chemrestox.6b00413]
- Rawat D, Shrivastava S, Naik RA, Chhonker SK, Mehrotra A, Koiri RK. An Overview of Natural Plant Products in the Treatment of Hepatocellular Carcinoma. *Anticancer Agents Med Chem* 2018; 18: 1838-1859 [PMID: 29866017 DOI: 10.2174/1871520618666180604085612]
- You Z, Li B, Xu J, Chen L, Ye H. Curcumin suppress the growth of hepatocellular carcinoma via down-regulating SREBF1. *Oncol Res* 2018 [PMID: 29615146 DOI: 10.3727/096504018x15219173841078]
- Pan Z, Zhuang J, Ji C, Cai Z, Liao W, Huang Z. Curcumin inhibits hepatocellular carcinoma growth by targeting VEGF expression. *Oncol Lett* 2018; 15: 4821-4826 [PMID: 29552121 DOI: 10.3892/ol.2018.7988]
- Zhang YJ, Xiang H, Liu JS, Li D, Fang ZY, Zhang H. Study on the mechanism of AMPK signaling pathway and its effect on apoptosis of human hepatocellular carcinoma SMMC-7721 cells by curcumin. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017; 21: 1144-1150 [PMID: 28338175]
- Yu J, Zhou X, He X, Dai M, Zhang Q. Curcumin induces apoptosis involving bax/bcl-2 in human hepatoma SMMC-7721 cells. *Asian Pac J Cancer Prev* 2011; 12: 1925-1929 [PMID: 22292626]
- Liu ZC, Yang ZX, Zhou JS, Zhang HT, Huang QK, Dang LL, Liu GX, Tao KS. Curcumin regulates hepatoma cell proliferation and apoptosis through the Notch signaling pathway. *Int J Clin Exp Med* 2014; 7: 714-718 [PMID: 24753768]
- Li PM, Li YL, Liu B, Wang WJ, Wang YZ, Li Z. Curcumin inhibits MHCC97H liver cancer cells by activating ROS/TLR-4/caspase signaling pathway. *Asian Pac J Cancer Prev* 2014; 15: 2329-2334 [PMID: 24716979]
- Ren B, Luo S, Tian X, Jiang Z, Zou G, Xu F, Yin T, Huang Y, Liu J. Curcumin inhibits liver cancer by inhibiting DAMP molecule HSP70 and TLR4 signaling. *Oncol Rep* 2018; 40: 895-901 [PMID: 29901164 DOI: 10.3892/or.2018.6485]
- Elmansi AM, El-Karef AA, Shishtawy MMEI, Eissa LA. Hepatoprotective Effect of Curcumin on Hepatocellular Carcinoma Through Autophagic and Apoptic Pathways. *Ann Hepatol* 2017; 16: 607-618 [PMID: 28611265 DOI: 10.5604/01.3001.0010.0307]
- Hu P, Ke C, Guo X, Ren P, Tong Y, Luo S, He Y, Wei Z, Cheng B, Li R, Luo J, Meng Z. Both glypican-3/Wnt/ $\beta$ -catenin signaling pathway and autophagy contributed to the inhibitory effect of curcumin on hepatocellular carcinoma. *Dig Liver Dis* 2019; 51: 120-126 [PMID: 30001951 DOI: 10.1016/j.dld.2018.06.012]
- Chang M, Wu M, Li H. Curcumin combined with glycyrrhetic acid inhibits the development of hepatocellular carcinoma cells by down-regulating the PTEN/PI3K/AKT signalling pathway. *Am J Transl Res* 2017; 9: 5567-5575 [PMID: 29312508]
- Zhang Z, Luo D, Xie J, Lin G, Zhou J, Liu W, Li H, Yi T, Su Z, Chen J. Octahydrocurcumin, a final hydrogenated metabolite of curcumin, possesses superior anti-tumor activity through induction of cellular apoptosis. *Food Funct* 2018; 9: 2005-2014 [PMID: 29616245 DOI: 10.1039/c7fo02048a]
- Wang D, Veena MS, Stevenson K, Tang C, Ho B, Suh JD,

- Duarte VM, Faull KF, Mehta K, Srivatsan ES, Wang MB. Liposome-encapsulated curcumin suppresses growth of head and neck squamous cell carcinoma in vitro and in xenografts through the inhibition of nuclear factor kappaB by an AKT-independent pathway. *Clin Cancer Res* 2008; 14: 6228-6236 [PMID: 18829502 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-07-5177]
- 32 Lin LI, Ke YF, Ko YC, Lin JK. Curcumin inhibits SK-Hep-1 hepatocellular carcinoma cell invasion in vitro and suppresses matrix metalloproteinase-9 secretion. *Oncology* 1998; 55: 349-353 [PMID: 9663426 DOI: 10.1159/000011876]
- 33 Wang L, Han L, Tao Z, Zhu Z, Han L, Yang Z, Wang H, Dai D, Wu L, Yuan Z, Chen T. The curcumin derivative WZ35 activates ROS-dependent JNK to suppress hepatocellular carcinoma metastasis. *Food Funct* 2018; 9: 2970-2978 [PMID: 29766185 DOI: 10.1039/c8fo00314a]
- 34 Zhao R, Tin L, Zhang Y, Wu Y, Jin Y, Jin X, Zhang F, Li X. EF24 Suppresses Invasion and Migration of Hepatocellular Carcinoma Cells In Vitro via Inhibiting the Phosphorylation of Src. *Biomed Res Int* 2016; 2016: 8569684 [PMID: 27999817 DOI: 10.1155/2016/8569684]
- 35 Cao MT, Liu HF, Liu ZG, Xiao P, Chen JJ, Tan Y, Jiang XX, Jiang ZC, Qiu Y, Huang HJ, Zhang QG, Jiang GM. Curcumin downregulates the expression of Snail via suppressing Smad2 pathway to inhibit TGF- $\beta$ 1-induced epithelial-mesenchymal transitions in hepatoma cells. *Oncotarget* 2017; 8: 108498-108508 [PMID: 29312546 DOI: 10.18632/oncotarget.22590]
- 36 Coker-Gurkan A, Bulut D, Genc R, Arisan ED, Obakan-Yerlikaya P, Palavan-Unsal N. Curcumin prevented human autocrine growth hormone (GH) signaling mediated NF- $\kappa$ B activation and miR-183-96-182 cluster stimulated epithelial mesenchymal transition in T47D breast cancer cells. *Mol Biol Rep* 2019; 46: 355-369 [PMID: 30467667 DOI: 10.1007/s11033-018-4479-y]
- 37 Li W, Jiang Z, Xiao X, Wang Z, Wu Z, Ma Q, Cao L. Curcumin inhibits superoxide dismutase-induced epithelial-to-mesenchymal transition via the PI3K/Akt/NF- $\kappa$ B pathway in pancreatic cancer cells. *Int J Oncol* 2018 [PMID: 29512729 DOI: 10.3892/ijo.2018.4295]
- 38 Jiao D, Wang J, Lu W, Tang X, Chen J, Mou H, Chen QY. Curcumin inhibited HGF-induced EMT and angiogenesis through regulating c-Met dependent PI3K/Akt/mTOR signaling pathways in lung cancer. *Mol Ther Oncolytics* 2016; 3: 16018 [PMID: 27525306 DOI: 10.1038/mto.2016.18]
- 39 Zendehdel E, Abdollahi E, Momtazi-Borojeni AA, Korani M, Alavizadeh SH, Sahebkar A. The molecular mechanisms of curcumin's inhibitory effects on cancer stem cells. *J Cell Biochem* 2019; 120: 4739-4747 [PMID: 30269360 DOI: 10.1002/jcb.27757]
- 40 Wang J, Wang C, Bu G. Curcumin inhibits the growth of liver cancer stem cells through the phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B/mammalian target of rapamycin signaling pathway. *Exp Ther Med* 2018; 15: 3650-3658 [PMID: 29545895 DOI: 10.3892/etm.2018.5805]
- 41 Marquardt JU, Gomez-Quiroz L, Arreguin Camacho LO, Pinna F, Lee YH, Kitade M, Domínguez MP, Castven D, Breuhahn K, Conner EA, Galle PR, Andersen JB, Factor VM, Thorgeirsson SS. Curcumin effectively inhibits oncogenic NF- $\kappa$ B signaling and restrains stemness features in liver cancer. *J Hepatol* 2015; 63: 661-669 [PMID: 25937435 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.04.018]
- 42 Tsai CF, Hsieh TH, Lee JN, Hsu CY, Wang YC, Kuo KK, Wu HL, Chiu CC, Tsai EM, Kuo PL. Curcumin Suppresses Phthalate-Induced Metastasis and the Proportion of Cancer Stem Cell (CSC)-like Cells via the Inhibition of AhR/ERK/SK1 Signaling in Hepatocellular Carcinoma. *J Agric Food Chem* 2015; 63: 10388-10398 [PMID: 26585812 DOI: 10.1021/acs.jafc.5b04415]
- 43 Fu X, Yang Y, Li X, Lai H, Huang Y, He L, Zheng W, Chen T. RGD peptide-conjugated selenium nanoparticles: antiangiogenesis by suppressing VEGF-VEGFR2-ERK/AKT pathway. *Nanomedicine* 2016; 12: 1627-1639 [PMID: 26961468 DOI: 10.1016/j.nano.2016.01.012]
- 44 Lee WS, Pyun BJ, Kim SW, Shim SR, Nam JR, Yoo JY, Jin Y, Jin J, Kwon YG, Yun CO, Nam DH, Oh K, Lee DS, Lee SH, Yoo JS. TTAC-0001, a human monoclonal antibody targeting VEGFR-2/KDR, blocks tumor angiogenesis. *MAbs* 2015; 7: 957-968 [PMID: 25942475 DOI: 10.1080/19420862.2015.1045168]
- 45 Wang F, He Z, Dai W, Li Q, Liu X, Zhang Z, Zhai D, Chen J, Chen W. The role of the vascular endothelial growth factor/vascular endothelial growth factor receptors axis mediated angiogenesis in curcumin-loaded nanostructured lipid carriers induced human HepG2 cells apoptosis. *J Cancer Res Ther* 2015; 11: 597-605 [PMID: 26458588 DOI: 10.4103/0973-1482.159086]
- 46 Chiablaem K, Lirdprapamongkol K, Keeratichamroen S, Surarit R, Svasti J. Curcumin suppresses vasculogenic mimicry capacity of hepatocellular carcinoma cells through STAT3 and PI3K/AKT inhibition. *Anticancer Res* 2014; 34: 1857-1864 [PMID: 24692720]
- 47 Tang D, Zhang S, Shi X, Wu J, Yin G, Tan X, Liu F, Wu X, Du X. Combination of Astragali Polysaccharide and Curcumin Improves the Morphological Structure of Tumor Vessels and Induces Tumor Vascular Normalization to Inhibit the Growth of Hepatocellular Carcinoma. *Integr Cancer Ther* 2019; 18: 1534735418824408 [PMID: 30762443 DOI: 10.1177/1534735418824408]
- 48 Jin H, Lian N, Zhang F, Chen L, Chen Q, Lu C, Bian M, Shao J, Wu L, Zheng S. Activation of PPAR $\gamma$ /P53 signaling is required for curcumin to induce hepatic stellate cell senescence. *Cell Death Dis* 2016; 7: e2189 [PMID: 27077805 DOI: 10.1038/cddis.2016.92]
- 49 Tang Y. Curcumin targets multiple pathways to halt hepatic stellate cell activation: updated mechanisms in vitro and in vivo. *Dig Dis Sci* 2015; 60: 1554-1564 [PMID: 25532502 DOI: 10.1007/s10620-014-3487-6]
- 50 Shao S, Duan W, Xu Q, Li X, Han L, Li W, Zhang D, Wang Z, Lei J. Curcumin Suppresses Hepatic Stellate Cell-Induced Hepatocarcinoma Angiogenesis and Invasion through Downregulating CTGF. *Oxid Med Cell Longev* 2019; 2019: 8148510 [PMID: 30800209 DOI: 10.1155/2019/8148510]
- 51 Jiang Y, Tang H, Wang Z, Sun Y, Meng W, Wang G, Li H, Yi S, Wang G, Yang Y, Chen G. Two Nomograms to Select Hepatocellular Carcinoma Patients with Macroscopic Vascular Invasion for Hepatic Resection. *J Cancer* 2018; 9: 3287-3294 [PMID: 30271488 DOI: 10.7150/jca.25899]
- 52 Wang F, Lv H, Li Y, Han T, Liu H, Jia K, Liu F, Gao Y, Wang F. Complete cure of a patient with HBV-associated hepatocellular carcinoma with lung metastasis using interferon and survival up to 108 months: A case report and literature review. *Oncol Lett* 2018; 16: 2979-2988 [PMID: 30127887 DOI: 10.3892/ol.2018.9033]
- 53 Zhang M, Wang D, Liu H, Li H. Tenofovir decrease hepatocellular carcinoma recurrence in chronic hepatitis B patients after liver resection. *Infect Agent Cancer* 2018; 13: 19 [PMID: 29977330 DOI: 10.1186/s13027-018-0191-8]
- 54 Wei ZQ, Zhang YH, Ke CZ, Chen HX, Ren P, He YL, Hu P, Ma DQ, Luo J, Meng ZJ. Curcumin inhibits hepatitis B virus infection by down-regulating cccDNA-bound histone acetylation. *World J Gastroenterol* 2017; 23: 6252-6260 [PMID: 28974891 DOI: 10.3748/wjg.v23.i34.6252]
- 55 Rechtman MM, Har-Noy O, Bar-Yishay I, Fishman S, Adamovich Y, Shaul Y, Halpern Z, Shlomai A. Curcumin inhibits hepatitis B virus via down-regulation of the metabolic coactivator PGC-1 $\alpha$ . *FEBS Lett* 2010; 584: 2485-2490 [PMID: 20434445 DOI: 10.1016/j.febslet.2010.04.067]
- 56 Cheng Y, Zhao P, Wu S, Yang T, Chen Y, Zhang X, He C,

- Zheng C, Li K, Ma X, Xiang G. Cisplatin and curcumin co-loaded nano-liposomes for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Int J Pharm* 2018; 545: 261-273 [PMID: 29730175 DOI: 10.1016/j.ijpharm.2018.05.007]
- 57 Zhang J, Li J, Shi Z, Yang Y, Xie X, Lee SM, Wang Y, Leong KW, Chen M. pH-sensitive polymeric nanoparticles for co-delivery of doxorubicin and curcumin to treat cancer via enhanced pro-apoptotic and anti-angiogenic activities. *Acta Biomater* 2017; 58: 349-364 [PMID: 28455219 DOI: 10.1016/j.actbio.2017.04.029]
- 58 Zhao X, Chen Q, Li Y, Tang H, Liu W, Yang X. Doxorubicin and curcumin co-delivery by lipid nanoparticles for enhanced treatment of diethylnitrosamine-induced hepatocellular carcinoma in mice. *Eur J Pharm Biopharm* 2015; 93: 27-36 [PMID: 25770771 DOI: 10.1016/j.ejpb.2015.03.003]
- 59 Farhood B, Mortezaee K, Goradel NH, Khanlarkhani N, Salehi E, Nashtaei MS, Najafi M, Sahebkar A. Curcumin as an anti-inflammatory agent: Implications to radiotherapy and chemotherapy. *J Cell Physiol* 2019; 234: 5728-5740 [PMID: 30317564 DOI: 10.1002/jcp.27442]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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



# 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应中的作用

王瑶, 龚作炯

王瑶, 龚作炯, 武汉大学人民医院感染科 湖北省武汉市 430060

龚作炯, 教授. 主要从事慢性肝病的防治研究.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81870413.

作者贡献分布: 此研究设计由龚作炯提供; 研究过程由王瑶与龚作炯完成; 论文写作由王瑶与龚作炯完成; 研究过程与论文写作由龚作炯提供技术支持和指导.

通讯作者: 龚作炯, 教授, 430060, 湖北省武汉市武昌区解放路238号, 武汉大学人民医院感染科. [zjgong@163.com](mailto:zjgong@163.com)  
电话: 027-8041911-88385

收稿日期: 2019-04-03

修回日期: 2019-05-17

接受日期: 2019-06-05

在线出版日期: 2019-09-08

## Role of histone acetylation and DNA methylation in hepatic inflammatory response

Yao Wang, Zuo-Jiong Gong

Yao Wang, Zuo-Jiong Gong, Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81371789.

Corresponding author: Zuo-Jiong Gong, Professor, Department of Infectious Diseases, Renmin Hospital of Wuhan University, 238 Jiefang Road, Wuhan 430060, Hubei Province, China. [zjgong@163.com](mailto:zjgong@163.com)

Received: 2019-04-03

Revised: 2019-05-17

Accepted: 2019-06-05

Published online: 2019-09-08

## Abstract

In recent years, many studies have confirmed that the interaction between histone acetylation and DNA methylation plays an important role in the process of hepatic inflammatory response. This article systematically introduces the role of histone acetylation and DNA methylation in the liver inflammatory response, as well as the current research status, existing problems, and corresponding solutions, with an aim to help find new potential intervention strategies for the control of hepatic inflammatory response.

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

Key Words: Histone acetylation; DNA methylation; Hepatic inflammatory response

Wang Y, Gong ZJ. Role of histone acetylation and DNA methylation in hepatic inflammatory response. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1050-1054

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1050.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1050>

## 摘要

近年来, 许多研究证实, 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应过程中发挥了重要作用. 本文较系统地介绍了组蛋白乙酰化与DNA甲基化在肝脏炎症反应中的研究现状、存在的问题及相应的解决方案, 为肝脏炎症反应的控制寻找新的潜在干预策略.

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

关键词: 组蛋白乙酰化; DNA甲基化; 肝脏炎症

**核心提要:** 肝脏炎症反应是肝脏疾病过程中常见的病理反应, 也是肝脏疾病转归的关键因素。近年来, 许多研究证实, 组蛋白乙酰化与DNA甲基化调控在肝脏炎症的发病机制中发挥了重要作用。

王瑶, 龚作炯. 组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控在肝脏炎症反应中的作用. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1050-1054

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1050.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1050>

## 0 引言

肝脏炎症反应包括无菌性炎症和感染性炎症, 而持续性的炎症反应可促进肝脏疾病的进展<sup>[1]</sup>。研究表明, 以通过蛋白质复合物的翻译后修饰而不改变基础遗传DNA序列而发生的遗传基因表达变化为特点的表现遗传学对肝脏炎症反应有着复杂的调控机制<sup>[2]</sup>, 这些翻译后修饰包括乙酰化、甲基化、磷酸化、SUMO化(sumoylation)、泛素化、羧基化和糖基化, 以及DNA甲基化修饰<sup>[3,4]</sup>。而组蛋白乙酰化与DNA甲基化的交互调控通过调控基因的转录和沉默来影响疾病的发生发展<sup>[5]</sup>。本文就组蛋白乙酰化和DNA甲基化的交互调控对肝脏炎症反应的影响作一述评, 以期深入阐明表观遗传调控肝脏炎症反应的分子机制。

## 1 组蛋白乙酰化调控肝脏炎症反应

组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylases, HDACs), 顾名思义是修饰结合染色体上的经典组蛋白分子的酶, 包括组蛋白H3、组蛋白H4, 这些组蛋白上存在丰富的赖氨酸(lysine, 缩写为“K”)位点, 如H3上的第9个赖氨酸位点H3K9容易被乙酰化(acetylation, 缩写为“ac”)修饰, 则简称为“H3K9ac”。但随着深入的研究发现, HDACs也可修饰非组蛋白, 这些组蛋白/非组蛋白上存在着数量不一的赖氨酸位点, 这些位点被乙酰化修饰的程度也各不相同。例如, 作为晚期炎症介质的非组蛋白的高迁移率族蛋白B1(high mobility group box 1, HMGB1)同样也可以受乙酰化调控, 当核定位序列(nuclear localization sequence, NLS)中的lysine被高度乙酰化时, 其与染色质结合疏松, 可由细胞核转移入细胞质, 并使其在细胞质内聚集从而不能进入细胞核, 此时分泌至胞外的HMGB1增多, 诱导的炎症反应也随之增强<sup>[6]</sup>。

本课题组长期从事组蛋白乙酰化调控与肝脏炎症反应的相关研究, 肝衰竭的发生发展的实质是肝脏内巨噬细胞参与的“二次打击”<sup>[7]</sup>, 我们发现不管是广谱的

HDACs抑制剂Entinostat(MS-275)、Trichostatin A(TSA), I类HDAC分子HDAC2的特异性抑制剂Santacruzamate A(CAY10683), 还是II类HDAC分子HDAC6的特异性抑制剂Ricolinostat(ACY-1215)均可抑制肝衰竭过程中内毒素(lipopolysaccharide, LPS)诱导的M1型巨噬细胞活化<sup>[8-11]</sup>。深入的机制研究发现, 这些HDACs酶或是调控组蛋白H3/H4, 或是调控非组蛋白核转录因子 $\kappa$ B(nuclear transcription factor- $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)来影响炎症相关途径<sup>[9]</sup>。组蛋白乙酰化调控肝脏炎症反应的过程中也存在诸多值得深入研究的问题, 如组蛋白H3/H4本身也可作为炎性因子诱导肝脏炎症反应<sup>[12]</sup>, 但这些组蛋白是否源于细胞核, 其出核胞外释放的机制是否与HMGB1类似除了被乙酰化修饰, 其他类型的表观遗传修饰是否也可诱导这些组蛋白胞质移位越来越多参与炎症反应的分子, 如三羧酸循环中与M1型巨噬细胞活化能量代谢有关的关键调控分子异柠檬酸脱氢酶-1(isocitrate dehydrogenase-1, IDH1)也可直接受乙酰化调控, 但这些分子上的哪些赖氨酸位点容易受乙酰化调控都值得深入研究。

同时对于肝脏感染性炎症, 我们发现乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)患者肝脏炎症反应越严重, 其血液、外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)及肝脏组织内的HDACs活性越高<sup>[8,13,14]</sup>, 且经恩替卡韦(entecavir, ETV)抗病毒治疗24 wk后, 慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者肝脏的炎症程度明显降低并伴有HDAC2、HDAC6及组蛋白H3的水平下降, 这说明在在抗病毒治疗过程中乙肝病毒的脱氧核糖核酸(HBV DNA)的变化与组蛋白H3乙酰化程度有关<sup>[14]</sup>。至于组蛋白H3的乙酰化修饰主要发生在HBV复制过程中哪一个关键分子(如乙HBV X基因(HBx)、前基因组RNA(pregenomicRNA, pgRNA)、环状DNA分子(covalently closed circular DNA, cccDNA)上; H3上几号赖氨酸位点容易发生乙酰化修饰; 除了乙酰化修饰H3上的赖氨酸位点, 其他修饰方式如甲基化修饰是否也改变H3的构象; 除H3之外的其他组蛋白是否同样也被修饰, 都有待进一步研究。但可以肯定的是, 自Pollicino等<sup>[15]</sup>首次发现组蛋白H3与H4均可直接与cccDNA发生结合, 改变H3/H4的乙酰化程度就可间接地调控HBV cccDNA微小染色体的转录水平以来, 科学家得出启示, 只要改变结合在cccDNA上H3/H4的水平就可影响cccDNA的转录水平, 不管是乙酰化还是其他方式的表观遗传调控。故Rivière等<sup>[16]</sup>发现组蛋白甲基转移酶SETDB1对组蛋白H3上第9号赖氨酸进行3甲基化修饰(简称“H3K9me3”)来改变cccDNA染色质结构, 进而调控HBV cccDNA转录水平。

## 2 DNA甲基化调控肝脏炎症反应

DNA甲基化是指基因组CpG岛二核苷酸第5位碳原子在DNA甲基转移酶(DNA methylation, DNMT)的催化下结合一个甲基基团, 其产物称为5-甲基胞嘧啶(5-mC)。CpG岛是人类基因组二核苷酸富含序列, 通常位于基因启动子区域。甲基化程度越高, 其转录活性越低; 而去甲基化可使基因的转录活性增强。越来越多的证据表明, DNA甲基化调控巨噬细胞在慢性炎症、炎症性疾病中发挥着重要作用<sup>[17]</sup>。而肝脏炎症反应对于肝衰竭、肝纤维化、非酒精性脂肪肝等疾病的发生发展都明显的促进作用。

DNMT1抑制剂5-aza-2'-deoxycytidine(5-azadC)干预LPS诱导的RAW264. 7巨噬细胞中发现, 细胞因子信号传导抑制因子1(suppressor of cytokine signaling 1, SOCS1)启动子甲基化水平减少, SOCS1表达升高, 抑制Janus激酶2(janus kinase 2, JAK2)/信号转导子和转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)信号通路, 减少了炎症因子肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor alpha, TNF- $\alpha$ )、白细胞介素6(interleukin 6, IL-6)的释放, 抑制组织炎症损伤<sup>[18]</sup>。因此, 在肝脏炎症反应过程中运用DNMT1抑制剂是否可以减轻炎症损伤则有待进一步研究。

分离四氯化碳(carbon tetrachloride, CCl<sub>4</sub>)诱导的肝纤维化小鼠的肝脏巨噬细胞, 通过DNA甲基化测序发现了与CpG岛相关的26个基因启动子区域的甲基化状态, 其中鉴定出的脯氨酸-丝氨酸-苏氨酸磷酸酶相互作用蛋白2(proline serine threonine phosphatase interacting protein 1, PSTPIP2)基因高甲基化状态由DNMT3a和DNMT3b介导, PSTPIP2的去甲基化状态可增强PSTPIP2的表达, 诱导替代性活化巨噬细胞(M2型巨噬细胞)极化抑制肝纤维化中经典活化巨噬细胞(M1型巨噬细胞)极化, 来减轻小鼠肝脏炎症反应, 进而缓解肝纤维化<sup>[19]</sup>。故DNMT同样可以通过调控巨噬细胞的极化影响肝纤维化的转归。

同型半胱氨酸(homocysteine, Hcy)是H<sub>2</sub>S的前体, 其通过胱硫醚 $\beta$ -合酶(cystathionine  $\beta$ -synthase)和胱硫醚 $\gamma$ -裂解酶(cystathionine  $\gamma$ -lyase, CSE)催化的转硫途径形成, 并且可用作炎症的新型调节剂。Hcy可抑制巨噬细胞中CSE的表达和H<sub>2</sub>S的产生, 引起CSE启动子区DNMT和DNA甲基化水平的增加<sup>[20]</sup>。深入研究发现, CSE启动子区富含CpG岛, 可被DNA甲基化修饰, 有助于巨噬细胞中CSE转录和H<sub>2</sub>S产生的减少, 从而促进动脉粥样硬化的发展<sup>[21]</sup>。同样地, 在肝脏脂质代谢障碍引起的炎症反应过程中, 甲基化修饰CSE是否也可作为肝脏脂质代谢类疾病潜在的治疗靶点则有待进一步研究。

## 3 DNA甲基化与乙酰化交互调控肝脏炎症反应

早在1998年*Nature*发文报道了DNA甲基化与乙酰化交互作用的物质基础, 即基因启动子区域的CpG岛被甲基化修饰时, 甲基化DNA特异性的转录抑制分子甲基CpG结合蛋白2(methyl CpG binding protein 2, MeCP2)则可与甲基化的CpG结合, 随后与SIN3转录调控蛋白家族成员A(SIN3 transcription regulator family member A, Sin3A)结合, 并进一步与异二聚体Mad/Max形成复合物, 募集HDACs<sup>[22]</sup>。但进一步研究发现, DNA甲基化与组蛋白乙酰化直接存在更直接的关联: DNMT1 686-812氨基酸残基可与HDAC1直接结合, HDAC1催化区域内的150-242氨基酸残基可与DNMT1结合<sup>[23]</sup>。

除了此之外参与DNA羟甲基化过程的DNA去甲基化酶(ten-eleven translocation, TET)同样也可以与HDAC直接相互作用, 而DNA羟甲基化是指5-mC在DNA TET2的作用加一个羟基形成5-羟甲基胞嘧啶(5-hmC)。研究发现, TET2特异性识别CpG的半胱氨酸(cysteine, Cys)与双链B螺旋(double stranded b helix, DSBH)两个锌指结构可与HDAC2结合<sup>[24]</sup>。并在LPS诱导的机体免疫应答期间, TET2的缺失会导致晚期炎症介质IL-6的升高, 深入研究发现, TET2能特异性靶向调控IL-6启动子核因子 $\kappa$ B抑制因子 $\zeta$ (nuclear factor-kappa B inhibitor kinase  $\zeta$ , I $\kappa$ B $\zeta$ ), 而此过程并不赖DNA甲基化和羟甲基化作用, 而是通过募集组蛋白去HDAC2抑制IL-6的转录<sup>[24]</sup>。HDAC抑制剂(HDAC inhibitor, HDACi)可以使哺乳动物基因组去甲基化, 研究表明, DNMT1的表达虽然不受HDACi depsipeptide影响, 但depsipeptide对p16、SALL3和GATA4基因甲基化的影响包括以下两方面: (1)depsipeptide可以直接减少DNMT1与多肿瘤抑制基因1(multiple tumor suppressor 1, MTS1, 也称p16)、转录因子Sal-likeprotein3(SALL3)和GATA结合蛋白4(GATA4)等基因启动子的结合, 引起这些分子的去甲基化; (2)通过抑制组蛋白DNMT G9a和SUV39H1的表达, 导致这些基因启动子周围H3K9的二甲基化和三甲基化程度的降低, 进而引起这些分子表达的增加<sup>[25]</sup>。

DNA甲基化与组蛋白乙酰化可联合调控疾病的发生发展。研究发现, DNMT抑制剂(DNMT inhibitor, DNMTi)5-Aza 2-deoxycytidine与HDACi TSA联合运用可通过抑制c-Jun氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase, JNK)-细胞外调节蛋白激酶(extracellular regulated protein kinases, ERK)通路和激活STAT3-组蛋白TET JMJD3(JmjC domain containing protein 3)通路, 减轻内毒素血症引起的急性肺损伤(acute lung injury, ALI)<sup>[26]</sup>。由于HDACi和DNMTi被证明能够影响免疫系统, 表观遗传药物和免疫抑制剂的组合被认为是一种有前景的癌症



治疗<sup>[27,28]</sup>. 其他临床前研究与临床试验表明HDACi是化学增敏剂, 增加了化疗药的治疗下癌细胞的敏感性<sup>[29-31]</sup>. HDACi和DNMTi治疗在与化疗药物联合使用时已显示出疗效<sup>[32]</sup>. 目前, HDACi与DNMTi的联合运用治疗急性髓细胞性白血病(acute myeloid leukemia, AML)已进入临床实验阶段<sup>[33,34]</sup>, 但联合运用的机制仍在争论中, 但可以肯定的, 联合治疗对转录本的影响明显大于任一处理单独调节的基因的总和, HDACi与DNMTi的联合运用具有协同效应<sup>[35]</sup>.

对于肝脏相关炎症的干预, 通过调控乙酰化来影响DNA甲基化或是通过DNA甲基化影响乙酰化的报道较少, HDACi与DNMTi的联合运用也尚处于空白阶段. 因此, 在肝脏炎症反应过程中, 单独通过改变组蛋白乙酰化或是DNA甲基化则势必影响对方的生物学效应改变, 研究表观遗传调控的交互作用势在必行. 表观遗传调控的交互作用在免疫抑制剂治疗肝脏自身免疫性肝炎的过程中是否同样可以加用HDACi或是DNMTi, 或是HDACi与DNMTi的联合运用? 肝脏内的“二次打击”引起的免疫炎症级联反应是否同样也适用? 病毒性肝炎活动期肝细胞受损过程中HDACi与DNMTi的联合调控是否可减轻肝脏受损程度? 都值得深入研究.

## 4 结论

肝脏炎症反应是肝脏疾病慢性化的关键诱导因素, 调控炎症相关分子的表达对炎症的发生尤为重要. 肝脏炎症反应过程中的表观遗传调控特别是组蛋白乙酰化的正调控与DNA甲基化负调控, 可从蛋白质的翻译水平即DNA的转录水平影响基因的表达. 组蛋白乙酰化与DNA甲基化之间无明确的级联调控关系, 一般可通过交互作用或协同作用影响基因的表达. 同时, HDACi与DNMTi的联合运用具有协同效应, 两者联用抑或是配合其他化疗药物的实用, 在治疗恶性肿瘤的临床实验阶段中已初具成效. 但在肝脏炎症甚至是肝脏疾病中的研究, HDACi与DNMTi的联合运用尚处于空白阶段. 因此对于肝脏炎症反应过程, 分别明确组蛋白乙酰化与DNA甲基化的基础调控作用, 深化探讨两者交互作用的分子机制, 明确HDACi与DNMTi联合用药的科学内涵, 则有着广阔的运用前景.

## 5 参考文献

- Bishayee A. The role of inflammation and liver cancer. *Adv Exp Med Biol* 2014; 816: 401-435 [PMID: 24818732 DOI: 10.1007/978-3-0348-0837-8\_16]
- Khan O, La Thangue NB. HDAC inhibitors in cancer biology: emerging mechanisms and clinical applications. *Immunol Cell Biol* 2012; 90: 85-94 [PMID: 22124371 DOI: 10.1038/icb.2011.100]
- Nightingale KP, O'Neill LP, Turner BM. Histone modifications: signalling receptors and potential elements of a heritable

- epigenetic code. *Curr Opin Genet Dev* 2006; 16: 125-136 [PMID: 16503131 DOI: 10.1016/j.gde.2006.02.015]
- Bolden JE, Peart MJ, Johnstone RW. Anticancer activities of histone deacetylase inhibitors. *Nat Rev Drug Discov* 2006; 5: 769-784 [PMID: 16955068 DOI: 10.1038/nrd2133]
- Vaissière T, Sawan C, Herceg Z. Epigenetic interplay between histone modifications and DNA methylation in gene silencing. *Mutat Res* 2008; 659: 40-48 [PMID: 18407786 DOI: 10.1016/j.mrrev.2008.02.004]
- Wang Y, Wang L, Gong Z. Regulation of Acetylation in High Mobility Group Protein B1 Cytosol Translocation. *DNA Cell Biol* 2019; 38: 491-499 [PMID: 30874449 DOI: 10.1089/dna.2018.4592]
- 王瑶, 龚作炯. 肝衰竭过程中乙酰化调控和细胞焦亡. *世界华人消化杂志* 2018; 26: 633-638 [DOI: 10.11569/wjcd.v26.i11.633]
- Zhang H, Li X, Zhang Q, Yang F, Chu X, Zhang D, Wang L, Gong Z. Role of histone deacetylase expression levels and activity in the inflammatory responses of patients with chronic hepatitis B. *Mol Med Rep* 2017; 15: 2744-2752 [PMID: 28447718 DOI: 10.3892/mmr.2017.6290]
- Zhang Q, Yang F, Li X, Wang L, Chu X, Zhang H, Gong Z. Trichostatin A inhibits inflammation in phorbol myristate acetate-induced macrophages by regulating the acetylation of histone and/or non-histone proteins. *Mol Med Rep* 2016; 13: 845-852 [PMID: 26647731 DOI: 10.3892/mmr.2015.4594]
- Wang Y, Chen H, Chen Q, Jiao FZ, Zhang WB, Gong ZJ. The Protective Mechanism of CAY10683 on Intestinal Mucosal Barrier in Acute Liver Failure through LPS/TLR4/MyD88 Pathway. *Mediators Inflamm* 2018; 2018: 7859601 [PMID: 29725271 DOI: 10.1155/2018/7859601]
- Zhang WB, Zhang HY, Jiao FZ, Wang LW, Zhang H, Gong ZJ. Histone deacetylase 6 inhibitor ACY-1215 protects against experimental acute liver failure by regulating the TLR4-MAPK/NF- $\kappa$ B pathway. *Biomed Pharmacother* 2018; 97: 818-824 [PMID: 29112935 DOI: 10.1016/j.biopha.2017.10.103]
- Zhao H, Huang H, Alam A, Chen Q, Suen KC, Cui J, Sun Q, Ologunde R, Zhang W, Lian Q, Ma D. VEGF mitigates histone-induced pyroptosis in the remote liver injury associated with renal allograft ischemia-reperfusion injury in rats. *Am J Transplant* 2018; 18: 1890-1903 [PMID: 29446207 DOI: 10.1111/ajt.14699]
- 张银华, 陈悦, 孟忠吉, 龚作炯. 组蛋白去乙酰化酶1与乙型肝炎病毒性肝病的关系. *中西医结合肝病杂志* 2011; 21: 40-42 [DOI: 10.3969/j.issn.1005-0264.2011.01.014]
- Zhang D, Wang Y, Zhang HY, Jiao FZ, Zhang WB, Wang LW, Zhang H, Gong ZJ. Histone deacetylases and acetylated histone H3 are involved in the process of hepatitis B virus DNA replication. *Life Sci* 2019; 223: 1-8 [PMID: 30862568 DOI: 10.1016/j.lfs.2019.03.010]
- Pollicino T, Belloni L, Raffa G, Pediconi N, Squadrito G, Raimondo G, Levrero M. Hepatitis B virus replication is regulated by the acetylation status of hepatitis B virus cccDNA-bound H3 and H4 histones. *Gastroenterology* 2006; 130: 823-837 [PMID: 16530522 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.01.001]
- Rivière L, Gerossier L, Ducroux A, Dion S, Deng Q, Michel ML, Buendia MA, Hantz O, Neuveut C. HBx relieves chromatin-mediated transcriptional repression of hepatitis B viral cccDNA involving SETDB1 histone methyltransferase. *J Hepatol* 2015; 63: 1093-1102 [PMID: 26143443 DOI: 10.1016/j.jhep.2015.06.023]
- Vento-Tormo R, Álvarez-Errico D, García-Gómez A, Hernández-Rodríguez J, Buján S, Basagaña M, Méndez M, Yagüe J, Juan M, Aróstegui JJ, Ballestar E. DNA demethylation of inflammasome-associated genes is enhanced in patients with cryopyrin-associated periodic syndromes. *J Allergy Clin Immunol* 2017; 139: 202-211.e6 [PMID: 27394913 DOI: 10.1016/



- j.jaci.2016.05.016]
- 18 Cheng C, Huang C, Ma TT, Bian EB, He Y, Zhang L, Li J. SOCS1 hypermethylation mediated by DNMT1 is associated with lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokines in macrophages. *Toxicol Lett* 2014; 225: 488-497 [PMID: 24440346 DOI: 10.1016/j.toxlet.2013.12.023]
  - 19 Yang Y, Wu XQ, Li WX, Huang HM, Li HD, Pan XY, Li XF, Huang C, Meng XM, Zhang L, Lv XW, Wang H, Li J. PSTPIP2 connects DNA methylation to macrophage polarization in CCL4-induced mouse model of hepatic fibrosis. *Oncogene* 2018; 37: 6119-6135 [PMID: 29993036 DOI: 10.1038/s41388-018-0383-0]
  - 20 Li JJ, Li Q, Du HP, Wang YL, You SJ, Wang F, Xu XS, Cheng J, Cao YJ, Liu CF, Hu LF. Homocysteine Triggers Inflammatory Responses in Macrophages through Inhibiting CSE-H2S Signaling via DNA Hypermethylation of CSE Promoter. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 12560-12577 [PMID: 26047341 DOI: 10.3390/ijms160612560]
  - 21 Du HP, Li J, You SJ, Wang YL, Wang F, Cao YJ, Hu LF, Liu CF. DNA methylation in cystathionine- $\gamma$ -lyase (CSE) gene promoter induced by ox-LDL in macrophages and in apoE knockout mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2016; 469: 776-782 [PMID: 26692478 DOI: 10.1016/j.bbrc.2015.11.132]
  - 22 Nan X, Ng HH, Johnson CA, Laherty CD, Turner BM, Eisenman RN, Bird A. Transcriptional repression by the methyl-CpG-binding protein MeCP2 involves a histone deacetylase complex. *Nature* 1998; 393: 386-389 [PMID: 9620804 DOI: 10.1038/30764]
  - 23 Fuks F, Burgers WA, Brehm A, Hughes-Davies L, Kouzarides T. DNA methyltransferase Dnmt1 associates with histone deacetylase activity. *Nat Genet* 2000; 24: 88-91 [PMID: 10615135 DOI: 10.1038/71750]
  - 24 Zhang Q, Zhao K, Shen Q, Han Y, Gu Y, Li X, Zhao D, Liu Y, Wang C, Zhang X, Su X, Liu J, Ge W, Levine RL, Li N, Cao X. Tet2 is required to resolve inflammation by recruiting Hdac2 to specifically repress IL-6. *Nature* 2015; 525: 389-393 [PMID: 26287468 DOI: 10.1038/nature15252]
  - 25 Wu LP, Wang X, Li L, Zhao Y, Lu S, Yu Y, Zhou W, Liu X, Yang J, Zheng Z, Zhang H, Feng J, Yang Y, Wang H, Zhu WG. Histone deacetylase inhibitor depsipeptide activates silenced genes through decreasing both CpG and H3K9 methylation on the promoter. *Mol Cell Biol* 2008; 28: 3219-3235 [PMID: 18332107 DOI: 10.1128/MCB.01516-07]
  - 26 Samanta S, Zhou Z, Rajasingh S, Panda A, Sampath V, Rajasingh J. DNMT and HDAC inhibitors together abrogate endotoxemia mediated macrophage death by STAT3-JMJD3 signaling. *Int J Biochem Cell Biol* 2018; 102: 117-127 [PMID: 30010012 DOI: 10.1016/j.biocel.2018.07.002]
  - 27 Mazzone R, Zwergel C, Mai A, Valente S. Epi-drugs in combination with immunotherapy: a new avenue to improve anticancer efficacy. *Clin Epigenetics* 2017; 9: 59 [PMID: 28572863 DOI: 10.1186/s13148-017-0358-y]
  - 28 Topper MJ, Vaz M, Chiappinelli KB, DeStefano Shields CE, Niknafs N, Yen RC, Wenzel A, Hicks J, Ballew M, Stone M, Tran PT, Zahnow CA, Hellmann MD, Anagnostou V, Strissel PL, Strick R, Velculescu VE, Baylin SB. Epigenetic Therapy Ties MYC Depletion to Reversing Immune Evasion and Treating Lung Cancer. *Cell* 2017; 171: 1284-1300.e21 [PMID: 29195073 DOI: 10.1016/j.cell.2017.10.022]
  - 29 Tang F, Choy E, Tu C, Hornicek F, Duan Z. Therapeutic applications of histone deacetylase inhibitors in sarcoma. *Cancer Treat Rev* 2017; 59: 33-45 [PMID: 28732326 DOI: 10.1016/j.ctrv.2017.06.006]
  - 30 Diyabalanage HV, Granda ML, Hooker JM. Combination therapy: histone deacetylase inhibitors and platinum-based chemotherapeutics for cancer. *Cancer Lett* 2013; 329: 1-8 [PMID: 23032720 DOI: 10.1016/j.canlet.2012.09.018]
  - 31 Hu B, Younes A, Westin JR, Turturro F, Claret L, Feng L, Fowler N, Neelapu S, Romaguera J, Hagemeister FB, Rodriguez MA, Samaniego F, Fayad LE, Copeland AR, Nastoupil LJ, Nieto Y, Fanale MA, Oki Y. Phase-I and randomized phase-II trial of panobinostat in combination with ICE (ifosfamide, carboplatin, etoposide) in relapsed or refractory classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphoma* 2018; 59: 863-870 [PMID: 28792260 DOI: 10.1080/10428194.2017.1359741]
  - 32 Jones PA, Issa JP, Baylin S. Targeting the cancer epigenome for therapy. *Nat Rev Genet* 2016; 17: 630-641 [PMID: 27629931 DOI: 10.1038/nrg.2016.93]
  - 33 Wouters BJ, Delwel R. Epigenetics and approaches to targeted epigenetic therapy in acute myeloid leukemia. *Blood* 2016; 127: 42-52 [PMID: 26660432 DOI: 10.1182/blood-2015-07-604512]
  - 34 Tan P, Wei A, Mithraprabhu S, Cummings N, Liu HB, Perugini M, Reed K, Avery S, Patil S, Walker P, Mollee P, Grigg A, D'Andrea R, Dear A, Spencer A. Dual epigenetic targeting with panobinostat and azacitidine in acute myeloid leukemia and high-risk myelodysplastic syndrome. *Blood Cancer J* 2014; 4: e170 [PMID: 24413064 DOI: 10.1038/bcj.2013.68]
  - 35 Blagitko-Dorfs N, Schlosser P, Greve G, Pfeifer D, Meier R, Baude A, Brocks D, Plass C, Lübbert M. Combination treatment of acute myeloid leukemia cells with DNMT and HDAC inhibitors: predominant synergistic gene downregulation associated with gene body demethylation. *Leukemia* 2019; 33: 945-956 [PMID: 30470836 DOI: 10.1038/s41375-018-0293-8]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## ELMO1基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值

宋健, 黎萍, 袁桂红, 贾真, 张荣琳, 王发宝, 钟国柄, 李依倪, 钟敦璟

宋健, 黎萍, 袁桂红, 张荣琳, 李依倪, 钟敦璟, 海南省肿瘤医院消化内镜科 海南省海口市 570123

贾真, 海南省肿瘤医院麻醉科 海南省海口市 570123

王发宝, 海南省肿瘤医院病理科 海南省海口市 570123

钟国柄, 海南省肿瘤医院中心实验室 海南省海口市 570123

宋健, 主任医师, 研究方向为消化道肿瘤的早期诊治。

基金项目: 海南省科技厅社会发展重点研发项目, No. ZDYF2017118.

作者贡献分布: 课题设计、实验指导、文章起草、修改及审阅由宋健完成; 材料收集、实验及数据分析主要由黎萍、袁桂红、贾真、张荣琳、王发宝、钟国柄、李依倪及钟敦璟完成。

通讯作者: 宋健, 主任医师, 570123, 海南省海口市秀英区长滨西四街6号, 海南省肿瘤医院消化内镜科. [songjian0532@sina.com](mailto:songjian0532@sina.com)  
电话: 0898-36392089

收稿日期: 2019-06-10

修回日期: 2019-08-13

接受日期: 2019-08-26

在线出版日期: 2019-09-08

### Value of of *ELMO1* gene methylation detection in early diagnosis of gastric cancer

Jian Song, Ping Li, Gui-Hong Yuan, Zhen Jia, Rong-Lin Zhang, Fa-Bao Wang, Guo-Bing Zhong, Yi-Ni Li, Dun-Jing Zhong

Jian Song, Ping Li, Gui-Hong Yuan, Rong-Lin Zhang, Yi-Ni Li, Dun-Jing Zhong, Department of Digestive Endoscopy, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Zhen Jia, Department of Anesthesiology, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Fa-Bao Wang, Department of Pathology, Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Guo-Bing Zhong, Central Laboratory of Hainan Cancer Hospital, Haikou 570123, Hainan Province, China

Supported by: Key Research and Development Projects of Social Development of Hainan Science and Technology Department, No. ZDYF2017118.

Corresponding author: Jian Song, Chief Physician, Department of Digestive Endoscopy, Hainan Cancer Hospital, No. 6, Xisi Street, Changbin, Xiuying District, Haikou 570123, Hainan Province, China. [songjian0532@sina.com](mailto:songjian0532@sina.com)

Received: 2019-06-10

Revised: 2019-08-13

Accepted: 2019-08-26

Published online: 2019-09-08

### Abstract BACKGROUND

Gastric cancer (GC) is a malignant tumor that seriously endangers human health. Its morbidity and mortality rank second and first, respectively, among malignant tumors in China. It is difficult to diagnose early. Therefore, finding new markers for GC diagnosis is very important to improve the early detection rate and prognosis of GC. At present, there are few reports on the diagnostic value of engulfment and cell motility 1 (*ELMO1*) gene methylation in GC.

### AIM

To explore the relationship between the methylation of *ELMO1* gene and GC in order to provide new ideas for early diagnosis of this malignancy.

### METHODS

From January 2017 to August 2018, 20 cases of chronic superficial gastritis, 20 cases of chronic atrophic gastritis, and 37 cases of GC (15 cases of early GC and 22 cases of advanced GC) were selected. The gastric juice and biopsy were collected at the same time. Methylation-specific polymerase chain reaction was used to detect the methylation level of *ELMO1* gene in the three groups,

and the correlation between *ELMO1* gene methylation and the occurrence, stage, and metastasis of GC was analyzed.

## RESULTS

The methylation rate of *ELMO1* gene in tissues and gastric juice of chronic superficial gastritis, chronic atrophic gastritis, and GC were 0%, 20.5%, and 93.3% ( $P < 0.01$ ), and 0%, 12.3%, and 76.7% ( $P < 0.05$ ), respectively. The methylation rate of *ELMO1* gene in adjacent tissue DNA was 96.7%, which was not significantly different from that in the GC group ( $P > 0.05$ ). The methylation rates of *ELMO1* gene in gastric juice of patients with early GC and advanced GC were 73.3% and 80.0%, respectively. The methylation rates of *ELMO1* gene in the two tissues were 86.7% and 100%, respectively. There was no significant difference between them in both gastric juice and tissues ( $P > 0.05$ ).

## CONCLUSION

The promoter region of *ELMO1* gene in gastric juice DNA and pathological tissues of patients with GC is hypermethylated, which has high consistency. *ELMO1* gene methylation can be used as a molecular target for early diagnosis of GC, and gastric juice can be used as a good clinical sample for detection of *ELMO1* gene methylation.

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

Key Words: *ELMO1*; Methylation; Gastric carcinoma; Gastric juice; Diagnosis

Song J, Li P, Yuan GH, Jia Z, Zhang RL, Wang FB, Zhong GB, Li YN, Zhong DJ. Value of *ELMO1* gene methylation detection in early diagnosis of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1055-1061

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1055.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1055>

## 摘要

### 背景

胃癌(gastric cancer, GC)是严重危害人体健康的恶性肿瘤,其发病率和死亡率分别占中国恶性肿瘤的第2位和第1位,早期诊断困难,因此,寻找GC诊断的新标志物对于提高GC的早期发现率及改善患者预后至关重要。目前,吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因甲基化在GC中诊断价值研究鲜有报道。

### 目的

探讨*ELMO1*基因甲基化与GC的关系,旨在为GC早期诊断提供新思路。

## 方法

选取海南省肿瘤医院内镜中心2017-01/2018-08诊治的慢性非萎缩性胃炎20例、慢性萎缩性胃炎20例、GC37例(早期GC15例,进展期GC22例),胃镜检查同时收集胃液及活组织检查收集病理组织标本。通过甲基化特异聚合酶链反应检测三组患者*ELMO1*基因甲基化水平,并进行组间对比分析,并分析*ELMO1*基因甲基化与GC的发生、分期及转移的关系。

## 结果

*ELMO1*基因甲基化率在病理组织DNA中依次为:慢性浅表性胃炎组0%,慢性萎缩性胃炎20%,GC组93.3%,差异显著( $P < 0.01$ );在胃液DNA中依次为:慢性浅表性胃炎组0%,慢性萎缩性胃炎组12.3%,GC组76.7%,差异显著( $P < 0.05$ )。癌旁组织DNA中*ELMO1*基因甲基化率为96.7%,与GC组比较差异不显著( $P > 0.05$ );早期GC与进展期GC患者胃液中*ELMO1*基因甲基化率分别为73.3%、80.0%,两者组织中*ELMO1*基因甲基化率分别为86.7%、100%,两者在胃液及组织中比较均无显著差异( $P > 0.05$ )。

## 结论

GC患者病理组织及胃液DNA中*ELMO1*基因启动子区均呈高甲基化状态,并有一致性,并且在早期GC中即明显升高,*ELMO1*基因甲基化可作为GC早期诊断的分子靶标,并且胃液可用于*ELMO1*基因甲基化检测的良好临床标本。

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

关键词: *ELMO1*基因; 甲基化; 胃癌; 胃液; 诊断

**核心提要:** 胃癌(gastric cancer, GC)组织及胃液DNA中吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因启动子区均呈高甲基化状态,在早期GC中即明显升高,具有较好的特异性和敏感性。*ELMO1*基因甲基化异化可作为GC早期诊断的分子靶标,检测胃液DNA中*ELMO1*基因甲基化异化可用于GC的早期诊断。

宋健, 黎萍, 袁桂红, 贾真, 张荣琳, 王发宝, 钟国柄, 李依倪, 钟敦璟. *ELMO1*基因甲基化检测在胃癌早期诊断中的价值. *世界华人消化杂志* 2019; 27(17): 1055-1061

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1055.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1055>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是一种消化道常见的恶性肿瘤,其发病率在我国居第二位,死亡率居第一位,早期诊断



困难. GC的发病机制与基因启动子甲基化等表观遗传学改变密切相关<sup>[1-3]</sup>, 近几年国外有研究表明, 吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因在GC患者中呈高甲基化状态, 但能否作为GC的分子诊断靶标尚无定论<sup>[4,5]</sup>. 胃液中含有大量的胃黏膜脱落细胞及其DNA, 检测胃液中的DNA甲基化能较病理活检具有更好的敏感性<sup>[6]</sup>. 本研究对慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC患者病理组织及胃液中*ELMO1*基因甲基化水平进行检测, 旨在探讨*ELMO1*基因甲基化能否作为GC的分子诊断标记物, 为GC的早期诊断提供理论依据.

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

1.1.1 病例入组及取材: 本研究选取2017-01/2018-08海南省肿瘤医院内镜中心诊治的胃病患者77例, 其中男性40例, 女性37例, 年龄35-75岁, 平均年龄56.3岁±12.5岁; 所有患者在此之前均未接受放射、化学治疗及生物免疫治疗. 纳入标准: 经病理诊断为慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎及GC患者, 前两组各20例. GC组37例, 其中早期GC15例及进展期GC22例. 胃炎的诊断标准按中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2017年, 上海)<sup>[7]</sup>, GC的诊断标准按中国临床肿瘤学会. 原发性GC诊疗指南(2017.V1)<sup>[8]</sup>. 排除患有其他系统肿瘤、其他胃肠系统疾病及其他器官衰竭等疾病的患者. 在胃镜检查过程中用集液器收集每例患者胃液10 mL置于15 mL冻存管, 同时用活检钳钳取每例患者的病理组织, 胃炎患者病理标本取胃窦、胃体各2块, GC患者取病变部位5块, 距离病变部位5 cm处2块. 胃液标本-80 °C保存备用, 胃炎组织标本留取胃窦1块10%甲醛固定行病理检查, GC组织标本留取2块10%甲醛固定后行病理检查, 其余组织标本-80 °C保存备用. 此研究符合医学研究伦理规范, 获海南省肿瘤医院伦理委员会批准, 所有患者知情同意并签署知情同意书. 三组患者在一般基线资料上无明显差异( $P>0.05$ ), 具有可比性(表1).

1.1.2 主要仪器和试剂: PCR扩增仪(Long Gene公司MyGene MG96+型); 离心机(北京京立离心机有限公司LG16-WA型); 凝胶电泳仪(北京六一仪器厂DYY-6C型); 凝胶成像仪(Gel Ocumentuteon system Beosens SC 805型). EZ DNA Methylation-Gold™ Kit (zymo research Catalog Nos. D5005); ZymoTaq PreMix (zymo research Catalog Nos. E2003); Quick-DNA™ Universal Kit (zymo research Catalog Nos. D4068)

1.2 方法 将各组胃液于4 °C, 1000 g, 离心10 min, 弃掉残渣留上清液, 将上清液再次于4 °C, 10000 g, 离心20 min,

留取沉淀物用于DNA抽提. 各组组织样本保存在DNA保护剂中, 提取DNA. 步骤详见说明书Quick-DNA™ Universal Kit (zymo research Catalog Nos. D4068). DNA纯度分析采用核酸蛋白分析仪, 采用凝胶电泳进行质量检测. 之后进行DNA亚硫酸盐修饰, 针对修饰前后的序列差异用MethPrimer软件设计甲基化与未甲基引物, 进行PCR扩增, 引物序列(表2). 本研究采用双蒸水作为空白对照. PCR反应采用ZymoTaq™ Pre Mix试剂盒, 反应体系为25μL, 反应条件为: 95 °C, 预变性5 min, 循环体系为94 °C变性30 s, 55 °C退火30 s, 72 °C延伸30 s, 共进行40个循环, 之后72 °C延伸10 min, 4 °C保存. PCR产物经琼脂糖凝胶电泳进行检测.

**统计学处理** 本研究数据采用SPSS 22统计学软件进行分析, 计量资料以mean±SD表示, 采用 $t$ 检验; 计数资料采用卡方检验、Mann-Whitney  $U$ 检验及Fisher's精确检验,  $P<0.05$ 表示差异有统计学意义.

## 2 结果

2.1 各组病理组织中*ELMO1*基因甲基化水平 各组病理组织中*ELMO1*基因MSP电泳结果(图1和图2). 慢性非萎缩性胃炎组、慢性萎缩性胃炎组、GC组及癌旁组织*ELMO1*基因甲基化率分别为0%、20%、93.3%、96.7%, 前三者两两比较差异显著( $P<0.01$ ); GC与癌旁组织DNA中无显著差异( $P>0.05$ ).

2.2 各组胃液中*ELMO1*基因甲基化水平 各组胃液中*ELMO1*基因MSP电泳结果(图3). 在胃液DNA中*ELMO1*基因甲基化率分别为: 慢性浅表性胃炎组0%, 慢性萎缩性胃炎组10%, GC组76.7%, 前二者比较显著差异( $P<0.05$ ), 前两者分别与GC组比较差异显著( $P<0.01$ ). 早期GC与进展期GC患者胃液*ELMO1*基因甲基化率分别为73.3%、80.0%, 两者比较差异不显著( $P>0.05$ ).

2.3 GC患者*ELMO1*基因启动子区甲基化与临床病理因素的关系 15例早期GC与22例进展期GC患者组织中*ELMO1*基因甲基化率分别为86.7%、100%, 两者无显著差异( $P>0.05$ ), 与肿瘤临床分期、大小及淋巴结转移等无明显相关性(表3).

统计分析: Mann-Whitney  $U$ 检验(年龄); Fisher's精确检验(性别, 肿瘤分期, 肿瘤大小, 淋巴结转移)

## 3 讨论

近年研究表明, 早期GC患者的5年生存率超过90%, 中晚期GC患者的5年生存率则降至20%-30%<sup>[9,10]</sup>. 早期干预对于GC患者具有重要意义, 但由于缺乏GC早期的独特临床诊断特征及指标, 早期GC的诊断率不到15%, 多数患者确诊时已处于中晚期, 大大降低了生存率, 因此, 寻找有效的早期诊断指标对于提高GC患者的生存率具

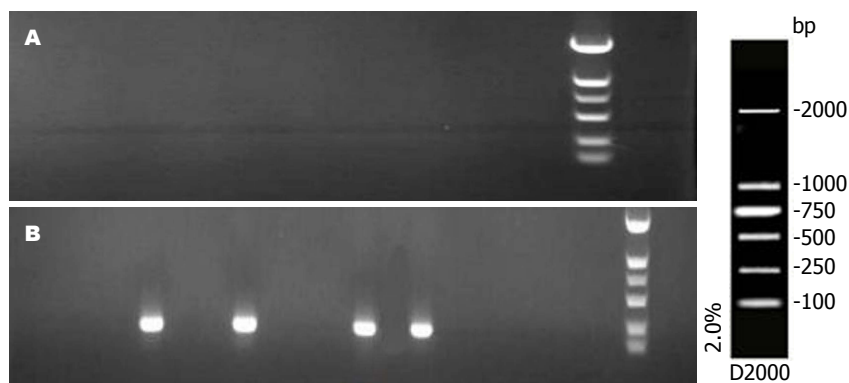
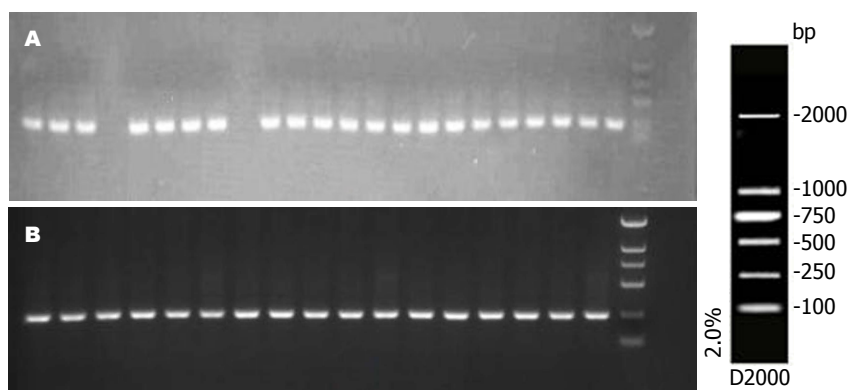


表 1 患者的一般资料情况

项目		非萎缩性胃炎	萎缩性胃炎	早期胃癌	进展期胃癌
性别/例	男	10	10	8	12
	女	10	10	7	10
	总计	20	20	15	22
年龄/岁	范围	35-69	43-74	42-75	41-71
	平均	55.2 ± 13.5	57.7 ± 14.7	56.5 ± 13.6	55.7 ± 14.6

表 2 *ELMO1* 引物序列

引物名称	引物序列
<i>ELMO1</i> -M-F	5'-AGTAGCGGTAGTCGGCGGTGTAG-3'
<i>ELMO1</i> -M-R	5'-AATCGCAAAACAACAACGACAAA-3'
<i>ELMO1</i> -U-F	5'-AGTAGTGGTAGTTGGTGGTGTAG-3'
<i>ELMO1</i> -U-R	5'-AATTGCAAAACAACAATGACAAA-3'

图 1 非萎缩性胃炎及萎缩性胃炎组织 *ELMO1* 甲基化特异性 PCR 电泳结果. A: 非萎缩性胃炎; B: 萎缩性胃炎.图 2 胃癌及癌旁组织 *ELMO1* 甲基化特异性 PCR 电泳结果. A: 胃癌组织; B: 癌旁组织.

有重要意义<sup>[11,12]</sup>. 目前GC的早期诊断依赖于对包括慢性胃炎黏膜萎缩、肠上皮化生及异常增生等在内的癌前病变的追踪随访. 近年来研究发现, 以DNA甲基化为代表的表观遗传学可在肿瘤的诊断及预后中具有重要作用<sup>[13,14]</sup>. *ELMO1* 基因, 是进化上非常保守的一种序列, 主

要介导细胞的吞噬、移动和形态改变. *ELMO1* 在包括肺癌、乳腺癌、食管腺癌、卵巢癌、甲状腺癌、横纹肌肉瘤和神经胶质瘤等多种恶性肿瘤中有不同程度的异常表达, 且与肿瘤的临床分期及预后密切相关, 是与肿瘤细胞迁移相关的基因之一<sup>[15-20]</sup>, 其在GC发生中的作

表 3 胃癌*ELMO1*甲基化与临床病理因素关系

临床参数		总数 37例	<i>ELMO1</i> 高甲基化35例	<i>ELMO1</i> 非甲基化2例	P值
平均年龄(岁)(范围)		56.3 (35-75)	57.5 (38-75)	52.6 (36-67)	0.895
性别, 例(%)	男	20 (54.05)	19 (54.29)	1 (50.0)	0.675
	女	17 (45.95)	16 (45.71)	1 (50.0)	
肿瘤分期	早期胃癌	15 (40.54)	13 (37.14)	2 (100.0)	1.000
	进展期胃癌	22 (59.45)	22 (62.86)	0 (0)	
肿瘤位置	胃窦	20 (54.05)	19 (54.29)	1 (50.0)	0.675
	胃体	17 (45.95)	16 (45.71)	1 (50.0)	
淋巴结转移	有	27 (72.97)	27 (72.97)	0 (0)	1.000
	无	10 (27.03)	10 (27.03)	2 (100)	

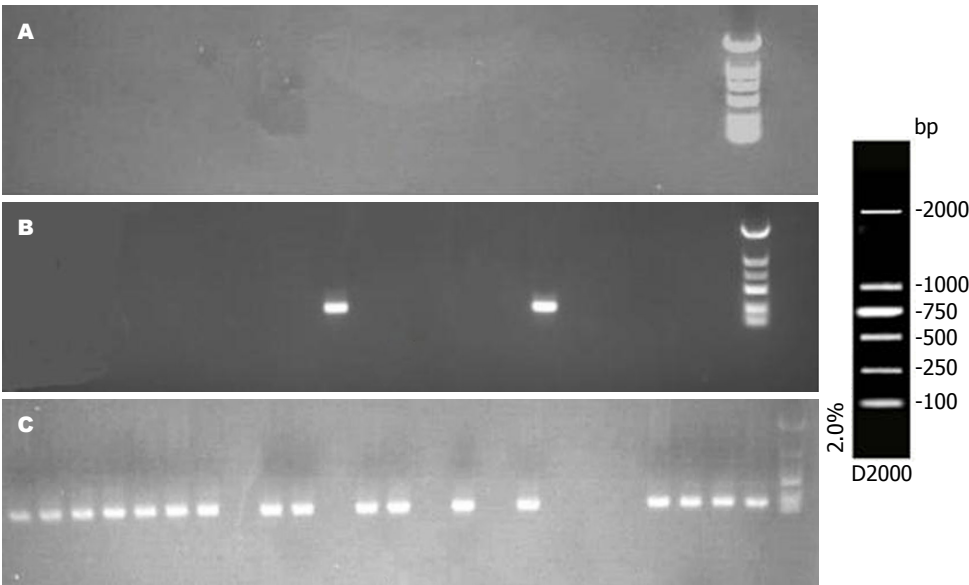


图 3 *ELMO1*甲基化特异性PCR检测各组胃液中的结果. A: 非萎缩性胃炎组; B: 萎缩性胃炎组; C: 胃癌组.

用机制还不清楚.

GC的甲基化异常基因能否作为GC的分子诊断靶标文献报道较少, 目前还没文献报道有明确可靠的甲基化分子靶标用于GC的基因诊断. 2017年Pirini等<sup>[4]</sup>报道, 通过对胃镜活检标本进行全基因组甲基化指数(GDMI)及联合检测*IRF4*, *ELMO1*, *CLIP4* and *MSC*启动子区甲基化, 发现GDMI大于4及*IRF4*, *ELMO1*, *CLIP4* and *MSC*启动子区高甲基化对于GC风险的预测具有较大的价值.

胃液中含有大量的胃黏膜脱落细胞及其DNA, 易于获取, 是进行GC分子诊断的良好标本. 在我国人口众多, GC是高发肿瘤, 但现有的GC筛查方法包括血清学及胃镜检查费用较高, 且不易在人群中推广和接受, 如能在胃液中找到理想的GC诊断分子靶标, 通过胃管法获取胃液进行GC分子靶标的检测, 对于人群GC的筛查具有更好的接受度和社会经济效益比. 2016年Yamamoto等<sup>[6]</sup>报道, 通过对GC患者组织及胃液DNA中

*BARHL2*基因甲基化研究发现: *BARHL2*基因甲基化异常在GC患者中敏感性达到90%, 特异性达到100%, 但未见后续研究报道. 我们也进行了该基因的同研究, 但结果是*BARHL2*基因在GC、癌旁及慢性胃炎中均呈高甲基化状态, 没有特异性, 不能作为GC的分子诊断靶标.

本文研究了*ELMO1*基因在慢性非萎缩性胃炎、慢性萎缩性胃炎及GC和癌旁组织及相应胃液中该基因甲基化情况, 及其与GC患者肿瘤分期、淋巴结转移及预后的关系. 研究结果表明: GC患者病理组织及胃液DNA中*ELMO1*基因启动子区均呈高甲基化状态, 并有较高的一致性, 并且在早期GC中即明显升高, 在慢性非萎缩性胃炎患者中无甲基化发生, 在慢性萎缩性胃炎患者中有少量甲基化发生, 在GC患者中*ELMO1*几乎均发生甲基化, 提示*ELMO1*基因甲基化可作为GC的分子诊断靶标. 我们的研究结果表明在早癌GC患者胃液中进行*ELMO1*基因甲基化检测具有较高的敏感性和特异性,

可作为早期GC的诊断方法. *ELMO1* 在萎缩性胃炎的患者中也有20%的甲基化率, 提示该基因甲基化对GC的发生有一定的预警作用. GC患者*ELMO1* 基因启动子区甲基化与性别、临床病理分期、肿瘤部位及淋巴结转移等无明显相关性. 另外癌旁组织中*ELMO1* 基因同样发生高甲基化, 并与癌组织基本一致, 其发生机制尚不明确, 需要进一步研究.

综上所述, *ELMO1* 基因启动子区甲基化在GC组织中具有很高的发生率, 并且在早癌GC中既可发生, 可作为GC早期诊断的分子靶标. 在胃液中检测*ELMO1* 基因甲基化可用于GC的早期诊断; 在胃镜检查的同时留取胃液检测*ELMO1* 甲基化的改变有助于提高GC的诊断率及预测GC的发生风险. 同时, 可通过胃管法留取胃液进行GC的无症状人群筛查, 避免胃镜检查的痛苦及提高经济效益. *ELMO1* 基因启动子区CpG岛也可作为GC治疗的一个潜在药物靶点, 为GC的早期诊断和治疗提供新的思路与理论依据.

## 文章亮点

### 实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是我国发病率和死亡率分别位于第二位和第一位的恶性肿瘤, GC的预后与诊断时的疾病阶段密切相关. 在早期发现时, GC通常是可治愈的, 5年生存率大于90%, 而晚期GC的预后很差, 5年生存率仅为20-30%. 早期GC被定义为癌组织局限于胃黏膜或黏膜下层(不论有淋巴结转移), 由于没有特异性症状, 仅有不到20%的GC被诊断为早期GC. 胃镜是目前GC早期诊断的金标准, 但由于我国人口众多、胃镜检查接受度差及内镜医师缺乏等, 不能作为GC早筛、早诊的手段. 近年来肿瘤基因甲基化的研究为肿瘤早期诊断带来了曙光, 部分肿瘤的甲基化基因诊断已进入临床应用, 并取得了较好的经济效益. 近年有文献报道吞噬细胞运动蛋白1(engulfment and cell motility 1, *ELMO1*)基因在GC患者中呈高甲基化状态, 但能否作为GC的分子诊断靶标尚无定论. 本文对慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC患者病理组织及胃液中*ELMO1* 基因甲基化水平进行研究, 旨在探讨*ELMO1* 基因甲基化能否作为GC的分子诊断标记物以及胃液能否用于检测标本.

### 实验动机

本文研究的主题是*ELMO1* 基因在慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC组织及胃液DNA中甲基化异化情况. 拟解决的关键问题是*ELMO1* 基因甲基化异化是否具有GC特异性和敏感性, 在胃液DNA中可否检测到*ELMO1* 基因甲基化异化, 以及其能否作为GC的分子诊

断靶标. 问题的解决将为GC的早期诊断提供一种新的方法.

### 实验目标

本研究的主要目标是*ELMO1* 基因甲基化异化是否具有GC特异性和敏感性, 对于早期GC是否具有诊断价值, 以及胃液可否用于*ELMO1* 基因甲基化异化的诊断标本. 如实验达成这三个目标, 将为早期GC的分子靶标诊断研究及临床应用奠定基础.

### 实验方法

以慢性非萎缩性胃炎、慢性萎缩性胃炎、GC患者(包括早期GC及进展期GC)为研究对象, 胃镜检查同时收集胃液及组织标本. 通过甲基化特异聚合酶链反应(MSP)检测三组患者组织及胃液DNA中*ELMO1* 基因甲基化水平, 并进行组间对比分析, 并分析*ELMO1* 基因甲基化异化与GC的发生、分期及转移的关系等.

### 实验结果

本实验的结果是*ELMO1* 基因甲基化率在慢性浅表性胃炎、慢性萎缩性胃炎及GC组分别为0%、20%、93.3%, 差异显著( $P<0.01$ ); 在胃液DNA中依次为: 0%、12.3%、76.7%, 差异显著( $P<0.05$ ). 癌旁组织DNA中*ELMO1* 基因甲基化率为96.7%, 与GC组比较差异不显著( $P>0.05$ ); 早期GC与进展期GC患者组织中*ELMO1* 基因甲基化率分别为86.7%、100%, 两者胃液中*ELMO1* 基因甲基化率在分别为73.3%、80.0%, 两者在胃液及组织中比较均无显著差异( $P>0.05$ ). *ELMO1* 基因甲基化异化与GC的临床分期、大小及淋巴结转移等无明显相关性. 本实验达成了实验目标, *ELMO1* 基因甲基化异化在GC患者组织及胃液DNA中具有较高的特异性和敏感性, 为早期GC的分子靶标诊断研究及临床应用奠定了基础.

### 实验结论

GC *ELMO1* 基因启动子区甲基化异化具有特异性, 在GC组织及胃液中检测其甲基化异化具有敏感性, 并且在早期GC中也具有较高敏感性, *ELMO1* 基因甲基化可作为GC早期诊断的分子靶标, 并且胃液可作为*ELMO1* 基因甲基化检测的良好标本. 本研究为GC的分子靶标诊断及临床应用进行了探索, 为以后GC甲基化分子靶标在粪便及血液等标本的检测研究奠定了基础.

### 展望前景

本研究入组实验样本数偏少, 需要进一步扩大样本量验证实验结果, 需要更进一步细化研究, 如慢性萎缩性胃炎中不典型增生或肠上皮化生与早期GC的差异, 为临床提供更科学的数据支撑. 下一步将扩大样本量研究,

并进一步研究血液及粪便中该基因甲基化异化情况, 并建立该基因甲基化高通量定量检测方法, 为临床应用奠定基础。

#### 4 参考文献

- 杨梦迪, 王学红, 张梅. 表观遗传学在胃癌中的研究进展. 癌症进展 2019; 17: 503-506 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.05.02]
- Sapari NS, Loh M, Vaithilingam A, Soong R. Clinical potential of DNA methylation in gastric cancer: a meta-analysis. *PLoS One* 2012; 7: e36275 [PMID: 22558417 DOI: 10.1371/journal.pone.0036275]
- 易默, 周健, 李颖, 史丽萍, 何小勤. hMLH1 基因甲基化在胃癌早期诊断中的应用价值. 国际消化病杂志 2016; 36: 299-302 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-534X.2016.05.011]
- Pirini F, Noazin S, Jahuiria-Arias MH, Rodriguez-Torres S, Friess L, Michailidi C, Cok J, Combe J, Vargas G, Prado W, Soudry E, Pérez J, Yudin T, Mancinelli A, Unger H, Ili-Gangas C, Brebi-Mieville P, Berg DE, Hayashi M, Sidransky D, Gilman RH, Guerrero-Preston R. Early detection of gastric cancer using global, genome-wide and IRF4, ELMO1, CLIP4 and MSC DNA methylation in endoscopic biopsies. *Oncotarget* 2017; 8: 38501-38516 [PMID: 28418867 DOI: 10.18632/oncotarget.16258]
- Anderson BW, Suh YS, Choi B, Lee HJ, Yab TC, Taylor WR, Dukek BA, Berger CK, Cao X, Foote PH, Devens ME, Boardman LA, Kisiel JB, Mahoney DW, Slettedahl SW, Allawi HT, Lidgard GP, Smyrk TC, Yang HK, Ahlquist DA. Detection of Gastric Cancer with Novel Methylated DNA Markers: Discovery, Tissue Validation, and Pilot Testing in Plasma. *Clin Cancer Res* 2018; 24: 5724-5734 [PMID: 29844130 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-17-3364]
- Yamamoto H, Watanabe Y, Oikawa R, Morita R, Yoshida Y, Maehata T, Yasuda H, Itoh F. BARHL2 Methylation Using Gastric Wash DNA or Gastric Juice Exosomal DNA is a Useful Marker For Early Detection of Gastric Cancer in an H. pylori-Independent Manner. *Clin Transl Gastroenterol* 2016; 7: e184 [PMID: 27441821 DOI: 10.1038/ctg.2016.40]
- 中华医学会消化病学分会. 中国慢性胃炎共识意见(2017年, 上海). 中华消化杂志 2017; 37: 721-738 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-1432.2017.11.001]
- 中国临床肿瘤学会指南工作委员会. 中国临床肿瘤学会(CSCO)原发性胃癌诊疗指南(2017.V1). 人民卫生出版社 2017; 07 ISBN: 9787117243803
- 朱敏, 张谢田. 内镜技术预测早期胃癌浸润深度的研究进展. 中华消化内镜杂志 2019; 36: 58-61 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2019.01.016]
- 黄莎, 戴璿, 高娟娟, 游伟程, 潘凯枫, 李文庆. 胃癌分子流行病学研究进展. 中国肿瘤临床 2019; 46: 16-21 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-8179.2019.01.848]
- 郑潇豪, 解亦斌. 中国晚期胃癌的诊疗现状. 癌症进展 2019; 17: 13-19, 48 [DOI: 10.11877/j.issn.1672-1535.2019.17.01.04]
- Ding Y, Yang Q, Wang B, Ye G, Tong X. The Correlation of MGMT Promoter Methylation and Clinicopathological Features in Gastric Cancer: A Systematic Review and Meta-Analysis. *PLoS One* 2016; 11: e0165509 [PMID: 27824946 DOI: 10.1371/journal.pone.0165509]
- 高哈尔, 张阳, 周静, 李哲轩, 马峻岭, 刘卫东, 邓大君, 游伟程, 潘凯枫. p16 基因甲基化与胃黏膜异型增生恶性转化的关系. 中华肿瘤防治杂志 2017; 24: 431-436 [DOI: 10.16073/j.cnki.cjcp.2017.07.001]
- 王崇宇. RUNX3 与 CHFR 基因甲基化提示胃癌癌前病变的研究. 基因组学与应用生物学 2017; 36: 1301-1306 [DOI: 10.13417/j.gab.036.001301]
- Jarzynka MJ, Hu B, Hui KM, Bar-Joseph I, Gu W, Hirose T, Haney LB, Ravichandran KS, Nishikawa R, Cheng SY. ELMO1 and Dock180, a bipartite Rac1 guanine nucleotide exchange factor, promote human glioma cell invasion. *Cancer Res* 2007; 67: 7203-7211 [PMID: 17671188 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-07-0473]
- Kristensen LS, Søres S, Hansen LL. ELMO3: a direct driver of cancer metastasis? *Cell Cycle* 2014; 13: 2483-2484 [PMID: 25486185 DOI: 10.4161/15384101.2014.947228]
- Søres S, Daugaard IL, Sørensen BS, Carus A, Mattheisen M, Alsner J, Overgaard J, Hager H, Hansen LL, Kristensen LS. Hypomethylation and increased expression of the putative oncogene ELMO3 are associated with lung cancer development and metastases formation. *Oncoscience* 2014; 1: 367-374 [PMID: 25594031 DOI: 10.18632/oncoscience.42]
- Li H, Yang L, Fu H, Yan J, Wang Y, Guo H, Hao X, Xu X, Jin T, Zhang N. Association between Gai2 and ELMO1/Dock180 connects chemokine signalling with Rac activation and metastasis. *Nat Commun* 2013; 4: 1706 [PMID: 23591873 DOI: 10.1038/ncomms2680]
- Abu-Thuraia A, Gauthier R, Chidiac R, Fukui Y, Sreaton RA, Gratton JP, Côté JF. Axl phosphorylates Elmo scaffold proteins to promote Rac activation and cell invasion. *Mol Cell Biol* 2015; 35: 76-87 [PMID: 25332238 DOI: 10.1128/MCB.00764-14]
- Peng HY, Yu QF, Shen W, Guo CM, Li Z, Zhou XY, Zhou NJ, Min WP, Gao D. Knockdown of ELMO3 Suppresses Growth, Invasion and Metastasis of Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci* 2016; 17 [PMID: 27999268 DOI: 10.3390/ijms17122119]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红





# 胃泌素在结肠癌患者中的表达及其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及其对P38信号转导通路的影响

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 黄 锋

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 金华市中心医院金西院区/金华市婺城区第一人民医院检验科 浙江省金华市 321075

黄 锋, 天津市东丽医院消化科 天津市 300300

王斌峰, 主管技师, 研究方向为免疫学检验.

作者贡献分布: 王斌峰负责课题设计和研究主要事项及论文写作; 郑丽芳与徐秀华负责课题材料提供; 黄锋负责数据整理分析.

通讯作者: 王斌峰, 主管技师, 321075, 浙江省金华市汤溪镇琳湖街829号, 金华市中心医院金西院区/金华市婺城区第一人民医院检验科.  
nllrp@163.com  
电话: 0579-82669612

收稿日期: 2019-04-12

修回日期: 2019-07-02

接受日期: 2019-08-26

在线出版日期: 2019-09-08

## Expression of gastrin in colon cancer and its effect on human colon cancer cell proliferation and P38 signal transduction pathway

Bin-Feng Wang, Li-Fang Zheng, Xiu-Hua Xu, Feng Huang

Bin-Feng Wang, Li-Fang Zheng, Xiu-Hua Xu, Department of Clinical Laboratory, Jinxi Hospital of Jinhua City Center, First People's Hospital, Xiangcheng District, Jinhua 321075, Zhejiang Province, China

Feng Huang, Department of Gastroenterology, Tianjin Dongli Hospital, Tianjin 300300, China

Corresponding author: Bin-Feng Wang, Chief Technician, Department of Clinical Laboratory, Jinxi Hospital of Jinhua City Center, First People's Hospital, Xiangcheng District, No. 829, Linhu Street, Tangxi Town, Jinhua 321075, Zhejiang Province, China. nllrp@163.com

Received: 2019-04-12

Revised: 2019-07-02

Accepted: 2019-08-26

Published online: 2019-09-08

## Abstract BACKGROUND

Colon cancer (CC) is a common malignant tumor of the digestive system in China. The early diagnosis is low due to nonspecific symptoms, which leads to the loss of chance of radical surgery and a high mortality rate, greatly harming patients' life and health. Gastrin is a hormone that is mainly secreted from G cells in the gastrointestinal tract. Upon binding to gastrin receptors, it stimulates gastric acid secretion and promotes gastrointestinal mucosal growth. Mitogen-activated protein kinases (MAPKs) are a group of serine-threonine protein kinases that are activated by hormones such as gastrin and are responsible for signal transduction between the cell surface and the nucleus.

## AIM

To analyze the expression of gastrin in CC patients, and to investigate the inhibitory effect of gastrin receptor antagonist on human CC cell line and the P38 signal transduction pathway.

## METHODS

From January 2016 to October 2018, 30 CC specimens collected from the Department of Pathology of our hospital were divided into poorly, moderately, and highly differentiated specimens according to the criteria of the World Health Organization's malignant tumor differentiation. The immunohistochemical technique was used to detect the expression of gastrin in these specimens. The human CC cell line SW480 was cultured *in vitro*, and the cells were divided into a control group (no drug treatment), a gastrin group (6.25-200.00 mg/L of gastrin

was added), a proglumide group (8.00-256.00 mg/L of proglumide for treatment), and a gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L gastrin and 8.00-256.00 mg/L proglumide for treatment). The expression of gastrin receptor/cholecystikinin-B receptor in SW480 cells was detected, and SW480 cell viability, proliferation index, and expression of P38 signal transduction pathway molecules (P38 protein, phosphorylated P38 protein, Bcl-2, and BAX) in different groups were compared.

## RESULTS

The higher the degree of differentiation of CC tissues, the higher the positive rate of gastrin expression. The OD values of SW480 cells treated with gastrin at concentrations ranging from 6.25 to 200.00 mg/L were significantly higher than those in control cells ( $P < 0.05$ ). Gastrin at a concentration of 12.50 mg resulted in the highest OD value in SW480 cells ( $P < 0.05$ ). There was no significant difference in OD values of SW480 cells treated with gastrin at concentrations between 25.00 and 200.00 mg/L ( $P > 0.05$ ). There was no significant difference in OD values of SW480 cells treated with glutamine at concentrations of 8.00-256.00 mg/L ( $P > 0.05$ ). Gastrin at 12.50 mg/L combined with 16.00 mg/L of proglumide resulted in the lowest OD value in SW480 cells, which was significantly lower than that in the control group ( $P < 0.05$ ), but this significant difference disappeared with the increase of proglumide concentration ( $P > 0.05$ ). The cell proliferation index of the gastrin group (12.50 mg/L) was significantly higher than those of the proglumide group (16.00 mg/L) and the gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L + 16.00 mg/L) ( $P < 0.05$ ). The levels of P38 protein expression and phosphorylation and BAX protein expression in the gastrin group (12.50 mg/L) were significantly lower than those of the control group, proglumide group (16.00 mg/L), and gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L + 16.00 mg/L), while Bcl-2 protein expression was significantly higher than in the control group, proglumide group (16.00 mg/L), and gastrin plus proglumide group (12.5 mg/L + 16.00 mg/L) ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

Gastrin can inhibit the apoptosis of human CC cell line SW480, and its expression in CC is related to the degree of tumor differentiation. The higher the degree of differentiation, the higher the expression level. Gastrin receptor antagonist can antagonize the proliferative effect of gastrin via mechanisms possibly related to up-regulation of P38 expression, phosphorylation of P38, and BAX expression and down-regulation of Bcl-2 expression.

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

**Key words:** Gastrin receptor antagonist; Gastrin; Human colon cancer cell line; P38 signal transduction pathway; SW480

Wang BF, Zheng LF, Xu XH, Huang F. Expression of gastrin in colon cancer and its effect on human colon cancer cell proliferation and P38 signal transduction pathway. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1062-1069

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1062.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1062>

## 摘要

### 背景

结肠癌(colon cancer, CC)是我国常见消化系统恶性肿瘤,早期缺乏特异性症状诊断率较低,导致患者丧失根治性机会,病死率较高,极大危害患者生命健康。胃泌素主要是由胃肠道G细胞分泌一种激素,与胃泌素受体结合后可刺激胃酸分泌,促进胃肠道黏膜生长。丝裂原活化蛋白激酶是一组能被胃泌素等激素激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶,负责细胞表面与细胞核内部间信号传递。

### 目的

分析胃泌素在CC患者中的表达,并探讨其受体拮抗剂对人CC细胞株的抑制作用及对P38信号转导通路的影响。

### 方法

将2016-01/2018-10我院病理科30例CC组织标本根据世界卫生组织恶性肿瘤分化程度标准分为低分化标本、中分化标本、高分化标本,采用免疫组化技术检测观察胃泌素在CC组织中表达情况,体外培养人CC细胞株SW480,将细胞分为对照组(不进行任何药物处理)、胃泌素组(分别加入6.25-200.00 mg/L胃泌素进行处理)、丙谷胺组(分别加入8.00-256.00 mg/L丙谷胺进行处理)、胃泌素联合丙谷胺组(加入12.5 mg/L胃泌素与8.00-256.00 mg/L丙谷胺进行处理),统计SW480中胃泌素受体/胆囊收缩素-B受体表达情况,比较各组CC细胞株SW480活力、细胞增殖指数、P38信号转导通路表达情况P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、B淋巴细胞瘤-2(B lymphocyte tumor-2, SBcl-2)、细胞凋亡促进基因(BAX)。

### 结果

CC组织分化程度越高,胃泌素表达阳性率越高;胃泌素组6.25-200.00 mg/L范围内SW480 OD值均高于对照组( $P < 0.05$ );胃泌素组12.50 mg/L时SW480 OD值最高( $P < 0.05$ );胃泌素组25.00-200.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );丙谷胺组8.00-256.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );胃泌素组联合丙谷胺组在

12.50 mg/L胃泌素联合16.00 mg/L丙谷胺时, SW480 OD值最低, 低于对照组( $P<0.05$ ), 之后随着丙谷胺浓度增加, SW480 OD值比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ); 胃泌素组(12.50 mg/L)细胞增殖指数高于丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)( $P<0.05$ ); 胃泌素组(12.50 mg/L)P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、BAX蛋白低于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L), Bcl-2蛋白表达高于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)( $P<0.05$ ).

## 结论

胃泌素可抑制人CC细胞株SW480的凋亡, 且在CC组织中的表达与肿瘤分化程度有关, 分化程度越高, 其表达量越高, 胃泌素受体拮抗剂在一定浓度范围内可拮抗胃泌素促增殖效应, 其机制与上调P38、磷酸化-P38、BAX表达及下调Bcl-2表达有关.

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

关键词: 胃泌素受体拮抗剂; 胃泌素; 人结肠癌细胞株; P38信号转导通路; SW480

**核心提要:** 胃泌素在结肠癌组织中的表达与肿瘤分化程度有关, 分化程度越高, 其表达量越高, 胃泌素受体拮抗剂在一定浓度范围内可拮抗胃泌素促增殖效应, 其机制与上调P38、磷酸化-P38、BAX表达及下调Bcl-2表达有关.

王斌峰, 郑丽芳, 徐秀华, 黄锋. 胃泌素在结肠癌患者中的表达及其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及其对P38信号转导通路的影响. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1062-1069

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1062.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1062>

## 0 引言

结肠癌(colon cancer, CC)是我国常见消化系统恶性肿瘤, 早期缺乏特异性症状诊断率较低, 导致患者丧失根治性机会, 病死率较高, 极大危害患者生命健康. 胃泌素主要是由胃肠道G细胞分泌一种激素, 与胃泌素受体结合后可刺激胃酸分泌, 促进胃肠道黏膜生长. 既往研究证实, 部分结肠肿瘤细胞株能产生胃泌素, 且大肠癌细胞表面表达有胃泌素受体, 因此推测癌细胞能通过自身分泌的胃泌素与对应受体作用, 实现相应生物学效应, 影响着肿瘤细胞增殖, 但其详细作用及机制尚未明确<sup>[1,2]</sup>. 丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)是一组能被胃泌素等激素激活的丝氨酸-苏氨酸蛋白激酶, 负责细胞表面与细胞核内部间信号传递<sup>[3]</sup>.

而P38 MAPK是一种重要细胞内信号转导分子, 与凋亡的启动、细胞周期的静止等息息相关<sup>[4]</sup>. 本研究选取30例CC患者, 分析胃泌素在CC患者中的表达, 并探讨其受体拮抗剂对人结肠癌细胞株的抑制作用及对P38信号转导通路的影响, 报道如下.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 胃泌素受体/胆囊收缩素-B受体(cholecystokinin-B receptor, CCK-BR)mRNA扩增引物(上海生工生物公司); 人大肠癌细胞株SW480(中国科学院上海生命科学研究院); 荧光染料(Biosharp公司); 胎牛血清与RPMI-1640培养基(美国Hyclone公司); 逆转录试剂盒(加拿大Fermentas公司); 胰蛋白酶(碧云天公司); Trizol试剂(美国Invitrogen公司); 5-肽胃泌素(Biosharp公司); P38与磷酸化P38兔抗人多克隆抗体(美国Cell Signaling technology公司); 丙谷胺(中国药品生物检定所);  $\beta$ -肌动蛋白抗体(碧云天公司); 噻唑兰(MTT, Bio-sharp公司); ECL化学发光试剂(Millipore公司); 细胞周期染色试剂盒(凯基公司); 兔抗人多克隆抗体(Biosharp公司); 羊抗小鼠多克隆抗体、PVDF膜(上海户实); 离心机(湖南恒诺仪器设备有限公司); 液氮箱(上海京灿); 流式细胞仪(美国贝克曼); 酶标仪(BIOBASE-EL10A, 济南来宝医疗器械).

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组化检测胃泌素表达:** 取2016-01/2018-10我院病理科30例CC患者结肠癌组织标本根据世界卫生组织恶性肿瘤分化程度标准分为低分化标本、中分化标本、高分化标本, 同时选取癌旁肠黏膜组织标本, 切片常规脱蜡、复水, 缓冲液清洗2次, 滴甲醇配制0.3%过氧化氢阻断液, 10 min后缓冲液清洗, 滴加一抗工作液(稀释度1:200)37 °C孵育1-2 h, 缓冲液清洗, 滴加抗体增强剂, 室温放置20 min, 缓冲液清洗, 滴加二抗, 室温放置30 min, 缓冲液清洗, 滴加1-2滴DAB Plus Chromogen, 自来水冲洗, 复染, 脱水, 透明, 封片, 观察不同分化程度患者结肠癌组织中胃泌素表达.

**1.2.2 SW480结肠癌细胞株培养:** (1)细胞复苏: 培养基、PBS于37 °C恒温水浴预热备用, 取出SW480细胞冷冻管, 立即放入37 °C水槽中快速解冻, 离心, 弃上清, 加入培养基, 吹打, 移入培养瓶中, 加入适量培养基, 放入CO<sub>2</sub>培养箱中培养, 瓶壁长满>80%时, 进行细胞传代; (2)细胞传代: 弃去长满细胞培养瓶中原培养液, 加入0.5 ml胰蛋白酶, 瓶口塞好橡皮塞, 放在倒置镜下观察细胞, 贴壁细胞逐渐趋于圆形, 于未漂起时弃去胰蛋白酶, 加入10 ml培养液终止消化, 用吸管将贴壁的细胞吹打成悬液, 分装后继续培养; (3)细胞冻存: 工作台与细胞室以紫外线进行15 min照射, 预热小牛血清、胰蛋白酶、培养液等备



用, 收集处于对数生长期细胞(冻存前日最好进行换液), 用吸管吸出培养瓶中细胞培养液, PBS洗2遍, 吸出冲洗液, 加入胰蛋白酶消化处理, 弃去消化液, 加入少量新培养液, 吸管吸取培养液对瓶壁上细胞进行拍打, 至细胞悬液后, 加入培养液至冻存管中, 1000 r/min离心10 min, 去上清, 加入冻存液, 吹打成均匀状态, 放置冻存管至4 °C 10 min、-20 °C 30 min、-80 °C 16-18 h、液氮槽长期保存。

1.2.3 分组: 将细胞分为对照组(不进行任何药物处理)、胃泌素组(分别加入6.25、12.50、25.00、50.00、100.00、200.00 mg/L胃泌素进行处理)、丙谷胺组(分别加入8.00、16.00、32.00、64.00、128.00、256.00 mg/L丙谷胺进行处理)、胃泌素联合丙谷胺组(加入12.5 mg/L胃泌素与8.00、16.00、32.00、64.00、128.00、256.00 mg/L丙谷胺进行处理)。

1.2.4 检测CCK-BR表达: Trizol试剂提取总RNA, 加入逆转录试剂盒合成cDNA, 以cDNA为模板进行PCR反应, 条件为: 共39个循环, 预变性95 °C 30 s, 之后每一步变性95 °C 15 s, 退火延伸53.9 °C 30 s, 制作溶液曲线, 95 °C变性30 s, 冷却至65 °C, 从65 °C 10 s开始, 每步增加0.5 °C, 至95 °C 10 s,  $\beta$ -肌动蛋白引物序列上下游分别为5'-TGACGTGGACATCGCAAG-3、5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3, CCK-BR引物序列上下游分别为5'-TCTCGCGAGCTCTACTTAGGG-3、5'-AC-CGACGATGCACGTTGAAG-3, 扩增产物为203 bp、185 bp。

1.2.5 检测结肠癌细胞株SW480活力: 取对数生长期SW480细胞, 加入胰蛋白酶消化处理成单细胞悬液, 应用含胎牛血清10%培养液调整细胞为 $5 \times 10^4$ 个/ml浓度, 以每孔200  $\mu$ l接种于96孔培养板, 24 h细胞贴壁后, 去培养液, PBS洗2遍, 加入无血清培养液继续培养, 24 h后再以每孔200  $\mu$ l 10%胎牛血清加入。各组按照预设方法方法与浓度进行对应处理, 分别设6个复孔, 培养48 h, 每孔加入10  $\mu$ l浓度为5 mg/ml MTT, 放入孵育箱孵育(4 h, 37 °C), 去培养液, 各孔加入DMSO 150  $\mu$ l, 震荡处理后应用酶标仪检测光吸收值(OD), 以492 nm下OD表示SW480活力。

1.2.6 细胞增殖检测: 采用与1.5相同方法调整细胞浓度为 $1.7 \times 10^5$ 个/ml, 以每孔2 ml接种于6孔培养板, 培养24 h, 更换无血清培养液继续培养, 24 h后去上清液, 以每孔2 ml加入含有处理因素1%胎牛血清, 胃泌素组(12.50 mg/L)、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素联合丙谷胺组(12.5 mg/L胃泌素与16.00 mg/L丙谷胺)均设复孔5个, 进行48 h培养, 消化离心后去上清, 加入1 ml冷PBS震荡, 离心, 去上清, 滴入70% 1 ml冷乙醇进行固定, 过夜(4 °C), 实施DNA、蛋白质染色, 流式细胞仪检测细胞增殖情况。

1.2.7 P38信号转导通路检测: 细胞总蛋白样品实施电

泳处理后, 转移至PVDF膜上, 封闭120 min, TBST漂洗2次, 应用5%胎牛血清稀释至1:2000, 加入一抗, 4 °C过夜, TBST漂洗3次, 加入二抗(辣根过氧化物酶标记过), 孵育120 min, TBST漂洗3次, 应用ECL显影, 放于全自动发光图像系统内成像, 分析平均光密度, 最终结果根据目标基因/ $\beta$ -肌动蛋白确定。

1.2.8 观察指标: (1)观察结肠癌组织中胃泌素表达; (2)统计SW480中CCK-BR表达情况; (3)比较各组结肠癌细胞株SW480活力; (4)比较各组细胞增殖指数; (5)比较各组P38信号转导通路表达情况: P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、B淋巴细胞瘤-2(Bcl-2)、细胞凋亡促进基因(BAX)。

统计学处理 采用SPSS 22.0统计学软件处理数据, 计量资料以(mean $\pm$ SD)表示, 多组间比较以单因素方差进行分析, 两两比较以LSD-*t*检验。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 结肠癌组织中胃泌素表达情况 胃泌素阳性反应着色于细胞质, 细胞核未见染色, 分化程度越高, 胃泌素表达阳性率越高, 而在癌旁肠黏膜组织中几乎不表达(图1-4)。

2.2 CCK-BR表达情况 SW480中CCK-BR PCR扩增产物为185 bp, 表达量为(1.57 $\pm$ 0.15)。

2.3 结肠癌细胞株SW480活力 胃泌素组、胃泌素联合丙谷胺组不同浓度范围内SW480 OD值比较差异具有统计学意义(P<0.05); 胃泌素组6.25-200.00 mg/L范围内SW480 OD值均高于对照组(P<0.05); 胃泌素组12.50 mg/L时SW480 OD值最高(P<0.05); 胃泌素组25.00-200.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义(P>0.05); 丙谷胺组8.00-256.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义(P>0.05); 胃泌素联合丙谷胺组在12.50 mg/L胃泌素联合16.00 mg/L丙谷胺时, SW480 OD值最低, 低于对照组(P<0.05), 之后随着丙谷胺浓度增加, SW480 OD值比较差异无统计学意义(P>0.05)。(表1、图5)。

2.4 细胞增殖情况 各组细胞增殖指数比较差异具有统计学意义(P<0.05); 丙谷胺组(16.00 mg/L)细胞增殖指数与对照组相比差异无统计学意义(P>0.05); 胃泌素组(12.50 mg/L)细胞增殖指数高于丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)(P<0.05)。(表2)。

2.5 P38信号转导通路 各组P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、Bcl-2蛋白、BAX蛋白表达比较差异具有统计学意义(P<0.05); 胃泌素组(12.50 mg/L)P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、BAX蛋白低于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L), Bcl-2蛋白表达高于对照组、丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联



表 1 比较各组结肠癌细胞株SW480活力(mean ± SD)

组别	浓度	样本	OD值	组别	浓度	样本	OD值	组别	浓度	样本	OD值
对照组		8	0.48 ± 0.03					胃泌素组			
胃泌素组	6.25	8	0.49 ± 0.04	丙谷胺组	8.00	8	0.47 ± 0.04	(12.5 mg/L)联合丙谷胺组	8.00	8	0.51 ± 0.03
	12.50	8	0.57 ± 0.02		16.00	8	0.47 ± 0.03		16.00	8	0.42 ± 0.02
	25.00	8	0.52 ± 0.03		32.00	8	0.48 ± 0.04		32.00	8	0.55 ± 0.03
	50.00	8	0.51 ± 0.02		64.00	8	0.48 ± 0.03		64.00	8	0.54 ± 0.05
	100.00	8	0.51 ± 0.03		128.00	8	0.47 ± 0.04		128.00	8	0.54 ± 0.06
	200.00	8	0.51 ± 0.04		256.00	8	0.47 ± 0.03		256.00	8	0.54 ± 0.06
	<i>F</i>		6.886				0.191				9.688
	<i>P</i> 值		0.000				0.978				0.000

表 2 比较各组细胞增殖指数(mean ± SD, %)

组别	样本	细胞增殖指数
对照组	8	29.16 ± 1.74
胃泌素组 (12.50 mg/L)	8	33.91 ± 1.55
丙谷胺组 (16.00 mg/L)	8	28.01 ± 2.16
胃泌素组联合丙谷胺组 (12.5 mg/L+16.00 mg/L)	8	28.29 ± 1.97
<i>F</i> 值		17.384
<i>P</i> 值		0.000

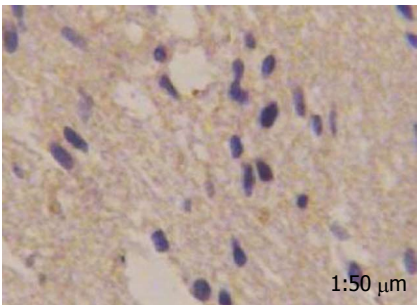


图 1 正常结肠黏膜组织中胃泌素表达情况.

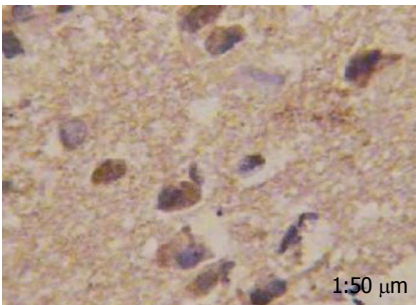


图 3 中分化程度结肠癌组织中胃泌素表达情况.

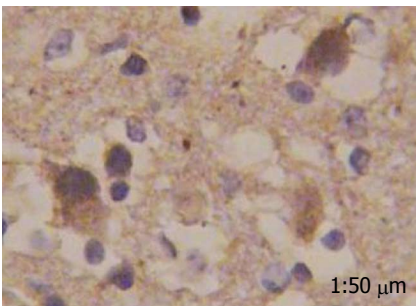


图 2 低分化程度结肠癌组织中胃泌素表达情况.

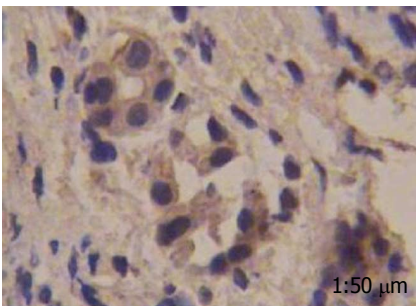


图 4 高分化程度结肠癌组织中胃泌素表达情况.

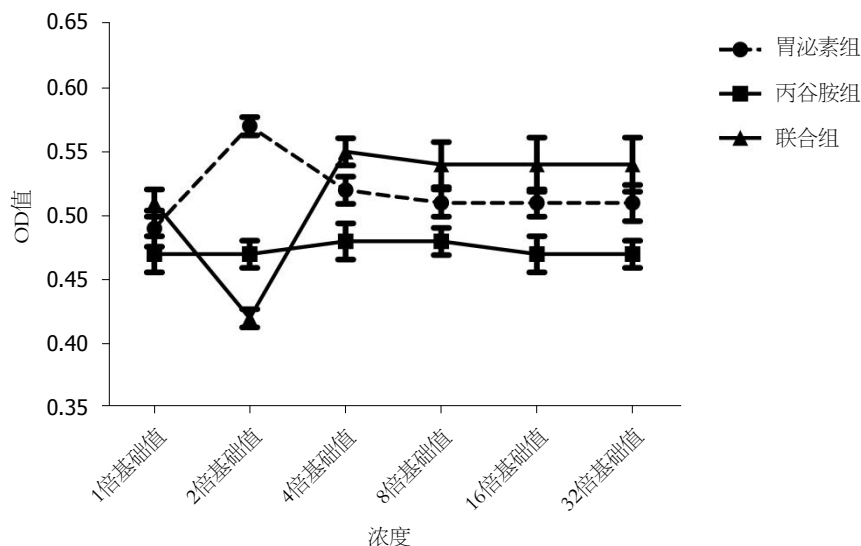


图 5 各组结肠癌细胞株SW480活力. 胃泌素组、丙谷胺组、联合组浓度基础值分别为6.25、8.00、8.00.

合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)( $P<0.05$ ). (表3).

### 3 讨论

胃泌素广泛存在于胰腺组织、胃肠道内, 是一种单拷贝基因, 由G细胞转录后, 在粗面内质网中翻译生成前胃泌素原, 并经蛋白酶切割与氨基酸衍生化作用完成翻译加工, 形成胃泌素<sup>[5]</sup>. 动物学实验表明, 胃泌素可通过与自身受体结合促进正常胃肠道黏膜生长<sup>[6]</sup>. 国外学者研究证实, 胃泌素在CC患者血清中呈高表达状态<sup>[7,8]</sup>. 近年来人们发现胃泌素除了这种经典远距分泌外, 还拥有其他分泌途径<sup>[9-11]</sup>. 如Rai等<sup>[12]</sup>研究指出, 胃癌患者肿瘤组织细胞膜表面存在胃泌素受体, 并推测这可能参与了恶性肿瘤细胞生长的调控. 本研究应用PCR检测CC癌细胞组织CCK-BR表达, 发现结肠癌细胞株SW480中存在CCK-BR, 提示胃泌素能通过旁分泌途径发挥生物学效应, 即胃泌素不仅能作用于自身细胞上该因子受体, 参与恶性肿瘤发生, 同时癌细胞产生胃泌素亦能与其表达胃泌素受体结合, 调控恶性肿瘤增殖过程. 同时本研究通过免疫组化染色发现, 分化程度越高, CC组织中胃泌素表达阳性率越高, 提示CC对胃泌素存在依赖性.

体外研究证实, 胃泌素异常表达造成的细胞生长失控可被胃泌素受体拮抗剂抑制<sup>[13,14]</sup>. 丙谷胺系抗酸药及治疗消化性溃疡药物, 具有抗胃泌素作用<sup>[15,16]</sup>. 本研究结果显示, 胃泌素组6.25-200.00 mg/L范围内SW480 OD值均高于对照组( $P<0.05$ ), 提示胃泌素可促进CC细胞株SW480的表达, 抑制细胞凋亡. 且胃泌素组12.50 mg/L时SW480 OD值最高( $P<0.05$ ), 而25.00-200.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 说明胃泌素12.50 mg/L时促增生能力最强, 继续增加胃泌素剂量

抑制凋亡作用不再持续增强. 分析原因发现, 正常情况下机体胃泌素与其受体处于动态平衡中, 发生病变时这种平衡被打破, 持续高表达胃泌素不断与受体结合, 使受体减少, 当胃泌素到达一定浓度, 由于受体数量限制, 其促进恶性肿瘤细胞增殖作用亦趋于平衡<sup>[17-19]</sup>. 同时本研究还发现, 丙谷胺组8.00-256.00 mg/L范围内SW480 OD值比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 而12.50 mg/L胃泌素联合16.00 mg/L丙谷胺SW480 OD值最低, 低于对照组( $P<0.05$ ), 之后随着丙谷胺浓度增加, SW480 OD值比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 提示丙谷胺在16.00 mg/L时可拮抗胃泌素促增殖效应, 继续增加浓度, 受其受体饱和影响, 不会增加拮抗效应, 这可为临床治疗CC提供思路与参考.

此外胃泌素组(12.50 mg/L)细胞增殖指数高于丙谷胺组(16.00 mg/L)、胃泌素组联合丙谷胺组(12.5 mg/L+16.00 mg/L)( $P<0.05$ ), 直接佐证了胃泌素能促进CC细胞增殖, 但其作用机制目前尚未明确. P38信号通路是MAPK四个亚家族之一, 信号传导过程精确、复杂, 不同刺激因素可传递不同信息, 其中BAX是BCL-2基因家族中细胞凋亡促进基因, 其高表达可拮抗BCL-2促使细胞发生凋亡<sup>[20-23]</sup>. 邹存华等<sup>[24]</sup>报道发现, P38可通过上调uPA表达促进卵巢癌细胞侵袭、转移. 隋欣等<sup>[25]</sup>研究指出, P38阳性高表达是胃癌预后生存期有利因素. 可见在不同疾病中P38信号通路具有不同生物学效应, 因此有必要探究其在CC中作用. 本研究结果显示, 胃泌素组P38蛋白、磷酸化-P38蛋白、BAX蛋白低于对照组、丙谷胺组、胃泌素组联合丙谷胺组, Bcl-2蛋白表达高于对照组、丙谷胺组、胃泌素组联合丙谷胺组( $P<0.05$ ), 提示胃泌素能下调P38、磷酸化-P38、BAX表达及上调

表 3 比较各组P38信号转导通路表达情况(mean ± SD)

组别	样本	P38蛋白	磷酸化-P38蛋白	Bcl-2蛋白	BAX蛋白
对照组	8	0.59 ± 0.02	0.64 ± 0.09	0.19 ± 0.03	0.47 ± 0.04
胃泌素组 (12.50 mg/L)	8	0.48 ± 0.03	0.36 ± 0.05	0.31 ± 0.04	0.32 ± 0.03
丙谷胺组 (16.00 mg/L)	8	0.59 ± 0.03	0.62 ± 0.03	0.22 ± 0.03	0.48 ± 0.04
胃泌素组联合丙谷胺组 (12.5 mg/L+16.00 mg/L)	8	0.60 ± 0.02	0.61 ± 0.04	0.21 ± 0.02	0.49 ± 0.05
F值		39.795	42.728	23.790	31.354
P值		0.000	0.000	0.000	0.000

Bcl-2表达, 这可能是其促进CC增殖机制. 值得注意的是, 目前已明确人结肠癌细胞株有HCT116、HT-29等多种, 本研究仅对SW480进行探索, P38信号通路在其他类型是否具有相似影响有待后续基础实验及临床实验验证.

综上所述, 胃泌素可抑制人结肠癌细胞株SW480的凋亡, 且在结肠癌组织中的表达与肿瘤分化程度有关, 分化程度越高, 其表达量越高, 胃泌素受体拮抗剂在一定浓度范围内可拮抗胃泌素促增殖效应, 其机制与上调P38、磷酸化-P38、BAX表达及下调Bcl-2表达有关.

## 文章亮点

### 实验背景

结肠癌为临床多见恶性肿瘤, 由于患者前期缺少特异性症状, 造成多数患者在就诊时已失去最佳手术时机, 对患者身心健康造成了严重影响.

### 实验动机

胃泌素和其受体能够刺激分泌胃酸, 加速胃肠道内黏膜的生长, 相关研究显示, 胃泌素对肿瘤细胞增殖可能有促进作用.

### 实验目标

探究结肠癌患者癌组织中胃泌素的表达情况, 分析胃泌素拮抗剂对人结肠癌细胞株抑制影响和相关的可能机制.

### 实验方法

免疫组化检测临床结肠癌患者癌组织标本内胃泌素阳性表达, 检测丙谷胺组对人大肠癌SW480细胞活力、增殖和P38信号转导通路影响.

### 实验结果

结肠癌患者癌组织分化程度越高则胃泌素的阳性率也越高, 丙谷胺可有效抑制SW480细胞增殖.

### 实验结论

胃泌素拮抗剂可抑制SW480细胞的增殖, 其作用机制可能和下调Bcl-2表达及上调P38、磷酸化-P38、BAX表达有联系.

### 展望前景

今后还需进一步分析其他肠癌细胞如CaCo2、HT29、HCT116等的胃泌素表达水平, 为阐释胃泌素对结肠癌患者癌细胞的影响提供更有有力佐证.

## 4 参考文献

- 1 郭家定, 胡迪, 吴佩. 胃泌素调控ERK信号通路在促进大肠癌CACO2细胞增殖中的作用. 中国临床药理学与治疗学 2017; 22: 401-405
- 2 姜云璐, 王正文, 程葆华, 白波, 陈京. 食欲素1受体与胆囊收缩素2受体在细胞内的相互作用分析. 中国生物化学与分子生物学报 2017; 33: 789-798 [DOI: 10.13865/j.cnki.cjbm.2017.08.07]
- 3 Chen S, Wang Y, Zhang JH, Xia QJ, Sun Q, Li ZK, Zhang JG, Tang MS, Dong MS. Long non-coding RNA PTENP1 inhibits proliferation and migration of breast cancer cells via AKT and MAPK signaling pathways. *Oncol Lett* 2017; 14: 4659-4662 [PMID: 29085464 DOI: 10.3892/ol.2017.6823]
- 4 汪斌. 胃泌素在结肠癌组织中的表达和意义. 安徽医学 2014; 7: 869-871 [DOI: 10.3969/j.issn.1000-0399.2014.07.002]
- 5 Rao SV, Solum G, Niederdorfer B, Nørsett KG, Bjørkøy G, Thommesen L. Gastrin activates autophagy and increases migration and survival of gastric adenocarcinoma cells. *BMC Cancer* 2017; 17: 68 [PMID: 28109268 DOI: 10.1186/s12885-017-3055-5]
- 6 杨莹莹, 吴会超, 穆媛媛, 苏薇. 胃泌素及其受体拮抗剂对人胃癌细胞株MKN45增殖及TFF1、TFF3表达的影响. 肿瘤防治研究 2014; 41: 545-548 [DOI: 10.3971/j.issn.1000-8578.2014.06.008]
- 7 Marshall KM, Laval M, Estacio O, Hudson DF, Kalitsis P, Shulkes A, Baldwin GS, Patel O. Activation by zinc of the human gastrin gene promoter in colon cancer cells in vitro and in vivo. *Metalomics* 2015; 7: 1390-1398 [PMID: 26404630 DOI: 10.1039/c5mt00147a]
- 8 Jin G, Sakitani K, Wang H, Jin Y, Dubeykovskiy A, Worthley DL, Tailor Y, Wang TC. The G-protein coupled receptor 56, expressed in colonic stem and cancer cells, binds progastrin to promote proliferation and carcinogenesis. *Oncotarget* 2017; 8: 40606-40619 [PMID: 28380450 DOI: 10.18632/oncotarget.16506]
- 9 罗振国, 朱国琴, 许海尘, 徐伟. 胃泌素通过JAK2/STAT3信号通路调控胃癌细胞上皮间质转化. 南京医科大学学报 2017; 37: 1557-1561 [DOI: 10.7655/NYDXBNS20171204]



- 10 Giraud J, Failla LM, Pascucci JM, Lagerqvist EL, Ollier J, Finetti P, Bertucci F, Ya C, Gasmi I, Bourgaux JF, Prudhomme M, Mazard T, Ait-Arsa I, Houhou L, Birnbaum D, Pélegrin A, Vincent C, Ryall JG, Joubert D, Pannequin J, Hollande F. Autocrine Secretion of Progastrin Promotes the Survival and Self-Renewal of Colon Cancer Stem-like Cells. *Cancer Res* 2016; 76: 3618-3628 [PMID: 27197176 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-15-1497]
- 11 武平, 茆家定. JNK信号通路在胃泌素促进大肠癌细胞增殖中的作用. *胃肠病学和肝病杂志* 2016; 25: 126-129
- 12 Rai R, Kim JJ, Tewari M, Shukla HS. Heterogeneous expression of cholecystokinin and gastrin receptor in stomach and pancreatic cancer: An immunohistochemical study. *J Cancer Res Ther* 2016; 12: 411-416 [PMID: 27072272 DOI: 10.4103/0973-1482.168970]
- 13 苗欣, 赵家义, 范银星, 李佳浓, 韩一平. 循环肿瘤细胞联合血清胃泌素释放前肽及神经元特异性烯醇化酶水平对SCLC化疗疗效的评估意义. *中国肿瘤生物治疗杂志* 2017; 24: 362-366 [DOI: 10.3872/j.issn.1007-385X.2017.04.005]
- 14 汪闯, 周建荣, 谢渊, 赵艳. 胃泌素/CCK-B受体环对多种肿瘤细胞生长和凋亡的影响. *广东医学* 2016; 37: 332-335
- 15 方兴国, 赵逵, 朱蓉, 付晓霏, 王红. 胃泌素受体拮抗剂丙谷胺和选择性COX2抑制剂塞来昔布对人胃癌细胞株BGC-823增殖和PGE2分泌的影响. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 719-727
- 16 袁航. 阻断胃泌素受体对胃癌细胞增殖和凋亡及其信号通路的影响. *重庆医学* 2017; 46: 2017-2020 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-8348.2017.15.001]
- 17 Boyce M, van den Berg F, Mitchell T, Darwin K, Warrington S. Randomised trial of the effect of a gastrin/CCK<sub>2</sub> receptor antagonist on esomeprazole-induced hypergastrinaemia: evidence against rebound hyperacidity. *Eur J Clin Pharmacol* 2017; 73: 129-139 [PMID: 27796466 DOI: 10.1007/s00228-016-2150-x]
- 18 Varasteh Z, Mitran B, Rosenström U, Velikyan I, Rosestedt M, Lindeberg G, Sörensen J, Larhed M, Tolmachev V, Orlova A. The effect of macrocyclic chelators on the targeting properties of the <sup>68</sup>Ga-labeled gastrin releasing peptide receptor antagonist PEG2-RM26. *Nucl Med Biol* 2015; 42: 446-454 [PMID: 25684649 DOI: 10.1016/j.nucmedbio.2014.12.009]
- 19 杨光, 茆家定. 胃泌素与微小RNA在促大肠癌细胞增殖中的关系. *国际肿瘤学杂志* 2014; 41: 775-778 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-422X.2014.10.017]
- 20 Sui Y, Zheng X, Zhao D. Rab31 promoted hepatocellular carcinoma (HCC) progression via inhibition of cell apoptosis induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway. *Tumour Biol* 2015; 36: 8661-8670 [PMID: 26044564 DOI: 10.1007/s13277-015-3626-5]
- 21 Fan Y, Yang F, Cao X, Chen C, Zhang X, Zhang X, Lin W, Wang X, Liang C. Gab1 regulates SDF-1-induced progression via inhibition of apoptosis pathway induced by PI3K/AKT/Bcl-2/BAX pathway in human chondrosarcoma. *Tumour Biol* 2016; 37: 1141-1149 [PMID: 26276357 DOI: 10.1007/s13277-015-3815-2]
- 22 Wang Q, Zhang L, Yuan X, Ou Y, Zhu X, Cheng Z, Zhang P, Wu X, Meng Y, Zhang L. The Relationship between the Bcl-2/Bax Proteins and the Mitochondria-Mediated Apoptosis Pathway in the Differentiation of Adipose-Derived Stromal Cells into Neurons. *PLoS One* 2016; 11: e0163327 [PMID: 27706181 DOI: 10.1371/journal.pone.0163327]
- 23 Song S, Jacobson KN, McDermott KM, Reddy SP, Cress AE, Tang H, Dudek SM, Black SM, Garcia JG, Makino A, Yuan JX. ATP promotes cell survival via regulation of cytosolic [Ca<sup>2+</sup>] and Bcl-2/Bax ratio in lung cancer cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2016; 310: C99-114 [PMID: 26491047 DOI: 10.1152/ajpcell.00092.2015]
- 24 邹存华, 王宏, 宋冬冬. P38MAPK信号通路与uPA在卵巢癌细胞及组织中表达的相关性. *中国癌症杂志* 2015; 25: 572-578
- 25 隋欣, 孙纲, 关宏伟, 韩大跃. 人胃腺癌p38MAPK信号通路表达规律与多药耐药相关因子、病理情况及化疗后预后的相关性研究. *现代医学* 2017; 45: 256-259

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》2011年开始不再收取审稿费

本刊讯 为了方便作者来稿, 保证稿件尽快公平、公正的处理, 《世界华人消化杂志》编辑部研究决定, 从2011年开始对所有来稿不再收取审稿费. 审稿周期及发表周期不变. (《世界华人消化杂志》编辑部)

## miR-155在炎症性肠病中的免疫作用机制研究进展

朱凤, 范恒, 刘星星

朱凤, 范恒, 刘星星, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

朱凤, 研究方向为中西医结合消化系统疾病。

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81573784。

作者贡献分布: 本文思路由范恒指导; 朱凤与刘星星查找相关文献; 本文写作由朱凤完成。

通讯作者: 范恒, 教授, 430022, 湖北省武汉市江岸区解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. fanheng009@aliyun.com

收稿日期: 2019-06-13

修回日期: 2019-08-08

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-08

### Role of miR-155 in pathogenesis of inflammatory bowel disease

Feng Zhu, Heng Fan, Xing-Xing Liu

Feng Zhu, Heng Fan, Xing-Xing Liu, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81573784

Corresponding author: Fan Heng, Professor, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, No. 1277, Jiang'an District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. fanheng009@aliyun.com

Received: 2019-06-13

Revised: 2019-08-08

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-08

### Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a non-infectious, non-

specific intestinal inflammatory disease, and its incidence is increasing year by year. A better understanding of the pathogenesis of IBD can help to find more suitable treatment methods for this disease. Recently, a large number of studies have shown that miR-155 plays an important role in the pathogenesis of IBD. It can regulate TH17 differentiation through the Jarid2/notch1 signaling pathway and by regulating type 2 macrophage differentiation. It also regulates T-regulatory cells by inhibiting cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4; intestinal myelofibrosis through suppressor of cytokine signaling 1; and DNA double-strand break deposition to affect intestinal inflammation. This article reviews the immune mechanism of action of miR-155 in IBD.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease; miR-155; Jarid2

Zhu F, Fan H, Liu XX. Role of miR-155 in pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1070-1075  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1070.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1070>

### 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种原因未明的肠道非特异性炎症性疾病, 其发病率逐年升高, 对IBD的发病机制研究有待进一步深入, 找到合适的治疗方法亟待解决。近期研究表明miR-155在IBD中的作用不可小觑, 可通过Jarid2/notch1信号通路及促进2型巨噬细胞分化来调节TH17分化, 并通过抑制细胞毒T淋巴细胞相关抗原4调节Treg、通过细胞信号传导的抑制因子1调节肠成纤维细胞和肌成纤维细胞以及通过调节DNA双链断裂沉积来影响肠道炎症, 本文就miR-155在IBD中的免疫作用机制作一综述。

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

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; 克罗恩病; miR-155; Jarid2

**核心提要:** miR-155通过Jarid2/notch1信号通路及促进2型巨噬细胞分化来调节Th17分化, 并通过抑制细胞毒T淋巴细胞相关抗原4调节Treg、通过细胞信号传导的抑制因子1调节肠成纤维细胞和肌成纤维细胞以及通过调节DNA双链断裂沉积来影响炎症性肠病发生发展。

朱凤, 范恒, 刘星. miR-155在炎症性肠病中的免疫作用机制研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1070-1075

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1070.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1070>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)为累及回肠、结肠、直肠的一种特发性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD), 其病因及发病机制尚未完全明确, 目前普遍认为IBD的发病机制是由遗传、环境因素和肠道菌群共同作用, 激活遗传易感个体肠道黏膜的免疫应答, 引发一系列的炎症反应. 除了明显的遗传危险因素, 全基因组关联研究已经确定了许多常见的基因调控靶点, 尽管在此方面研究激烈, 炎症基因表达的调控仍然没有完全清楚, 而了解这些基因是怎样监管、调控IBD的发生发展具有重要意义.

microRNA是广泛存在于真核生物中的非编码小RNA, 长度为19-24nt, 它能在转录后水平抑制靶基因的表达或翻译. 近年来研究显示, miR-155是一个典型的多功能基因, 由其下游基因介导, 参与多种生理病理过程, 如炎症、免疫和肿瘤的发生发展. 本文就miR-155对IBD的免疫调节作用的研究进展作一综述.

## 1 IBD

IBD是一种慢性非特异性肠道炎症性疾病, 包括UC和CD, 其临床表现以腹痛、腹泻及黏液脓血便为主, 症状易反复发作, 难以治愈<sup>[1]</sup>. 该病多发于青少年, 在欧美国家发病率较高. 但随着中国经济社会的发展及人民生活方式的改变, 我国发病率较前明显增加<sup>[2]</sup>. IBD的病因尚不明确, 多数学者认为, IBD是由多因素综合作用导致. 因此, 找到治疗IBD的有效的治疗方法亟待解决. 目前, IBD的医疗管理的主要依据是5-氨基水杨酸制剂, 皮质类固醇, 硫嘌呤, 甲氨蝶呤, 抗肿瘤坏死因子, 抗α4β7整合蛋白和抗白细胞介素(interleukin, IL)-12/IL-23

疗法. 发现涉及IBD发病机制的新途径导致新药靶向Janus激酶/信号转导物和转录激活因子, IL-6, 鞘氨醇-1-磷酸和磷酸二酯酶4等. 这些新疗法可能会带来更有利的安全性<sup>[3]</sup>. 近来许多研究表明miR-155在IBD的发病机制中占重要地位, 而了解发病机制可以更好地选择治疗靶点.

## 2 miR-155的生物学作用

miR-155是一个典型的多功能miRNA, 越来越多的实验研究表明miR-155参与了炎症、免疫、肿瘤及血细胞生成等多种生物学过程. miR-155位于人类21号染色体的非编码转录本B细胞整合簇基因(B-cell integration cluster, BIC)第三个外显子内<sup>[4]</sup>, 其表达水平受BIC的转录水平和miRNA加工等调控. BIC是一个不含开放读码框的基因, 过表达BIC可促进细胞异常增殖. Leng等<sup>[5]</sup>证实miR-155被编码在BIC, miR155HG的区域内, 该区域最初被鉴定为禽白血病病毒的常见整合位点. miR-155参与多种炎症病变过程. Lu等<sup>[6]</sup>研究发现miR-155在脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)刺激的单核细胞中上调. Hu等<sup>[7]</sup>发现miR-155抑制剂可降低LPS诱导的巨噬细胞炎症和NF-κB通路活化, 但可增加细胞信号传导的抑制因子1(suppressor of cytokine signaling1, SOCS1)的表达, 并得出miR-155抑制剂可通过SOCS1/NF-κB通路减少巨噬细胞炎症, 减轻心肌梗死后内质网应激诱导的心肌细胞凋亡. Li<sup>[8]</sup>等研究表明miR-155-5p通过调节肿瘤蛋白p53诱导核蛋白1的表达来调节宫颈癌细胞的发育. 目前已有大量的实验证据表明miRNAs也可以由病毒基因组编码. 到目前为止, 已知的病毒miRNAs来源于双链DNA病毒—疱疹病毒属, 多瘤病毒属以及腺病毒属. 病毒miRNAs可以干扰受感染细胞的mRNAs, 从而调节基因表达. Wood等<sup>[9]</sup>发现Epstein-Barr(EB)病毒携带的两个基因(潜伏膜蛋白1和EB病毒核心抗原2)上调miR-155表达, 并且miR-155表达是EBV感染的B细胞生长所必需的. 我们显示EBV转录因子EB病毒核心抗原2通过激活miR-155宿主基因(miR-155HG)上游的增强子来上调miR-155表达, miR-155来源miR-155宿主基因. 而且研究显示EB病毒核心抗原2还通过增强子介导的干扰素调节因子4活化间接激活miR-155表达, 然后独立于EBNA2激活miR-155HG启动子和上游增强子. 综上所述, miR-155参与各种疾病的病理生理过程, 因此, 对其在IBD中的作用有待深入研究.

## 3 miR-155通过Jarid2/notch1信号通路调节IBD

Th17/Treg失衡在IBD结肠黏膜免疫紊乱和炎症状态中起重要作用, 找到影响Th17细胞分化的机制将帮助我们



找到治疗IBD的新靶点. Liu等<sup>[10]</sup>研究表明, miR-155在调节免疫系统功能中具有重要作用, 在IBD结肠组织中也被检测到显著上调. Escobar等<sup>[11]</sup>揭示miR-155的缺失导致Jarid2表达增加, 并增加核心蛋白复合体2(polycomb repressive complex 2, PRC2). PRC2招募, 减少了IL-22转录; 而在Jarid2缺陷型Th17细胞中, PRC2募集率降低. Mysliwiec等<sup>[12]</sup>报道Jarid2占据内源性Notch1基因座的调控区域, 表明Jarid2直接控制小鼠胚胎心脏组织中的Notch1表达, 由配体激活的Notch1释放出一个细胞内片段(notch1 intracellular domain, NICD)直接结合ROR- $\gamma$ t和IL-17启动子并调节Th17分化. Liu等<sup>[10]</sup>通过使用由慢病毒载体递送的miR-155抑制序列, 其显示抑制miR-155可以改善TNBS诱导的实验性结肠炎. 进行相关检测发现在TNBS+miR-155抑制剂组中, Th17细胞在脾脏和肠系膜淋巴结中的比例和结肠组织中Th17细胞相关细胞因子IL-6, IL-17A, IL-17F和IL-21的水平显著减少, 表明抑制miR-155调节Th17细胞的功能. 通过免疫组织化和蛋白印迹法发现Jarid2显著升高, miR-155抑制和notch1表达与Jarid2呈负相关. 这项研究表明通过调节抑制miR-155可以改善TNBS诱导的结肠炎, 且Th17细胞分化和功能与Jarid2/notch1密切相关. 因此我们可以知道, miR-155可以通过Jarid2/notch1调节TH17分化, 从而影响IBD发生发展.

#### 4 miR-155通过调节M2分化来调节IBD

IBD与肠黏膜中的先天性和适应性免疫应答的失调有关. MicroRNA(miR-155)在许多免疫细胞中表达并起作用. 除了其在适应性免疫中的功能外, miR-155是巨噬细胞、树突状细胞甚至上皮细胞中先天免疫应答的关键调节剂. 由于内在分子调节和外环境差异, 未分化的巨噬细胞可以极化为促炎性M1巨噬细胞或抗炎M2巨噬细胞, 巨噬细胞对维持肠道稳态至关重要<sup>[13]</sup>. 在结肠炎免疫反应的早期阶段, 血液单核细胞以细胞表面趋化因子受体2依赖性方式从中招募炎性巨噬细胞, 并在发炎的黏膜中积累和产生促炎介质<sup>[14]</sup>. 如果炎症性巨噬细胞反应不受控制, 则随后引起适应性免疫反应和炎症性T细胞, 包括Th1细胞和Th17细胞, 被招募致病现场, 这些细胞可进一步加重结肠炎症损伤. 在一些条件下, 肠道中的巨噬细胞可能被迫通过内在因素和外因素转变为M2表型, 诱导的M2巨噬细胞在化学诱导的结肠炎中显示出巨大的治疗潜力<sup>[15,16]</sup>. Li等<sup>[17]</sup>发现miR-155在结肠炎中是一种强有力的调节因子去调节巨噬细胞极化(图1), 其缺乏可导致巨噬细胞M1型转变成M2型. M2在结肠中的优势可导致肠道免疫细胞增殖受抑制并抑制CD4<sup>+</sup>T细胞向Th1和Th17极化. 因此, miR-155可通过调

节M2极化来调节TH17分化并影响IBD的发生发展.

#### 5 miR-155通过抑制CTLA-4来调节Treg细胞, 进一步调节肠道免疫及IBD发生发展

研究表明, miR-155的过表达增强了CD8<sup>+</sup>T细胞的抗原特异性免疫应答和克隆增殖, 它的缺陷导致T细胞的抗肿瘤免疫功能减弱, 并可通过细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4, CTLA-4)抗体重新储存<sup>[18,19]</sup>. CTLA-4是免疫检查点阻滞(immune checkpoint blocker, ICB)治疗的一个重要的目标, 这表明miR-155对CTLA-4具有潜在的调节作用. 最近, 研究表明miR-155以竞争内源性RNA(ceRNA)的形式与CTLA-4 mRNA 3'UTR结合, 增强辅助性T细胞的增殖反应<sup>[20]</sup>. CTLA-4也被认为在IBD的进展中起关键作用. 例如, SOCS1缺陷小鼠中的CTLA-4下调会诱导严重的IBD<sup>[21]</sup>, 并且CTLA-4缺乏与早发型CD之间存在相关性<sup>[22]</sup>, 此外, CTLA-4-ICB治疗可引起严重胃肠道溃疡的不良反应<sup>[23]</sup>. CTLA-4是一种由T细胞表达的共抑制分子, 是一种重要的免疫调节因子和炎症抑制剂<sup>[24]</sup>. Chao等<sup>[25]</sup>通过研究表明, miR-155模拟剂和抑制剂可分别下调和上调CTLA-4蛋白和mRNA的表达. 这些结果表明miR-155可直接靶向抑制CTLA-4的表达. 滤泡调节性T细胞(follicular regulatory T cells, Tfr)通过调节滤泡辅助性T细胞(follicular helper CD4 T cells, Tfh)依赖性生发中心反应, 抑制B细胞反应并防止幽门自身免疫介导的肠损伤. Tfr细胞的缺乏可能是CTLA-4缺乏引起的IBD免疫抑制的原因. miR-155可以靶向CTLA-4在cTreg和Tfr中的表达, 直接抑制Tfr细胞的产生并促进增强生发中心B细胞活化和自身抗体过量产生. 因此可以说明, miR-155可以通过调节CTLA-4表达来调节肠道免疫功能及肠黏膜损伤, 为治疗IBD提供新的思路.

#### 6 miR-155作用于SOCS1来调节IMF产生, 影响IBD

越来越多的证据表明间充质细胞, 如肠成纤维细胞和肌成纤维细胞(intestinal myelofibrosis, IMF), 正在积极参与肠黏膜的炎症过程<sup>[26]</sup>. 持续炎症期间其表型和功能的稳定改变可通过促进组织破坏、支持免疫细胞的募集, 并通过产生各种细胞因子保留和活化免疫细胞等方式向慢性肠道炎症转变. IMF是感应和应对各种压力来保持肠黏膜稳态的塑料细胞<sup>[27]</sup>. 然而, 在IBD中, IMF在持续炎症性刺激时获得活化的表型并大量增殖, 导致不必要的细胞外基质重塑, 并产生一个过量的可溶性介质, 如炎症细胞因子, TGF- $\beta$ 1和Wnts配体, 其深刻影响邻近的上皮细胞、间充质和免疫细胞. Pathak等<sup>[28]</sup>研究揭示, 分离正常对照组、UC组、CD组结肠的IMF, 发现

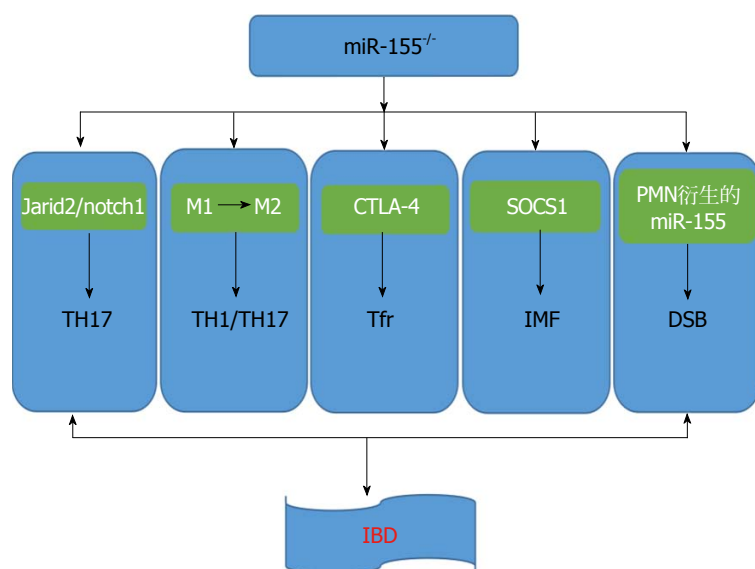


图 1 miR-155在IBD中的免疫作用机制. CTLA-4: 细胞毒T淋巴细胞相关抗原4; SOCS1: 细胞信号传导的抑制因子1; PMN: 多形核白细胞; IMF: 肠成纤维细胞和肌成纤维细胞; DSB: DNA双链断裂; IBD: 炎症性肠病.

与对照组及CD组患者相比, miR-155在UC患者的IMF中显著上调. 它在IMF中的表达受促炎调节信号的作用, 如TNF- $\alpha$ 和LPS, 但不是促纤维蛋白原介质, 如TGF- $\beta$ 1. miR-155在对照IMF中的过表达表明了UC衍生的IMF的促炎表型, 而在UC衍生的IMF中miR-155敲低可以纠正它们的促炎表型. 而且, 进一步研究发现了miR-155直接靶向SOCS1, 其表达显著下调UC衍生的IMF. IMF是导致IBD黏膜损伤的关键细胞群, miR-155在对照IMF中增强细胞因子的异位表达和释放, 而它下调SOCS1表达, UC-IMF中的miR-155敲低减少细胞因子的产生并增强SOCS1表达, 荧光素酶基因测定报告证明miR-155直接靶向SOCS1. 而且, 沉默控制IMF中SOCS1的表达显著增加IL-6和IL-8的释放. 总之, miR-155可以通过抑制SOCS1表达, 调节IMF炎症表型, 从而影响UC发生发展.

## 7 PMN衍生的miR-155调节DSB积累影响肠道炎症反应, 调节IBD进程

由于炎症加剧导致的上皮损伤反应是胃肠道的常见病理特征, 包括IBD<sup>[29,30]</sup>. 肠黏膜中的炎症反应不可避免地导致中性粒细胞的募集[多形核白细胞(polymorphonuclear leukocyte, PMN)]. 黏膜上皮细胞炎症部位的PMN的募集, 其对组织微环境和促进上皮恢复的重大意义<sup>[31]</sup>. PMN在宿主防御中起着至关重要的作用, 失调的PMN募集可导致组织损伤. 因此, 在IBD中, 肠黏膜中的PMN的数量与疾病严重程度相关<sup>[32]</sup>. PMN的病理学影响主要归因于释放可溶性介质, 包括基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase, MMPs), 中性粒细胞弹性蛋白酶和髓过氧化物酶<sup>[33]</sup>. 虽然氧化还原信号是

细胞更新、迁移和增殖的重要组成部分<sup>[34]</sup>, 但过量的活性氧(reactive oxygen species, ROS)可以破坏组织平衡<sup>[35]</sup>. ROS对DNA糖磷酸盐骨架的攻击可以诱导单链和/或双链断裂(DNA double-strand breaks, DSBs)的形成<sup>[36]</sup>. DSB积累可诱导细胞凋亡或衰老, 导致基因组不稳定, 是癌症发生的标志<sup>[37]</sup>. 高效的伤口愈合对于组织稳态修复至关重要<sup>[38]</sup>. 最近研究表明, 免疫细胞, 特别是PMN, 有助于调节涉及上皮愈合反应的关键过程, 包括迁移和增殖<sup>[39]</sup>. 这种调节的新机制, 即组织浸润PMN释放细胞外囊泡或微粒(PMN-MPs), 提供各种生物功能分子, 如MMPs或过氧化物酶可主动调节上皮屏障功能和伤口愈合<sup>[40,41]</sup>. Butin-Israeli等<sup>[42]</sup>使用IBD临床样本和在体外和体内损伤模型中, 显示PMN衍生的miR-23a和miR-155通过诱导核纤层蛋白B1依赖性复制叉崩溃和抑制同源重组(homologous recombination, HR), 针对HR调节器重组蛋白A, 促进DSB的积累. 受损上皮中的DSB积累导致结肠愈合和基因组不稳定性受损. 在培养的肠上皮细胞和急性损伤的黏膜中, 靶向抑制miR-23a和miR-155减少了PMN的有害作用并增强组织愈合反应. 所以, 抑制PMN衍生的miR-155可以减少DSB积累, 促进肠黏膜愈合, 可以作为治疗IBD的新思路.

## 8 结论与展望

肠黏膜屏障破坏、通透性增加、黏膜NF- $\kappa$ B活化、炎症细胞因子分泌增多等均是IBD发病及反复发作、迁延不愈以致癌变的原因. 由上可知, 抑制miR-155可以促进Jard2/notch1信号通路传导, 从而抑制TH17产生, 调节肠道免疫功能; miR-155<sup>-/-</sup>可以促进M1向M2转化, 而

M2可抑制免疫细胞增殖, 减少TH1、TH17产生; 同时, miR-155还可以抑制CTLA-4及SOCS1, 调节IMF炎症表型, 从而影响IBD发生发展; PMN衍生的miR-155可以促进DSB在肠道黏膜沉积, 加重黏膜组织损伤, 从而加重IBD症状(图1)。miR-155可以通过各种机制达到影响IBD的作用, 但它们不是独立的, 而是共同发挥作用, 但目前起主要作用的机制并未研究透彻。由此, 我们可以知道miR-155是一个重要的、多效的microRNA。尽管microRNA许多的功能和表达调节机制至今没有完全清楚, 但是miR-155在许多炎症及肿瘤组织的过表达让我们意识到其在炎症和肿瘤诊断及治疗中的重要意义。Borghei等<sup>[43]</sup>使用单链DNA探针和DNA/RNA异源双链相互作用的碲化镉量子点聚集的miRNA识别的光谱方法用于测定人乳腺癌MCF-7细胞和正常人胚肾细胞系中的miR-155。因此, miR-155在IBD的发生发展中占据重要地位, 为后期治疗IBD及相关肿瘤疾病上拓宽了视野, 也提供了新的治疗思路。

## 9 参考文献

- Márquez L, Shen C, Cleyne I, De Hertogh G, Van Steen K, Machiels K, Perrier C, Ballet V, Organe S, Ferrante M, Henckaerts L, Galicia G, Rutgeerts P, Ceuppens JL, Vermeire S. Effects of haptoglobin polymorphisms and deficiency on susceptibility to inflammatory bowel disease and on severity of murine colitis. *Gut* 2012; 61: 528-534 [PMID: 21708824 DOI: 10.1136/gut.2011.240978]
- Cui G, Yuan A. A Systematic Review of Epidemiology and Risk Factors Associated With Chinese Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 183 [PMID: 29971235 DOI: 10.3389/fmed.2018.00183]
- Sabino J, Verstockt B, Vermeire S, Ferrante M. New biologics and small molecules in inflammatory bowel disease: an update. *Therap Adv Gastroenterol* 2019; 12: 1756284819853208 [PMID: 31205488 DOI: 10.1177/1756284819853208]
- Weber MJ. New human and mouse microRNA genes found by homology search. *FEBS J* 2005; 272: 59-73 [PMID: 15634332 DOI: 10.1111/j.1432-1033.2004.04389.x]
- Leng RX, Pan HF, Qin WZ, Chen GM, Ye DQ. Role of microRNA-155 in autoimmunity. *Cytokine Growth Factor Rev* 2011; 22: 141-147 [PMID: 21703910 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2011.05.002]
- Lu D, Yamawaki T, Zhou H, Chou WY, Chhoa M, Lamas E, Escobar SS, Arnett HA, Ge H, Juan T, Wang S, Li CM. Limited differential expression of miRNAs and other small RNAs in LPS-stimulated human monocytes. *PLoS One* 2019; 14: e0214296 [PMID: 30908559 DOI: 10.1371/journal.pone.0214296]
- Hu J, Huang CX, Rao PP, Cao GQ, Zhang Y, Zhou JP, Zhu LY, Liu MX, Zhang GG. MicroRNA-155 inhibition attenuates endoplasmic reticulum stress-induced cardiomyocyte apoptosis following myocardial infarction via reducing macrophage inflammation. *Eur J Pharmacol* 2019; 857: 172449 [PMID: 31207208 DOI: 10.1016/j.ejphar.2019.172449]
- Li N, Cui T, Guo W, Wang D, Mao L. MiR-155-5p accelerates the metastasis of cervical cancer cell via targeting TP53INP1. *Onco Targets Ther* 2019; 12: 3181-3196 [PMID: 31118671 DOI: 10.2147/OTT.S193097]
- Wood CD, Carvell T, Gunnell A, Ojeniyi OO, Osborne C, West MJ. Enhancer Control of MicroRNA miR-155 Expression in Epstein-Barr Virus-Infected B Cells. *J Virol* 2018; 92: e00716-18 [PMID: 30021904 DOI: 10.1128/jvi.00716-18]
- Liu Y, Dong Y, Zhu X, Fan H, Xu M, Chen Q, Nan Z, Wu H, Deng S, Liu X, Zuo D, Yang J. MiR-155 inhibition ameliorates 2, 4, 6-Trinitrobenzenesulfonic acid (TNBS)-induced experimental colitis in rat via influencing the differentiation of Th17 cells by Jarid2. *Int Immunopharmacol* 2018; 64: 401-410 [PMID: 30253332 DOI: 10.1016/j.intimp.2018.09.007]
- Escobar TM, Kanellopoulou C, Kugler DG, Kilaru G, Nguyen CK, Nagarajan V, Bhairavabhotla RK, Northrup D, Zahr R, Burr P, Liu X, Zhao K, Sher A, Jankovic D, Zhu J, Muljo SA. miR-155 activates cytokine gene expression in Th17 cells by regulating the DNA-binding protein Jarid2 to relieve polycomb-mediated repression. *Immunity* 2014; 40: 865-879 [PMID: 24856900 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.014]
- Mysliwiec MR, Bresnick EH, Lee Y. Endothelial Jarid2/Jumonji is required for normal cardiac development and proper Notch1 expression. *J Biol Chem* 2011; 286: 17193-17204 [PMID: 21402699 DOI: 10.1074/jbc.M110.205146]
- Shouval DS, Biswas A, Goettel JA, McCann K, Conaway E, Redhu NS, Mascanfroni ID, Al Adham Z, Lavoie S, Ibouk M, Nguyen DD, Samsom JN, Escher JC, Somech R, Weiss B, Beier R, Conklin LS, Ebens CL, Santos FG, Ferreira AR, Sherlock M, Bhan AK, Müller W, Mora JR, Quintana FJ, Klein C, Muise AM, Horwitz BH, Snapper SB. Interleukin-10 receptor signaling in innate immune cells regulates mucosal immune tolerance and anti-inflammatory macrophage function. *Immunity* 2014; 40: 706-719 [PMID: 24792912 DOI: 10.1016/j.immuni.2014.03.011]
- Zigmond E, Varol C, Farache J, Elmaliyah E, Satpathy AT, Friedlander G, Mack M, Shpigel N, Boneca IG, Murphy KM, Shakhar G, Halpern Z, Jung S. Ly6C hi monocytes in the inflamed colon give rise to proinflammatory effector cells and migratory antigen-presenting cells. *Immunity* 2012; 37: 1076-1090 [PMID: 23219392 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.08.026]
- Hunter MM, Wang A, Parhar KS, Johnston MJ, Van Rooijen N, Beck PL, McKay DM. In vitro-derived alternatively activated macrophages reduce colonic inflammation in mice. *Gastroenterology* 2010; 138: 1395-1405 [PMID: 20044996 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.12.041]
- Weisser SB, Kozicky LK, Brugger HK, Ngoh EN, Cheung B, Jen R, Menzies SC, Samarakoon A, Murray PJ, Lim CJ, Johnson P, Boucher JL, van Rooijen N, Sly LM. Arginase activity in alternatively activated macrophages protects PI3Kp110δ deficient mice from dextran sodium sulfate induced intestinal inflammation. *Eur J Immunol* 2014; 44: 3353-3367 [PMID: 25124254 DOI: 10.1002/eji.201343981]
- Li J, Zhang J, Guo H, Yang S, Fan W, Ye N, Tian Z, Yu T, Ai G, Shen Z, He H, Yan P, Lin H, Luo X, Li H, Wu Y. Critical Role of Alternative M2 Skewing in miR-155 Deletion-Mediated Protection of Colitis. *Front Immunol* 2018; 9: 904 [PMID: 29774026 DOI: 10.3389/fimmu.2018.00904]
- Dudda JC, Salaun B, Ji Y, Palmer DC, Monnot GC, Merck E, Boudousquie C, Utzschneider DT, Escobar TM, Perret R, Muljo SA, Hebeisen M, Rufer N, Zehn D, Donda A, Restifo NP, Held W, Gattinoni L, Romero P. MicroRNA-155 is required for effector CD8+ T cell responses to virus infection and cancer. *Immunity* 2013; 38: 742-753 [PMID: 23601686 DOI: 10.1016/j.immuni.2012.12.006]
- Huffaker TB, Lee SH, Tang WW, Wallace JA, Alexander M, Runtsch MC, Larsen DK, Thompson J, Ramstead AG, Voth WP, Hu R, Round JL, Williams MA, O'Connell RM. Antitumor immunity is defective in T cell-specific microRNA-155-deficient mice and is rescued by immune checkpoint blockade. *J Biol Chem* 2017; 292: 18530-18541 [PMID: 28912267 DOI: 10.1074/jbc.M110.205146]



- 10.1074/jbc.M117.808121]
- 20 Zhang Y, Sun E, Li X, Zhang M, Tang Z, He L, Lv K. miR-155 contributes to Df1-induced asthma by increasing the proliferative response of Th cells via CTLA-4 downregulation. *Cell Immunol* 2017; 314: 1-9 [PMID: 28110885 DOI: 10.1016/j.cellimm.2017.01.005]
- 21 Inagaki-Ohara K, Sasaki A, Matsuzaki G, Ikeda T, Hotokezaka M, Chijiwa K, Kubo M, Yoshida H, Nawa Y, Yoshimura A. Suppressor of cytokine signalling 1 in lymphocytes regulates the development of intestinal inflammation in mice. *Gut* 2006; 55: 212-219 [PMID: 16120757 DOI: 10.1136/gut.2004.062653]
- 22 Zeissig S, Petersen BS, Tomczak M, Melum E, Huc-Claustre E, Dougan SK, Laerdahl JK, Stade B, Forster M, Schreiber S, Weir D, Leichtner AM, Franke A, Blumberg RS. Early-onset Crohn's disease and autoimmunity associated with a variant in CTLA-4. *Gut* 2015; 64: 1889-1897 [PMID: 25367873 DOI: 10.1136/gutjnl-2014-308541]
- 23 Soularue E, Lepage P, Colombel JF, Coutzac C, Faleck D, Marthey L, Collins M, Chaput N, Robert C, Carbone F. Enterocolitis due to immune checkpoint inhibitors: a systematic review. *Gut* 2018; 67: 2056-2067 [PMID: 30131322 DOI: 10.1136/gutjnl-2018-316948]
- 24 Wing K, Yamaguchi T, Sakaguchi S. Cell-autonomous and -non-autonomous roles of CTLA-4 in immune regulation. *Trends Immunol* 2011; 32: 428-433 [PMID: 21723783 DOI: 10.1016/j.it.2011.06.002]
- 25 Chao G, Li X, Ji Y, Zhu Y, Li N, Zhang N, Feng Z, Niu M. MiR-155 controls follicular Treg cell-mediated humoral autoimmune intestinal injury by inhibiting CTLA-4 expression. *Int Immunopharmacol* 2019; 71: 267-276 [PMID: 30927737 DOI: 10.1016/j.intimp.2019.03.009]
- 26 Asmuth DM, Pinchuk IV, Wu J, Vargas G, Chen X, Mann S, Albanese A, Ma ZM, Saroufeem R, Melcher GP, Troia-Cancio P, Torok NJ, Miller CJ, Powell DW. Role of intestinal myofibroblasts in HIV-associated intestinal collagen deposition and immune reconstitution following combination antiretroviral therapy. *AIDS* 2015; 29: 877-888 [PMID: 25784439 DOI: 10.1097/QAD.0000000000000636]
- 27 Owens BM, Simmons A. Intestinal stromal cells in mucosal immunity and homeostasis. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 224-234 [PMID: 23235744 DOI: 10.1038/mi.2012.125]
- 28 Pathak S, Grillo AR, Scarpa M, Brun P, D'Inca R, Nai L, Banerjee A, Cavallo D, Barzon L, Palù G, Sturniolo GC, Buda A, Castagliuolo I. MiR-155 modulates the inflammatory phenotype of intestinal myofibroblasts by targeting SOCS1 in ulcerative colitis. *Exp Mol Med* 2015; 47: e164 [PMID: 25998827 DOI: 10.1038/emmm.2015.21]
- 29 Ma TY. Intestinal epithelial barrier dysfunction in Crohn's disease. *Proc Soc Exp Biol Med* 1997; 214: 318-327 [PMID: 9111522 DOI: 10.3181/00379727-214-44099]
- 30 Maloy KJ, Powrie F. Intestinal homeostasis and its breakdown in inflammatory bowel disease. *Nature* 2011; 474: 298-306 [PMID: 21677746 DOI: 10.1038/nature10208]
- 31 Hall CHT, Campbell EL, Colgan SP. Neutrophils as Components of Mucosal Homeostasis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2017; 4: 329-337 [PMID: 28884136 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2017.07.001]
- 32 Brazil JC, Louis NA, Parkos CA. The role of polymorphonuclear leukocyte trafficking in the perpetuation of inflammation during inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2013; 19: 1556-1565 [PMID: 23598816 DOI: 10.1097/MIB.0b013e318281f54e]
- 33 Kolaczowska E, Kubes P. Neutrophil recruitment and function in health and inflammation. *Nat Rev Immunol* 2013; 13: 159-175 [PMID: 23435331 DOI: 10.1038/nri3399]
- 34 Holmström KM, Finkel T. Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2014; 15: 411-421 [PMID: 24854789 DOI: 10.1038/nrm3801]
- 35 Bani D, Bencini A. Developing ROS scavenging agents for pharmacological purposes: recent advances in design of manganese-based complexes with anti-inflammatory and antinociceptive activity. *Curr Med Chem* 2012; 19: 4431-4444 [PMID: 22830332]
- 36 Maynard S, Schurman SH, Harboe C, de Souza-Pinto NC, Bohr VA. Base excision repair of oxidative DNA damage and association with cancer and aging. *Carcinogenesis* 2009; 30: 2-10 [PMID: 18978338 DOI: 10.1093/carcin/bgn250]
- 37 Ceccaldi R, Rondinelli B, D'Andrea AD. Repair Pathway Choices and Consequences at the Double-Strand Break. *Trends Cell Biol* 2016; 26: 52-64 [PMID: 26437586 DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.009]
- 38 Costanzo M, Cesi V, Palone F, Pierdomenico M, Colantoni E, Leter B, Vitali R, Negroni A, Cucchiara S, Stronati L. Krill oil, vitamin D and Lactobacillus reuteri cooperate to reduce gut inflammation. *Benef Microbes* 2018; 9: 389-399 [PMID: 29633636 DOI: 10.3920/BM2017.0078]
- 39 Sumagin R, Robin AZ, Nusrat A, Parkos CA. Activation of PKC $\beta$ II by PMA facilitates enhanced epithelial wound repair through increased cell spreading and migration. *PLoS One* 2013; 8: e55775 [PMID: 23409039 DOI: 10.1371/journal.pone.0055775]
- 40 Butin-Israeli V, Houser MC, Feng M, Thorp EB, Nusrat A, Parkos CA, Sumagin R. Deposition of microparticles by neutrophils onto inflamed epithelium: a new mechanism to disrupt epithelial intercellular adhesions and promote transepithelial migration. *FASEB J* 2016; 30: 4007-4020 [PMID: 27553226 DOI: 10.1096/fj.201600734R]
- 41 Dalli J, Montero-Melendez T, Norling LV, Yin X, Hinds C, Haskard D, Mayr M, Perretti M. Heterogeneity in neutrophil microparticles reveals distinct proteome and functional properties. *Mol Cell Proteomics* 2013; 12: 2205-2219 [PMID: 23660474 DOI: 10.1074/mcp.M113.028589]
- 42 Butin-Israeli V, Bui TM, Wiesolek HL, Mascarenhas L, Lee JJ, Mehl LC, Knutson KR, Adam SA, Goldman RD, Beyder A, Wiesmuller L, Hanauer SB, Sumagin R. Neutrophil-induced genomic instability impedes resolution of inflammation and wound healing. *J Clin Invest* 2019; 129: 712-726 [PMID: 30640176 DOI: 10.1172/JCI122085]
- 43 Borghei YS, Hosseini M. A New Eye Dual-readout Method for MiRNA Detection based on Dissolution of Gold nanoparticles via LSPR by CdTe QDs Photoinduction. *Sci Rep* 2019; 9: 5453 [PMID: 30931995 DOI: 10.1038/s41598-019-41898-4]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



# 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6在炎症性肠病中作用机制研究进展

朱凤, 刘星星, 范恒

朱凤, 刘星星, 范恒, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

朱凤, 研究方向为中西医结合消化系统疾病.

基金项目: 国家自然科学基金, No.81503416.

作者贡献分布: 朱凤与范恒对此文所作贡献均等; 本文思路由刘星星指导; 朱凤与范恒查找相关文献; 本论文写作由朱凤完成.

通讯作者: 刘星星, 讲师, 430022, 湖北省武汉市江岸区解放大道1277号, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科. 277258255@qq.com

收稿日期: 2019-06-13

修回日期: 2019-08-08

接受日期: 2019-09-03

在线出版日期: 2019-09-08

## Role of NLRP6 in inflammatory bowel disease

Feng Zhu, Xing-Xing Liu, Heng Fan

Feng Zhu, Xing-Xing Liu, Heng Fan, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No.81503416.

Corresponding author: Xing-Xing Liu, Lecturer, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, No. 1277, Jiang'an District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 277258255@qq.com

Received: 2019-06-13

Revised: 2019-08-08

Accepted: 2019-09-03

Published online: 2019-09-08

## Abstract

Inflammatory bowel disease (IBD) is a chronic intestinal inflammatory disease of unknown etiology. The symptoms of IBD are prone to recurrent episodes, and there is currently limited treatment and efficacy. Recently, there have been many studies showing that the nucleotide-binding oligomerization domain-like receptor containing the pyrin domain containing protein (NLR family, pyrin domain containing 6, NLRP6) regulates intestinal immunity and microorganisms in inflammatory bowel disease and related tumors. NLRP6 promotes the secretion of interleukin (IL)-18 and antimicrobial peptides, and IL-18 can inhibit the production of IL-22BP, enhance the role of IL-22, and promote the proliferation of epithelial cells through the MyD88 pathway. NLRP6 also regulates the secretion of mucoprotein 2 by goblet cells via Toll-like receptors, clears intestinal bacteria, regulates intestinal immune function, and maintains intestinal flora. Because IBD is associated with a tendency of malignant transformation, and researchers have found that NLRP6 can act on NOTCH and Wnt, activate chemokine ligand 5 and IL-6 signaling, regulate epithelial cell proliferation, and affect the development of IBD-related colorectal cancer. This article reviews the role of NLRP6 in IBD.

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

Key Words: Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; NLRP6; IL-18; Research progress

Zhu F, Liu XX, Fan H. Role of NLRP6 in inflammatory bowel disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1076-1082  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1076.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1076>

## 摘要

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)是一种病因未明的慢性肠道炎症性疾病, 症状易反复发作, 迁延不愈, 治疗手段及疗效有限. 近期有较多研究表明核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6(NLR family, pyrin domain containing6, Nlrp6)在IBD及相关肿瘤方面具有调节肠道免疫及微生物菌群的重要作用, Nlrp6促进白细胞介素(interleukin, IL)-18及抗菌肽的分泌, IL-18可抑制IL-22BP的产生, 增强IL-22作用, 并通过MyD88通路来促进上皮细胞增殖; Nlrp6还可通过Toll-like receptors调节杯状细胞分泌Mucoprotein2, 清除肠道细菌, 调节肠道免疫功能及维持肠道菌群稳态. 由于IBD有一定癌变倾向, 研究人员发现Nlrp6可作用于NOTCH及Wnt靶点, 激活趋化因子配体5及IL-6信号通路, 调节上皮细胞增殖, 影响IBD相关性结直肠癌. 本文就Nlrp6在IBD中的作用机制作一综述.

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

关键词: 炎症性肠病; 溃疡性结肠炎; Nlrp6; IL-18; 研究进展

**核心提要:** 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6(NLR family, pyrin domain containing6, Nlrp6)促进IL-18及抗菌肽的分泌, IL-18可抑制IL-22BP的产生, 增强IL-22作用, 并通过MyD88通路来促进上皮细胞增殖; Nlrp6还可通过Toll-like receptors调节杯状细胞分泌Mucoprotein2, 清除肠道细菌, 调节肠道免疫功能及维持肠道菌群稳态.

朱凤, 刘星星, 范恒. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6在炎症性肠病中作用机制研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1076-1082

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1076.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1076>

## 0 引言

炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)为累及回肠、结肠、直肠的一种特发性肠道炎症性疾病, 主要包括溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)和克罗恩病(crohn's disease, CD). 其临床表现以腹痛、腹泻及黏液脓血便为主, 症状易反复发作, 难以治愈, 且有一定的癌变倾向<sup>[1]</sup>. 该病多发于青少年, 在欧美国家发病率较高. 近年我国发病率有增加趋势, 可能与我国人民生活方式改变有关<sup>[2]</sup>. 目前普遍认为IBD的发病机制是由环境因素和肠道菌群共同作用, 激活遗传易感个体肠道黏膜的免疫应答, 引发一系列的炎症反应, 使肠黏膜中的抗炎和促炎介质失衡, 导致肠黏膜的病理改变. IBD目前的

药物治疗主要包括氨基水杨酸制剂、糖皮质激素、免疫调节剂等, 配合调整患者生活方式, 但治疗效果不理想, 且存在一定的副作用. 因此, 深入研究IBD的发病机制对于创新治疗方法及治疗药物具有重要的临床意义.

固有免疫应答是机体抵抗病原体的第一道防线, 亦是获得性免疫应答的基础. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体(nucleotide-binding and oligomerization domain-like receptors, NLRs)家族是近年来研究比较多的一个参与免疫应答的庞大的炎症蛋白家族, 在细胞凋亡、炎症、肿瘤等方面发挥着重要作用. 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6(NLR family, pyrin domain containing6, Nlrp6)是NLRs家族中一个比较特殊的成员, 目前对其有一定的研究, 但其功能和作用机理尚未完全明确. 本文就Nlrp6在IBD中的作用机制研究进展作一综述.

## 1 NLRs家族

NLRs家族是一类存在于细胞质内的模式识别受体, 可以识别结合某些病原体或其产物所共有的高度保守的病原相关分子模式, 通过激活NF- $\kappa$ B、IFN $\gamma$ 和其它炎性信号来促进免疫反应, 参与机体免疫应答<sup>[3]</sup>. 目前发现NLRs家族蛋白在人类有23种, 在小鼠有34种<sup>[4,5]</sup>. NLRs家族主要由氨基端(N端)结构域、NOD结构域、羧基端(C端)富含亮氨酸的重复序列三部分组成. N端为效应结构域, 介导蛋白质相互作用, 参与免疫应答<sup>[6]</sup>. 不同类型NLRs分子因为其N端结构域不同, 有其特定下游信号转导通路. 根据N端结构域不同, 目前NLRs家族分子分成四类<sup>[7]</sup>: (1)II类反式激活因子, 调节主要组织相容性复合体MHC II类分子的表达; (2)NOD1和NOD2, 主要功能是识别细菌肽聚糖亚单位, 并激活NF- $\kappa$ B信号通路发生免疫应答<sup>[8]</sup>; (3)白细胞介素-1 $\beta$ 转化酶蛋白激酶激活因子; (4)NLR家族含pyrin结构域蛋白(NLR family, pyrin domain containing, NLRP). NLRs家族主要参与调节肠道的免疫信号通路和微生物菌群, 影响肠道的炎症的发生<sup>[9,10]</sup>.

## 2 Nlrp6蛋白的结构及功能

Nlrp6是第一个被发现的抑制天然免疫反应相关信号通路的NLRs蛋白家族成员, 其编码基因位于人11号染色体. 在肠道组织中, Nlrp6高表达于肠上皮细胞和肌成纤维细胞等非造血细胞<sup>[11]</sup>. Nlrp6可与含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶(cysteiny aspartate specific proteinase-1, Caspase-1)和含CARD结构域的凋亡相关颗粒样蛋白(apoptosis associated speck-like protein containing CARD, ASC)通过N端PYD结构域的蛋白-蛋白连接作用组成细胞内多聚蛋白复合物(即Nlrp6炎症小体), 最终产生白细



胞素(interleukin, IL)-1 $\beta$ 、IL-18等细胞因子, 参与炎症反应和免疫应答<sup>[12,13]</sup>.

在Nlrp6缺失型小鼠中观察到Nlrp6的功能是抑制NF- $\kappa$ B和MAPK的活化, 从而发挥促进凋亡、抑制炎症及肠道组织增殖的作用<sup>[14,15]</sup>. Nlrp6缺失型小鼠体内的巨噬细胞在细菌感染时对NF- $\kappa$ B的激活增加, 并伴有NF- $\kappa$ B和MAPK依赖性细胞因子、趋化因子分泌增加, 免疫细胞数目明显增加, 通过激活Toll样受体(multiple toll-like receptors, TLR), 增强NF- $\kappa$ B和MAPK信号转导的活化, 说明Nlrp6可能在识别病原体后抑制TLR通路, 防止炎症扩大<sup>[16]</sup>. NF- $\kappa$ B相关细胞因子如肿瘤坏死因子 $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )和IL-6在Nlrp6缺失型小鼠体内显著升高<sup>[11]</sup>, TNF- $\alpha$ 和IL-6可以激活肠上皮细胞STAT3途径促进肿瘤的发生<sup>[17,18]</sup>. ASC与其他Nlrp蛋白共表达并不能激活Caspase-1前体, 表明Nlrp6能够有效地激活Caspase-1前体, 促使细胞发生凋亡, 阻止细胞的无限增殖, 抑制肿瘤发生<sup>[19]</sup>.

近年来, Ranson等<sup>[20]</sup>观察到Nlrp6在人类CD中上调, 但在人类UC中没有显著程度上调. 相反, Alipour等<sup>[21]</sup>发现IBD亚群中Nlrp6表达有降低的趋势, 但这没有达到统计学意义. 进一步研究表明, 在CD和UC患者的上皮层中Nlrp6的表达降低. 动物模型进一步证实了Nlrp6表达与肠屏障完整性之间的关联. 在小鼠的WAS(避水应激)诱导的小肠炎(肠炎)中报道了Nlrp6水平降低<sup>[22]</sup>. 然而, 在结肠炎小鼠模型中Nlrp6的表达尚不完全清楚. 由此可见, Nlrp6在调节肠道免疫功能和维持肠道菌群稳态中的作用日益受到重视, 研究Nlrp6炎性小体及其配体有助于深入探讨UC的发病机制.

### 3 Nlrp6/IL-18信号通路在调节IBD肠道免疫功能和维持肠道菌群稳态中发挥重要作用

Nlrp6炎性小体导致蛋白水解切割和激活caspase-1, 之后释放促炎细胞因子IL-18<sup>[23]</sup>. 为了评估Nlrp6对结肠炎的影响, 进行了几种使用Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠的研究<sup>[24,25]</sup>. 在该实验中, Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠显示出对DSS诱发的结肠炎增强的易感性. 研究人员还观察到IL-18的水平降低了. 此外, 使用16SrRNA分析肠道菌群组成揭示了Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠肠道中更多的致癌微生物群. 我们了解到, 炎症小体的激活导致多重下游效应, 包括通过蛋白水解切割产生活化形式的前IL-18. Levy等<sup>[26]</sup>发现敲除IL-18导致结肠炎严重程度和肠道细菌群落的显著恶化, 类似于Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠. 这些结果表明, Nlrp6对肠道细菌群落的影响可能部分取决于IL-18, 且IL-18在DSS诱导的结肠炎中具有保护作用. Kempster等<sup>[27]</sup>认为病态的IL-18过度激活存在差异. 然而, IL-18的不同表达也可能导致关于IL-18

在NEC中的作用的“冲突”. 观察发生在回肠中的环状物, 而不是它在DSS诱导的结肠炎中的作用(大多数严重的远端结肠). 为此, Nlrp6在小鼠结肠上皮细胞中的缺乏改变了粪便微生物, 其特征是细菌门拟杆菌和TM7<sup>[11]</sup>. Seregin等<sup>[28]</sup>证明使用不依赖于上皮损伤和修复的IBD替代模型, Nlrp6通过限制IL-10<sup>-/-</sup>小鼠致结肠炎病菌 *A.muciniphila* 的定植来预防结肠炎的发展. 在肠道中, AMP是参与该组织的先天免疫系统的关键组成部分. Nlrp6可以调节“健康”宿主-微生物界面的机制, 从IgA和粘液分泌到AMP产生<sup>[29,30]</sup>.

由此可见在IBD中, Nlrp6炎性小体信号通路主要是通过产生细胞因子IL-18来介导免疫功能和维持肠道菌群稳态. 深入研究Nlrp6/IL-18通路的作用机制, 有利于揭示肠道免疫紊乱和菌群失调在UC发病中的作用.

### 4 Nlrp6-Muc2轴对结肠上皮细胞免疫功能和微生物菌群的影响

在UC患者和DSS诱导的结肠炎小鼠中, 可以观察到结肠上皮细胞中杯状细胞通常被耗尽, 粘液合成和分泌减少<sup>[31,32]</sup>. 在肠道病原体清除实验中, 固有层物质会被微生物和病原体穿透<sup>[33]</sup>. Wlodarska等<sup>[9]</sup>观察到与野生型小鼠相比, Nlrp6缺陷小鼠的C.rodentium负荷和病理变化增加. ASC<sup>-/-</sup>和caspase-1/11<sup>-/-</sup>小鼠也表现出无法清除C.rodentium. 这些结果表明Nlrp6炎性小体激活是宿主防御A/E病原体感染的关键. Muc2粘蛋白是由杯状细胞产生的大型糖蛋白, 形成先天宿主防御的第一线<sup>[34]</sup>. Muc2<sup>-/-</sup>小鼠会发生自发性结肠炎并且不能阻止从黏膜表面附着和去除粘附的病原体<sup>[35]</sup>. Nlrp6在整个肠黏膜中高表达, 特别是在杯状细胞中. 该发现表明Nlrp6调节粘液分泌, 进一步的研究表明, Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠的肠上皮细胞表现出显着的杯状细胞增生. 然而, 杯状细胞粘液颗粒分泌受到抑制, 缺乏厚的连续覆盖的内部黏膜层<sup>[9]</sup>.

有报道指出, Nlrp6仅调节粘液颗粒和肠上皮的融合以及粘液的分泌, 但不影响粘液的表达. 自噬对于Paneth细胞、破骨细胞和肥大细胞的功能至关重要<sup>[36-38]</sup>. 同样, 在Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠的上皮中缺乏可见的自噬体形成, 表明自噬过程是由Nlrp6介导的粘液颗粒分泌所必需的过程. 此外, caspase-1/11<sup>-/-</sup>和ASC<sup>-/-</sup>小鼠的杯状细胞显示明显缺乏粘液分泌.

通常, 肠道内部粘液层将结肠细胞与微生物群分离, 这样就可以阻止细菌接触隐窝, 破坏其结构及功能<sup>[39]</sup>. Birchenough等<sup>[40]</sup>报道细菌的流入增加了隐窝附近TLR配体的浓度并激活了前杯状细胞(sentinel goblet cells, senGCs), 这是在Nlrp6炎性小体激活之前, 由内吞作用下流的TLR-MyD88信号通路传导引起的. 这导致Ca<sup>2+</sup>信号

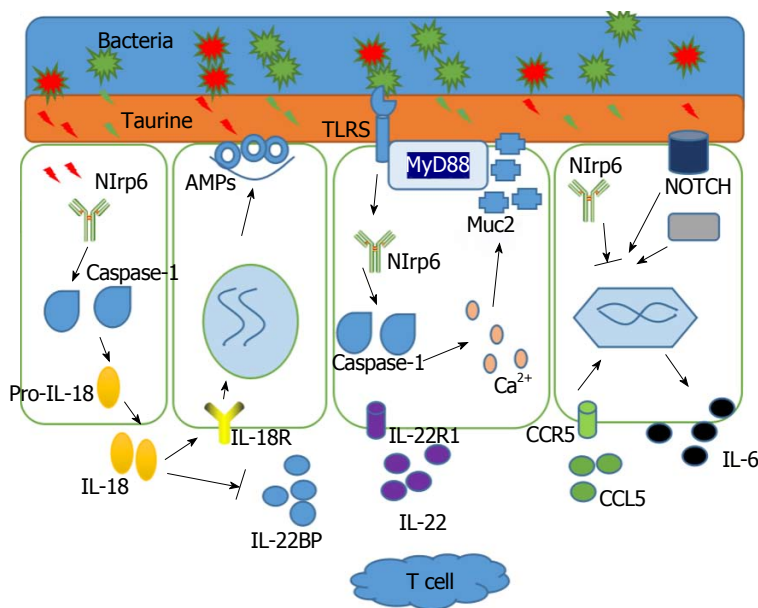


图 1 Nlrp6调节肠道免疫功能和维持肠道菌群稳态的多种机制。Bacteria: 细菌; Taurine: 牛磺酸; Nlrp6: 核苷酸结合寡聚化结构域样受体含pyrin结构域蛋白6; Caspase-1: 含半胱氨酸的天冬氨酸蛋白水解酶; Pro-IL-18: 白介素18前体; IL-18: 白介素18; AMPs: 抗菌肽; IL-18R: 白介素18受体; IL-22BP: 白介素22结合蛋白; IL-22: 白介素22; IL-22R1: 白介素22受体1; TLRs: Toll样受体; MYD88: 髓样分化因子; Muc2: 粘蛋白; CCR5: 趋化因子受体5; CCL5: 趋化因子配体5; IL-6: 白介素6。

传导驱动化合物Muc2分泌、GJ依赖性细胞信号传导的产生、功能性GC的Muc2分泌和活化的senGC的排出。这种方式清除了隐窝中的细菌,从而保护下部隐窝和肠干细胞免受细菌侵入。Nlrp6控制senGC排出,并促进活化的senGC诱发细胞间信号传导,最终诱导相邻功能性GC中的Muc2分泌。

由此可见, Nlrp6对于肠道上皮细胞的杯状细胞表达Muc2粘液蛋白具有重要作用, 而Muc2可以调节肠道免疫及微生物, 保护肠道黏膜, 故Nlrp6-Muc2轴对治疗IBD可以提供新的治疗思路.

## 5 Nlrp6在IBD炎症相关性结直肠癌中的调节作用

众所周知, IL-22可以促进上皮细胞增殖<sup>[41]</sup>。作为可溶性IL-22受体, IL-22BP特异性结合IL-22并阻止IL-22与IL-22的结合膜结合IL-22R1可抑制上皮细胞增殖<sup>[42]</sup>。Castleman等<sup>[43]</sup>表明人肠道微生物群(包括共生细菌)间接调节结肠ILC3功能以诱导IL-22, IL-22通过其对上皮屏障的功能性作用促进肠内稳态。当肠道上皮屏障完整性受损时, 例如人类免疫缺陷病毒感染和IBD, 来自肠腔的微生物易位到固有层中, 诱导多种潜在的致病性免疫应答。Huber等<sup>[44]</sup>发现Nlrp6炎性小体导致IL-18依赖性降低, IL-22BP的下调, 从而增加上皮细胞增殖。此外, IL-18还通过MyD88信号通路促进上皮细胞增殖。通过用AOM或DSS治疗诱导的结肠炎相关癌症小鼠模型, Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠比野生型小鼠发展出更多更大的肿瘤<sup>[45]</sup>。在该研究中, 作者首次阐述了Nlrp6在肿瘤发展中的保护

作用. 进一步的研究表明, Nlrp6下调上皮细胞增殖的相关因子, 包括Wnt和肿瘤中的Notch靶基因<sup>[46]</sup>. 正如上述研究报道的那样, Nlrp6可调节肠道菌群的组成. 在Nlrp6<sup>-/-</sup>小鼠中携带的致结肠炎肠道微生物群落和微生物群诱导的趋化因子(C-C基序)配体5(CCL5)一起通过IL-6途径局部激活促进上皮细胞增殖<sup>[47]</sup>.

结直肠癌(CRC)是消化系统最常见的癌症之一,但很多有关CRC发展的潜在分子机制仍然未知<sup>[48]</sup>。一个主要的风险因素CRC的发展是IBD的延长。进一步证明NF- $\kappa$ B激酶依赖性途径的经典抑制剂对于肿瘤的生长和进展至关重要,突出了CRC发病过程中炎症的重要性<sup>[49,50]</sup>。肠道微生物群落使一个复杂的生态系统,最近显示出对动物模型和人类的健康和疾病有很大的影响<sup>[51-54]</sup>。肠道微生物群被认为影响IBD的发病机制,因为抗生素和益生菌的治疗可以改善某些IBD亚组患者的疾病症状<sup>[55]</sup>。此外,最近证实IBD患者的肠道微生物群的一些成员丰度降低,包括厚壁菌门和拟杆菌<sup>[56,57]</sup>。牛链球菌/溶血弧菌,产肠毒素细菌脆弱体和大肠杆菌NC101已被认为是CRC的危险因素<sup>[58,59]</sup>。此外,一些小鼠模型中的自发性肠炎在无菌环境中无法发展<sup>[60]</sup>。Hu等<sup>[46]</sup>证明了Nlrp6<sup>-/-</sup>和ASC<sup>-/-</sup>小鼠含有一种在WT小鼠中可传染的肠道菌群微生物群落,它可以导致结肠炎恶化。在这里,使用(AOM)-DSS诱导的结肠炎相关CRC模型(CAC),证明了WT小鼠与Nlrp6<sup>-/-</sup>和ASC<sup>-/-</sup>共养发展为炎症诱导的CRC作用的戏剧性增强趋势,其通过诱导IL-18改变其介导的微生物群落和由此诱导的CCCL5依赖性结肠炎和

IL-6途径的激活。由于IBD的持续炎症刺激容易导致癌变, 形成CRC, 因此, 预防和及时治疗IBD可以有效控制CRC的发生。由此可知, Nlrp6通过IL-18影响肠道微生物菌群, 进一步通过CCL-5及IL-6的激活影响IBD相关性CRC的发生发展。因此, 此实验研究对于我们治疗IBD相关性CRC具有临床指导意义。

## 6 结论与展望

Nlrp6通过作用于caspase-1产生IL-18, 从而促进AMPs的分泌, 清除肠道细菌, 调节肠道免疫功能及维持肠道菌群稳态; IL-18还可抑制IL-22BP的产生, 增强IL-22作用, 并通过MyD88通路来促进上皮细胞增殖; Nlrp6通过TLR调节杯状细胞分泌Muc2粘蛋白, Muc2也可调节肠道免疫及微生物, 保护肠黏膜(图1)。Nlrp6可通过各种途径影响肠道免疫及菌群稳态, 而这正是IBD的主要致病原因。因此, 深入研究Nlrp6作用机制, 有助于揭示IBD发病机制。由于IBD有一定癌变倾向, Hu<sup>[46]</sup>发现Nlrp6可作用于NOTCH及Wnt靶点, 激活CCL5及IL-6信号通路, 调节上皮细胞增殖, 影响IBD相关性CRC。Nlrp6在肿瘤的形成中也具有保护作用。Nlrp6的表达已被人提出作为结肠腺癌检测的诊断标记物<sup>[61]</sup>。由上可知, 目前的研究证据显示Nlrp6参与维持上皮屏障的完整性、促进肠上皮伤口愈合、抑制肠上皮过度增殖和细胞凋亡, 并在炎症、肿瘤等多种疾病发生发展中具有抑制作用。因此, Nlrp6及其相应细胞因子的表达水平可以作为IBD及相关肿瘤的一个很有价值的生物标记物和治疗的靶点。

## 7 参考文献

- Márquez L, Shen C, Cleynen I, De Hertogh G, Van Steen K, Machiels K, Perrier C, Ballet V, Organe S, Ferrante M, Henckaerts L, Galicia G, Rutgeerts P, Ceuppens JL, Vermeire S. Effects of haptoglobin polymorphisms and deficiency on susceptibility to inflammatory bowel disease and on severity of murine colitis. *Gut* 2012; 61: 528-534 [PMID: 21708824 DOI: 10.1136/gut.2011.240978]
- Cui G, Yuan A. A Systematic Review of Epidemiology and Risk Factors Associated With Chinese Inflammatory Bowel Disease. *Front Med (Lausanne)* 2018; 5: 183 [PMID: 29971235 DOI: 10.3389/fmed.2018.00183]
- Kanneganti TD, Lamkanfi M, Núñez G. Intracellular NOD-like receptors in host defense and disease. *Immunity* 2007; 27: 549-559 [PMID: 17967410 DOI: 10.1016/j.immuni.2007.10.002]
- Kanneganti TD. Central roles of NLRs and inflammasomes in viral infection. *Nat Rev Immunol* 2010; 10: 688-698 [PMID: 20847744 DOI: 10.1038/nri2851]
- Rathinam VA, Vanaja SK, Fitzgerald KA. Regulation of inflammasome signaling. *Nat Immunol* 2012; 13: 333-342 [PMID: 22430786 DOI: 10.1038/ni.2237]
- Schroder K, Tschopp J. The inflammasomes. *Cell* 2010; 140: 821-832 [PMID: 20303873 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.040]
- Ting JP, Lovering RC, Alnemri ES, Bertin J, Boss JM, Davis BK, Flavell RA, Girardin SE, Godzik A, Harton JA, Hoffman HM, Hugot JP, Inohara N, Mackenzie A, Maltais LJ, Nunez G, Ogura Y, Otten LA, Philpott D, Reed JC, Reith W, Schreiber S, Steimle V, Ward PA. The NLR gene family: a standard nomenclature. *Immunity* 2008; 28: 285-287 [PMID: 18341998 DOI: 10.1016/j.immuni.2008.02.005]
- Kobayashi K, Inohara N, Hernandez LD, Galán JE, Núñez G, Janeway CA, Medzhitov R, Flavell RA. RICK/Rip2/CARDIAK mediates signalling for receptors of the innate and adaptive immune systems. *Nature* 2002; 416: 194-199 [PMID: 11894098 DOI: 10.1038/416194a]
- Wlodarska M, Thaiss CA, Nowarski R, Henao-Mejia J, Zhang JP, Brown EM, Frankel G, Levy M, Katz MN, Philbrick WM, Elinav E, Finlay BB, Flavell RA. NLRP6 inflammasome orchestrates the colonic host-microbial interface by regulating goblet cell mucus secretion. *Cell* 2014; 156: 1045-1059 [PMID: 24581500 DOI: 10.1016/j.cell.2014.01.026]
- Chen GY. Role of Nlrp6 and Nlrp12 in the maintenance of intestinal homeostasis. *Eur J Immunol* 2014; 44: 321-327 [PMID: 24338634 DOI: 10.1002/eji.201344135]
- Elinav E, Strowig T, Kau AL, Henao-Mejia J, Thaiss CA, Booth CJ, Peaper DR, Bertin J, Eisenbarth SC, Gordon JI, Flavell RA. NLRP6 inflammasome regulates colonic microbial ecology and risk for colitis. *Cell* 2011; 145: 745-757 [PMID: 21565393 DOI: 10.1016/j.cell.2011.04.022]
- Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell* 2014; 157: 1013-1022 [PMID: 24855941 DOI: 10.1016/j.cell.2014.04.007]
- Chen GY, Liu M, Wang F, Bertin J, Núñez G. A functional role for Nlrp6 in intestinal inflammation and tumorigenesis. *J Immunol* 2011; 186: 7187-7194 [PMID: 21543645 DOI: 10.4049/jimmunol.1100412]
- Meixenberger K, Pache F, Eitel J, Schmeck B, Hippenstiel S, Slevogt H, N'Guessan P, Witzentrath M, Netea MG, Chakraborty T, Suttrop N, Opitz B. *Listeria monocytogenes*-infected human peripheral blood mononuclear cells produce IL-1 $\beta$ , depending on listeriolysin O and NLRP3. *J Immunol* 2010; 184: 922-930 [PMID: 20008285 DOI: 10.4049/jimmunol.0901346]
- Normand S, Delanoye-Crespin A, Bressenot A, Huot L, Grandjean T, Peyrin-Biroulet L, Lemoine Y, Hot D, Chamailard M. Nod-like receptor pyrin domain-containing protein 6 (NLRP6) controls epithelial self-renewal and colorectal carcinogenesis upon injury. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9601-9606 [PMID: 21593405 DOI: 10.1073/pnas.1100981108]
- Anand PK, Malireddi RK, Lukens JR, Vogel P, Bertin J, Lamkanfi M, Kanneganti TD. NLRP6 negatively regulates innate immunity and host defence against bacterial pathogens. *Nature* 2012; 488: 389-393 [PMID: 22763455 DOI: 10.1038/nature11250]
- Grivennikov SI, Karin M. Dangerous liaisons: STAT3 and NF-kappaB collaboration and crosstalk in cancer. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 11-19 [PMID: 20018552 DOI: 10.1016/j.cytogfr.2009.11.005]
- Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu GY, Vallabhapurapu S, Scheller J, Rose-John S, Cheroutre H, Eckmann L, Karin M. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell* 2009; 15: 103-113 [PMID: 19185845 DOI: 10.1016/j.ccr.2009.01.001]
- Grenier JM, Wang L, Manji GA, Huang WJ, Al-Garawi A, Kelly R, Carlson A, Merriam S, Lora JM, Briskin M, DiStefano PS, Bertin J. Functional screening of five PYPAF family members identifies PYPAF5 as a novel regulator of NF-kappaB and caspase-1. *FEBS Lett* 2002; 530: 73-78 [PMID: 12387869 DOI: 10.1016/S0014-5793(02)03416-6]
- Ranson N, Veldhuis M, Mitchell B, Fanning S, Cook AL,



- Kunde D, Eri R. Nod-Like Receptor Pyrin-Containing Protein 6 (NLRP6) Is Up-regulated in Ileal Crohn's Disease and Differentially Expressed in Goblet Cells. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* 2018; 6: 110-112.e8 [PMID: 29928676 DOI: 10.1016/j.jcmgh.2018.03.001]
- 21 Alipour M, Zaidi D, Valcheva R, Jovel J, Martínez I, Sergi C, Walter J, Mason AL, Wong GK, Dieleman LA, Carroll MW, Huynh HQ, Wine E. Mucosal Barrier Depletion and Loss of Bacterial Diversity are Primary Abnormalities in Paediatric Ulcerative Colitis. *J Crohns Colitis* 2016; 10: 462-471 [PMID: 26660940 DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv223]
  - 22 Sun Y, Zhang M, Chen CC, Gilliland M 3rd, Sun X, El-Zaatari M, Huffnagle GB, Young VB, Zhang J, Hong SC, Chang YM, Gumucio DL, Owyang C, Kao JY. Stress-induced corticotropin-releasing hormone-mediated NLRP6 inflammasome inhibition and transmissible enteritis in mice. *Gastroenterology* 2013; 144: 1478-1487, 1487.e1-1487.e8 [PMID: 23470617 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.02.038]
  - 23 Sellin ME, Maslowski KM, Maloy KJ, Hardt WD. Inflammasomes of the intestinal epithelium. *Trends Immunol* 2015; 36: 442-450 [PMID: 26166583 DOI: 10.1016/j.it.2015.06.002]
  - 24 Anand PK, Kanneganti TD. NLRP6 in infection and inflammation. *Microbes Infect* 2013; 15: 661-668 [PMID: 23811097 DOI: 10.1016/j.micinf.2013.06.009]
  - 25 Vladimer GI, Marty-Roix R, Ghosh S, Weng D, Lien E. Inflammasomes and host defenses against bacterial infections. *Curr Opin Microbiol* 2013; 16: 23-31 [PMID: 23318142 DOI: 10.1016/j.mib.2012.11.008]
  - 26 Levy M, Thaiss CA, Zeevi D, Dohnalová L, Zilberman-Schapira G, Mahdi JA, David E, Savidor A, Korem T, Herzig Y, Pevsner-Fischer M, Shapiro H, Christ A, Harmelin A, Halpern Z, Latz E, Flavell RA, Amit I, Segal E, Elinav E. Microbiota-Modulated Metabolites Shape the Intestinal Microenvironment by Regulating NLRP6 Inflammasome Signaling. *Cell* 2015; 163: 1428-1443 [PMID: 26638072 DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.048]
  - 27 Kempster SL, Belteki G, Forhead AJ, Fowden AL, Catalano RD, Lam BY, McFarlane I, Charnock-Jones DS, Smith GC. Developmental control of the Nlrp6 inflammasome and a substrate, IL-18, in mammalian intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300: G253-G263 [PMID: 21088234 DOI: 10.1152/ajpgi.00397.2010]
  - 28 Seregin SS, Golovchenko N, Schaf B, Chen J, Pudlo NA, Mitchell J, Baxter NT, Zhao L, Schloss PD, Martens EC, Eaton KA, Chen GY. NLRP6 Protects Il10<sup>-/-</sup> Mice from Colitis by Limiting Colonization of Akkermansia muciniphila. *Cell Rep* 2017; 19: 2174 [PMID: 28591587 DOI: 10.1016/j.celrep.2017.05.074]
  - 29 Williams H, Campbell L, Crompton RA, Singh G, McHugh BJ, Davidson DJ, McBain AJ, Cruickshank SM, Hardman MJ. Microbial Host Interactions and Impaired Wound Healing in Mice and Humans: Defining a Role for BD14 and NOD2. *J Invest Dermatol* 2018; 138: 2264-2274 [PMID: 29723492 DOI: 10.1016/j.jid.2018.04.014]
  - 30 Hooper LV, Littman DR, Macpherson AJ. Interactions between the microbiota and the immune system. *Science* 2012; 336: 1268-1273 [PMID: 22674334 DOI: 10.1126/science.1223490]
  - 31 Swidsinski A, Loening-Baucke V, Theissig F, Engelhardt H, Bengmark S, Koch S, Lochs H, Dörffel Y. Comparative study of the intestinal mucus barrier in normal and inflamed colon. *Gut* 2007; 56: 343-350 [PMID: 16908512 DOI: 10.1136/gut.2006.098160]
  - 32 Gersemann M, Becker S, Kübler I, Koslowski M, Wang G, Herrlinger KR, Griger J, Fritz P, Fellermann K, Schwab M, Wehkamp J, Stange EF. Differences in goblet cell differentiation between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Differentiation* 2009; 77: 84-94 [PMID: 19281767 DOI: 10.1016/j.diff.2008.09.008]
  - 33 Schneider H, Pelaseyed T, Svensson F, Johansson MEV. Study of mucin turnover in the small intestine by in vivo labeling. *Sci Rep* 2018; 8: 5760 [PMID: 29636525 DOI: 10.1038/s41598-018-24148-x]
  - 34 Tawiah A, Cornick S, Moreau F, Gorman H, Kumar M, Tiwari S, Chadee K. High MUC2 Mucin Expression and Misfolding Induce Cellular Stress, Reactive Oxygen Production, and Apoptosis in Goblet Cells. *Am J Pathol* 2018; 188: 1354-1373 [PMID: 29545196 DOI: 10.1016/j.ajpath.2018.02.007]
  - 35 Wenzel UA, Magnusson MK, Rydström A, Jonstrand C, Hengst J, Johansson ME, Velcich A, Öhman L, Strid H, Sjövall H, Hansson GC, Wick MJ. Spontaneous colitis in Muc2-deficient mice reflects clinical and cellular features of active ulcerative colitis. *PLoS One* 2014; 9: e100217 [PMID: 24945909 DOI: 10.1371/journal.pone.0100217]
  - 36 DeSelm CJ, Miller BC, Zou W, Beatty WL, van Meel E, Takahata Y, Klumperman J, Tooze SA, Teitelbaum SL, Virgin HW. Autophagy proteins regulate the secretory component of osteoclastic bone resorption. *Dev Cell* 2011; 21: 966-974 [PMID: 22055344 DOI: 10.1016/j.devcel.2011.08.016]
  - 37 Cadwell K, Liu JY, Brown SL, Miyoshi H, Loh J, Lennerz JK, Kishi C, Kc W, Carrero JA, Hunt S, Stone CD, Brunt EM, Xavier RJ, Sleckman BP, Li E, Mizushima N, Stappenbeck TS, Virgin HW 4th. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature* 2008; 456: 259-263 [PMID: 18849966 DOI: 10.1038/nature07416]
  - 38 Ushio H, Ueno T, Kojima Y, Komatsu M, Tanaka S, Yamamoto A, Ichimura Y, Ezaki J, Nishida K, Komazawa-Sakon S, Niyonsaba F, Ishii T, Yanagawa T, Kominami E, Ogawa H, Okumura K, Nakano H. Crucial role for autophagy in degranulation of mast cells. *J Allergy Clin Immunol* 2011; 127: 1267-76.e6 [PMID: 21333342 DOI: 10.1016/j.jaci.2010.12.1078]
  - 39 Johansson ME, Phillipson M, Petersson J, Velcich A, Holm L, Hansson GC. The inner of the two Muc2 mucin-dependent mucus layers in colon is devoid of bacteria. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 15064-15069 [PMID: 18806221 DOI: 10.1073/pnas.0803124105]
  - 40 Birchenough GM, Nyström EE, Johansson ME, Hansson GC. A sentinel goblet cell guards the colonic crypt by triggering Nlrp6-dependent Muc2 secretion. *Science* 2016; 352: 1535-1542 [PMID: 27339979 DOI: 10.1126/science.aaf7419]
  - 41 Witte E, Witte K, Warszawska K, Sabat R, Wolk K. Interleukin-22: a cytokine produced by T, NK and NKT cell subsets, with importance in the innate immune defense and tissue protection. *Cytokine Growth Factor Rev* 2010; 21: 365-379 [PMID: 20870448 DOI: 10.1016/j.cytogr.2010.08.002]
  - 42 Wei CC, Ho TW, Liang WG, Chen GY, Chang MS. Cloning and characterization of mouse IL-22 binding protein. *Genes Immun* 2003; 4: 204-211 [PMID: 12700595 DOI: 10.1038/sj.gene.6363947]
  - 43 Castleman MJ, Dillon SM, Purba CM, Cogswell AC, Kibbie JJ, McCarter MD, Santiago ML, Barker E, Wilson CC. Commensal and Pathogenic Bacteria Indirectly Induce IL-22 but Not IFN $\gamma$  Production From Human Colonic ILC3s via Multiple Mechanisms. *Front Immunol* 2019; 10: 649 [PMID: 30984202 DOI: 10.3389/fimmu.2019.00649]
  - 44 Huber S, Gagliani N, Zenewicz LA, Huber FJ, Bosurgi L, Hu B, Hedl M, Zhang W, O'Connor W Jr, Murphy AJ, Valenzuela DM, Yancopoulos GD, Booth CJ, Cho JH, Ouyang W, Abraham C, Flavell RA. IL-22BP is regulated by the inflammasome and modulates tumorigenesis in the intestine. *Nature* 2012; 491: 259-263 [PMID: 23075849 DOI: 10.1038/nature11535]
  - 45 Karki R, Man SM, Kanneganti TD. Inflammasomes and Cancer. *Cancer Immunol Res* 2017; 5: 94-99 [PMID: 28093447 DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-16-0269]

- 46 Hu B, Elinav E, Huber S, Strowig T, Hao L, Hafemann A, Jin C, Wunderlich C, Wunderlich T, Eisenbarth SC, Flavell RA. Microbiota-induced activation of epithelial IL-6 signaling links inflammasome-driven inflammation with transmissible cancer. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013; 110: 9862-9867 [PMID: 23696660 DOI: 10.1073/pnas.1307575110]
- 47 Weir HK, Thun MJ, Hankey BF, Ries LA, Howe HL, Wingo PA, Jemal A, Ward E, Anderson RN, Edwards BK. Annual report to the nation on the status of cancer, 1975-2000, featuring the uses of surveillance data for cancer prevention and control. *J Natl Cancer Inst* 2003; 95: 1276-1299 [PMID: 12953083 DOI: 10.1093/jnci/djg040]
- 48 Popivanova BK, Kitamura K, Wu Y, Kondo T, Kagaya T, Kaneko S, Oshima M, Fujii C, Mukaida N. Blocking TNF-alpha in mice reduces colorectal carcinogenesis associated with chronic colitis. *J Clin Invest* 2008; 118: 560-570 [PMID: 18219394 DOI: 10.1172/JCI32453]
- 49 Grivennikov SI, Greten FR, Karin M. Immunity, inflammation, and cancer. *Cell* 2010; 140: 883-899 [PMID: 20303878 DOI: 10.1016/j.cell.2010.01.025]
- 50 Henao-Mejia J, Elinav E, Jin C, Hao L, Mehal WZ, Strowig T, Thaiss CA, Kau AL, Eisenbarth SC, Jurczak MJ, Camporez JP, Shulman GI, Gordon JI, Hoffman HM, Flavell RA. Inflammasome-mediated dysbiosis regulates progression of NAFLD and obesity. *Nature* 2012; 482: 179-185 [PMID: 22297845 DOI: 10.1038/nature10809]
- 51 Guarner F, Malagelada JR. Gut flora in health and disease. *Lancet* 2003; 361: 512-519 [PMID: 12583961 DOI: 10.1016/S0140-6736(03)12489-0]
- 52 Wen L, Ley RE, Volchkov PY, Stranges PB, Avanesyan L, Stonebraker AC, Hu C, Wong FS, Szot GL, Bluestone JA, Gordon JI, Chervonsky AV. Innate immunity and intestinal microbiota in the development of Type 1 diabetes. *Nature* 2008; 455: 1109-1113 [PMID: 18806780 DOI: 10.1038/nature07336]
- 53 Wang Z, Klipfell E, Bennett BJ, Koeth R, Levison BS, Dugar B, Feldstein AE, Britt EB, Fu X, Chung YM, Wu Y, Schauer P, Smith JD, Allayee H, Tang WH, DiDonato JA, Lusis AJ, Hazen SL. Gut flora metabolism of phosphatidylcholine promotes cardiovascular disease. *Nature* 2011; 472: 57-63 [PMID: 21475195 DOI: 10.1038/nature09922]
- 54 Gionchetti P, Rizzello F, Helwig U, Venturi A, Lammers KM, Brigidi P, Vitali B, Poggioni G, Miglioli M, Campieri M. Prophylaxis of pouchitis onset with probiotic therapy: a double-blind, placebo-controlled trial. *Gastroenterology* 2003; 124: 1202-1209 [PMID: 12730861 DOI: 10.1016/S0016-5085(03)00171-9]
- 55 Frank DN, St Amand AL, Feldman RA, Boedeker EC, Harpaz N, Pace NR. Molecular-phylogenetic characterization of microbial community imbalances in human inflammatory bowel diseases. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 13780-13785 [PMID: 17699621 DOI: 10.1073/pnas.0706625104]
- 56 Davis CD, Milner JA. Gastrointestinal microflora, food components and colon cancer prevention. *J Nutr Biochem* 2009; 20: 743-752 [PMID: 19716282 DOI: 10.1016/j.jnutbio.2009.06.001]
- 57 Goodwin AC, Destefano Shields CE, Wu S, Huso DL, Wu X, Murray-Stewart TR, Hacker-Prietz A, Rabizadeh S, Woster PM, Sears CL, Casero RA Jr. Polyamine catabolism contributes to enterotoxigenic *Bacteroides fragilis*-induced colon tumorigenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 15354-15359 [PMID: 21876161 DOI: 10.1073/pnas.1010203108]
- 58 Abdulmir AS, Hafidh RR, Abu Bakar F. The association of *Streptococcus bovis/gallolyticus* with colorectal tumors: the nature and the underlying mechanisms of its etiological role. *J Exp Clin Cancer Res* 2011; 30: 11 [PMID: 21247505 DOI: 10.1186/1756-9966-30-11]
- 59 Arthur JC, Perez-Chanona E, Mühlbauer M, Tomkovich S, Uronis JM, Fan TJ, Campbell BJ, Abujamel T, Dogan B, Rogers AB, Rhodes JM, Stintzi A, Simpson KW, Hansen JJ, Keku TO, Fodor AA, Jobin C. Intestinal inflammation targets cancer-inducing activity of the microbiota. *Science* 2012; 338: 120-123 [PMID: 22903521 DOI: 10.1126/science.1224820]
- 60 Elson CO, Cong Y, McCracken VJ, Dimmitt RA, Lorenz RG, Weaver CT. Experimental models of inflammatory bowel disease reveal innate, adaptive, and regulatory mechanisms of host dialogue with the microbiota. *Immunol Rev* 2005; 206: 260-276 [PMID: 16048554 DOI: 10.1111/j.0105-2896.2005.00291.x]
- 61 Ahmed FE, Vos P. Molecular markers for human colon cancer in stool and blood identified by RT-PCR. *Anticancer Res* 2004; 24: 4127-4134 [PMID: 15736463]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展

朱翠翠, 康海锋, 仇建伟, 钱俊波, 刘宏斌, 张冬梅

朱翠翠, 康海锋, 仇建伟, 钱俊波, 南通大学第二附属医院消化内科 江苏省南通市 226000

刘宏斌, 南通大学第二附属医院病理科 江苏省南通市 226000

张冬梅, 南通大学第二附属医院临床医学研究中心 江苏省南通市 226000

朱翠翠, 消化内科方向.

作者贡献分布: 本论文写作由朱翠翠完成; 康海锋、仇建伟、刘宏斌及张冬梅指导; 钱俊波审核.

通讯作者: 钱俊波, 副教授, 主任医师, 226000, 江苏省南通市孩儿巷北路6号, 南通大学第二附属医院消化内科. [ntyqjb@163.com](mailto:ntyqjb@163.com)  
电话: 0513-85061265

收稿日期: 2019-07-19

修回日期: 2019-08-16

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-08

### Role of FHL2 in digestive system malignancies

Cui-Cui Zhu, Hai-Feng Kang, Jian-Wei Qiu, Jun-Bo Qian, Hong-Bin Liu, Dong-Mei Zhang

Cui-Cui Zhu, Hai-Feng Kang, Jian-Wei Qiu, Jun-Bo Qian, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Hong-Bin Liu, Department of Pathology, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Dong-Mei Zhang, Clinical Medical Research Center, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226000, Jiangsu Province, China

Corresponding author: Jun-Bo Qian, Associate Professor, Chief Physician, Department of Gastroenterology and Hepatology, the Second Affiliated Hospital of Nantong University, No. 6, North Haiexiang Road, Nantong 226000, Jiangsu Province, China. [ntyqjb@163.com](mailto:ntyqjb@163.com)

Received: 2019-07-19

Revised: 2019-08-16

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-08

### Abstract

FHL2 is a scaffold protein that regulates signal transduction and gene transcription, and it has typical structural features of FHL proteins. Each FHL protein contains four half-LIM domains, and different LIM domains can bind to different proteins, which can activate or inhibit the activities of transcription factors such as P53 and serum response factors, and then influences the development of tumors. Previous studies have found that FHL2 has a complex biological role in tumorigenesis, and may promote or suppress tumor development in different types of tumors. In this article, we review the role of FHL2 in digestive system malignancies.

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

Key Words: FHL2; Digestive system; Malignancies

Zhu CC, Kang HF, Qiu JW, Qian JB, Liu HB, Zhang DM. Role of FHL2 in digestive system malignancies. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1083-1087

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1083.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1083>

### 摘要

FHL2是一种参与信号转导和基因转录的支架蛋白, 具有FHL蛋白典型的结构特征. FHL2含有四个半LIM结构域, 不同的LIM结构域可以与不同的蛋白质结合, 从而激活或者抑制转录因子如P53、血清应答因子等的活性, 进而影响肿瘤的发生发展. 既往研究发现, FHL2在肿瘤发生发展中具有复杂的生物学作用,



在不同类型肿瘤中发挥促癌或抑癌的作用. 本文就FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展作一概述.

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

关键词: FHL2; 消化系统; 恶性肿瘤

**核心提要:** FHL2是一种重要的支架蛋白, 本文主要研究FHL2在消化系统恶性肿瘤中的表达. 目前已知FHL2在结直肠癌、胃癌、胰腺癌、胆管癌中高表达, 在肝癌中低表达, 而在食管癌中没有研究. 食管癌发病率高, 研究FHL2在食管癌中的表达有一定的临床意义.

朱翠翠, 康海峰, 仇建伟, 钱俊波, 刘宏斌, 张冬梅. FHL2在消化系统恶性肿瘤中的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(17): 1083-1087

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1083.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1083>

## 0 引言

近年来, 全球恶性肿瘤的总体发病率呈逐年上升趋势, 而我国恶性肿瘤的发病率以年均3%-5%的速度增长, 其中消化系统恶性肿瘤表现尤为明显<sup>[1]</sup>. 食管癌、胃癌、肝癌、结直肠癌这四种消化系统恶性肿瘤占前十位恶性肿瘤死亡总数的40.75%<sup>[2]</sup>. 随着我国内镜、手术、放化疗等治疗手段的不断进步, 消化系统恶性肿瘤患者的预后已得到了很大的改善, 但是整体预后仍不理想, 死亡率仍居高不下, 因此我们有必要来探索消化系统恶性肿瘤的潜在生物标志物和治疗靶点. 恶性肿瘤的发病机制包括原癌基因的激活、抑癌基因的失活、凋亡调控基因与DNA修复基因的异常等. FHL2作为重要的细胞增殖、凋亡、分化调节蛋白, 与恶性肿瘤的关系逐渐受到关注, 其在宫颈癌<sup>[3]</sup>、舌鳞状细胞癌<sup>[4]</sup>、白血病<sup>[5,6]</sup>、胶质母细胞瘤<sup>[7]</sup>等恶性肿瘤中均有相关研究, 本文主要阐述FHL2在消化系统恶性肿瘤中的表达及功能.

## 1 FHL2的生物学特性

**1.1 FHL2的结构** FHL蛋白家族共发现5个成员: FHL1、FHL2、FHL3、FHL4和FHL5, 其中FHL1、FHL2在不同的组织中均有表达, 目前发现FHL1、FHL2、FHL3主要在肌肉中表达, FHL4和FHL5只在睾丸中表达, 其中以FHL2研究最为深入<sup>[8]</sup>. FHL2是FHL蛋白家族的第二个成员, 又称为DRAL或SLIM3, 该蛋白由*fh2*基因编码, 定位于染色体2q12-14的区域, 由7个外显子和6个内含子组成, 其中前3个外显子为非编码序列, 后4个外显子为编码序列, 被翻译成279个氨基酸的蛋白质<sup>[9]</sup>. 该基因有两种启动子, 分别为启动子1a和启动子1b, 启动子1a

调控*fh2*转录变异体4, 启动子1b调控转录变异体1、2、3、5, 其中启动子1b的活性显著高于1a<sup>[10]</sup>. FHL2相对分子量仅有32 kDa, 由四个半富含半胱氨酸的LIM结构域构成(图1), 这种独特的结构可以与50多种不同的蛋白质分子相互作用, 发挥衔接蛋白或支架蛋白的作用, 参与调节信号转导, 细胞存活, 运动与粘附等进程<sup>[11-17]</sup>.

**1.2 FHL2的生物学功能** FHL2作为衔接子或支架蛋白参与调节多个细胞内信号通路和基因转录, 发挥重要的生物学功能. FHL2在体内受许多肿瘤相关因子的调控, 目前已知的有p53、血清反应因子(serum response factors, SRF)、细胞外信号调节激酶2(extracellular regulated protein kinases, ERK2)、周期蛋白D1(cyclin D1)等<sup>[9]</sup>. FHL2蛋白定位于黏着斑、细胞质和细胞核中, *fh2*基因启动子区含有抑癌基因p53作用位点, p53的表达可激活*fh2*基因的转录, 这主要是通过启动子1a来完成的<sup>[9]</sup>. 在恶性肿瘤中, FHL2具有组织依赖或细胞依赖性, 在不同的组织或细胞中所发挥的作用不同, 引起的效应也不同. FHL2这种双重性质的主要原因是FHL2可以作为多种转录因子的转录共激活因子促进雄激素受体、AP-1、CREB、BRCA1和WT-1等的活性, 也可作为多种转录因子的转录共抑制因子抑制ERK2、PLZF、Nur77、E4F1、FOXO1等的活性<sup>[3]</sup>. FHL2蛋白含有磷酸化位点和糖基化位点, 但目前关于FHL2翻译后修饰和突变仍是个谜. 此外, FHL2还可以参与Rho信号途径、Wnt信号途径等.

## 2 FHL2在消化系统肿瘤中的研究现状

**2.1 FHL2与结直肠癌** Wang等<sup>[18]</sup>通过免疫印迹和免疫组织化学检测了15例结直肠癌患者和15例正常患者, 研究发现, 与癌旁组织相比, FHL2在结直肠癌中表达显著增高. Verset等<sup>[19]</sup>通过免疫组织化学检测了296结直肠癌患者, 结果证实了FHL2高表达与结直肠癌手术患者的总体生存率、淋巴转移相关<sup>[20]</sup>. 这是由于FHL2在上皮-间质转化(epithelial to mesenchymal transition, EMT)中发挥了关键作用.

转化生长因子-β(transforming growth factor-β, TGF-β)是一种EMT诱导剂, 可促进FHL2和波形蛋白(vimentin)的表达, 抑制E-钙粘蛋白(E-cadherin)的表达<sup>[17]</sup>. 其中TGF-β1是促进结直肠癌侵袭的信号分子, 诱导EMT的发生<sup>[21]</sup>. 进一步研究发现Krüppel样转录因子8(Krüppel-like factor 8, KLF8)是FHL2的转录因子: TGF-β1可通过刺激转录因子KLF8诱导FHL2的表达, 即FHL2表达受TGF-β1的正向调控, 促进结直肠癌细胞的增殖及EMT, 这可能是结直肠癌侵袭和转移的主要调控机制<sup>[21]</sup>. FHL2 siRNA转染的SW480细胞中显示E-cadherin高表达, 而



图1 FHL2蛋白由四个半LIM结构域构成, 含有279个氨基酸。

Vimentin、MMP-9、twist和Snail为低表达, 但是在DLD1中诱导FHL2的过表达时, 却获得了相反的结果<sup>[17]</sup>。转录因子Snail1是EMT过程中的主要调节因子之一, 可抑制E-cadherin并在几种肿瘤类型中过表达<sup>[22]</sup>。研究发现FHL2与Snail1相互作用, 促进Snail核积聚, 进而调节结直肠癌中E-cadherin的转录表达<sup>[23]</sup>。FHL2也能够与 $\beta$ -连环蛋白相互作用, 在结肠癌细胞中FHL2能够通过阻止其磷酸化介导的降解来诱导 $\beta$ -连环蛋白的核积累<sup>[17]</sup>。

此外, FHL2的高表达对结直肠癌细胞维持其恶性表型是必需的: 抑制Lovo结直肠癌细胞中的FHL2表达可诱导细胞分化, 抑制原癌基因(survivin, cox-2, hTERT, c-jun等)转录, 抑制肿瘤细胞体外增殖活性及体内致癌能力<sup>[18]</sup>。FHL2在结直肠细胞系HT-29中过表达时, 可导致细胞周期的停滞<sup>[21]</sup>。然而, 当在HT29中建立FHL2的过表达时, 发现与对照组相比, 促进E-钙粘蛋白表达, 抑制FHL2表达细胞的增殖<sup>[24]</sup>。因此, FHL2在结直肠癌细胞系中作为诱导细胞分化的癌基因发挥作用<sup>[21]</sup>。

另一方面, FHL2也可通过调节蛋白质复合物的磷酸化状态来抑制膜相关E-钙粘蛋白- $\beta$ -连环蛋白复合物的形成。膜相关的E-钙粘蛋白- $\beta$ -连环蛋白复合物的结构完整性是诱导EMT的重要决定因素, 这就阐明了FHL2在癌症迁移和侵袭中的作用<sup>[21]</sup>。

**2.2 FHL2与胃癌** FHL2在胃癌组织中呈现高表达, 发挥癌基因活性作用。刘霖<sup>[25]</sup>采用了免疫组化染色法检测了41例胃癌患者和36例慢性胃炎患者的胃黏膜组织中的FHL2蛋白的表达情况, 结果显示胃癌组织中FHL2的表达阳性率达到85.4%, 显著高于对照组慢性胃炎组织( $P<0.05$ ), 结果提示FHL2蛋白过表达与胃癌发生发展密切相关。

在胃癌AGS细胞系中, FHL2可以与XIAP相关因子1(X-linked inhibitor of apoptosis protein-associated factor 1, XAF1)相互作用, 其中XAF1被称为肿瘤抑制因子, 位于N末端的锌指簇是唯一的结构域结构。Zhang等<sup>[26]</sup>使用酵母双杂交系统检测发现, 肿瘤抑制因子XAF1和FHL2相互作用, 认为FHL2是XAF1的结合蛋白, 且发现XAF1可通过降低TCF/ $\beta$ -连环蛋白转录复合物启动子的活性

从而降低FHL2的转录活性。

**2.3 FHL2与肝癌** 与结直肠癌相反, FHL2蛋白在肝细胞癌组织及细胞株中均呈现低表达<sup>[27]</sup>。在肝癌细胞Hep3B中, 过表达FHL2可下调cyclin D1、促进p21和p27表达, 导致细胞周期阻滞、细胞运动的降低和细胞凋亡的抑制。此外, 过表达FHL2可通过抑制EMT而减弱细胞迁移、侵袭, 进一步发现FHL2在抑制肝癌细胞增殖的同时也可对抗多柔比星诱导的细胞凋亡<sup>[27]</sup>。Ding等<sup>[28]</sup>在HepG2肝癌细胞中同样证实了FHL2的这种抗增殖的特性, 且发现FHL2通过酪蛋白激酶1/Smad通路促进抑癌基因p21转录、抑制原癌基因c-myc表达, 进而发挥抑癌作用。

FHL2在肝癌细胞中表现出抗增殖的特性, 同时又发挥抗凋亡功能, 这种维持稳态的双向调控作用在FHL2转基因小鼠中得到更为直观的体现。Apo-FHL2小鼠模型显示肝脏中FHL2转录水平较野生型增加11至17倍, 通过诱导肝细胞增殖和凋亡而加速肝细胞转换使得肝脏大小基本正常。Apo-FHL2小鼠肝细胞促增殖基因cyclin D1及促凋亡基因p53同时出现高表达水平, 肝脏部分切除术后再生能力加快。上调FHL2后发现炎症及肝硬化指标均明显增加。虽然Apo-FHL2小鼠没有自发肿瘤, 但在合并其他易感基因累积突变情况下, 致肝癌风险增加<sup>[29]</sup>。

**2.4 FHL2与胰腺癌** FHL2蛋白在胰腺导管腺癌组织中高表达。与癌旁组织相比, 胰腺癌组织内有高水平FHL2 mRNA; 免疫组织化学证实FHL2主要定位于细胞质和细胞核。敲除FHL2可抑制胰腺癌细胞存活、增殖及放射抗性, 促进细胞凋亡。与此同时, FHL2缺失可致细胞内MEK/ERK信号传导增强, 且可强烈诱导cyclin D1, cyclin E, cyclin A和cyclin B1的表达; 联合敲除FHL2和MEK1对于胰腺癌细胞恶性表型的抑制效果好于单独FHL2的缺失, 表明MEK1位于FHL2调控通路的下游<sup>[14]</sup>。KRAS突变常见于胰腺导管腺癌<sup>[30,31]</sup>。然而, 目前尚缺乏FHL2参与KRAS信号传导的相关数据。

**2.5 FHL2与胆管癌** FHL2在胆管癌细胞中高表达。用免疫组织化学方法检测了35例胆管癌组织、10例正常胆管

黏膜组织中的FHL2蛋白的表达, 在胆管癌组织中FHL2蛋白阳性表达率达91.4%, 显著高于胆管正常黏膜组织的10.0%, 且其阳性表达率随胆管癌的淋巴转移和周围组织浸润深度而增加<sup>[32]</sup>. 这就提示FHL2可协同Snail1负性调控钙粘蛋白从而促进肿瘤细胞的生物学行为.

### 3 总结

FHL2是重要的支架蛋白和衔接蛋白, 通过调节信号转导和基因转录参与细胞黏附、侵袭、增殖、凋亡以及分化等生理病理过程. 除了上文我们所提及的, FHL2在宫颈癌、舌鳞状细胞癌、急性白血病、胶质母细胞瘤中均为高表达, 即促进肿瘤细胞的增殖、侵袭、转移. 而在神经母细胞瘤中, FHL2通过抑制Id2促进细胞分化, 发挥抑癌活性的作用. 总之, FHL2在不同肿瘤中的表达水平不同, 发挥着促癌或抑癌活性的作用, FHL2这种双重特性可能与其在不同细胞类型中与不同功能的蛋白相互作用有关.

消化系统肿瘤中FHL2既有促癌作用也有抑癌作用, 迄今为止, 没有相关文献报道过FHL2在食管癌中的表达情况. 全球食管癌的发病率位列全部恶性肿瘤的第六位, 死亡率位居第四位, 而我国食管癌占全球的70%以上<sup>[33]</sup>. 我国食管癌90%以上病理类型是鳞状细胞癌, FHL2在宫颈鳞癌、舌鳞状细胞癌中均为高表达, 所以我们推断FHL2在食管鳞状细胞癌中的表达可能为高表达, 当然这需要相关实验数据来佐证. 此外, 目前也没有相关文献提及与FHL2相关的外周血的检测, 是否可以通过检测FHL2相关的可溶性分子来间接检测FHL2? 比如FHL2可调节ADAM-17质膜定位, 而后者是一个剪切酶, 可以促进IL-6、EGFR等的脱落, 那么我们是否可以通过检测这些分子来判断食管鳞癌患者的预后? 食管鳞癌患者FHL2蛋白的测定是否可以对治疗方案有帮助还需进一步研究. 综上, 进一步深入研究FHL2在食管鳞状细胞癌中的表达及相关信号通路将有助于阐明FHL2在食管鳞状细胞癌中发生发展的分子机制, 并为食管鳞状细胞癌的临床诊疗提供新的理论依据及潜在分子治疗靶点.

### 4 参考文献

- 董颖, 杨文君. 消化道恶性肿瘤流行病学特征与发病现状分析. 医学综述 2014; 20: 429-431 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2014.03.015]
- 陈万青, 张思维, 郑荣寿, 曾红梅, 邹小农, 赵平, 吴良有, 李光琳, 赫捷. 中国2009年恶性肿瘤发病和死亡分析. 中国肿瘤 2013; 22: 2-12
- Jin X, Jiao X, Jiao J, Zhang T, Cui B. Increased expression of FHL2 promotes tumorigenesis in cervical cancer and is correlated with poor prognosis. *Gene* 2018; 669: 99-106 [PMID: 29800735 DOI: 10.1016/j.gene.2018.05.087]
- Wang Q, Wang X, Tian X, Tang R, Xu X. Four and a half LIM domains 2 contributes to the development of human tongue

- squamous cell carcinoma. *J Mol Histol* 2016; 47: 105-116 [PMID: 26759260 DOI: 10.1007/s10735-016-9654-7]
- Lu W, Yu T, Liu S, Li S, Li S, Liu J, Xu Y, Xing H, Tian Z, Tang K, Rao Q, Wang J, Wang M. FHL2 interacts with iASPP and impacts the biological functions of leukemia cells. *Oncotarget* 2017; 8: 40885-40895 [PMID: 28402264 DOI: 10.18632/oncotarget.16617]
- Cheng Z, Dai Y, Pang Y, Jiao Y, Zhao H, Zhang Z, Qin T, Hu N, Zhang Y, Ke X, Chen Y, Wu D, Shi J, Fu L. Enhanced expressions of FHL2 and iASPP predict poor prognosis in acute myeloid leukemia. *Cancer Gene Ther* 2019; 26: 17-25 [PMID: 29910468 DOI: 10.1038/s41417-018-0027-0]
- Sun L, Yu S, Xu H, Zheng Y, Lin J, Wu M, Wang J, Wang A, Lan Q, Furnari F, Cavenee W, Purow B, Li M. FHL2 interacts with EGFR to promote glioblastoma growth. *Oncogene* 2018; 37: 1386-1398 [PMID: 29321665 DOI: 10.1038/s41388-017-0068-0]
- Shi X, Bowlin KM, Garry DJ. Fhl2 interacts with Foxk1 and corepresses Foxo4 activity in myogenic progenitors. *Stem Cells* 2010; 28: 462-469 [PMID: 20013826 DOI: 10.1002/stem.274]
- 卢文婷, 王敏. FHL2基因及其相关疾病的研究进展. 医学综述 2017; 23: 645-649 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-2084.2017.04.005]
- 蔡婷, 何伟春, 骆静, 袁琦, 孟美娟, 杨俊伟. FHL2蛋白在肿瘤中的转录调控及其分子生物学机制. 现代生物医学进展 2016; 16: 1958-1961 [DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2016.10.042]
- Xue YL, Meng XQ, Ma LJ, Yuan Z. Plumbagin exhibits an anti-proliferative effect in human osteosarcoma cells by downregulating FHL2 and interfering with Wnt/ $\beta$ -catenin signalling. *Oncol Lett* 2016; 12: 1095-1100 [PMID: 27446400 DOI: 10.3892/ol.2016.4725]
- Hua G, He C, Lv X, Fan L, Wang C, Remmenga SW, Rodabaugh KJ, Yang L, Lele SM, Yang P, Karpf AR, Davis JS, Wang C. The four and a half LIM domains 2 (FHL2) regulates ovarian granulosa cell tumor progression via controlling AKT1 transcription. *Cell Death Dis* 2016; 7: e2297 [PMID: 27415427 DOI: 10.1038/cddis.2016.207]
- Yan Q, Zhang W, Wu Y, Wu M, Zhang M, Shi X, Zhao J, Nan Q, Chen Y, Wang L, Cheng T, Li J, Bai Y, Liu S, Wang J. KLF8 promotes tumorigenesis, invasion and metastasis of colorectal cancer cells by transcriptional activation of FHL2. *Oncotarget* 2015; 6: 25402-25417 [PMID: 26320172 DOI: 10.18632/oncotarget.4517]
- Zienert E, Eke I, Aust D, Cordes N. LIM-only protein FHL2 critically determines survival and radioresistance of pancreatic cancer cells. *Cancer Lett* 2015; 364: 17-24 [PMID: 25917075 DOI: 10.1016/j.canlet.2015.04.019]
- Ebrahimian T, Arfa O, Simeone S, Lemarié CA, Lehoux S, Wassmann S. Inhibition of four-and-a-half LIM domain protein-2 increases survival, migratory capacity, and paracrine function of human early outgrowth cells through activation of the sphingosine kinase-1 pathway: implications for endothelial regeneration. *Circ Res* 2014; 114: 114-123 [PMID: 24084691 DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.113.301954]
- Boateng LR, Bennin D, De Oliveira S, Huttenlocher A. Mammalian Actin-binding Protein-1/Hip-55 Interacts with FHL2 and Negatively Regulates Cell Invasion. *J Biol Chem* 2016; 291: 13987-13998 [PMID: 27129278 DOI: 10.1074/jbc.M116.725739]
- Zhang W, Jiang B, Guo Z, Sardet C, Zou B, Lam CS, Li J, He M, Lan HY, Pang R, Hung IF, Tan VP, Wang J, Wong BC. Four-and-a-half LIM protein 2 promotes invasive potential and epithelial-mesenchymal transition in colon cancer. *Carcinogenesis* 2010; 31: 1220-1229 [PMID: 20460358 DOI: 10.1093/carcin/bgq094]
- Wang J, Yang Y, Xia HH, Gu Q, Lin MC, Jiang B, Peng Y, Li G, An X, Zhang Y, Zhuang Z, Zhang Z, Kung HF, Wong BC. Suppression of FHL2 expression induces cell differentiation and inhibits gastric and colon carcinogenesis. *Gastroenterology*



- 2007; 132: 1066-1076 [PMID: 17383428 DOI: 10.1053/j.gastro.2006.12.004]
- 19 Verset L, Tommelein J, Moles Lopez X, Decaestecker C, Mareel M, Bracke M, Salmon I, De Wever O, Demetter P. Epithelial expression of FHL2 is negatively associated with metastasis-free and overall survival in colorectal cancer. *Br J Cancer* 2013; 109: 114-120 [PMID: 23756870 DOI: 10.1038/bjc.2013.290]
- 20 Al-Nomani L, Friedrichs J, Schüle R, Büttner R, Friedrichs N. Tumoral expression of nuclear cofactor FHL2 is associated with lymphatic metastasis in sporadic but not in HNPCC-associated colorectal cancer. *Pathol Res Pract* 2015; 211: 171-174 [PMID: 25554651 DOI: 10.1016/j.prp.2014.12.001]
- 21 Cao CY, Mok SW, Cheng VW, Tsui SK. The FHL2 regulation in the transcriptional circuitry of human cancers. *Gene* 2015; 572: 1-7 [PMID: 26211626 DOI: 10.1016/j.gene.2015.07.043]
- 22 De Craene B, Berx G. Regulatory networks defining EMT during cancer initiation and progression. *Nat Rev Cancer* 2013; 13: 97-110 [PMID: 23344542 DOI: 10.1038/nrc3447]
- 23 Zhang W, Wang J, Zou B, Sardet C, Li J, Lam CS, Ng L, Pang R, Hung IF, Tan VP, Jiang B, Wong BC. Four and a half LIM protein 2 (FHL2) negatively regulates the transcription of E-cadherin through interaction with Snail1. *Eur J Cancer* 2011; 47: 121-130 [PMID: 20801642 DOI: 10.1016/j.ejca.2010.07.045]
- 24 Amann T, Egle Y, Bosserhoff AK, Hellerbrand C. FHL2 suppresses growth and differentiation of the colon cancer cell line HT-29. *Oncol Rep* 2010; 23: 1669-1674 [PMID: 20428824 DOI: 10.3892/or\_00000810]
- 25 刘霖. FHL-2和COX-2在胃癌组织中表达及相关性分析. *现代肿瘤医学* 2011; 19: 733-735
- 26 Zhang W, Yang Y, Jiang B, Peng J, Tu S, Sardet C, Zhang Y, Pang R, Hung IF, Tan VP, Lam CS, Wang J, Wong BC. XIAP-associated factor 1 interacts with and attenuates the trans-activity of four and a half LIM protein 2. *Mol Carcinog* 2011; 50: 199-207 [PMID: 21104993 DOI: 10.1002/mc.20705]
- 27 Ng CF, Ng PK, Lui VW, Li J, Chan JY, Fung KP, Ng YK, Lai PB, Tsui SK. FHL2 exhibits anti-proliferative and anti-apoptotic activities in liver cancer cells. *Cancer Lett* 2011; 304: 97-106 [PMID: 21377781 DOI: 10.1016/j.canlet.2011.02.001]
- 28 Ding L, Wang Z, Yan J, Yang X, Liu A, Qiu W, Zhu J, Han J, Zhang H, Lin J, Cheng L, Qin X, Niu C, Yuan B, Wang X, Zhu C, Zhou Y, Li J, Song H, Huang C, Ye Q. Human four-and-a-half LIM family members suppress tumor cell growth through a TGF-beta-like signaling pathway. *J Clin Invest* 2009; 119: 349-361 [PMID: 19139564 DOI: 10.1172/JCI35930]
- 29 Nouët Y, Dahan J, Labalette C, Levillayer F, Julien B, Jouvion G, Cairo S, Vives FL, Ribeiro A, Huerre M, Colnot S, Perret C, Nhieu JT, Tordjmann T, Buendia MA, Wei Y. The four and a half LIM-only protein 2 regulates liver homeostasis and contributes to carcinogenesis. *J Hepatol* 2012; 57: 1029-1036 [PMID: 22796152 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.06.035]
- 30 Reid MD, Saka B, Balci S, Goldblum AS, Adsay NV. Molecular genetics of pancreatic neoplasms and their morphologic correlates: an update on recent advances and potential diagnostic applications. *Am J Clin Pathol* 2014; 141: 168-180 [PMID: 24436263 DOI: 10.1309/AJCP0FKDP7ENVKEV]
- 31 Heestand GM, Kurzrock R. Molecular landscape of pancreatic cancer: implications for current clinical trials. *Oncotarget* 2015; 6: 4553-4561 [PMID: 25714017 DOI: 10.18632/oncotarget.2972]
- 32 田舍, 张弛, 孙跃明. FHL2在人胆管癌组织中的表达及其临床意义. *江苏医药* 2012; 38: 1413-1414
- 33 Li F, Zhu D, Yang Y, Wu K, Zhao S. Overexpression of calcyphosine is associated with poor prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncol Lett* 2017; 14: 6231-6237 [PMID: 29113272 DOI: 10.3892/ol.2017.6973]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

## 失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复研究进展

李彬彬, 陈正阳, 郭松, 孙宏伟, 崔彦

李彬彬, 安徽医科大学解放军306临床学院普通外科 北京市 100101

陈正阳, 郭松, 北京大学解放军306医院教学医院普通外科 北京市 100101

孙宏伟, 崔彦, 解放军第306医院普通外科 北京市 100101

李彬彬, 主治医师, 主要从事消化外科的临床和基础研究.

基金项目: 全军试验技术研究计划重点项目, No. SYFD1500128.

作者贡献分布: 本课题由崔彦设计; 由李彬彬、陈正阳、郭松及孙宏伟共同收集资料和分析; 论文撰写由李彬彬完成; 崔彦指导论文写作.

通讯作者: 崔彦, 主任医师, 教授, 100101, 北京市朝阳区安翔北里9号, 解放军第306医院普通外科. dryancui@aliyun.com  
电话: 010-66356138

收稿日期: 2019-06-15

修回日期: 2019-08-12

接受日期: 2019-08-26

在线出版日期: 2019-09-08

### Progress in research of digestive system trauma and stress injury under microgravity environment

Bin-Bin Li, Zheng-Yang Chen, Song Guo, Hong-Wei Sun, Yan Cui

Bin-Bin Li, Department of General Surgery, The PLA 306 Teaching Hospital of Anhui Medical University, Chaoyang District, Beijing 100101, China

Zheng-Yang Chen, Song Guo, Department of General Surgery, The 306 Hospital of PLA-Peking University Teaching Hospital, Chaoyang District, Beijing 100101, China

Hong-Wei Sun, Yan Cui, Department of General Surgery, The 306 Hospital of PLA, Chaoyang District, Beijing 100101, China

Supported by: The Key Program of PLA Technology Research Plan, No. SYFD1500128.

Corresponding author: Yan Cui, chief Physician, Professor, Department of General Surgery, The 306 Hospital of PLA, Chaoyang District, Beijing 100101, China. dryancui@aliyun.com

Received: 2019-06-15

Revised: 2019-08-12

Accepted: 2019-08-26

Published online: 2019-09-08

### Abstract

The last two decades have witnessed the rapid development of China's manned spaceflight industry. Studies have showed that the weightlessness environment has a series of adverse effects on the human body. Due to the complexity of the structure and function of the digestive system, the impact of weightlessness on the digestive system has certain particularity. How to ensure the steady state of the digestive system during astronaut's space mission and in the training under simulated weightlessness needs to be studied urgently. This review focuses on the progress in the research of digestive system trauma, stress injury, and repair under microgravity environment.

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

Key Words: Microgravity; Digestive system; Trauma; Stress injury

Li BB, Chen ZY, Guo S, Sun HW, Cui Y. Progress in research of digestive system trauma and stress injury under microgravity environment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1088-1094  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1088.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1088>

### 摘要

20世纪90年代以来, 中国载人航天事业发展迅猛, 航天医学研究亦取得长足进步. 研究证实, 失重环境对机体产生了一系列不良影响. 由于消化系统结构和功能的复杂性, 失重对消化系统的影响具有一定特殊性. 如何保障航天员在执行航天任务及参加模拟

失重训练过程中消化系统的稳定状态, 亟待深入研究. 本文围绕失重环境对消化系统创伤和应激损伤与修复的研究新进展作一论述.

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

关键词: 失重; 消化系统; 创伤; 应激损伤; 修复

**核心提要:** 本文复习相关文献, 综述了近年来微重力和消化系统关联性研究进展, 就失重环境对消化系统创伤和应激损伤与修复等方面的研究进展作一综述, 为进一步相关研究提供依据和思路.

李彬彬, 陈正阳, 郭松, 孙宏伟, 崔彦. 失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复研究进展. 世界华人消化杂志. 2019; 27(17): 1088-1094  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1088.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1088>

## 0 引言

自上世纪90年代以来, 中国载人航天事业发展迅猛, 航天医学研究亦取得长足进步. 研究证实, 失重环境对机体各系统器官产生了一系列不良影响. 由于消化系统结构和功能的复杂性, 失重对消化系统的影响具有一定特殊性<sup>[1-3]</sup>. 保障航天员在执行航天任务及参加模拟失重训练过程中消化系统的稳定状态, 明确微重力环境对消化系统创伤与应激损伤及修复的特点和机理及应对措施, 亟待深入研究<sup>[4]</sup>. 本文围绕失重环境对消化系统创伤和应激损伤及修复的研究新进展作一论述.

## 1 失重环境对口腔的影响

口腔是消化系统的起始部位, 口腔健康对于航天员来说至关重要. 怀旭等<sup>[5]</sup>研究地面模拟失重状态对唾液分泌型免疫球蛋白A(salivary secretory immunoglobulin A, SIgA)分泌的影响, 14名男性志愿者头低位-6°模拟失重30 d, 分别在实验前3天、第3天、15天、30天及实验后恢复第3天对受试者采集10 min唾液, 测定SIgA含量并计算SIgA分泌率, 发现受试者唾液流量表现出先下降再恢复的特点, 唾液SIgA浓度和分泌率明显增加, 受试结束后各指标恢复到受试前水平, 研究结果提示受试者对失重环境产生免疫应激和适应性反应. Mednieks等<sup>[6]</sup>研究微重力对唾液腺分泌蛋白的影响, 对搭乘美国空间飞行器小鼠的唾液蛋白组成成分变化进行分析, 发现实验小鼠腺泡细胞分泌的淀粉酶和脯氨酸富集蛋白的含量较对照组明显降低, 分析可能与模拟失重环境对cAMP信号调节通路有关, 并认为特殊唾液蛋白的生化检测可作为空间飞行及地面事件应激的潜在生物学指标. 李彦等<sup>[7]</sup>

研究微重力环境下Smads信号通路对人牙周膜干细胞成骨向分化的影响, 发现实验组Smads 2、3、4 mRNA的表达量与对照组相比明显增加, 在2 h达到峰值, 随后呈下降趋势; p-Smads(磷酸化Smads)表达量呈上升趋势, 2 h达峰值; 加入Smads抑制剂后p-Smads表达下降, 同时成骨标志物胶原蛋白1(collagen1, COL1)、碱性磷酸酶(alkaline phosphatase, ALP)、骨钙素(osteocalcin, OCN)表达量明显降低, 研究结果表明, 在模拟微重力环境下, Smads信号通路参与并促进人牙周膜干细胞成骨向分化, 这与Li等<sup>[8]</sup>研究的结果基本一致. 研究还发现, 模拟微重力环境下人类牙髓干细胞的增殖和粘附能力增强, 而细胞的迁移能力降低, 同时, 整合素 $\alpha$ 6、整合素 $\alpha$ 5、整合素 $\beta$ 1、层粘连蛋白 $\beta$ 1、细胞粘素C等表达明显升高<sup>[9]</sup>. 另外, 袁林天等<sup>[10]</sup>研究模拟失重条件下钙、磷代谢变化及转化生长因子 $\beta$ 1(transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ 1)、c-fos及I和IV型胶原蛋白在牙髓、牙周组织中的功能效应, 发现失重引起牙本质矿化不良, 1.5 G对抗措施能改善其对牙体组织矿物质代谢带来的不利影响, 并认为TGF- $\beta$ 1、c-fos和胶原I分泌减少是导致矿化不良的重要原因. Rai等<sup>[11]</sup>通过男女各10名志愿者-6°头低位卧床30 d试验研究发现, 无论男性或女性下颌骨和牙槽骨的骨密度、骨矿物质含量均较正常对照组显著降低, 而龈沟液中组织蛋白、骨钙蛋白、基质金属蛋白酶-8(matrix metalloproteinase-8, MMP-8)和基质金属蛋白酶-9(matrix metalloproteinase-9, MMP-9)含量较对照组显著增高, 结论认为组织蛋白、骨钙蛋白可能与微重力环境导致骨丢失有关; 而基质金属蛋白酶MMP-8和MMP-9是机体的防御蛋白, 其含量增高可能与微重力环境导致细菌的毒力增加有关. 汤楚华等<sup>[12]</sup>研究模拟失重后再超重对猴牙龈组织的影响, 发现模拟失重30 d后再超重环境中猴牙龈组织结构未见明显改变, 但牙龈组织趋化因子CCL20(chemokine ligand 20, CCL20)及趋化因子受体6(chemokine receptor 6, CCR6)表达明显增强. 师天鹏等<sup>[13]</sup>研究30 d头低位卧床对男性牙龈色彩的影响, 分别在实验前3 d、实验第20天、第30天及实验后第3天检测游离龈和附着龈的色彩, 发现与实验前相比, 在实验的第20天和第30天游离龈和附着龈发生明显的炎症反应, 这说明微重力可引发或加重口腔炎症. 张凯等<sup>[14]</sup>研究模拟失重大鼠咬肌超微结构的影响, 发现实验组大鼠咬肌的肌纤维在1 wk时出现了部分溶解现象, 而咬肌溶解情况在第2周得到减轻, 于第4周基本缓解, 认为模拟失重环境对大鼠咬肌造成的损伤随时间延长可发生逆转. 一系列研究表明, 失重对口腔微生态、唾液成分、牙龈组织、咀嚼肌等确有重要影响, 但具体机制有待于进一步的研究.



## 2 失重环境对胃肠道损伤和修复的影响

**2.1 失重环境对胃肠的影响** 胃肠道黏膜在各种应激反应过程中容易产生大量氧自由基, 进而导致胃肠黏膜细胞损伤并引发溃疡形成<sup>[15]</sup>. 失重环境对于机体来说是一种特殊的应激源. 李成林等<sup>[16]</sup>进行尾大鼠悬吊法模拟失重实验, 探讨模拟失重条件下健康大鼠肠道黏膜组织中核因子- $\kappa$ B(nuclear factor -  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)的表达变化及其意义, 结果发现0.5 d、1 d、2 d、7 d和21 d模拟失重大鼠肠道组织NF- $\kappa$ B表达水平均显著升高, 模拟失重0.5 d组肠道组织NF- $\kappa$ B表达开始升高, 2 d组达高峰, 随模拟失重时间的延长, NF- $\kappa$ B表达水平依次下降, 21 d组仍然高于相应对照组. 结论认为, 尾悬吊模拟失重大鼠肠道组织NF- $\kappa$ B表达水平明显上调, 提示肠道组织NF- $\kappa$ B表达变化与失重应激反应和失重耐受有密切关系. 郭彪等<sup>[17]</sup>研究尾悬吊模拟失重环境中大鼠血清胃泌素含量波动和胃黏膜腺区热休克蛋白70(heat shock protein70, Hsp70)表达变化, 发现尾悬吊早期大鼠胃黏膜屏障会受到源自局部和全身性的应激损伤, 而在失重暴露急性期之后机体则可通过多种机制对失重得以适应. 进一步研究发现, 尾悬吊模拟失重大鼠胃黏膜组织超微结构和氧化应激状态亦产生重要影响, 透射电镜下可见尾悬吊模拟失重大鼠胃黏膜部分腺细胞核皱缩畸形, 染色质浓缩边聚、线粒体肿胀、嵴断裂、溶解、空泡变性和粗面内质网扩张; 其次, 实验组大鼠胃黏膜组织中NOS2和COX2表达呈现出一定规律的波动, 并与NO含量变化趋势具有一致性, 这可能与胃黏膜组织中存在急相失重应激反应向慢相失重应激反应的过渡, 在应激消耗与提升应激耐力之间、应激损伤与应激复原之间存在交织和综合效应关系. 结论认为, 持续尾悬吊可造成细胞膜脂质过氧化物堆积, 胃黏膜细胞超微结构出现应激损伤改变, 胃黏膜层变薄, 分泌及屏障等功能受损, 进而有可能形成不可逆的不良后果<sup>[18]</sup>. 王利芳等<sup>[19]</sup>通过大鼠实验研究失重对消化系统功能的影响, 观察模拟失重条件下大鼠胃黏膜瘦素及瘦素受体表达的变化, 发现瘦素及其受体免疫反应阳性细胞均分布于胃底腺的中下部区域, 阳性物质主要定位于主细胞和壁细胞, 并且模拟失重大鼠胃黏膜瘦素免疫反应阳性细胞密度显著增加, 因此认为28 d尾悬吊模拟失重可致大鼠胃黏膜瘦素及其受体表达增加, 提示瘦素可能参与失重过程中消化道功能紊乱的调节.

胃肠道不仅消化和吸收营养物质, 而且还具有高效的屏障功能. 研究证实, 失重对胃肠黏膜结构、屏障功能、通透性、微生态等均造成一定影响. Rivera等<sup>[20]</sup>进行地面模拟失重动物实验研究, 发现微重力环境下胃肠道蠕动紊乱和菌群移位, 肠黏膜屏障受到损害, 导致

内毒素成分进入门静脉而对肝脏造成损伤. 周金莲等<sup>[21]</sup>研究进一步证实, 尾悬吊模拟失重可导致大鼠门静脉内毒素血症. 内毒素是存在于革兰氏阴性杆菌菌体细胞壁内的脂多糖, 其在细菌死亡、细胞壁崩解时释出. 消化道革兰氏阴性菌主要寄生在回肠和结肠. 分析认为, 在失重不良刺激作用下, 胃肠道应激反应、蠕动紊乱、血管床瘀血和微生态失调等一系列因素造成肠黏膜屏障受损, 使得细菌和细菌产物更容易进入门静脉. Ying等<sup>[22]</sup>的研究表明, 尾悬吊模拟失重14 d和21 d小鼠的小肠黏膜紧密连接蛋白表达显著下降, 导致小肠黏膜通透性增加, 影响肠道微环境稳定, 损害肠黏膜屏障, 导致毒素或微生物及代谢物移位, 引发局部及全身反应, 导致不良后果. Smith等<sup>[23]</sup>报道, 在美国宇航局的极限环境任务V中, 通过对4男2女14 d空气饱和潜水研究表明, 航天飞行与潜水任务均使乘员能量摄入减少并导致体重下降, 认为该地基模拟环境可作为评估机体生理效应和营养状态及研究针对性措施的有效模型. Shi等<sup>[24]</sup>进行后肢悬吊小鼠模拟微重力实验, 研究发现微重力条件导致小鼠肠道微生态失调, 厚壁菌增多, 拟杆菌减少, 结肠上皮细胞内稳态发生变化, 上皮细胞复制率降低, 杯状细胞数量减少, 防御和炎症反应相关基因表达减少, 右旋糖酐硫酸钠的肠上皮损伤敏感性增加, 胃肠动力受影响, 屏障功能受损, 结肠炎易感性增加, 因此强调长期空间飞行过程中评估航天员肠道微生态稳定的必要性. 鲍时明等<sup>[25]</sup>研究模拟失重环境对腹腔感染大鼠肠黏膜屏障的损害作用及抗感染治疗效果, 发现模拟失重大鼠回肠黏膜和黏膜下层出现明显的间质水肿和血管充血, 黏膜层炎性细胞浸润, 肠绒毛排列紊乱, 黏膜上皮脱落, 部分黏膜固有层腺体局灶性坏死; 模拟失重大鼠回肠黏膜Occludin和ZO-1蛋白表达稀少, Occludin和ZO-1蛋白表达量处于低谷水平; Fas、FasL和Bax mRNA表达增强, 经尾静脉注射盐酸莫西沙星氯化钠注射液治疗组大鼠回肠黏膜病变较轻及相应指标明显缓解, 故认为模拟失重环境导致盲肠结扎穿孔术所致腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害进一步加剧, 静脉用盐酸莫西沙星对其有确定治疗效果.

**2.2 失重环境对肠道微生物的影响** 人体肠道内寄生有大量的微生物, 肠道菌群的稳态性对机体营养、代谢、免疫等至关重要. 在肠道微环境中, 微生物菌群可以直接或间接影响机体的生物化学、生理和免疫途径, 具有调节肠道屏障功能的重要作用<sup>[26,27]</sup>. 有关空间环境及模拟微重力环境对微生物生物学性状的影响、应用及其分子遗传机制等一直是该领域研究的热点问题. 有关失重导致肠道微生态失调的国内外早期研究, 笔者先作过综述<sup>[3]</sup>. Ritchie等<sup>[28]</sup>进行微重力、饮食铁以及放射线

等影响结肠菌群和结肠功能的动物实验, 发现空间飞行和地面模拟微重力均引起梭状菌增加, 乳杆菌减少, 提示重力对结肠菌群产生重要影响. Li等<sup>[29]</sup>研究报道, 模拟微重力环境影响小鼠小肠菌群及免疫系统, 造成肠道微生态紊乱, 并强调应对长期空间飞行过程中炎症肠病进行研究评估. Yang等<sup>[30]</sup>研究发现, 模拟微重力环境中小鼠肠道菌群移位, 脆弱拟杆菌、大肠杆菌、巨核梭杆菌数量增加, 双歧杆菌数量减少, 而肌肉注射雌激素具有抑制大肠杆菌和降低脂多糖血浆浓度的作用. Jiang等<sup>[31]</sup>研究发现21 d回转器模拟微重力可加速白色假丝酵母菌SC5314的生长速度, 促进菌丝生长, 同时能增加菌株对氟康唑的敏感性.

大肠埃希菌是最常见的条件致病菌. Li等<sup>[32]</sup>研究搭载飞船17 d的大肠埃希菌株LCT-EC52和LCT-EC59, 发现空间环境中菌株在代谢、转录和蛋白组水平发生广泛而显著的变化, 这对认识大肠杆菌的空间适应变异及危害有重要意义. 刘蓉等<sup>[33]</sup>采用二代测序技术研究模拟失重下空间诱变大肠杆菌(T1-13)感染巨噬细胞RAW264.7后差异表达的miRNAs及其意义, 发现模拟失重下空间诱变大肠杆菌感染巨噬细胞后miRNAs表达出现显著差异, 这些miRNAs可能通过调控丝裂原活化蛋白激酶、WNT以及TGF- $\beta$ 等通路参与失重条件下炎症反应的发生. 姚静等<sup>[34]</sup>观察空间诱变大肠杆菌感染尾吊模拟失重小鼠后炎症反应变化, 发现空间诱变大肠杆菌感染尾吊小鼠后可显著升高血浆及肠道组织中炎症因子表达, 导致更严重的肠道黏膜屏障受损, 这提示尾悬吊模拟失重动物感染诱变大肠杆菌可加重机体的炎症反应.

嗜酸乳酸杆菌作为一种人类典型的益生菌, 在微重力环境下亦发生重要变化. Shao等<sup>[35]</sup>研究表明, 在模拟微重力条件下尽管其形态未发生重要变化, 但生长周期加速, 耐酸能力加强, 对头孢阿列辛、硫酸庆大霉素、青霉素钠盐等的敏感度下降, 并通过调节肝HepG2细胞中胆固醇代谢基因CYP7A1、ABCB11、LDLR和HMGCR的表达而提高嗜酸乳酸杆菌体外降胆固醇的能力.

一系列研究表明, 在空间飞船特殊环境中, 局限性的生活方式、极端的环境应激等众多因素会打破机体与微生物之间的平衡, 微生物群发生变化及变异, 部分微生物的毒力增强, 机体免疫系统失调, 众多因素导致航天员面对微生物感染的风险增加. 微重力对肠道微生物的影响列表见表1. 显然, 通过饮食和益生菌疗法维护航天员肠道微生态非常重要<sup>[36,37]</sup>.

### 3 失重环境对肝脏损伤和修复的影响

肝脏的功能极其复杂, 研究失重对肝脏造成的损伤及机

制相对较为困难. 在失重环境中, 肝脏受到瀑布式的直接和间接的应激作用, 正常生理机能受到影响. 国内外学者早在失重影响肝功能方面进行过一系列实验研究<sup>[3]</sup>. 后续有学者进行尾悬吊同时进行对抗训练2 mo的模拟失重动物实验, 进一步证实, 长时间失重对肝脏造成明显损伤, 触发肝细胞凋亡, 而对抗训练在一定程度上具有改善肝脏损害的作用<sup>[38]</sup>.

微重力环境还可以对肝脏代谢造成一定的影响. Anselm等<sup>[39]</sup>研究搭载飞船“Bion-M 1”30 d飞行小鼠的肝脏代谢特点, 蛋白组学分析结果显示218种蛋白上调, 224种蛋白下调, 7 d地面适应后氨基酸代谢相关蛋白水平呈现高表达, 过氧化物酶增殖激活受体通路恢复正常, 前者提示糖异生过程加速, 后者提示肝脏的脂质过氧化应激反应减轻, 而且, 在跨膜蛋白和CYP超家族蛋白恢复的基础上, 胆汁酸分泌趋于正常, 研究结果提示, 30 d飞行小鼠返回地面后一周内肝脏的药理反应复原, 肝脏脂质氧化毒性下降, 糖异生波动, 葡萄糖摄取应予监测. Jonscher等<sup>[40]</sup>应用代谢组学和转录组学技术以及拉曼显微镜, 研究搭载Space Transportation System -135太空飞行13 d小鼠的肝脏脂代谢特点, 发现失重小鼠体重减轻, 脂类重新分布, 肝细胞内视黄醇生成和储存缺乏, 后者与过氧化物酶体增殖物激活受体- $\alpha$ 介导通路和肝星状细胞激活有关, 伴有胆汁酸分泌增加及肝损害早期特征, 分析认为, 虽然13 d短期太空飞行不足以形成肝组织纤维化, 但视黄醇生成和储存缺乏, 加之细胞外基质重构标记物的变化, 提示长期太空环境暴露下肝脏有可能发生进行性损害, 增加罹患非酒精性脂肪肝的风险.

失重不仅影响肝细胞代谢, 同时也可以改变肝细胞的增殖能力. Chen等<sup>[41]</sup>研究发现, 悬尾模拟微重力14、28和42 d动物的肝细胞增殖因子Ki67、PCNA和PH3等表达显著下降, 细胞周期调节因子Ccn2、Ccn1、Cdk1、Cdk2和cyclin D3等亦显著下调, 进一步研究发现, 失重环境下肝细胞增殖受到抑制与miR-223表达上调有密切关系, 而miR-223抑制肝细胞增殖的直接靶点为细胞周期蛋白依赖激酶2(cyclin-dependent kinase 2, CDK2)和促血管增生卡林蛋白1, 后者与阻滞肝细胞增殖的p27呈负相关. 亦有学者研究CL-1肝细胞跟人肝星形细胞(hepatic stellate cells, HSC)进行微载体微重力共培养来提高CL-1肝细胞的活力与功能的可行性, 结论认为, 人肝细胞、HSC微载体微重力共培养研究有利于维持及增强旋转生物反应器的肝细胞活力及功能, 对人工肝的培养模式发展具有重要意义<sup>[42]</sup>. 田西朋等<sup>[43]</sup>探讨细胞回旋培养系统模拟微重力对小鼠肝kupffer细胞增殖及相关基因表达的影响, 结果显示小鼠肝kupffer细胞在失重应激损伤期, 其增殖功能受到抑制, 一定时相后



表 1 微重力对肠道微生物的影响

细菌	培养条件	细菌对微重力的反应	参考文献
长双歧杆菌	模拟失重(尾悬吊)	细胞数量显著减少	[30]
乳杆菌	太空飞行(Space flight)	失重能够减少的乳杆菌在肠道中的比例	[28]
巨核梭杆菌	模拟失重(尾悬吊)	细胞增值周期缩短, 细胞数量增加	[30]
	模拟失重(尾悬吊)	基因表达增加细胞增值周期缩短和细胞数量增加	[30]
大肠杆菌	太空飞行(Space flight)	短期太空飞行对大肠杆菌表型、基因组、转录组和蛋白质组产生显著的影响	[32]
	太空飞行(Space flight)	模拟失重下空间诱变大肠杆菌感染巨噬细胞后miRNAs表达出现显著差异	[33]
	模拟失重(尾悬吊)	模拟失重可导致细菌的致病能力增强, 炎症因子表达增强	[34]
白色假丝酵母菌SC5314	模拟失重(RCCS)	模拟微重力增加细胞的生长速度和菌丝的形成并对氟康唑的敏感性增强	[31]
嗜酸乳酸杆菌	模拟失重(RCCS)	细胞的生长周期加速, 耐酸能力加强对部分抗生素敏感性降低	[35]

RCCS: 旋转细胞培养系统。

其增殖能力伴随相关基因变化得以恢复并被激活强化, 提示肝脏kupffer细胞可能在分子基因水平通过调整吞噬和分泌机制, 在刺激应答、调节炎症反应介质、维护细胞功能、防御级联损伤等环节中发挥作用, 这对失重乃至机体内外各种不良环境和应激情况下肝脏kupffer细胞发挥免疫调节、抵御感染及损伤修复等方面具有重要意义。

对失重环境影响肝脏的情况采取针对性措施, 亦是学术界探讨的重要问题之一。宋艳等<sup>[44]</sup>观察预针刺和针刺治疗对模拟失重大鼠肝脏超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-PX)活力、丙二醛(malondialdehyde, MDA)含量及Hsp70表达的影响, 大鼠尾部悬吊4 wk复制模拟失重模型, 预针刺组在尾部悬吊前1 wk, 电针刺激双侧“肾俞”、“脾俞”和“三阴交”穴, 30 min/次, 每日1次, 发现预针刺可以明显抑制大鼠尾部悬吊引起的肝HSP 70表达的上调, 其他指标亦有不同程度的改善, 提示预针刺可能有利于提高肝脏的抗氧化能力。邓忠伟等<sup>[45]</sup>采用尾悬吊法建立模拟失重Wistar大鼠模型, 盲肠结扎穿孔术(cecal ligation and puncture, CLP)建立腹腔感染模型, 研究模拟失重环境下腹腔感染大鼠肝脏微循环变化及经尾静脉注射盐酸莫西沙星抗感染治疗效果, 研究结果提示模拟失重环境下CLP所致腹腔感染可造成肝脏微循环障碍, 静脉用盐酸莫西沙星对改善肝脏微循环障碍及损伤有确定效果。

肝脏作为人体最重要的生化代谢和免疫调节以及解毒器官, 在机体应对特殊环境及生理病理演变过程中起着至关重要的作用<sup>[46]</sup>。一系列研究表明, 长期太空飞行对机体多系统器官造成一定影响, 肝脏是最容易累及的器官之一。相关机理研究及针对性措施方面, 尚待深入研究。

#### 4 失重环境下对胰腺损伤和修复的影响

胰腺为人体主要的分泌性腺体, 主要包括外分泌和内分泌两大功能<sup>[47]</sup>。尽管失重对胰腺影响的研究报道不多, 但前期研究表明失重对胰腺体积和重量、血清淀粉酶和脂肪酶、胰岛素和胰高血糖素及生长抑素分泌、血糖代谢以及胰腺组织应激反应等造成明确影响<sup>[3]</sup>。进一步研究表明, 失重对胰腺确有重要影响。Proshchina等<sup>[48]</sup>观察搭载飞船Bion-M1 Space Mission的小鼠, 研究长时间空间飞行对胰腺的影响, 通过形态计量及统计学分析, 发现小鼠的胰岛体积与体重密切相关, 无论作为搭载空间飞行动物还是地面对照动物, 运动机能减退及强化营养对此起重要作用。借助微重力三维培养技术亦可观察细胞与细胞以及细胞与环境之间的交互关系。Samuelson等<sup>[49]</sup>研究发现, 相比二维培养, 在微重力三维培养环境中, 胰腺前体细胞的生长和功能得到改善, 细胞增殖加速, 转录信号强化, 基因转译改善, 细胞对葡萄糖刺激发生反应, 研究结果提示微重力三维培养器堪比具有糖尿病治疗潜在价值的胰腺细胞壁龛。上述研究结果表明, 失重对胰腺组织结构和功能均可造成一定的影响, 但具体机制有待进一步探讨。

#### 5 展望

随着我国载人航天事业的迅猛发展, 航天医学研究和保障面临重大的机遇与挑战。失重作为一种极为特殊的环境因素, 可造成消化系统一系列生理性和/或病理性改变, 包括对消化液和消化道激素分泌、胃肠黏膜屏障、口腔和肠道微生态、胃肠道血液及淋巴循环、药物药动学和药效学以及肝脏和胰腺等的影响。如何保障航天员在执行航天任务及参加模拟失重训练过程中消化系统的稳态平衡, 意义重大。由于消化系统结构和功能十分复杂, 国内外在这方面的研究相对滞后。失重环境对



消化系统创伤和应激损伤及修复的特点和机理以及应对措施, 将是下一步研究的重点。

## 6 参考文献

- Wang L, Li Z, Tan C, Liu S, Zhang J, He S, Zou P, Liu W, Li Y. Physiological effects of weightlessness: countermeasure system development for a long-term Chinese manned spaceflight. *Front Med* 2019; 13: 202-212 [PMID: 29693211 DOI: 10.1007/s11684-017-0587-7]
- Hodkinson PD, Anderton RA, Posselt BN, Fong KJ. An overview of space medicine. *Br J Anaesth* 2017; 119: i143-i153 [PMID: 29161391 DOI: 10.1093/bja/aez336]
- 郭彪, 李成林, 崔彦. 失重对消化系统影响的研究进展. *胃肠病学和肝病杂志* 2013; 22: 482-487
- 李雨霏, 孙宏伟, 崔彦. 失重环境中创伤和应激损伤与修复的研究进展. *解放军医药杂志* 2015; 27: 19-22 [DOI: 10.3969/j.issn.2095-140X.2015.06.005]
- 怀旭, 沈嵩, 石宁, 刘国印, 顿桓桓, 许欣. 地面模拟失重状态对唾液分泌型免疫球蛋白A分泌率的影响. *中国医药* 2012; 7: 887-890 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-4777.2012.07.042]
- Mednieks M, Khatri A, Rubenstein R, Burleson JA, Hand AR. Microgravity alters the expression of salivary proteins. *Oral Health Dent Manag* 2014; 13: 211-216 [PMID: 24984624]
- 李彦, 李石, 牛忠英, 包博, 石馨. 微重力环境下Smads信号通路对人牙周膜干细胞成骨向分化的影响. *上海口腔医学* 2012; 21: 246-250
- Li S, Ma Z, Niu Z, Qian H, Xuan D, Hou R, Ni L. NASA-approved rotary bioreactor enhances proliferation and osteogenesis of human periodontal ligament stem cells. *Stem Cells Dev* 2009; 18: 1273-1282 [PMID: 19327006 DOI: 10.1089/scd.2008.0371]
- Li Y, He L, Pan S, Zhang L, Zhang W, Yi H, Niu Y. Three-dimensional simulated microgravity culture improves the proliferation and odontogenic differentiation of dental pulp stem cell in PLGA scaffolds implanted in mice. *Mol Med Rep* 2017; 15: 873-878 [PMID: 28000851 DOI: 10.3892/mmr.2016.6042]
- 袁林天, 文玲英, 罗亚宁, 胡沛臻, 蒋维中, 吴兴裕. 尾悬吊大鼠牙体、牙髓、牙周组织的变化. *航天医学与医学工程* 2003; 16: 248-252 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-0837.2003.04.004]
- Rai B, Kaur J, Catalina M. Bone mineral density, bone mineral content, gingival crevicular fluid (matrix metalloproteinases, cathepsin K, osteocalcin), and salivary and serum osteocalcin levels in human mandible and alveolar bone under conditions of simulated microgravity. *J Oral Sci* 2010; 52: 385-390 [PMID: 20881330 DOI: 10.2334/josnusd.52.385]
- 汤楚华, 牛忠英, 郑燕华, 包博, 洪彪, 陈宇晖. 模拟失重30 d后再超重对猴牙龈组织趋化因子CCL20及其受体CCR6表达的影响. *上海口腔医学* 2014; 23: 273-279
- 师天鹏, 牛忠英, 施生根, 包博, 汤楚华, 陈宇晖. 30d头低位卧床对男性牙龈色彩的影响. *航天医学与医学工程* 2012; 25: 135-137
- 张凯, 牛忠英, 王睿, 张建中, 司少艳. 模拟失重大鼠咬肌超微结构的影响. *口腔颌面修复学杂志* 2013; 14: 74-77 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3761.2013.02.003]
- 蔡小玲, 白燕青, 徐倩. 黄芪防治应激性溃疡的研究现状及理论探讨. *中国现代医药杂志* 2017; 19: 106-108 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-9463.2017.11.035]
- 李成林, 张铭, 周金莲, 崔彦, 余佩武. 模拟失重大鼠肠黏膜NF- $\kappa$ B表达的影响. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 3328-3331 [DOI: 10.3969/j.issn.1009-3079.2008.29.016]
- 郭彪, 李正鹏, 杨建武, 周金莲, 杨鹤鸣, 董满库, 王平, 张宏文, 李成林, 崔彦. 尾悬吊模拟失重大鼠血清GAS含量和胃黏膜Hsp70及其基因表达的影响. *胃肠病学和肝病杂志* 2013; 22: 755-758
- 郭彪, 李正鹏, 周金莲, 杨建武, 赵燕, 刘子沛, 付晓艳, 董满库, 崔彦. 尾悬吊模拟失重大鼠胃黏膜超微结构改变并氧化应激损伤. *中华生物医学工程杂志* 2014; 20: 179-184 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-1927.2014.03.001]
- 王利芳, 张金山, 孙岚, 张远强, 赵洁. 模拟失重大鼠胃黏膜瘦素及其受体表达的影响. *医学研究生学报* 2007; 20: 799-801 [DOI: 10.3969/j.issn.1008-8199.2007.08.005]
- Rivera CA, Tchamitchi MH, Mendoza L, Smith CW. Endotoxemia and hepatic injury in a rodent model of hindlimb unloading. *J Appl Physiol* (1985) 2003; 95: 1656-1663 [PMID: 12794033 DOI: 10.1152/japplphysiol.00302.2003]
- 周金莲, 李成林, 易勇, 周立艳, 段育忠, 刘子沛, 吉敏, 张涛, 崔彦. 模拟失重导致门静脉内毒素血症和肝脏超微结构改变. *胃肠病学和肝病杂志* 2011; 20: 1140-1143 [DOI: 10.3969/j.issn.1006-5709.2011.12.022]
- Ying C, Chunmin Y, Qingsen L, Mingzhou G, Yunsheng Y, Gaoping M, Ping W. Effects of simulated weightlessness on tight junction protein occludin and Zonula Occluden-1 expression levels in the intestinal mucosa of rats. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci* 2011; 31: 26-32 [PMID: 21336719 DOI: 10.1007/s11596-011-0145-5]
- Smith SM, Davis-Street JE, Fesperman JV, Smith MD, Rice BL, Zwart SR. Nutritional status changes in humans during a 14-day saturation dive: the NASA Extreme Environment Mission Operations V project. *J Nutr* 2004; 134: 1765-1771 [PMID: 15226467 DOI: 10.1093/jn/134.7.1765]
- Shi J, Wang Y, He J, Li P, Jin R, Wang K, Xu X, Hao J, Zhang Y, Liu H, Chen X, Wu H, Ge Q. Intestinal microbiota contributes to colonic epithelial changes in simulated microgravity mouse model. *FASEB J* 2017; 31: 3695-3709 [PMID: 28495755 DOI: 10.1096/fj.201700034R]
- 鲍时明, 邓忠伟, 杨建武, 李晓鸥, 董满库, 周金莲, 杨鹤鸣, 李成林, 崔彦. 模拟微重力环境下腹腔感染大鼠肠黏膜屏障损害及抗感染疗效. *世界华人消化杂志* 2015; 23: 3203-3212
- Okumura R, Takeda K. Maintenance of intestinal homeostasis by mucosal barriers. *Inflamm Regen* 2018; 38: 5 [PMID: 29619131 DOI: 10.1186/s41232-018-0063-z]
- 田慧, 赵红靓, 杨琳, 王娜. 肠道微生态与肠黏膜屏障研究进展. *基础医学与临床* 2018; 38: 418-421 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2018.03.027]
- Ritchie LE, Taddeo SS, Weeks BR, Lima F, Bloomfield SA, Azcarate-Peril MA, Zwart SR, Smith SM, Turner ND. Space Environmental Factor Impacts upon Murine Colon Microbiota and Mucosal Homeostasis. *PLoS One* 2015; 10: e0125792 [PMID: 26083373 DOI: 10.1371/journal.pone.0125792]
- Li P, Shi J, Zhang P, Wang K, Li J, Liu H, Zhou Y, Xu X, Hao J, Sun X, Pang X, Li Y, Wu H, Chen X, Ge Q. Simulated microgravity disrupts intestinal homeostasis and increases colitis susceptibility. *FASEB J* 2015; 29: 3263-3273 [PMID: 25877215 DOI: 10.1096/fj.15-271700]
- Yang Y, Qu C, Liang S, Wang G, Han H, Chen N, Wang X, Luo Z, Zhong C, Chen Y, Li L, Wu W. Estrogen inhibits the overgrowth of *Escherichia coli* in the rat intestine under simulated microgravity. *Mol Med Rep* 2018; 17: 2313-2320 [PMID: 29207065 DOI: 10.3892/mmr.2017.8109]
- Jiang W, Xu B, Yi Y, Huang Y, Li XO, Jiang F, Zhou J, Zhang J, Cui Y. Effects of simulated microgravity by RCCS on the biological features of *Candida albicans*. *Int J Clin Exp Pathol* 2014; 7: 3781-3790 [PMID: 25120754 DOI: 10.1016/B978-0-12-80092-2.00013-7]
- Li TZ, Chang D, Xu HW, Chen JP, Su LX, Guo YH, Chen ZH, Wang YJ, Wang L, Wang JF, Fang XQ, Liu CT. Impact of a short-term exposure to spaceflight on the phenotype, genome, transcriptome and proteome of *Escherichia coli*. *Int J Astrobiol* 2015; 14: 435-444 [DOI: 10.1017/S1473550415000038]
- 刘蓉, 程江, 裴雪枫, 王静宇, 袁敏, 贾茗雯, 刘长庭, 袁明. 模拟失重下空间诱变菌感染巨噬细胞炎症相关microRNAs的筛选

- 及生物信息学分析. 航天医学与医学工程 2017; 30: 1-6 [DOI: 10.16289/j.cnki.1002-0837.2017.01.001]
- 34 姚静, 程江, 裴雪枫, 王静宇, 王俊锋, 张学林, 刘长庭, 袁明. 尾吊小鼠感染空间诱变大肠杆菌炎症反应增强. 中国比较医学杂志 2016; 26: 1-5
  - 35 Shao D, Yao L, Riaz MS, Zhu J, Shi J, Jin M, Huang Q, Yang H. Simulated microgravity affects some biological characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. *Appl Microbiol Biotechnol* 2017; 101: 3439-3449 [PMID: 28013406 DOI: 10.1007/s00253-016-8059-6]
  - 36 黄玉玲, 杨建武, 易勇, 崔彦. 微重力及太空飞行对微生物影响的研究进展. 北京生物医学工程 2014; 33: 84-88
  - 37 Cervantes JL, Hong BY. Dysbiosis and Immune Dysregulation in Outer Space. *Int Rev Immunol* 2016; 35: 67-82 [PMID: 25970037 DOI: 10.3109/08830185.2015.1027821]
  - 38 Du F, Ding Y, Zou J, Li Z, Tian J, She R, Wang D, Wang H, Lv D, Chang L. Morphology and Molecular Mechanisms of Hepatic Injury in Rats under Simulated Weightlessness and the Protective Effects of Resistance Training. *PLoS One* 2015; 10: e0127047 [PMID: 26000905 DOI: 10.1371/journal.pone.0127047]
  - 39 Anselm V, Novikova S, Zgoda V. Re-adaption on Earth after Spaceflights Affects the Mouse Liver Proteome. *Int J Mol Sci* 2017; 18 [PMID: 28805685 DOI: 10.3390/ijms18081763]
  - 40 Jonscher KR, Alfonso-Garcia A, Suhaimi JL, Orlicky DJ, Potma EO, Ferguson VL, Bouxsein ML, Bateman TA, Stodieck LS, Levi M, Friedman JE, Gridley DS, Pecaut MJ. Spaceflight Activates Lipotoxic Pathways in Mouse Liver. *PLoS One* 2016; 11: e0152877 [PMID: 27097220 DOI: 10.1371/journal.pone.0152877]
  - 41 Chen Y, Xu J, Yang C, Zhang H, Wu F, Chen J, Li K, Wang H, Li Y, Li Y, Dai Z. Upregulation of miR-223 in the rat liver inhibits proliferation of hepatocytes under simulated microgravity. *Exp Mol Med* 2017; 49: e348 [PMID: 28642576 DOI: 10.1038/emmm.2017.80]
  - 42 潘康明, 周煥城, 张志, 高毅, 徐小平. 旋转生物反应器内微载体共培养CL-1 肝细胞与人肝星形细胞. 南方医科大学学报 2013; 33: 902-905 [DOI: 10.3969/j.issn.1673-4254.2013.06.25]
  - 43 田西朋, 孙宏伟, 周金莲, 李雨霏, 闫洪峰, 徐冰心, 董满库, 张宏文, 崔彦. 模拟微重力对小鼠肝kupffer细胞增殖及相关基因表达的影响. 中华肝胆外科杂志 2016; 22: 557-561 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2016.08.014]
  - 44 宋艳, 赵国桢, 赵百孝, 嵇波, 汪德生, 张鹤, 毛颖秋, 张平, 许咏思. 不同时机介入电针对模拟失重大鼠肝脏HSP 70、MDA、SOD和GSH-PX的影响. 针刺研究 2015; 40: 383-387 [DOI: 10.13702/j.1000-0607.2015.05.008]
  - 45 邓忠伟, 鲍时明, 孙宏伟, 姜福全, 徐冰心, 周金莲, 王平, 张宏文, 崔彦. 模拟失重环境下腹腔感染大鼠肝脏微循环障碍及抗感染疗效. 中华肝胆外科杂志 2015; 21: 559-564 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-8118.2015.08.013]
  - 46 Li S, Tan HY, Wang N, Zhang ZJ, Lao L, Wong CW, Feng Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. *Int J Mol Sci* 2015; 16: 26087-26124 [DOI: 10.3390/ijms161125942]
  - 47 Chandra R, Liddle RA. Modulation of pancreatic exocrine and endocrine secretion. *Curr Opin Gastroenterol* 2013; 29: 517-522 [PMID: 23817137 DOI: 10.1097/MOG.0b013e3283639326]
  - 48 Proshchina AE, Krivova YS, Saveliev SC. Pancreas of C57 black mice after long-term space flight (Bion-M1 Space Mission). *Life Sci Space Res (Amst)* 2015; 7: 22-26 [PMID: 26553634 DOI: 10.1016/j.lssr.2015.09.001]
  - 49 Samuelson L, Gerber DA. Improved function and growth of pancreatic cells in a three-dimensional bioreactor environment. *Tissue Eng Part C Methods* 2013; 19: 39-47 [PMID: 22712746 DOI: 10.1089/ten.TEC.2012.0236]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 消化性溃疡合并高血压诊疗现状及其免疫功能研究进展

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊, 杭州师范大学附属医院消化内科 浙江省杭州市 310015

徐思楠, 住院医师, 研究方向为消化内科.

作者贡献分布: 本文综述主要由徐思楠完成, 陈鑫和孙倚天参与; 李国熊审校.

通讯作者: 李国熊, 教授, 主任医师, 310015, 浙江省杭州市拱墅区温州路126号, 杭州师范大学附属医院消化内科. [guoxiongli849@hotmail.com](mailto:guoxiongli849@hotmail.com)  
电话: 0571-88303656

收稿日期: 2019-07-26

修回日期: 2019-08-27

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-08

### Peptic ulcer complicated with hypertension: Diagnosis, treatment, and changes in immunologic function

Si-Nan Xu, Xin Chen, Yi-Tian Sun, Guo-Xiong Li

Si-Nan Xu, Xin Chen, Yi-Tian Sun, Guo-Xiong Li, Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China

Corresponding author: Guo-Xiong Li, Professor, Chief physician, Department of Gastroenterology, The Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, No. 126, Wenzhou Street, Gongshu District, Hangzhou 310015, Zhejiang Province, China. [guoxiongli849@hotmail.com](mailto:guoxiongli849@hotmail.com)

Received: 2019-07-26

Revised: 2019-08-27

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-08

### Abstract

Peptic ulcer (PU) and hypertension, known as two clinically common diseases, often develop simultaneously. This paper introduces the status quo of the diagnosis and treatment of hypertensive patients with PU, and

also expounds the progress in the understanding of the changes in the mucosal immune function and cellular immune function, with an aim to shed some light on the clinical diagnosis and treatment of PU with hypertension.

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

Key Words: Peptic ulcer; Hypertension; Immunity; *Helicobacter pylori*

Xu SN, Chen X, Sun YT, Li GX. Peptic ulcer complicated with hypertension: Diagnosis, treatment, and changes in immunologic function. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1095-1099  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1095.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1095>

### 摘要

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)和高血压病(hypertension, HTN)是两种常见病, 临床上两者常有合并. 本文介绍PU合并HTN患者的诊疗现状, 并阐述了其非特异性免疫中黏膜免疫功能变化和特异性免疫中细胞免疫功能变化研究进展, 以为临床诊治提供一定参考.

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

关键词: 消化性溃疡; 高血压病; 免疫; 幽门螺杆菌

**核心提要:** 消化性溃疡和高血压病在临床上常合并存在, 本文介绍了此类患者目前诊疗现状, 包括好发人群、无痛胃镜的运用、治疗药物选择等, 以及其黏膜免疫和体液免疫功能改变情况, 以为临床诊治提供一定参考.

徐思楠, 陈鑫, 孙倚天, 李国熊. 消化性溃疡合并高血压诊疗现状及其免疫功能研究进展. *世界华人消化杂志* 2019; 27(17): 1095-1099

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1095.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i17.1095>



## 0 引言

消化性溃疡(peptic ulcer, PU)和高血压病(hypertension, HTN)均是常见病,且临床上两者常有合并。幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染是PU的首要致病因素,与人体调节T细胞(regulatory T cell, Treg)引起的免疫调控和*H. pylori*自身产生的细胞毒素相关蛋白A(cytotoxin-associated protein A, CagA)及空泡细胞毒素A(vacuolating cytotoxin gene A, VacA)引起的炎症反应密切相关。HTN是一种以动脉血压持续升高为特征的“心血管综合征”,该病可能因机体细胞及体液免疫功能改变,致一系列炎症反应形成。

## 1 PU合并HTN的诊疗现状

临床上PU合并HTN患者不在少数,尤以老年人群中多见。Mitsutake等<sup>[1]</sup>对2013-09/2014-08居住于日本东京的131116名75岁以上老年人罹患多种慢性病情况的研究结果显示,65.0%的老年人同时患有3种或者以上慢性疾病,其中12.4%男性同时患者HTN、PU、心脏病,12.8%女性同时患有HTN、PU、血脂异常,HTN及PU合并存在时患者临床治疗难度及诊治费用较高。国内亦有报道<sup>[2]</sup>表明在年龄大于55岁的PU患者中,约98.3%的人同时患有一种及以上心脑血管疾病,如高血压、心脏病、脑卒中等。老年HTN患者,更易合并溃疡,且一旦并发上消化道出血,病情凶险,不易止血。马素云等<sup>[3]</sup>将112例HTN患者作为研究组,对照组为170例非HTN患者,比较两组PU检出率,发现在*H. pylori*感染无明显统计学差异下,研究组PU检出率为16.1%,明显高于对照组4.7%( $P<0.01$ ,  $\chi^2 = 9.30$ ),尤其是胃溃疡检出率达10.7%,对照组仅3.5%,其原因可能是长期高血压致心功能不全,使肝淤血加重,门脉压力升高,消化道黏膜进而缺血缺氧,削弱黏膜保护能力;且大部分HTN患者长期服用钙通道阻滞剂,以致胆汁和胃酸返流及胃排空延迟,促使溃疡形成。

有研究<sup>[4,5]</sup>发现在PU和HTN患者中往往出现人体免疫功能异常,PU患者外周血中IgG水平较正常人高,CD3、CD4、CD4/CD8、CD19、CD56、C3、C4水平较正常人低,且当合并有上消化道出血时这种差异更加明显,这表明机体免疫功能紊乱致消化道黏膜更易受损,并且在出血时免疫抑制更加严重,而进一步合并HTN后,由于细胞免疫功能紊乱加剧,使患者胃黏膜血管内炎症加重,致局部血管内皮细胞损伤,血栓形成,可引起微循环障碍,若在治疗PU同时合理控制血压,将有助于溃疡愈合。

近年来,无痛胃镜检查因其诸多优点,在PU合并HTN患者中运用越来越多见。2016年李艳等<sup>[6]</sup>将80例75

岁以上HTN患者随机分为无痛胃镜组和常规胃镜组,比较两组患者PU检出率、检查过程中不良反应(恶心、呕吐、躁动、咳嗽等)、术前及术中血压情况,结果显示无痛胃镜组溃疡检出率95.0%,明显高于常规胃镜组52.5%,且不良反应较常规胃镜组少,值得注意的是无痛胃镜组患者检查过程中血压较检查前有所下降,而常规胃镜则较检查前上升,提示无痛胃镜应用在HTN合并PU患者中更安全。其他研究<sup>[7]</sup>也认为高龄患者往往存在多种心脑血管疾病的潜在风险,胃镜作为侵入性检查,对消化道存在明显的刺激,常规胃镜检查可引起患者精神紧张、不安、恐惧等负面心理,导致血压升高,而无痛胃镜则利用较低剂量的丙泊酚全身麻醉,使患者处于浅睡眠状态,有效降低呼吸道周围平滑肌和神经对胃镜软管的应激反应,使心率及血压稳定,利于检查。

治疗方面,除了针对PU的规范化治疗外,合理选用降压药物很关键。柏铁君<sup>[8]</sup>将70例PU合并HTN患者随机对等分为两组,均以奥美拉唑肠溶胶囊治疗PU,比较硝苯地平(对照组)与氯压定(观察组)的疗效,发现观察组不仅HTN改善优于对照组( $P<0.05$ ),且溃疡疗效优于对照组( $P = 0.023$ ,  $\chi^2 = 5.185$ ),两种疾病治疗总有效率达88.57%,明显高于对照组65.71%;观察组的药物不良反应发生率为2.86%,显著低于对照组22.86%。其原因与氯压定可有效抑制交感神经,减少胃酸分泌,而硝苯地平可导致胃排空延迟和胃酸反流,使PU发生风险增加有关。有报道氯沙坦也是一种合适的选择。因人体胃酸分泌受大脑迷走神经区域孤束核和背侧运动核的调控,这些区域血管紧张素II 1型受体(angiotensin II type 1 receptor, AT-1)密集,氯沙坦可通过血脑屏障阻断AT-1受体,减少胃酸和胃蛋白酶等侵袭性因子释放,促进溃疡愈合<sup>[9]</sup>。除上述药物干预外,有研究<sup>[10]</sup>还发现饮用硫磺矿水可促进溃疡愈合和控制血压,这主要归功于其中的活性分子硫化氢( $H_2S$ ),它作为人体的一种信号分子,可通过硫化作用,轻易穿过皮肤和黏膜,在许多细胞保护性的生化反应中发挥作用,目前发现其有以下三个作用:(1)通过增加血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)受体的表达和活化来促进新血管生长,进而改善局部血供,促进黏膜修复;(2)可去除血管内皮细胞中存在的一氧化氮合成酶抑制因子L-NAME,有助于舒张血管;(3)抗炎作用,主要通过影响MAP激酶信号传导使外周血淋巴细胞分泌白介素(interleukin, IL)-2及IL-8减少,并减少细胞毒性反应。

## 2 PU合并HTN患者非特异性免疫功能变化

非特异性免疫应答又称为固有免疫,是人体长期进化过程中逐渐形成的天然免疫防御体系,主要包括组织屏

障、固有免疫细胞和固有免疫分子,而在胃肠道主要以黏膜屏障的免疫作用为主。

众所周知, *H. pylori* 是PU的首要病因, 它可影响人体Treg细胞功能和产生CagA及VacA来引起强烈的免疫反应, 破坏黏膜防护屏障。Robinson等<sup>[11]</sup>通过检测人黏膜内IL-10、Th1、Th2及CD4<sup>+</sup>等水平发现, 在*H. pylori*感染但未发生PU的患者中, 由于Treg细胞诱导释放高水平的抑炎因子IL-10及CD4<sup>+</sup>, 抑制IL-8等促炎因子作用, 减轻了*H. pylori*侵入黏膜后所造成的局部炎症反应, 达到免疫稳态, 相反的, 在发生PU的患者中, Treg细胞呈现下调免疫的作用, IL-10水平降低2.4倍, Th1和Th2等释放促炎因子的细胞水平分别提高3.2倍和6.1倍, 释放更多炎症介质, 打破免疫稳态, 剧烈炎症反应致溃疡形成。另外, *H. pylori*感染后可致T细胞免疫调节功能缺陷, 黏膜内大量低活性、低表达IL-10的Treg细胞无效积聚本身亦可引起急性炎症反应损伤组织细胞, 破坏胃肠道黏膜, 严重时出现溃疡<sup>[12]</sup>。*H. pylori*除通过影响Treg细胞功能外, 还通过释放两种毒素(CagA、VacA)破坏黏膜免疫。研究<sup>[13]</sup>表明, CagA是一种由致病性染色体岛(Cag-PAI)末端的cagA基因编码的分子量为128 kDa的免疫显性抗原, Cag-PAI中还可编码IV型分泌系统, *H. pylori*可通过该系统黏附到细胞上, 然后将CagA转移至宿主细胞的细胞质, 在那里CagA被Abl激酶或Src激酶磷酸化后, 干扰细胞内信号传导, 导致上皮细胞形态和功能改变, 此外, CagA还可直接以非磷酸化状态作用于宿主细胞, 影响细胞间紧密连接、细胞极性、细胞增殖和分化、细胞内部微结构、诱导炎症反应以及细胞纤维化; VacA除可破坏黏膜上皮细胞间的紧密连接外, 还可抑制T细胞增殖、活化和效应功能, 从而改变宿主炎症反应, 使细菌长期生存, 而且该毒素本身即可通过激活核因子NF- $\kappa$ B上调IL-8水平, 来诱导黏膜炎症反应发生, 目前认为上述两种毒素均与PU和慢性萎缩性胃炎的严重程度, 乃至胃癌发生上呈正相关。

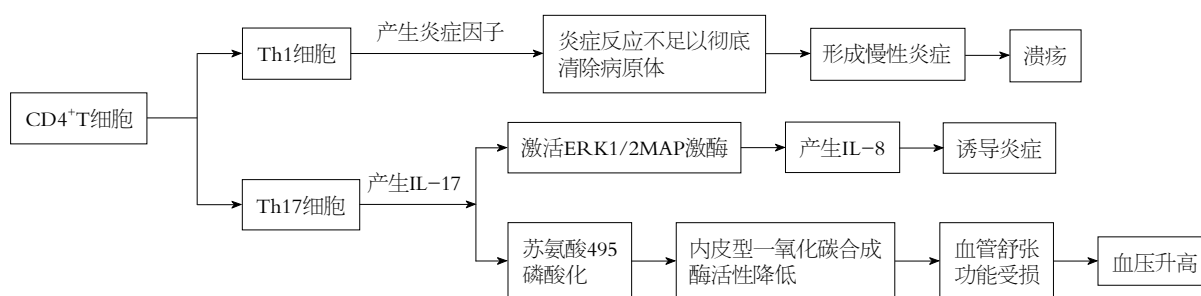
近年来诸多研究<sup>[14,15]</sup>表明*H. pylori*与心血管疾病发生具有相关性, *H. pylori*感染5年内心血管病发生风险增加15%, 它诱导炎症因子释放, 引起局部强烈炎症反应破坏血管内皮细胞, 损伤黏膜血管, 使微循环障碍, 黏膜缺血缺氧严重, 导致了HTN、周围动脉疾病(peripheral arterial disease, PAD)等发生。Sawayama等<sup>[16]</sup>筛查了69例PAD患者*H. pylori*感染情况, 发现其感染率高达79.7%, 尤其在男性患者中更是达到84.8%, 认为*H. pylori*感染导致局部慢性炎症, 长此以往引起全身性慢性炎症, 使动脉斑块的不稳定, 增加PAD发病风险, 是PAD发病的独立危险因素。我国一项针对5246例成年人的横断面研究<sup>[17]</sup>发现*H. pylori*感染与HTN发病呈正相关(OR = 1.23;

95%CI: 1.04-1.46), 也认为*H. pylori*是HTN的独立危险因素; 与*H. pylori*阴性者相比, *H. pylori*感染者舒张压增加了0.735 mmHg(95%CI: 0.101-1.369), 平均动脉压增加0.723 mmHg(95%CI: 0.034-1.413), 其原因与*H. pylori*感染后机体释放肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor  $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、IL-6和C反应蛋白(C-reactive protein, CRP)等炎症因子, 引起胰岛素抵抗, 进一步致动脉粥样硬化, 动脉弹性降低致外周血管阻力增加相关。如果早期根治*H. pylori*(尤其是年龄小于65岁)可以有效降低冠心病发病风险, 这与长期感染*H. pylori*可诱导局部炎症反应, 内皮损伤, 凝血级联的慢性低级激活, 脂质代谢失调和高同型半胱氨酸血症等原因相关, 根除*H. pylori*则可以提高HDL水平, 降低CRP和纤维蛋白原水平<sup>[18]</sup>。

### 3 PU合并HTN患者特异性免疫功能变化

特异性免疫又称为适应性免疫或获得性免疫, 主要包括由T细胞介导的细胞免疫和B细胞介导的体液免疫。目前研究认为在PU合并HTN患者体内主要由*H. pylori*、CagA及各类炎症介质等引起特异性免疫反应。

3.1 细胞免疫功能变化 CD4<sup>+</sup>T细胞(主要是Th1细胞和Th17细胞)在免疫过程中起关键作用, 如图1。巴西一项针对554名胃肠病患者的前瞻性研究<sup>[19]</sup>发现, *H. pylori*阳性的PU患者胃肠黏膜内 $\gamma$ 干扰素(interferon- $\gamma$ , IFN- $\gamma$ )及IL-12水平分别高达1335 pg/mg $\pm$ 1.52 pg/mg和108 pg/mg $\pm$ 1.40 pg/mg, 而IL-4及IL-10水平低下, 这使得CD4<sup>+</sup>T细胞在受外界因素刺激后, 易分化为Th1细胞, 而此类细胞并不能彻底清除*H. pylori*等病原体, 反而导致炎症状态持续存在, 疾病慢性化, 乃至加重恶化。同样, 胃黏膜中Th17细胞数及其表达的IL-17水平也与慢性炎症程度正相关, 当*H. pylori*感染及患PU时其细胞数明显增加, 炎症因子水平明显提高, 其产生的IL-17可以激活胃上皮细胞中ERK1/2MAP激酶, 促进制炎因子IL-8分泌, 诱导黏膜长期慢性炎症发生<sup>[20]</sup>。此外, 一些研究<sup>[21,22]</sup>还发现, 内皮细胞分泌的一氧化氮可以舒展血管, 在防止白细胞黏附与外渗以及调节血压上起作用, 但IL-17可使肽链上苏氨酸495磷酸化, 致合成的内皮型一氧化氮合成酶(endothelial nitric oxide synthase, eNOS)活性降低, 即IL-17降低eNOS活性, 导致内皮依赖性血管舒张功能受损, 引起血压升高, 而血压过高又会作用于血管壁导致管壁机械应力改变, 促进大血管的周期性伸展, 延伸的管壁可以增加内皮细胞的生成, 并释放IL-6、IL-8、活性氧类(reactive oxygen species, ROS)、内皮素等促炎介质, 另外, 延伸的管壁还会增加血管细胞黏附分子、细胞内粘附分子和CD40的表达, 这些因素激活单核细胞、巨噬细胞和树突状细胞并浸润, 引起局部乃至全身

CD4<sup>+</sup>T细胞在细胞免疫中的作用图1 CD4<sup>+</sup>T细胞在细胞免疫过程中的作用. IL: 白介素.

炎症反应, 损伤黏膜微循环, 使局部缺血缺氧, 增加PU风险.

**3.2 体液免疫功能变化** 对于体液免疫改变的报道鲜见, 现有文献主要是关于其伴发其他并发症(如消化道出血)时的免疫情况. 刘建生等<sup>[23]</sup>在其研究中发现当PU并发出血时, 人体IgA、IgM、IgG、C3和C4水平下降, 其原因是机体损伤出血后皮质醇及细胞因子的大量释放, 与细胞的相应受体结合而干预前B细胞增殖分化, 影响成熟B细胞功能, 从而导致免疫球蛋白的改变, C4参与经典途径中的激活过程, 而C3则在补体激活的经典途径与旁路途径中起作用, 出血后的免疫抑制, 能激活经典途径和旁路途径.

## 4 结论

PU合并HTN已逐渐成为临床上常见的一种慢病合并模式, 目前对其诊疗上, 无痛胃镜因安全性高等优点已逐渐得到认可, 氯压定、氯沙坦既可有效控制血压, 亦能减少胃酸分泌, 促进黏膜修复, 国外研究更是发现长期饮用含硫磺矿水可同时防治PU和HTN, 但结合此类患者本身黏膜免疫、特异性免疫等改变情况, 未来也许还可将其免疫数据变化作为评估病情及预后的一部分, 亦可继续完善相关实验研究, 充分明确其免疫功能变化, 从免疫靶向角度出发研制新型药物, 更有效的改善病症.

## 5 参考文献

- Mitsutake S, Ishizaki T, Teramoto C, Shimizu S, Ito H. Patterns of Co-Occurrence of Chronic Disease Among Older Adults in Tokyo, Japan. *Prev Chronic Dis* 2019; 16: E11 [PMID: 30703000 DOI: 10.5888/pcd16.180170]
- 贾勇, 梅祎祎, 盛楚乔, 潘雅洁, 程增霞, 程繁银. 55岁及以上城市居民慢性病共病现状调查及相关性分析. *中国全科医学* 2016; 19: 683-687 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2016.06.012]
- 马素云, 王雪梅, 陈美月. 高血压病合并消化性溃疡临床分析. *卫生职业教育* 2015; 15: 144-145
- 吴蓉, 李国熊, 李丽, 周刚, 吴建良, 陈晶. 消化性溃疡患者外周血细胞免疫及体液免疫功能变化分析. *中国全科医学* 2016; 19: 2481-2485 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2016.20.025]
- Fomina LA, Chernin VV. [Pathogenetic bases and efficacy

- of slow calcium channel blockers in the therapy of recurrent peptic ulcer disease associated with hypertension]. *Ter Arkh* 2017; 89: 10-14 [PMID: 28281509 DOI: 10.17116/terarkh201789210-14]
- 李艳. 无痛胃镜在消化性溃疡伴发轻度高血压高龄患者中应用的安全性分析. *中国医药指南* 2016; 14: 140-141 [DOI: 10.15912/j.cnki.gocm.2016.06.112]
- 迟增凤, 高兰美, 石祖辉. 无痛胃镜在消化性溃疡伴发轻度高血压高龄患者中应用的安全性分析. *世界最新医学信息文摘* 2017; 22: 39
- 柏铁君. 高血压病合并消化性溃疡的分析与治疗研究. *临床医药文献杂志* 2018; 5: 43-45 [DOI: 10.16281/j.cnki.jocml.2018.35.025]
- Merai AH, Asad M, Prasad VS. Effect of centrally administered losartan on gastric and duodenal ulcers in rats. *Pharmacology* 2009; 84: 93-98 [PMID: 19602912 DOI: 10.1159/000228726]
- Carbajo JM, Maraver F. Sulphurous Mineral Waters: New Applications for Health. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017; 2017: 8034084 [PMID: 28484507 DOI: 10.1155/2017/8034084]
- Robinson K, Kenefick R, Pidgeon EL, Shakib S, Patel S, Polson RJ, Zaitoun AM, Atherton JC. Helicobacter pylori-induced peptic ulcer disease is associated with inadequate regulatory T cell responses. *Gut* 2008; 57: 1375-1385 [PMID: 18467372 DOI: 10.1136/gut.2007.137539]
- Bagheri N, Azadegan-Dehkordi F, Rahimian G, Rafieian-Kopaei M, Shirzad H. Role of Regulatory T-cells in Different Clinical Expressions of Helicobacter pylori Infection. *Arch Med Res* 2016; 47: 245-254 [PMID: 27664483 DOI: 10.1016/j.arcmed.2016.07.013]
- Nejati S, Karkhah A, Darvish H, Validi M, Ebrahimpour S, Nouri HR. Influence of Helicobacter pylori virulence factors CagA and VacA on pathogenesis of gastrointestinal disorders. *Microb Pathog* 2018; 117: 43-48 [PMID: 29432909 DOI: 10.1016/j.micpath.2018.02.016]
- Sun J, Rangan P, Bhat SS, Liu L. A Meta-Analysis of the Association between Helicobacter pylori Infection and Risk of Coronary Heart Disease from Published Prospective Studies. *Helicobacter* 2016; 21: 11-23 [PMID: 25997465 DOI: 10.1111/hel.12234]
- Jiang J, Chen Y, Shi J, Song C, Zhang J, Wang K. Population attributable burden of Helicobacter pylori-related gastric cancer, coronary heart disease, and ischemic stroke in China. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2017; 36: 199-212 [PMID: 27771779 DOI: 10.1007/s10096-016-2810-x]
- Sawayama Y, Hamada M, Otaguro S, Maeda S, Ohnishi H, Fujimoto Y, Taira Y, Hayashi J. Chronic Helicobacter pylori infection is associated with peripheral arterial disease. *J Infect Chemother* 2008; 14: 250-254 [PMID: 18574664 DOI: 10.1007/s10156-008-0613-4]



- 17 Wan Z, Hu L, Hu M, Lei X, Huang Y, Lv Y. Helicobacter pylori infection and prevalence of high blood pressure among Chinese adults. *J Hum Hypertens* 2018; 32: 158-164 [PMID: 29289960 DOI: 10.1038/s41371-017-0028-8]
- 18 Wang JW, Tseng KL, Hsu CN, Liang CM, Tai WC, Ku MK, Hung TH, Yuan LT, Nguang SH, Yang SC, Wu CK, Chiu CH, Tsai KL, Chang MW, Huang CF, Hsu PI, Wu DC, Chuah SK. Association between Helicobacter pylori eradication and the risk of coronary heart diseases. *PLoS One* 2018; 13: e0190219 [PMID: 29293574 DOI: 10.1371/journal.pone.0190219]
- 19 Vinagre RMDF, Vinagre IDF, Vilar-E-Silva A, Fecury AA, Martins LC. HELICOBACTER PYLORI INFECTION AND IMMUNE PROFILE OF PATIENTS WITH DIFFERENT GASTRODUODENAL DISEASES. *Arq Gastroenterol* 2018; 55: 122-127 [PMID: 30043859 DOI: 10.1590/S0004-2803.201800000-21]
- 20 Bagheri N, Razavi A, Pourgheysari B, Azadegan-Dehkordi F, Rahimian G, Pirayesh A, Shafigh M, Rafieian-Kopaei M, Fereidani R, Tahmasbi K, Shirzad H. Up-regulated Th17 cell function is associated with increased peptic ulcer disease in Helicobacter pylori-infection. *Infect Genet Evol* 2018; 60: 117-125 [PMID: 29481961 DOI: 10.1016/j.meegid.2018.02.020]
- 21 Norlander AE, Madhur MS, Harrison DG. Correction: The immunology of hypertension. *J Exp Med* 2018; 215: 719 [PMID: 29305396 DOI: 10.1084/jem.2017177301022018c]
- 22 Jufri NF, Mohamedali A, Avolio A, Baker MS. Mechanical stretch: physiological and pathological implications for human vascular endothelial cells. *Vasc Cell* 2015; 7: 8 [PMID: 26388991 DOI: 10.1186/s13221-015-0033-z]
- 23 刘建生, 肖红兵, 傅极. 消化性溃疡出血期血清免疫球蛋白、补体和C-反应蛋白变化的意义. *内科急危重症杂志* 2001; 7: 126-127 [DOI: 10.3969/j.issn.1007-1024.2001.03.003]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》参考文献要求

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

# 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病与甲状腺功能的关系

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏

刘良, 张鹏, 天津医科大学研究生院 天津市 300070

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏, 天津市第二人民医院, 天津市肝病医学研究所 天津市 300192

刘良, 主要从事各种原因引起的肝病的诊断和治疗.

基金项目: 国家“十三五”重大科技专项资助项目, No. 2017ZX10203202.

作者贡献分布: 课题设计、论文写作及修改由李萍与刘良完成; 数据收集由刘良与张鹏完成; 数据分析由刘良, 张鹏, 刘勇钢及宓余强完成.

通讯作者: 李萍, 主任医师, 300192, 天津市南开区苏堤南路7号, 天津市第二人民医院, 天津市肝病医学研究所. [tjplxg@163.com](mailto:tjplxg@163.com)  
电话: 022-27468232

收稿日期: 2019-07-12

修回日期: 2019-08-16

接受日期: 2019-09-03

在线出版日期: 2019-09-08

## Relationship between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic hepatitis B

Liang Liu, Ping Li, Yu-Qiang Mi, Yong-Gang Liu, Peng Zhang

Liang Liu, Peng Zhang, Graduate School, Tianjin Medical University, Tianjin 300070, China

Liang Liu, Ping Li, Yu-Qiang Mi, Yong-Gang Liu, Peng Zhang, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Research Institute of Liver Diseases, Tianjin 300192, China

Supported by: National Science and Technology Major Project, No. 2017ZX10203202.

Corresponding author: Ping Li, Chief Physician, Tianjin Second People's Hospital, Tianjin Research Institute of Liver Diseases, 7 Sudi South Road, Nankai District, Tianjin 300192, China. [tjplxg@163.com](mailto:tjplxg@163.com)

Received: 2019-07-12

Revised: 2019-08-16

Accepted: 2019-09-03

Published online: 2019-09-08

## Abstract

### BACKGROUND

Chronic hepatitis B (CHB) combined with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) is a common form of chronic liver disease in China. Thyroid hormones play an important role in fat mobilization, lipolysis, and lipid oxidation. The relationship between thyroid function and NAFLD is still unclear.

### AIM

To explore the relationship between thyroid function and NAFLD in CHB patients with normal thyroid function.

### METHODS

The clinical data of CHB subjects with normal thyroid function were collected. Patients with NAFLD were included as a case group. Age- and gender-matched CHB patients without NAFLD were randomly selected as a control group. The general clinical data and some pathological features of the two groups were compared and analyzed.

### RESULTS

A total of 248 subjects were included. There were 124 cases in the case group and 124 in the control group. The body mass index (BMI), triglyceride, low-density lipoprotein, and thyroid stimulating hormone (TSH) levels in the case group were significantly higher than those in the control group ( $P < 0.05$ ). The history of diabetes, total cholesterol, free triiodothyronine, free

thyroxine (FT4), virological indicators, and liver damage were comparable between the two groups ( $P > 0.05$ ). Logistic regression analysis showed an independent correlation between BMI, TSH, or FT4 and NAFLD. In addition, the difference in TSH between the mild steatosis group and the moderate-to-severe steatosis group was statistically significant ( $\chi^2 = 8.438$ ,  $P < 0.01$ ).

## CONCLUSION

In patients with CHB, elevated TSH and decreased FT4 levels can be used as independent predictors of NAFLD development, and early detection of NAFLD can help to formulate suitable antiviral treatment strategy, especially in patients with hypothyroidism.

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

Key Words: Chronic hepatitis B; Fatty liver; Thyroid function

Liu L, Li P, Mi YQ, Liu YG, Zhang P. Relationship between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(17): 1100-1106  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1100.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1100>

## 摘要

### 背景

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)合并非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)是国内慢性肝病的一种常见形式。甲状腺激素在脂肪动员、脂肪分解和脂质氧化方面扮有重要的角色。对于甲状腺功能和NAFLD之间的关联,目前尚不清楚。

### 目的

在甲状腺功能正常的CHB合并NAFLD患者中,探讨甲状腺功能参数与NAFLD的关系。

### 方法

收集天津市第二人民医院甲状腺功能正常的CHB患者的临床资料,其中合并NAFLD的患者作为病例组,同时随机选取单一的CHB患者作为对照组,按照年龄 $\pm 3$ 、性别相同进行1:1配对,对两组一般临床资料及病理特征进行比较分析。

### 结果

共纳入248例研究对象,病例组和对照组各124例,病例组的体重指数(body mass index, BMI)、甘油三酯、总胆固醇、低密度脂蛋白及促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)水平均显著高于对照组,而高密度脂蛋白、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)水平显著低于对照组,差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$ ),而在糖尿病史、游离三碘甲状腺原氨酸、

病毒学指标及肝损伤程度与对照组相比差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$ )。LOGISTIC回归分析显示BMI、TSH、FT4与NAFLD的发生独立相关,另外在病例组中轻度脂肪变组和中重度脂肪变组在不同的TSH水平上,两者差异具有显著的统计学意义( $\chi^2 = 8.438$ ,  $P < 0.01$ )。

## 结论

在CHB患者中,升高的TSH和降低的FT4可以作为NAFLD发生的独立预测因子,NAFLD的尽早发现也有助于降低CHB患者的心血管和癌症风险以及做出合理的抗病毒治疗策略,特别是在甲状腺功能减退的患者中。

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

关键词: 慢性乙型肝炎; 脂肪肝; 甲状腺功能

**核心提要:** 我们的研究通过匹配两组的年龄和性别后,探讨了甲状腺功能和非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的关联。我们的研究发现在甲状腺功能正常的慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者中,升高的促甲状腺激素和降低的游离甲状腺素是NAFLD发生的独立预测因素,并且促甲状腺激素水平也和肝脂肪变严重程度相关。该研究结果有助于我们在CHB患者中对NAFLD发生的早期预测,因其合并NAFLD会干扰抗病毒疗效,同时NAFLD的早期发现也有助于降低心血管和癌症风险,特别是在甲状腺功能减退的患者中。

刘良, 李萍, 宓余强, 刘勇钢, 张鹏. 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病与甲状腺功能的关系. *世界华人消化杂志* 2019; 27(17): 1100-1106  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i17/1100.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i17.1100>

## 0 引言

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是国内常见的慢性肝病。随着生活水平的改善,非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的患病率也在逐年上升。有研究表明,大约有25%-30%的CHB患者并存NAFLD<sup>[1]</sup>,故CHB合并NAFLD是中国慢性肝病的一大特征。甲状腺激素在脂肪动员、脂肪分解和脂质氧化方面扮有重要的角色。虽然一些研究已经表明了明显的甲状腺功能异常和NAFLD之间的关联<sup>[2,3]</sup>,但是对于甲状腺功能在正常范围内的波动和NAFLD之间的关联却罕见报道。考虑到甲状腺功能在正常范围内的波动也会造成许多健康问题,如引起动脉粥样硬化和心血管疾病风险增加<sup>[4,5]</sup>,故在甲状腺功能正常的人群中研究甲状腺功能参数和NAFLD之间的关联显得非常重要。更重



要的是,相比于CHB患者甲状腺功能异常在丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)患者中更常见且严重,故CHB患者甲状腺功能异常更少见<sup>[6]</sup>。因此,本研究的目的是在甲状腺功能正常的CHB患者中,探讨NAFLD和甲状腺功能参数之间的关联。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性收集2016-01/2018-08在天津市第二人民医院进行肝活组织检查的所有临床诊断为CHB患者。以CHB合并NAFLD为病例组,同时进行1:1匹配随机选取年龄±3、性别相同的单一CHB患者作为对照组。NAFLD的诊断符合《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018更新版)》<sup>[7]</sup>, CHB诊断均符合《慢性乙型肝炎防治指南(2015更新版)》的标准<sup>[8]</sup>。排除合并有其他病毒性肝炎、自身免疫性肝病、药物性肝病、酒精性肝病、肝豆状核变性、肝脏的恶性肿瘤和胆道感染等疾病。排除游离三碘甲状腺原氨酸(free triiodothyronine, FT3)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)、促甲状腺激素(thyroid stimulating hormone, TSH)水平超出正常参考范围者,以及服用甲状腺素或抗甲状腺药物者。排除接受了抗病毒药物治疗以及使用了胺碘酮、碘对比剂、雌激素、他莫昔芬、干扰素等影响甲状腺功能的药物的患者。所有入组患者均知情同意,且获医院伦理委员会审核批准。

### 1.2 方法

**1.2.1 一般临床资料:** 纳入的所有资料完整的患者均做了病史采集、体重指数测量、血脂、甲状腺功能、病毒学指标检测。通过身高体重测量仪测量身高、体重,计算体重指数(body mass index, BMI) = 体重(kg)/身高(m)<sup>2</sup>。丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)、血脂、血糖均由医院全自动生物化学分析仪(日本,日立公司, 7060)测定,检测试剂盒购自德国Roche公司。甲状腺功能和HBV标志物检测: 采用电化学发光法,检测仪器和试剂购自瑞士Roche公司,该研究中FT3的正常参考范围为3.10-6.80 pmol/L, FT4的正常参考范围为12.0-22.0 pmol/L, TSH的正常参考范围为0.27-4.20 mIU/L。HBV-DNA载量检测: 采用荧光定量PCR法,检测仪器为Applied Biosystems 5700荧光定量扩增仪(购自美国应用生物系统公司)。

**1.2.2 组织病理学:** 采用MAXCORE一次性全自动活组织检查针(16G, 美国巴德公司产品)行经皮肝穿刺活检获取肝组织标本,4%中性甲醛固定。每份肝组织标本长度均≥1.5 cm并包含6个以上汇管区。常规脱水、石蜡包埋,连续切片(厚约4 μm),常规HE染色和网状纤维

染色。由2位病理科医师盲法独立阅片,如诊断不一致时重复阅片以达成共识。肝脏炎症水平(G)及纤维化程度(S)的病理学分级、分期标准参照《病毒性肝炎防治方案》<sup>[9]</sup>。肝脂肪变程度分级参照《非酒精性脂肪性肝病防治指南(2018更新版)》<sup>[7]</sup>: 无脂变(<5%),轻度脂变(5%-33%),中度脂变(34%-66%);重度脂变(>66%)。

**统计学处理** 计数资料用率表示,计量资料用mean ± SD表示,每两组间均数差异的比较,采用t检验,率的比较采用χ<sup>2</sup>检验,我们也进行了相关性分析及采用了LOGISTIC多元回归分析。采用SPSS 22统计软件进行统计,以P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 两组患者一般临床资料和病理特征比较** 在肝活检确诊的CHB患者中,作为病例组的CHB合并NAFLD的患者有124例(男82例,女42例),年龄为36.72岁±10.59岁,与之年龄、性别匹配的对照组CHB患者有124例(男82例,女性42例),年龄为36.47岁±10.73岁。病例组的BMI、TG、TC、LDL均显著高于对照组,差异具有统计学意义(均P<0.05),而在糖尿病患者比例、HBeAg阳性比例、HBV-DNA、ALT、AST水平、肝组织病理学特征上与对照组相比差异均无统计学意义(均P>0.05)(表1, 2)。在甲状腺功能方面,病例组的FT3水平与对照组相比差异无统计学意义(均P>0.05),而病例组的TSH水平显著高于对照组,FT4水平显著低于对照组,差异均具有统计学意义(均P<0.05)(表3)。另外我们对甲状腺功能参数和NAFLD的发生两者之间进行了相关性分析,结果表明TSH和NAFLD的发生呈显著正相关,而FT4和NAFLD的发生呈显著负相关(表4)。同时我们采用LOGISTIC回归进行多因素分析,结果表明BMI、FT4、TSH是CHB患者合并NAFLD的独立预测因素(表5)。

**2.2 CHB合并NAFLD患者不同程度肝脂肪变的甲状腺功能资料的比较** 中重度脂肪变组的TSH水平显著高于轻度脂肪变组,且TSH水平和肝脂肪变程度呈剂量反应关系,差异具有统计学意义(P<0.01)(表6, 7)。

## 3 讨论

本研究探讨了在甲状腺功能正常的CHB患者中,甲状腺功能指标和NAFLD之间的关联。我们的研究结果表明在CHB合并NAFLD患者中,其血清TSH水平显著高于单纯CHB患者,而FT4水平显著低于单纯CHB患者。为了校正代谢性因素对NAFLD的影响,我们进行了多因素的LOGISTIC回归分析,结果表明BMI和TSH水平的增加,以及FT4水平的降低均是CHB患者合并NAFLD的独立危险因素。

表 1 慢性乙型肝炎合并肝脂肪变组和无肝脂肪变组一般临床资料的比较

组别	肝脂肪变组	无肝脂肪变组	统计量值	P值
例数	124	124		
年龄 (岁)	36.72 ± 10.59	36.47 ± 10.73	0.185	0.854
性别 (男/女)	82/42	82/42	0.0001	1
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	26.36 ± 4.65	22.91 ± 2.79	7.084	<0.001
HBeAg阳性, n (%)	80 (64.5)	71 (57.2)	1.371	0.242
HBV-DNA (log10拷贝/mL)	5.91 ± 2.44	5.54 ± 2.35	1.207	0.229
DM, n (%)	8 (6.5)	3 (2.4)	2.378	0.123
ALT (U/L)	91.26 ± 83.01	77.52 ± 84.93	1.288	0.199
AST (U/L)	54.53 ± 52.34	44.42 ± 31.30	1.845	0.066
TC (mmol/L)	4.58 ± 1.01	4.30 ± 0.91	2.301	0.022
TG (mmol/L)	1.24 ± 0.64	0.91 ± 0.37	4.922	<0.001
HDL (mmol/L)	1.10 ± 0.30	1.24 ± 0.33	-3.541	<0.001
LDL (mmol/L)	2.57 ± 0.76	2.30 ± 0.73	2.893	0.004

BMI: 体重指数; HBeAg: 乙型肝炎e抗原; HBV-DNA: 乙型肝炎病毒DNA; DM: 糖尿病; ALT: 丙氨酸氨基转移酶; AST: 天冬氨酸氨基转移酶; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白。

表 2 慢性乙型肝炎合并肝脂肪变组和无肝脂肪变组病理学炎症和纤维化分期的比较

组别	例数	G ≥ 2	S ≥ 2
肝脂肪变组	124	78 (62.9%)	46 (37.1%)
无肝脂肪变组	124	69 (55.6%)	48 (38.7%)
统计量值		1.353	0.069
P值		0.245	0.793

G: 肝脏炎症水平; S: 及纤维化程度。

表 3 慢性乙型肝炎合并肝脂肪变组和无肝脂肪变组甲状腺功能资料的比较

组别	例数	FT3 (pmol/L)	FT4 (pmol/L)	TSH (mIU/L)
肝脂肪变组	124	4.93 ± 0.65	15.67 ± 2.23	2.03 ± 1.08
无肝脂肪变组	124	4.90 ± 0.66	16.42 ± 2.06	1.62 ± 0.79
统计量值		0.296	-2.737	3.426
P值		0.768	0.007	0.001

FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素。

Xu等<sup>[10]</sup>进行的一项研究表明在甲状腺功能正常的NAFLD患者中, 随着TSH水平的增加以及FT4水平的降低, NAFLD的发生率也逐渐升高, 但是该研究局限在其纳入的人群都是基于影像诊断的NAFLD且都是65岁以上的老年人。Zhang等<sup>[11]</sup>进行的一项研究表明在甲状腺功能正常的患有NAFLD的女性患者中, 其TSH水平显著高于非NAFLD患者, 但是该研究纳入的人群都是基于超声诊断的NAFLD, 未行肝脏病理组织学检查, 而对于轻度的脂肪变超声的敏感度很低, 特异性亦有待提

高<sup>[12]</sup>。Liu等<sup>[13]</sup>进行的一项研究表明在甲状腺功能正常的中年人群中, 较高水平的FT3和NAFLD的发生呈显著相关, 并且该相关性独立于已知的代谢性危险因素, 但是该研究没有排除影响甲状腺功能的药物以及研究人群仅限于中年人。而在我们的研究中, 纳入的均是肝活检确诊的NAFLD的患者, 同时排除了服用可能影响甲状腺功能药物的患者。一项纳入3664例甲状腺功能正常人群的横断面研究表明, TSH在正常范围内的升高和脂质代谢密切相关, 并且该相关性独立于FT4对脂质代谢

表 4 甲状腺功能资料和非酒精性脂肪性肝病的发生相关性分析

甲状腺功能项目	r值	P值
FT3	0.018	0.774
FT4	-0.16	0.012
TSH	0.177	0.005

FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素。

表 5 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病的LOGISTIC回归分析

变量	b	Wald	P值	OR	95%CI
BMI	0.257	19.778	<0.001	1.293	1.154-1.447
DM	0.969	1.583	0.208	2.636	0.582-11.932
TC	-0.169	0.305	0.581	0.844	0.463-1.540
TG	0.525	1.689	0.194	1.691	0.766-3.736
HDL	-0.368	0.308	0.579	0.692	0.189-2.537
LDL	0.577	2.742	0.098	1.78	0.899-3.524
FT3	0.066	0.07	0.791	1.068	0.658-1.732
FT4	-0.149	4.225	0.04	0.861	0.747-0.993
TSH	0.478	7.045	0.008	1.614	1.133-2.297

BMI: 体重指数; DM: 糖尿病; TC: 总胆固醇; TG: 甘油三酯; HDL: 高密度脂蛋白; LDL: 低密度脂蛋白; FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素。

表 6 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病组中甲状腺功能资料的比较

组别	例数	FT3	FT4	TSH
轻度脂肪肝	104	4.96 ± 0.64	15.74 ± 2.27	1.92 ± 1.07
中重度脂肪肝	20	4.76 ± 0.64	15.30 ± 2.01	2.64 ± 0.98
统计量值		1.288	0.814	-2.813
P值		0.2	0.417	0.006

FT3: 游离三碘甲状腺原氨酸; FT4: 游离甲状腺素; TSH: 促甲状腺激素。

的影响。研究还表明TSH影响脂质代谢的机制可能有两点: 一是TSH直接作用于肝细胞的TSH受体进而影响肝内脂质代谢; 二是TSH通过影响甲状腺激素的水平从而间接影响肝内脂质代谢<sup>[14]</sup>。因此, 我们推测TSH和FT4可能通过不同的通路来影响肝内的脂质代谢, 进而引起肝内脂肪蓄积, 从而使得随着TSH水平的升高和FT4水平的降低, NAFLD的发生率也随之增加。

另外, 我们的研究还发现在NAFLD患者中, 中重度脂肪变组的TSH水平显著高于轻度脂肪变组。有研究报道建议将TSH的正常上限设为2.5 mIU/L<sup>[15,16]</sup>, 故我们根据TSH水平进一步将甲状腺功能正常(TSH: 0.27-4.2 mIU/L)的患者分为低水平TSH组(TSH: 0.27-2.5 mIU/L)和高水平TSH组(TSH: 2.5-4.2 mIU/L), 结果仍然显示肝脂肪变

的程度和TSH水平在正常范围内的升高存在一定关联, 且和TSH的浓度呈剂量反应关系即随着TSH水平的升高, 肝脂肪变的程度可能会加重。一项研究表明, 在甲状腺功能正常的人群中, 和较低TSH水平(TSH: 0.27-2.5 mIU/L)的人相比, 处于较高TSH水平(TSH: 2.5-4.2 mIU/L)的人更倾向于肥胖同时患代谢综合征可能性也更高<sup>[17]</sup>, NAFLD肝脂肪变的严重程度与肥胖、代谢综合征等密切相关, 故该研究的结果和我们的结论是类似的。有研究表明其可能的机制在于TSH直接或间接作用于肝脏, 使得肝内脂质蓄积继而伴随胰岛素抵抗的增加, 从而使外周脂肪脂肪组织分解增加, 血液中游离的脂肪酸被肝脏摄取增多, 使得肝脏脂肪变的程度逐渐加重<sup>[18]</sup>。由于本研究纳入的NAFLD患者中重度肝脂肪变患者样本



表 7 慢性乙型肝炎合并非酒精性脂肪性肝病组中不同程度肝脂肪变的TSH水平的比较

组别	例数	TSH 0.27–2.5 mIU/L	TSH 2.5–4.2 mIU/L
轻度脂肪肝	104	80	24
中重度脂肪肝	20	9	11
统计量值	8.438		
P值	0.004		

TSH: 促甲状腺激素.

量较少, 故仍需进一步大样本的前瞻性研究来验证甲状腺功能和NAFLD患者肝脂肪变程度之间的关联.

综上所述, 我们的研究发现在甲状腺功能正常的CHB患者中, 升高的TSH和降低的FT4水平很可能是NAFLD发生的独立预测因素, 并且TSH水平也和肝脂肪变严重程度相关. 这些研究结果有助于我们在CHB患者中预测NAFLD的发生, 因为合并的NAFLD会干扰抗病毒疗效, 同时NAFLD的早期发现也有助于降低CHB患者心血管和癌症风险, 特别是在甲状腺功能减退的患者中, 因为其发生NAFLD的可能性更大. 但鉴于本研究是一项回顾性研究, 无法说明因果联系, 故仍需后续研究来进一步验证.

文章亮点

实验背景

慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)是国内最常见的慢性肝病之一, 随着生活水平的改善, 非酒精性脂肪性肝病(non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)的发生率正在逐年增加, 两者共存的现象在临床上变得越来越普遍. 甲状腺激素在脂质代谢方面扮演着重要的角色, 一些研究已表明其在正常范围内的波动也会造成一系列的健康问题, 如动脉粥样硬化等, 故对于甲状腺功能和NAFLD之间的关联也逐渐成为现在的研究热点.

实验动机

NAFLD的早期诊断有利于评估CHB患者抗病毒疗效, 以及降低其心血管疾病的发生. 一些学者已报道甲状腺功能减退症和NAFLD的发生密切相关, 由于在CHB患者中出现甲状腺功能异常患者较少见, 故在甲状腺功能正常的CHB患者中, 探讨甲状腺功能参数和NAFLD之间的关联是迫切需要的.

实验目标

在甲状腺功能正常的CHB患者中, 探讨NAFLD和甲状腺功能参数之间的关联. 我们的研究确定了促甲状腺

激素(thyroid stimulating hormone, TSH)、游离甲状腺素(free thyroxine, FT4)和NAFLD之间存在独立相关, 未来是否可将其并入NAFLD的无创诊断预测模型, 还有待进一步探索.

实验方法

本研究所有入组患者均进行肝组织病理活检, 并对入选患者进行了年龄、性别相匹配, 采用电化学发光法测定甲状腺功能, 组间的比较采用t检验或 $\chi^2$ 检验, 采用LOGISTIC回归分析进行多变量分析.

实验结果

本研究的结果表明在甲状腺功能正常的CHB患者中, 其血清TSH水平明显高于单纯CHB患者, 而FT4水平明显低于单纯CHB患者. 同时我们的多因素LOGISTIC回归分析结果也表明TSH水平的增加和FT4水平的降低是CHB患者合并NAFLD的独立危险因素.

实验结论

我们的研究发现在甲状腺功能正常的CHB患者中, 升高的TSH和降低的FT4水平很可能是NAFLD发生的独立危险因素, 并且TSH水平也和肝脂肪变严重程度相关. 该发现有助于在CHB患者中预测NAFLD的发生, 从而有助于抗病毒治疗策略的合理选择, 以及降低CHB患者心血管和癌症风险, 同时也为NAFLD的药物治疗提供了潜在的干预靶点.

展望前景

本研究属于单中心回顾性研究, 未来是否应该考虑将甲状腺功能参数并入无创诊断评分模型, 以用于在CHB患者中对NAFLD进行筛选, 还有待更大样本量的、多中心、前瞻性的临床研究来进一步验证.

4 参考文献

1 Spradling PR, Bulkow L, Teshale EH, Negus S, Homan C, Simons B, McMahon BJ. Prevalence and causes of elevated serum aminotransferase levels in a population-based cohort of

- persons with chronic hepatitis B virus infection. *J Hepatol* 2014; 61: 785-791 [PMID: 24911461 DOI: 10.1016/j.jhep.2014.05.045]
- 2 Pagadala MR, Zein CO, Dasarathy S, Yerian LM, Lopez R, McCullough AJ. Prevalence of hypothyroidism in nonalcoholic fatty liver disease. *Dig Dis Sci* 2012; 57: 528-534 [PMID: 22183820 DOI: 10.1007/s10620-011-2006-2]
  - 3 Chung GE, Kim D, Kim W, Yim JY, Park MJ, Kim YJ, Yoon JH, Lee HS. Non-alcoholic fatty liver disease across the spectrum of hypothyroidism. *J Hepatol* 2012; 57: 150-156 [PMID: 22425701 DOI: 10.1016/j.jhep.2012.02.027]
  - 4 van Tienhoven-Wind LJ, Dullaart RP. Low-normal thyroid function and novel cardiometabolic biomarkers. *Nutrients* 2015; 7: 1352-1377 [PMID: 25690422 DOI: 10.3390/nu7021352]
  - 5 Dullaart RP, de Vries R, Roozendaal C, Kobold AC, Sluiter WJ. Carotid artery intima media thickness is inversely related to serum free thyroxine in euthyroid subjects. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2007; 67: 668-673 [PMID: 17596198 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2007.02943.x]
  - 6 Di Domenicantonio A, Politti U, Marchi S, De Bortoli N, Giuggioli D, Antonelli A, Ferri C. A review on thyroid autoimmune disorders and HCV chronic infection. *Clin Ter* 2014; 165: e376-e381 [PMID: 25366958 DOI: 10.7417/T.2014.1768]
  - 7 National Workshop on Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease, Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Fatty Liver Expert Committee, Chinese Medical Doctor Association. Guidelines of prevention and treatment for nonalcoholic fatty liver disease: a 2018 update. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2018; 26: 195-203 [PMID: 29804393 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2018.03.008]
  - 8 Chinese Society of Hepatology, Chinese Medical Association. Chinese Society of Infectious Diseases, Chinese Medical Association, Hou JL, lai W. The guideline of prevention and treatment for chronic hepatitis B: a 2015 update. *Zhonghua Gan Zang Bing Za Zhi* 2015; 23: 888-905 [PMID: 26739464 DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-3418.2015.12.002]
  - 9 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案. *中华肝脏病杂志* 2000; 8: 324-329 [DOI: 10.3760/j.issn.1007-3418.2000.06.001]
  - 10 Xu C, Xu L, Yu C, Miao M, Li Y. Association between thyroid function and nonalcoholic fatty liver disease in euthyroid elderly Chinese. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2011; 75: 240-246 [PMID: 21521285 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2011.04016.x]
  - 11 Zhang J, Sun H, Chen L, Zheng J, Hu X, Wang S, Chen T. Relationship between serum TSH level with obesity and NAFLD in euthyroid subjects. *J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci* 2012; 32: 47-52 [PMID: 22282244 DOI: 10.1007/s11596-012-0008-8]
  - 12 Bohte AE, van Werven JR, Bipat S, Stoker J. The diagnostic accuracy of US, CT, MRI and 1H-MRS for the evaluation of hepatic steatosis compared with liver biopsy: a meta-analysis. *Eur Radiol* 2011; 21: 87-97 [PMID: 20680289 DOI: 10.1007/s00330-010-1905-5]
  - 13 Liu G, Zheng X, Guan L, Jiang Z, Lin H, Jiang Q, Zhang N, Zhang Y, Zhang X, Yu C, Guan Q. Free triiodothyronine levels are positively associated with non-alcoholic fatty liver disease in euthyroid middle-aged subjects. *Endocr Res* 2015; 40: 188-193 [PMID: 25531861 DOI: 10.3109/07435800.2014.987399]
  - 14 Wang F, Tan Y, Wang C, Zhang X, Zhao Y, Song X, Zhang B, Guan Q, Xu J, Zhang J, Zhang D, Lin H, Yu C, Zhao J. Thyroid-stimulating hormone levels within the reference range are associated with serum lipid profiles independent of thyroid hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 2012; 97: 2724-2731 [PMID: 22730515 DOI: 10.1210/jc.2012-1133]
  - 15 Brabant G, Beck-Peccoz P, Jarzab B, Laurberg P, Orgiazzi J, Szabolcs I, Weetman AP, Wiersinga WM. Is there a need to redefine the upper normal limit of TSH? *Eur J Endocrinol* 2006; 154: 633-637 [PMID: 16645008 DOI: 10.1530/eje.1.02136]
  - 16 Wartofsky L, Dickey RA. The evidence for a narrower thyrotropin reference range is compelling. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90: 5483-5488 [PMID: 16148345 DOI: 10.1210/jc.2005-0455]
  - 17 Ruhla S, Weickert MO, Arafat AM, Osterhoff M, Isken F, Spranger J, Schöfl C, Pfeiffer AF, Möhlig M. A high normal TSH is associated with the metabolic syndrome. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2010; 72: 696-701 [PMID: 20447068 DOI: 10.1111/j.1365-2265.2009.03698.x]
  - 18 Bugianesi E, McCullough AJ, Marchesini G. Insulin resistance: a metabolic pathway to chronic liver disease. *Hepatology* 2005; 42: 987-1000 [PMID: 16250043 DOI: 10.1002/hep.20920]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

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

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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



## 2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;



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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079



# 世界华人消化杂志®

## WORLD CHINESE JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2019 年 9 月 28 日 第 27 卷 第 18 期 (Volume 27 Number 18)



### 18/2019

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

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





### 述评

- 1107 非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用

刘树业

- 1114 细胆管癌的临床病理特征

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰

### 基础研究

- 1118 二甲基砷对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价

王婷, 林佳

- 1125 内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾

### 临床研究

- 1133 前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送

- 1142 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超

### 文献综述

- 1149 胃内微生态与胃部疾病的关系研究进展

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽

- 1155 MicroRNA-146a生物学作用的研究进展

吴慧, 范恒, 刘星星

### 临床实践

- 1161 经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝细胞癌残留状态的增强CT与超声造影比较

黄浩峰, 庞强

### 病例报告

- 1167 食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习

云晓静, 白玉煊, 敬长春

## 消 息

- 1124 《世界华人消化杂志》栏目设置  
1132 《世界华人消化杂志》正文要求  
1141 《世界华人消化杂志》修回稿须知  
1166 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

## 封面故事

黄砚萍, 副主任护师, 硕士生导师, 中国中医科学院西苑医院, 兼任中华护理学会内科专业委员会专家库成员, 北京护理学会内科专业委员会消化病学组秘书, 北京护理学会中医护理专业委员会委员, “冯运华”中医护理传承弟子. 北京中医药大学教师资格, 《世界华人消化杂志》编委及审稿人. 曾获中国中医药学会科学技术三等奖. 带领护理团队创新三项特色服务: 感动服务、陪检服务、握手交接班, 受到患者一致好评, 事迹被登载在《学习强国》App北京平台上. 创新三项特色技术: 耳穴三步曲、砭石熨摩中药透入法, 两项技术被登载在健康时报网络客户端, 在全院形成辐射作用. 引导性音乐想象技术被登载在生命时报中医版上. 获批三项实用新型专利: 防针刺伤指套、耳部砭石刮痧器、控烟艾灸盒, 获批两项著作权: 引导性想象技术-参观苹果园、乡村漫步, 主编专业著作1部, 科普著作4部.

## 本期责任人

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

## 世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名

陈可冀 题写版权刊名

(半月刊)

创 刊 1993-01-15

改 刊 1998-01-25

出 版 2019-09-28

原刊名 新消化病学杂志

期刊名称

世界华人消化杂志

国际标准连续出版物号

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

主编

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

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

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

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

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

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

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

王俊平, 教授, 030001, 山西省太原市, 山西省人民医院消化科

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

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

张宗明, 教授, 100073, 北京市, 首都医科大学北京电力医院普外科

编辑委员会

编辑委员会成员在线名单, 详见:

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

编辑部

马亚娟, 主任

《世界华人消化杂志》编辑部

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<http://www.wjgnet.com>

出版

巴伊登登出版有限公司

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

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

制作

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

电话: 010-85381892

传真: 010-85381893

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

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

特别声明

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

定价

每期136.00元 全年24期3264.00元

© 2019 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

## Contents

Volume 27 Number 18 Sept 28, 2019

## EDITORIAL

- 1107 Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma  
*Liu SY*
- 1114 Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma  
*Yang XW, Fu XH, Zhang YJ*

## BASIC RESEARCH

- 1118 Protective effect of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice  
*Wang T, Lin J*
- 1125 Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice  
*Ma CG, Mao LQ, Ying X, Wang SS, Li M, Zhang L, Wang X, Lv B*

## CLINICAL RESEARCH

- 1133 Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer  
*Zhang JB, Wang HH, Wang WB, Wang HY, Lu YM, Yu XF, Teng LS*
- 1142 Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing  
*Huan H, Hu H, Chen XH, Gao WN, Li LL, Li J, Deng K, Liu C*

## REVIEW

- 1149 Gastric microflora and gastric disease  
*Liu F, Liang T, Li YS, Bai S, Kang LL*
- 1155 Biological role of microRNA-146a  
*Wu H, Fan H, Liu XX*

## CLINICAL PRACTICE

- 1161 Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization  
*Huang HF, Pang Q*

## CASE REPORT

- 1167 Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature  
*Yun XJ, Bai YH, Jing CC*



## Contents

*World Chinese Journal of Digestology*  
Volume 27 Number 18 Sept 28, 2019

### COVER

Editorial Board Member of *World Chinese Journal of Digestology*, Huang Yan-Ping, Associate Chief Nurse, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Science (CACMS), No.1, Xiyuancaozhang Road, Haidian District, Beijing 100091, China

### Indexed/Abstracted by

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

### RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE

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

### Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

**Founded** on January 15, 1993

**Renamed** on January 25, 1998

**Publication date** September 28, 2019

#### NAME OF JOURNAL

*World Chinese Journal of Digestology*

#### ISSN

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

#### EDITOR-IN-CHIEF

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

#### EDITORIAL BOARD MEMBERS

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

#### EDITORIAL OFFICE

Ya-Juan Ma, Director

*World Chinese Journal of Digestology*

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PUBLISHER

Baishideng Publishing Group Inc

7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton, CA 94588, USA

Fax: +1-925-223-8242

Telephone: +1-925-223-8243

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

<https://www.wjgnet.com>

#### PRODUCTION CENTER

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

Telephone: +86-10-85381892

Fax: +86-10-85381893

#### PRINT SUBSCRIPTION

RMB 136 Yuan for each issue

RMB 3264 Yuan for one year

#### COPYRIGHT

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

#### SPECIAL STATEMENT

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

#### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

## 非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用

刘树业

刘树业, 天津市第三中心医院检验科 天津市 300170

刘树业, 主任技师, 研究方向为基于液质联用蛋白质组学方法的肝脏肿瘤诊断新技术, 新型肝病诊断方法、试剂以及肝癌个体化诊疗代谢标志物研究。

作者贡献分布: 本文写作由刘树业独立完成。

通讯作者: 刘树业, 主任技师, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市第三中心医院检验科。lshye@163.com  
电话: 022-24384350

收稿日期: 2019-03-18

修回日期: 2019-06-03

接受日期: 2019-06-24

在线出版日期: 2019-09-28

### Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma

Shu-Ye Liu

Shu-Ye Liu, Clinical Laboratory, Tianjin Third Central Hospital, Tianjin 300170, China

Corresponding author: Shu-Ye Liu, Chief Technician, Clinical Laboratory, Tianjin Third Central Hospital, 83 Jintang Road, Hedong District, Tianjin 300170, China. lshye@163.com

Received: 2019-03-18

Revised: 2019-06-03

Accepted: 2019-06-24

Published online: 2019-09-28

### Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is an aggressive tumor with a poor prognosis. Non-coding RNAs (ncRNAs) are RNAs transcribed from the genome but not translated

into protein. In recent years, ncRNAs have been recognized to be key factors in tumorigenesis because of their ability to regulate multiple targets, cell proliferation, differentiation, apoptosis, and development. In this review, we discuss the pathological significance of ncRNAs (microRNAs, long-chain non-coding RNAs, and cyclic RNAs) in the development and progression of HCC. We also discuss the potential role of ncRNAs in the diagnosis and treatment of HCC.

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

Key Words: Hepatocellular carcinoma; MicroRNA; LncRNA

Liu SY. Abnormal regulation of non-coding RNAs plays a role in development and progression of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1107-1113  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1107.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1107>

### 摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是一种预后较差、侵袭性较强的肿瘤。非编码RNA(non-coding RNAs, ncRNAs)是从基因组中转录出来但不被翻译成蛋白质的RNA。近年来,因其具有调节多种靶点、调节细胞增殖、分化、凋亡和发育的能力,ncRNAs成为肿瘤发生发展的关键因素。在本文中,我们讨论了ncRNAs(microRNA、长链非编码RNA和环状RNA)及在HCC发生和发展中的病理意义,探讨ncRNA对HCC的诊断和治疗潜力。

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

关键词: 肝细胞癌; microRNA; 长链非编码RNA

**核心提要:** 研究发现非编码RNA在肿瘤的发生发展与转移中作用重要, 具较强诊断和治疗潜力, 利于精准诊疗. 但这些研究仍处于起步阶段, 进一步研究肝脏ncRNAs与疾病进展的关系将是解决包括肝细胞癌在内的肝脏疾病的关键.

刘树业. 非编码RNA调节异常在肝细胞癌发生发展中的作用. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1107-1113

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1107.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1107>

## 0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是常见恶性肿瘤之一, 恶性程度极高, 侵袭能力强, 易转移, 预后较差, 严重危害人类健康. HCC是多种基因突变包括表观遗传改变、染色体易位、缺失和增加等都存在的复杂疾病, 其产生的确切分子机制尚不完全清楚. HCC细胞极易侵袭门静脉系统形成癌栓, HCC门静脉癌栓的形成是影响HCC预后的重要因素. HCC起病隐匿, 早期缺乏明显的临床症状, 研究发现高效的HCC标志物有助于诊断HCC, 提高疗效, 改善预后. 目前HCC的诊断主要依靠甲胎蛋白(alpha fetoprotein, AFP)和影像学技术. 然而, AFP敏感性较低, 诊断早期HCC的能力有限<sup>[1]</sup>. 近有证据表明非编码RNA(Non-coding RNAs, ncRNAs)与HCC的发生、发展、诊断、治疗和预后等密切相关, 可作为HCC早期诊断的新型分子标志物和新的有效治疗靶点.

HCC发生过程复杂. 肝脏多次暴露于非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酗酒和病毒感染等容易引起纤维化和肝硬化的疾病后, 经过一系列不良增生和发育变化, 最终发展成HCC. 从微观角度看, HCC则是癌基因和抑癌基因在细胞增殖、血管生成、凋亡、细胞迁移和转移等过程中的调控紊乱所致. 其中, c-MET信号通路<sup>[2]</sup>、磷脂酰肌3-激酶(PI3 K/Akt/mTOR通路)<sup>[3]</sup>、Wnt/ $\beta$ -catenin通路<sup>[4]</sup>、TGF- $\beta$ 信号通路<sup>[5]</sup>等是影响细胞增殖、侵袭和转移的关键分子通路.

ncRNAs是由DNA转录但不翻译成蛋白质的功能性RNA. ncRNAs通过与DNA或RNA结合调节基因表达, 导致其基因转录和翻译过程中降解或改变<sup>[5]</sup>. ncRNAs作为一类特殊的RNA分子, 包括微小RNA(microRNA, miRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和环状RNA(circle RNA, circRNA), 具有调控基因表达、参与表观遗传修饰、细胞增殖及细胞凋亡等多种生命活动的功能, 参与生长、分化、发育、免疫, 甚至在肿瘤的形成等多种生物学进程.

ncRNAs在HCC中的研究是目前比较前沿的研

究领域, 现就ncRNAs(主要包括miRNA、lncRNA和circRNA)在HCC中的研究进展进行述评.

## 1 miRNA与HCC

ncRNAs中研究最多的是miRNA, miRNA是一种内源性小ncRNAs分子, 大约由21-25个核苷酸组成, 主要促进靶基因的转录后调控. 原代miRNA通过RNA聚合酶II从miRNA基因转录而来<sup>[6]</sup>. 大于60%的蛋白编码基因的翻译由miRNA调控<sup>[7]</sup>. miRNA调节细胞增殖、凋亡、分化和发育. 一个miRNA能够抑制多个基因的表达, 多个miRNA也能共同作用一个靶点.

miRNA在肝脏中扮演着维持肝脏稳态的关键角色. miRNA失调与肝脏疾病(如病毒感染、炎症、脂糖代谢等)相关, 并促进HCC进展. miR-122, miR-192, miR-21, miR-223, miR-26a, miR-27a and miR-801等7个miRNA联合诊断早期HCC, 对小于2 cm的HCC诊断准确率接近90%, 效果优于传统检测方法<sup>[8]</sup>.

**1.1 miRNA促进HCC发生和进展** 在HCC中, miRNA失调导致靶基因异常表达, 促进异常细胞生长、分化、血管生成导致HCC的发生、进展、侵袭和转移. 肝细胞特异性Dicer-1 KO小鼠自发形成HCC意味着肝脏miRNA在HCC中发挥重要生物学作用<sup>[9]</sup>. 此外, Dicer-1 KO小鼠肝脏中4种肝细胞特异性miRNA(miR-122、-148a、-192和-194)明显下调.

在肝细胞中, miR-122对维持肝细胞分化和脂质代谢调节等生理功能至关重要<sup>[10]</sup>. miR-122 KO小鼠在经历肝炎、脂肪肝、纤维化后, 发展为自发性HCC<sup>[11]</sup>. 在NASH啮齿模型中, miR-122水平在HCC发生和进展过程中降低<sup>[12]</sup>, 其靶基因, 包括ADAM10、血清应答因子、胰岛素类生长因子1受体<sup>[13]</sup>和Wnt1<sup>[14]</sup>, 参与HCC进展. 在HCC患者中, miR-122低表达与不良预后和转移相关<sup>[15]</sup>, 其缺失促进细胞迁移和侵袭等运动特性. 此外, miR-122和c-Myc之间的负反馈循环促进HCC进展. miR-122通过靶向调节Tfdp2和E2f1来抑制c-Myc的表达, 而c-Myc则通过转录抑制miR-122表达<sup>[16]</sup>. miR-122还通过靶向调控Snail1和Snail2以及抑制Wnt/ $\beta$ -catenin通路, 抑制HCC中的EMT<sup>[17]</sup>, 过表达miR-122可减弱EMT启动子基因Gal2对c-Met、ERK、STAT3、Akt/mTOR通路的影响, 抑制HCC的增殖和凋亡<sup>[18]</sup>.

miR-148a抑制与HCC中 $\alpha$ -胎蛋白水平高、TNM分期差、无复发生存率低有关. 门静脉肿瘤血栓患者中miR-148a水平下降<sup>[19]</sup>. 研究发现miR-148a在HCC微血管浸润患者中水平也比较低. 小鼠miR-148a缺失促进二乙基亚硝胺诱导HCC形成<sup>[20]</sup>. 同样, 肝脏PTEN缺失的小鼠miR-148a过表达抑制肿瘤生长<sup>[21]</sup>. 此外, miR-148a失调



与HCC预后不良有关. 在原位肝移植模型中, miR-148a上调通过直接抑制c-Met进而抑制EMT和细胞侵袭, 减少锌指转录因子Snail的核积聚<sup>[15]</sup>, 抑制细胞向肺部迁移; 其降低导致HPIIP/AKT/ERK/FOXO4/ATF5/mTOR通路激活, 促进EMT、侵袭和转移<sup>[14]</sup>. 而miR-148a靶点之一的USP4过表达通过激活TGF- $\beta$ 通路促进HCC进展<sup>[22]</sup>.

miR-192失调与HCC预后不良相关<sup>[23]</sup>. HCC患者miR-192水平降低, 在微血管浸润或肿瘤体积较大的标本中miR-192水平更低<sup>[18]</sup>. miR-192通过靶向溶质载体家族39成员6(SLC39A6)抑制HCC细胞转移, 进而上调E-cadherin, 下调锌指转录因子Snail表达; 以转录后方式抑制lncRNA HOTTIP表达, 降低HCC细胞生存能力<sup>[24]</sup>; 抑制p53介导的ZEB2, 抑制HCC细胞中EMT<sup>[25]</sup>. Mir-194监管肝脏Wnt配体的膜受体信号Fzd6. 体外实验显示miR-194在肝上皮细胞中高度表达, 在二乙基亚硝胺诱导的FXR<sup>-/-</sup> HCC模型中表达水平降低<sup>[26]</sup>. 研究发现miR-194抑制多个与EMT和转移相关的基因(如CDH2和RAC1). 另外, HNF1a是肝细胞功能的重要调控因子, 其过表达可重建miR-192、194等肝脏特异性基因的表达, 抑制细胞增殖<sup>[27]</sup>.

**1.2 miRNA在HCC临床应用中的意义** miRNA可作为HCC的重要预后标志物. 比如miR-122水平与HCC的肿瘤大小和转移负相关<sup>[28]</sup>, miR-148a失调与HCC患者生存率降低有关<sup>[29]</sup>. miR-192也是HCC患者预后的独立预测因子<sup>[23]</sup>. miR-194的降低与HCC患者肿瘤大小、组织学分级、肝内转移等临床病理参数存在显著相关性<sup>[29]</sup>. 此外, miR-199a可作为HCC患者无瘤生存降低的独立预测因子. miR-135a上调在HCC门静脉肿瘤血栓中得到证实<sup>[30]</sup>.

血清miR-221水平升高与HCC患者肿瘤大小、TNM分期和总生存率相关. 此外, 循环miR-221水平与晚期HCC患者索拉非尼治疗反应相关, 可用于预测治疗反应率<sup>[31]</sup>. 在血液标本中, miR-21、miR-148a、miR-192和miR-224对HCC具有显著的预测价值<sup>[32]</sup>. HCC患者血清中miR-20a-5p、miR-320a、miR-324-3p和miR-375水平升高, 可诊断早期HCC<sup>[33]</sup>. miR-15b和miR-130b水平也升高<sup>[31]</sup>, 与HCC传统血清标志物相比, 血清miR-16敏感性更高<sup>[34]</sup>.

随研究进展, 专注于调控miRNA的策略将是治疗HCC的一种新方法. 多种miRNA在不同肝脏疾病中的调控已显示出其在治疗HCC中的潜在有效性. miR-122是一种肝特异性肿瘤抑制因子, 向miR-122 KO小鼠中注射miR-122a表现为HCC癌变和进展受损, 上调miR-122可能是一种成功治疗HCC的策略<sup>[35]</sup>. 另一项研究证实, 瘤内注射miR-122能增强异种移植模型中索拉

非尼对HCC的抗肿瘤作用<sup>[36]</sup>. 此外, miR-26a在HCC小鼠模型中通过诱导肿瘤特异性细胞周期阻滞和凋亡抑制肿瘤发生. 相反, 通过释放anti-miR-221寡核苷酸抑制致癌基因miR-221可使肿瘤生长显著下降<sup>[37]</sup>.

## 2 lncRNA与HCC

lncRNA长度超过200 nt, 转录和处理与蛋白编码基因相同, 是哺乳动物非编码转录组的主要组成部分. 其保守性差, 基因表达调控机制尚不完全清楚<sup>[38]</sup>. 近年来大量研究表明lncRNA通过在转录、转录后以及表观遗传水平参与基因的表达调控, 并以此影响肿瘤细胞的增殖、凋亡、侵袭及转移等过程, 与HCC发生、发展的病理生理机制及患者预后密切相关. 因此lncRNA有潜力作为疾病诊断的标志物和潜在的药物靶点, 研究成果将有助于开发新型靶向治疗方案, 意义重大.

**2.1 lncRNA与HCC发生发展的关系** HULC是高度保守的lncRNA, 也是HCC中上调最多的基因. HULC与HCC患者的PTEN、miR-15a表达负相关, 促进恶性进展<sup>[39]</sup>. HULC作为miR-9、miR-107和miR-372等miRNA海绵, 分别诱导PPARA、E2F1和CREB, 从而促进HCC发展<sup>[40]</sup>. lncRNA MALAT1在HCC中上调, 通过上调SRSF1和激活mTOR通路发挥致癌基因的作用<sup>[41]</sup>.

相比之下, 人类母系表达基因3(MEG3)、AOC4P和DREHL ncRNA具有肿瘤抑制作用. MEG3被认为是HCC的独立预后因素, 因为与HCC患者中MEG3的高表达相比, MEG3的低表达与较差的总生存率和无复发生存率相关<sup>[42]</sup>. MEG3过表达明显抑制细胞生长, 激活细胞凋亡<sup>[43]</sup>. 同样, 在HCC患者中AOC4P表达显著抑制, 与TNM分期、包膜浸润、血管浸润呈负相关<sup>[44]</sup>.

lncRNA在EMT和转移中也发挥着关键作用. lncRNA-NEF被EMT抑制因子FOXA2转录激活, 显著抑制EMT和细胞迁移<sup>[45]</sup>. lncRNA CPS1-IT1通过抑制HIF-1a和抑制EMT发挥抑癌作用<sup>[46]</sup>. ZEB1-as1通过上调ZEB1促进EMT和转移<sup>[47]</sup>, 在HCC样本尤其是转移瘤组织中升高.

HULC还通过与miR-200a竞争, 诱导EMT, 促进肿瘤进展和转移<sup>[48]</sup>. Jang等<sup>[48]</sup>发现HULC的表达与TNM分期、肝内转移、HCC复发和术后生存相关. lncRNA-ATB在HCC组织中也显著升高, 且与肝内或肝外转移呈正相关. Li等<sup>[49]</sup>研究发现, LINC01138高表达的HCC患者肿瘤体积较大, 且高表达与HCC患者的AFP含量以及乙肝表面抗原阳性呈正相关, 而且高表达HCC患者预后较差. 体外与体内功能实验揭示LINC01138可以显著促进HCC细胞的增殖、侵袭与转移能力. Zhang等<sup>[50]</sup>在HCC中通过RNA-Seq的方法鉴定到了一种肿瘤特异性

的LIN28B转录本变异体LIN28B-TST, 并且发现该转录本的表达受DNA甲基化的调控, 该转录本编码一种具有外加N端氨基酸序列的蛋白异构体, 对于促进肿瘤的增殖生长具有重要作用。

**2.2 lncRNA与HCC临床诊治中的潜在应用价值** lncRNA在肝组织中特异性表达。通过meta分析发现AFAP-AS1、HOTTIP、ZEB-1-AS1等27种lncRNA高表达与预后不良密切相关, GAS5、MEG3、XIST等18种lncRNA低表达会加剧恶化<sup>[51]</sup>。

HCC患者HULC水平升高, 且与Edmondson组织学分级呈正相关<sup>[52]</sup>。UCA1和WRAP53的表达增加也与肿瘤恶性程度相关。此外, 结合lncRNA和血清AFP联合检测可提高HCC诊断的敏感性<sup>[53]</sup>。分析血清中uc001ncr和AX800134表达情况发现lncRNA有可能成为诊断HCC的新型标志物, 尤其当早期HCCAFP小于等于400 ng/mL时<sup>[44]</sup>。

除此之外, RP11-160H22.5、XLOC\_014172和LOC149086等3种潜在的诊断lncRNA也被提出, 其中XLOC\_014172和LOC149086在转移性HCC患者中均显著升高<sup>[54]</sup>。总结出HCC相关ncRNA, 如HULC, Linc00152, HEIH, HOTTIP, HOTAIR, MALAT1, DILC, ZFAS1, MEG3, PRAL, LALR1, LET, MVIH, PCNA-AS, TUC338, UC001NCR。

MRX34是包裹在脂质体纳米颗粒中的miR-34a合成版本, 在一期临床试验中显示出HCC抗肿瘤活性<sup>[55]</sup>。第一种miRNA靶向药物米雷韦森(miravirsen), 一种lncRNA修饰的anti-miR-122 DNA-RNA杂化寡核苷酸, 正在进行慢性丙肝治疗的II期临床试验<sup>[56]</sup>。

### 3 环状RNA与HCC

circRNA是封闭的环状分子, 作为ncRNA家族的一部分, circRNA通常以组织和发育阶段特异性方式表达, 而且表达丰度高。它在疾病的变化发展中先于蛋白类标志物, 在血清中表达很稳定, 因此它作为HCC早期诊断及预后的标志物具有很好的临床应用前景。

**3.1 环状RNA在HCC发生、进展中的作用** 环状RNA在HCC的发生发展发挥着重要作用。CDRIas(Hsa\_circ\_0001946)通过靶向抑制miR-7功能提高HCC细胞的增殖能力<sup>[57]</sup>; circMT01(Hsa\_circ\_0007874)通过充当miR-9的分子海绵进而提高P21表达实现抑癌作用<sup>[58]</sup>; circRNA\_000839(Hsa\_circ\_0000497)可能通过与miR-200b和RhoA的相互作用影响HCC发生和发展<sup>[59]</sup>; circITC H通过抑制Wnt/p-Catenin pathway信号通路抑制HCC<sup>[60]</sup>。Hsa\_circ\_0001649可通过靶向SHPRH基因来发挥其抑制HCC的作用<sup>[61]</sup>CircHIPK3

(Hsa\_circ\_0000284)可以作为miR-124的分子海绵促进HCC细胞生长<sup>[62]</sup>; 与HCC的发生密切相关的circFUT8(Hsa\_circ\_0003028), circZFR(Hsa\_circ\_103809)以及circIP011(Hsa\_circ\_0007915)可靶向多个miRNA发挥作用<sup>[63]</sup>; cSMARCAS(Hsa\_circ\_0001445)通过充当miR-17-3p和miR-181b-5p的分子海绵促进抑癌基因TIMP3的表达, 从而抑制HCC细胞的增殖和转移; CircC3P1通过对miR-4641的海绵作用促进PCK1的表达, 从而发挥其抑制HCC生长及转移的作用<sup>[64]</sup>。

**3.2 环状RNA在HCC诊断与治疗中的应用** circRNA有望成为理想的HCC分子标志物。Yao等<sup>[65]</sup>通过建立受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)评估circZKSCAN1(Hsa\_circ\_0001727)在鉴别HCC组织及邻近正常组织时的价值, 发现其受试者工作特征曲线下面积((area under curve, AUC)为0.834, 灵敏度为82.2%, 特异度为72.4%; Qin等<sup>[66]</sup>通过ROC曲线评估Hsa\_circ\_0001649在鉴别HCC组织及邻近正常组织的AUC为0.63, 灵敏度为0.81, 特异度为0.69。Shang等<sup>[67]</sup>发现Hsa\_circ\_0005075鉴别HCC组织和癌旁正常组织时AUC为0.94, 灵敏度为83.3%, 特异度为90.0%; ROC曲线评估血浆Hsa\_circ\_0001445诊断HCC患者较AFP具有更高的灵敏度, 在鉴别HCC患者和正常人时其AUC为0.862, 灵敏度为71.2%, 特异度为94.2%。

另外, Hsa\_circ\_0016788可以通过miR-486/CDK4信号通路促进HCC细胞生长, 表明Hsa\_circ\_0016788在HCC治疗中具有很大的研究价值<sup>[68]</sup>。Hsa\_circ\_0067934可以通过抑制miR-1324的功能以及激活FZD5/β-catenin信号通路提高HCC细胞增殖、转移、侵袭的能力, 提示Hsa\_circ\_0067934/miR-1324/FZD5/β-catenin信号轴有望成为HCC治疗的新靶标<sup>[69]</sup>。

### 4 结论

ncRNAs的异常表达与人类各种疾病尤其与恶性肿瘤的发生发展密切相关, 相关研究已成为当今HCC研究领域的热点和重要科学问题。近年研究对ncRNAs在人类恶性肿瘤特别是HCC中的作用、分子机制及临床意义进行了深入系统的探索, 取得系列创新性研究成果, 充分揭示ncRNAs不仅在肿瘤的发生发展与转移中发挥重要作用, 而且可作为癌症诊断与分型、转移复发与预后预测分子标志物; 另外, ncRNAs还可以作为癌症治疗靶标及新的治疗手段, 为肿瘤精准诊断与精准治疗带来新的机遇。

然而, ncRNAs数量繁多, 大部分ncRNAs功能及调控机制有待进一步明确。虽然已经发现多种与HCC发生发展及转移密切相关的ncRNAs。而且, 几种基于



ncRNAs的癌症治疗方法已在临床试验中得到检验,但这些研究仍处于起步阶段. 因此,进一步研究肝脏ncRNA与疾病进展的关系将是解决包括HCC在内的肝脏疾病的关键.

## 5 参考文献

- Chen DS, Sung JL, Sheu JC, Lai MY, How SW, Hsu HC, Lee CS, Wei TC. Serum alpha-fetoprotein in the early stage of human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 1984; 86: 1404-1409 [PMID: 6201411]
- Goyal L, Muzumdar MD, Zhu AX. Targeting the HGF/c-MET pathway in hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2013; 19: 2310-2318 [PMID: 23388504 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-12-2791]
- Kirstein MM, Boukouris AE, Pothiraju D, Buitrago-Molina LE, Marhenke S, Schütt J, Orlik J, Kühnel F, Hegermann J, Manns MP, Vogel A. Activity of the mTOR inhibitor RAD001, the dual mTOR and PI3-kinase inhibitor BEZ235 and the PI3-kinase inhibitor BKM120 in hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2013; 33: 780-793 [PMID: 23489999 DOI: 10.1111/liv.12126]
- Tornesello ML, Buonaguro L, Tatangelo F, Botti G, Izzo F, Buonaguro FM. Mutations in TP53, CTNNB1 and PIK3CA genes in hepatocellular carcinoma associated with hepatitis B and hepatitis C virus infections. *Genomics* 2013; 102: 74-83 [PMID: 23583669 DOI: 10.1016/j.ygeno.2013.04.001]
- Geisler S, Collier J. RNA in unexpected places: long non-coding RNA functions in diverse cellular contexts. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 699-712 [PMID: 24105322 DOI: 10.1038/nrm3679]
- Lee Y, Jeon K, Lee JT, Kim S, Kim VN. MicroRNA maturation: stepwise processing and subcellular localization. *EMBO J* 2002; 21: 4663-4670 [PMID: 12198168]
- Friedman RC, Farh KK, Burge CB, Bartel DP. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs. *Genome Res* 2009; 19: 92-105 [PMID: 18955434 DOI: 10.1101/gr.082701.108]
- Zhou J, Yu L, Gao X, Hu J, Wang J, Dai Z, Wang JF, Zhang Z, Lu S, Huang X, Wang Z, Qiu S, Wang X, Yang G, Sun H, Tang Z, Wu Y, Zhu H, Fan J. Plasma microRNA panel to diagnose hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2011; 29: 4781-4788 [PMID: 22105822 DOI: 10.1200/JCO.2011.38.2697]
- Sekine S, Ogawa R, Ito R, Hiraoka N, McManus MT, Kanai Y, Hebrok M. Disruption of Dicer1 induces dysregulated fetal gene expression and promotes hepatocarcinogenesis. *Gastroenterology* 2009; 136: 2304-2315.e1-4 [PMID: 19272382 DOI: 10.1053/j.gastro.2009.02.067]
- Hu J, Xu Y, Hao J, Wang S, Li C, Meng S. MiR-122 in hepatic function and liver diseases. *Protein Cell* 2012; 3: 364-371 [PMID: 22610888 DOI: 10.1007/s13238-012-2036-3]
- Hsu SH, Wang B, Kota J, Yu J, Costinean S, Kutay H, Yu L, Bai S, La Perle K, Chivukula RR, Mao H, Wei M, Clark KR, Mendell JR, Caligiuri MA, Jacob ST, Mendell JT, Ghoshal K. Essential metabolic, anti-inflammatory, and anti-tumorigenic functions of miR-122 in liver. *J Clin Invest* 2012; 122: 2871-2883 [PMID: 22820288 DOI: 10.1172/JCI63539]
- Kutay H, Bai S, Datta J, Motiwala T, Pogribny I, Frankel W, Jacob ST, Ghoshal K. Downregulation of miR-122 in the rodent and human hepatocellular carcinomas. *J Cell Biochem* 2006; 99: 671-678 [PMID: 16924677 DOI: 10.1002/jcb.20982]
- Zeng C, Wang R, Li D, Lin XJ, Wei QK, Yuan Y, Wang Q, Chen W, Zhuang SM. A novel GSK-3 beta-C/EBP alpha-miR-122-insulin-like growth factor 1 receptor regulatory circuitry in human hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2010; 52: 1702-1712 [PMID: 21038412 DOI: 10.1002/hep.23875]
- Xu J, Zhu X, Wu L, Yang R, Yang Z, Wang Q, Wu F. MicroRNA-122 suppresses cell proliferation and induces cell apoptosis in hepatocellular carcinoma by directly targeting Wnt/ $\beta$ -catenin pathway. *Liver Int* 2012; 32: 752-760 [PMID: 22276989 DOI: 10.1111/j.1478-3231.2011.02750.x]
- Coulouarn C, Factor VM, Andersen JB, Durkin ME, Thorgeirsson SS. Loss of miR-122 expression in liver cancer correlates with suppression of the hepatic phenotype and gain of metastatic properties. *Oncogene* 2009; 28: 3526-3536 [PMID: 19617899 DOI: 10.1038/onc.2009.211]
- Wang B, Hsu SH, Wang X, Kutay H, Bid HK, Yu J, Ganju RK, Jacob ST, Yuneva M, Ghoshal K. Reciprocal regulation of microRNA-122 and c-Myc in hepatocellular cancer: role of E2F1 and transcription factor dimerization partner 2. *Hepatology* 2014; 59: 555-566 [PMID: 24038073 DOI: 10.1002/hep.26712]
- Jin Y, Wang J, Han J, Luo D, Sun Z. MiR-122 inhibits epithelial-mesenchymal transition in hepatocellular carcinoma by targeting Snail1 and Snail2 and suppressing WNT/ $\beta$ -cadherin signaling pathway. *Exp Cell Res* 2017; 360: 210-217 [PMID: 28890291 DOI: 10.1016/j.yexcr.2017.09.010]
- Yang YM, Lee CG, Koo JH, Kim TH, Lee JM, An J, Kim KM, Kim SG. Gα12 overexpressed in hepatocellular carcinoma reduces microRNA-122 expression via HNF4α inactivation, which causes c-Met induction. *Oncotarget* 2015; 6: 19055-19069 [PMID: 25965999 DOI: 10.18632/oncotarget.3957]
- Zhang JP, Zeng C, Xu L, Gong J, Fang JH, Zhuang SM. MicroRNA-148a suppresses the epithelial-mesenchymal transition and metastasis of hepatoma cells by targeting Met/Snail signaling. *Oncogene* 2014; 33: 4069-4076 [PMID: 24013226 DOI: 10.1038/nc.2013.369]
- Cheng L, Zhu Y, Han H, Zhang Q, Cui K, Shen H, Zhang J, Yan J, Prochownik E, Li Y. MicroRNA-148a deficiency promotes hepatic lipid metabolism and hepatocarcinogenesis in mice. *Cell Death Dis* 2017; 8: e2916 [PMID: 28703810 DOI: 10.1038/cddis.2017.309]
- Jung KH, Zhang J, Zhou C, Shen H, Gagea M, Rodriguez-Aguayo C, Lopez-Berestein G, Sood AK, Beretta L. Differentiation therapy for hepatocellular carcinoma: Multifaceted effects of miR-148a on tumor growth and phenotype and liver fibrosis. *Hepatology* 2016; 63: 864-879 [PMID: 26599259 DOI: 10.1002/hep.28367]
- Heo MJ, Kim YM, Koo JH, Yang YM, An J, Lee SK, Lee SJ, Kim KM, Park JW, Kim SG. microRNA-148a dysregulation discriminates poor prognosis of hepatocellular carcinoma in association with USP4 overexpression. *Oncotarget* 2014; 5: 2792-2806 [PMID: 24798342 DOI: 10.18632/oncotarget.1920]
- Lian J, Jing Y, Dong Q, Huan L, Chen D, Bao C, Wang Q, Zhao F, Li J, Yao M, Qin L, Liang L, He X. miR-192, a prognostic indicator, targets the SLC39A6/SNAIL pathway to reduce tumor metastasis in human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2016; 7: 2672-2683 [PMID: 26684241 DOI: 10.18632/oncotarget.6603]
- Ge Y, Yan X, Jin Y, Yang X, Yu X, Zhou L, Han S, Yuan Q, Yang M. MiRNA-192 [corrected] and miRNA-204 Directly Suppress lncRNA HOTTIP and Interrupt GLS1-Mediated Glutaminolysis in Hepatocellular Carcinoma. *PLoS Genet* 2015; 11: e1005726 [PMID: 26710269 DOI: 10.1371/journal.pgen.1005726]
- Kim T, Veronese A, Pichiorri F, Lee TJ, Jeon YJ, Volinia S, Pineau P, Marchio A, Palatini J, Suh SS, Alder H, Liu CG, Dejean A, Croce CM. p53 regulates epithelial-mesenchymal transition through microRNAs targeting ZEB1 and ZEB2. *J Exp Med* 2011; 208: 875-883 [PMID: 21518799 DOI: 10.1084/jem.20110235]
- Meng Z, Fu X, Chen X, Zeng S, Tian Y, Jove R, Xu R, Huang W. miR-194 is a marker of hepatic epithelial cells and suppresses



- metastasis of liver cancer cells in mice. *Hepatology* 2010; 52: 2148-2157 [PMID: 20979124 DOI: 10.1002/hep.23915]
- 27 Zeng X, Lin Y, Yin C, Zhang X, Ning BF, Zhang Q, Zhang JP, Qiu L, Qin XR, Chen YX, Xie WF. Recombinant adenovirus carrying the hepatocyte nuclear factor-1 $\alpha$  gene inhibits hepatocellular carcinoma xenograft growth in mice. *Hepatology* 2011; 54: 2036-2047 [PMID: 21898499 DOI: 10.1002/hep.24647]
- 28 Tsai WC, Hsu PW, Lai TC, Chau GY, Lin CW, Chen CM, Lin CD, Liao YL, Wang JL, Chau YP, Hsu MT, Hsiao M, Huang HD, Tsou AP. MicroRNA-122, a tumor suppressor microRNA that regulates intrahepatic metastasis of hepatocellular carcinoma. *Hepatology* 2009; 49: 1571-1582 [PMID: 19296470 DOI: 10.1002/hep.22806]
- 29 Zhao Y, Li F, Zhang X, Liu A, Qi J, Cui H, Zhao P. MicroRNA-194 acts as a prognostic marker and inhibits proliferation in hepatocellular carcinoma by targeting MAPK4. *Int J Clin Exp Pathol* 2015; 8: 12446-12454 [PMID: 26722431]
- 30 Liu S, Guo W, Shi J, Li N, Yu X, Xue J, Fu X, Chu K, Lu C, Zhao J, Xie D, Wu M, Cheng S, Liu S. MicroRNA-135a contributes to the development of portal vein tumor thrombus by promoting metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2012; 56: 389-396 [PMID: 21888875 DOI: 10.1016/j.jhep.2011.08.008]
- 31 Fornari F, Pollutri D, Patrizi C, La Bella T, Marinelli S, Casadei Gardini A, Marisi G, Baron Toaldo M, Baglioni M, Salvatore V, Callegari E, Baldassarre M, Galassi M, Giovannini C, Cescon M, Ravaioli M, Negrini M, Bolondi L, Gramantieri L. In Hepatocellular Carcinoma miR-221 Modulates Sorafenib Resistance through Inhibition of Caspase-3-Mediated Apoptosis. *Clin Cancer Res* 2017; 23: 3953-3965 [PMID: 28096271 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-16-1464]
- 32 Zhang Y, Wei C, Guo CC, Bi RX, Xie J, Guan DH, Yang CH, Jiang YH. Prognostic value of microRNAs in hepatocellular carcinoma: a meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8: 107237-107257 [PMID: 29291025 DOI: 10.18632/oncotarget.20883]
- 33 Wen Y, Han J, Chen J, Dong J, Xia Y, Liu J, Jiang Y, Dai J, Lu J, Jin G, Han J, Wei Q, Shen H, Sun B, Hu Z. Plasma miRNAs as early biomarkers for detecting hepatocellular carcinoma. *Int J Cancer* 2015; 137: 1679-1690 [PMID: 25845839 DOI: 10.1002/ijc.29544]
- 34 Qu KZ, Zhang K, Li H, Afdhal NH, Albitar M. Circulating microRNAs as biomarkers for hepatocellular carcinoma. *J Clin Gastroenterol* 2011; 45: 355-360 [PMID: 21278583 DOI: 10.1097/MCG.0b013e3181f18ac2]
- 35 Tsai WC, Hsu SD, Hsu CS, Lai TC, Chen SJ, Shen R, Huang Y, Chen HC, Lee CH, Tsai TF, Hsu MT, Wu JC, Huang HD, Shiao MS, Hsiao M, Tsou AP. MicroRNA-122 plays a critical role in liver homeostasis and hepatocarcinogenesis. *J Clin Invest* 2012; 122: 2884-2897 [PMID: 22820290 DOI: 10.1172/JCI63455]
- 36 Lou G, Song X, Yang F, Wu S, Wang J, Chen Z, Liu Y. Exosomes derived from miR-122-modified adipose tissue-derived MSCs increase chemosensitivity of hepatocellular carcinoma. *J Hematol Oncol* 2015; 8: 122 [PMID: 26514126 DOI: 10.1186/s13045-015-0220-7]
- 37 Beg MS, Brenner AJ, Sachdev J, Borad M, Kang YK, Stoudemire J, Smith S, Bader AG, Kim S, Hong DS. Phase I study of MRX34, a liposomal miR-34a mimic, administered twice weekly in patients with advanced solid tumors. *Invest New Drugs* 2017; 35: 180-188 [PMID: 27917453 DOI: 10.1007/s10637-016-0407-y]
- 38 Faghihi MA, Wahlestedt C. Regulatory roles of natural antisense transcripts. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 637-643 [PMID: 19638999 DOI: 10.1038/nrm2738]
- 39 Xin X, Wu M, Meng Q, Wang C, Lu Y, Yang Y, Li X, Zheng Q, Pu H, Gui X, Li T, Li J, Jia S, Lu D. Long noncoding RNA HULC accelerates liver cancer by inhibiting PTEN via autophagy cooperation to miR15a. *Mol Cancer* . 2018, Xiaoru X , Mengying W , Qiuyu M , et al. Long noncoding RNA HULC accelerates liver cancer by inhibiting PTEN via autophagy cooperation to miR15a[J]. *Molecular Cancer*, 2018,17(1):94-94.[DOI: 10.1186/s12943-018-0843-8]
- 40 Lu Z, Xiao Z, Liu F, Cui M, Li W, Yang Z, Li J, Ye L, Zhang X. Long non-coding RNA HULC promotes tumor angiogenesis in liver cancer by up-regulating sphingosine kinase 1 (SPHK1). *Oncotarget* 2016; 7: 241-254 [PMID: 26540633 DOI: 10.18632/oncotarget.6280]
- 41 Malakar P, Shilo A, Mogilevsky A, Stein I, Pikarsky E, Nevo Y, Benyamini H, Elgavish S, Zong X, Prasanth KV, Karni R. Long Noncoding RNA MALAT1 Promotes Hepatocellular Carcinoma Development by SRSF1 Upregulation and mTOR Activation. *Cancer Res* 2017; 77: 1155-1167 [PMID: 27993818 DOI: 10.1158/0008-5472.CAN-16-1508]
- 42 Zhuo H, Tang J, Lin Z, Jiang R, Zhang X, Ji J, Wang P, Sun B. The aberrant expression of MEG3 regulated by UHRF1 predicts the prognosis of hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2016; 55: 209-219 [PMID: 25641194 DOI: 10.1002/mc.22270]
- 43 He JH, Han ZP, Liu JM, Zhou JB, Zou MX, Lv YB, Li YG, Cao MR. Overexpression of Long Non-Coding RNA MEG3 Inhibits Proliferation of Hepatocellular Carcinoma Huh7 Cells via Negative Modulation of miRNA-664. *J Cell Biochem* 2017; 118: 3713-3721 [PMID: 28374914 DOI: 10.1002/jcb.26018]
- 44 Wang TH, Lin YS, Chen Y, Yeh CT, Huang YL, Hsieh TH, Shieh TM, Hsueh C, Chen TC. Long non-coding RNA AOC4P suppresses hepatocellular carcinoma metastasis by enhancing vimentin degradation and inhibiting epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget* 2015; 6: 23342-23357 [PMID: 26160837 DOI: 10.18632/oncotarget.4344]
- 45 Liang WC, Ren JL, Wong CW, Chan SO, Waye MM, Fu WM, Zhang JF. LncRNA-NEF antagonized epithelial to mesenchymal transition and cancer metastasis via cis-regulating FOXA2 and inactivating Wnt/ $\beta$ -catenin signaling. *Oncogene* 2018; 37: 1445-1456 [PMID: 29311643 DOI: 10.1038/s41388-017-0041-y]
- 46 Wang TH, Yu CC, Lin YS, Chen TC, Yeh CT, Liang KH, Shieh TM, Chen CY, Hsueh C. Long noncoding RNA CPS1-IT1 suppresses the metastasis of hepatocellular carcinoma by regulating HIF-1 $\alpha$  activity and inhibiting epithelial-mesenchymal transition. *Oncotarget* 2016; 7: 43588-43603 [PMID: 27248828 DOI: 10.18632/oncotarget.9635]
- 47 Li ZQ, Gu XY, Hu JX, Ping Y, Li H, Yan JY, Li J, Sun R, Yu ZJ, Zhang Y. Hepatitis C virus core protein impairs metabolic disorder of liver cell via HOTAIR-Sirt1 signalling. *Biosci Rep* 2016; 36 [PMID: 27129296 DOI: 10.1042/BSR20160088]
- 48 Jang SY, Kim G, Park SY, Lee YR, Kwon SH, Kim HS, Yoon JS, Lee JS, Kweon YO, Ha HT, Chun JM, Han YS, Lee WK, Chang JY, Park JG, Lee B, Tak WY, Hur K. Clinical significance of lncRNA-ATB expression in human hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8: 78588-78597 [PMID: 29108251 DOI: 10.18632/oncotarget.21094]
- 49 Li Z, Zhang J, Liu X, Li S, Wang Q, Di Chen, Hu Z, Yu T, Ding J, Li J, Yao M, Fan J, Huang S, Gao Q, Zhao Y, He X. The LINC01138 drives malignancies via activating arginine methyltransferase 5 in hepatocellular carcinoma. *Nat Commun* 2018; 9: 1572 [PMID: 29679004 DOI: 10.1038/s41467-018-04006-0]
- 50 Zhang J, Li Z, Liu L, Wang Q, Li S, Chen D, Hu Z, Yu T, Ding J, Li J, Yao M, Huang S, Zhao Y, He X. Long noncoding RNA TSLNC8 is a tumor suppressor that inactivates the interleukin-6/STAT3 signaling pathway. *Hepatology* 2018; 67: 171-187 [PMID: 28746790 DOI: 10.1002/hep.29405]
- 51 Zheng C, Liu X, Chen L, Xu Z, Shao J. lncRNAs as prognostic molecular biomarkers in hepatocellular carcinoma: a systematic review and meta-analysis. *Oncotarget* 2017; 8: 59638-59647 [PMID: 28938667 DOI: 10.18632/oncotarget.19559]
- 52 Xie H, Ma H, Zhou D. Plasma HULC as a promising novel

- biomarker for the detection of hepatocellular carcinoma. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 136106 [PMID: 23762823 DOI: 10.1155/2013/136106]
- 53 Lu J, Xie F, Geng L, Shen W, Sui C, Yang J. Investigation of serum lncRNA-uc003wbd and lncRNA-AF085935 expression profile in patients with hepatocellular carcinoma and HBV. *Tumour Biol* 2015; 36: 3231-3236 [PMID: 25501706 DOI: 10.1007/s13277-014-2951-4]
  - 54 Tang J, Jiang R, Deng L, Zhang X, Wang K, Sun B. Circulation long non-coding RNAs act as biomarkers for predicting tumorigenesis and metastasis in hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 4505-4515 [PMID: 25714016 DOI: 10.18632/oncotarget.2934]
  - 55 Callegari E, Elamin BK, Giannone F, Milazzo M, Altavilla G, Fornari F, Giacomelli L, D'Abundo L, Ferracin M, Bassi C, Zagatti B, Corrà F, Miotto E, Lupini L, Bolondi L, Gramantieri L, Croce CM, Sabbioni S, Negrini M. Liver tumorigenicity promoted by microRNA-221 in a mouse transgenic model. *Hepatology* 2012; 56: 1025-1033 [PMID: 22473819 DOI: 10.1002/hep.25747]
  - 56 Gebert LF, Rebhan MA, Crivelli SE, Denzler R, Stoffel M, Hall J. Miravirsin (SPC3649) can inhibit the biogenesis of miR-122. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: 609-621 [PMID: 24068553 DOI: 10.1093/nar/gkt852]
  - 57 Yang X, Xiong Q, Wu Y, Li S, Ge F. Quantitative Proteomics Reveals the Regulatory Networks of Circular RNA CDR1as in Hepatocellular Carcinoma Cells. *J Proteome Res* 2017; 16: 3891-3902 [PMID: 28892615 DOI: 10.1021/acs.jproteome.7b00519]
  - 58 Han D, Li J, Wang H, Su X, Hou J, Gu Y, Qian C, Lin Y, Liu X, Huang M, Li N, Zhou W, Yu Y, Cao X. Circular RNA circMTO1 acts as the sponge of microRNA-9 to suppress hepatocellular carcinoma progression. *Hepatology* 2017; 66: 1151-1164 [PMID: 28520103 DOI: 10.1002/hep.29270]
  - 59 Wang BG, Li JS, Liu YF, Xu Q. MicroRNA-200b suppresses the invasion and migration of hepatocellular carcinoma by downregulating RhoA and circRNA\_000839. *Tumour Biol* 2017; 39: 1010428317719577 [PMID: 28695771 DOI: 10.1177/1010428317719577]
  - 60 Guo W, Zhang J, Zhang D, Cao S, Li G, Zhang S, Wang Z, Wen P, Yang H, Shi X, Pan J, Ye H. Polymorphisms and expression pattern of circular RNA circ-ITCH contributes to the carcinogenesis of hepatocellular carcinoma. *Oncotarget* 2017; 8: 48169-48177 [PMID: 28636993 DOI: 10.18632/oncotarget.18327]
  - 61 Hu J, Li P, Song Y, Ge YX, Meng XM, Huang C, Li J, Xu T. Progress and prospects of circular RNAs in Hepatocellular carcinoma: Novel insights into their function. *J Cell Physiol* 2018; 233: 4408-4422 [PMID: 28833094 DOI: 10.1002/jcp.26154]
  - 62 Zheng Q, Bao C, Guo W, Li S, Chen J, Chen B, Luo Y, Lyu D, Li Y, Shi G, Liang L, Gu J, He X, Huang S. Circular RNA profiling reveals an abundant circHIPK3 that regulates cell growth by sponging multiple miRNAs. *Nat Commun* 2016; 7: 11215 [PMID: 27050392 DOI: 10.1038/ncomms11215]
  - 63 Ren S, Xin Z, Xu Y, Xu J, Wang G. Construction and analysis of circular RNA molecular regulatory networks in liver cancer. *Cell Cycle* 2017; 16: 2204-2211 [PMID: 28727484 DOI: 10.1080/15384101.2017.1346754]
  - 64 Yu J, Xu QG, Wang ZG, Yang Y, Zhang L, Ma JZ, Sun SH, Yang F, Zhou WP. Circular RNA cSMARCA5 inhibits growth and metastasis in hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2018; 68: 1214-1227 [PMID: 29378234 DOI: 10.1016/j.jhep.2018.01.012]
  - 65 Yao Z, Luo J, Hu K, Lin J, Huang H, Wang Q, Zhang P, Xiong Z, He C, Huang Z, Liu B, Yang Y. ZKSCAN1 gene and its related circular RNA (circZKSCAN1) both inhibit hepatocellular carcinoma cell growth, migration, and invasion but through different signaling pathways. *Mol Oncol* 2017; 11: 422-437 [PMID: 28211215 DOI: 10.1002/1878-0261.12045]
  - 66 Qin M, Liu G, Huo X, Tao X, Sun X, Ge Z, Yang J, Fan J, Liu L, Qin W. Hsa\_circ\_0001649: A circular RNA and potential novel biomarker for hepatocellular carcinoma. *Cancer Biomark* 2016; 16: 161-169 [PMID: 26600397 DOI: 10.3233/CBM-150552]
  - 67 Shang X, Li G, Liu H, Li T, Liu J, Zhao Q, Wang C. Comprehensive Circular RNA Profiling Reveals That hsa\_circ\_0005075, a New Circular RNA Biomarker, Is Involved in Hepatocellular Carcinoma Development. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95: e3811 [PMID: 27258521 DOI: 10.1097/MD.0000000000003811]
  - 68 Guan Z, Tan J, Gao W, Li X, Yang Y, Li X, Li Y, Wang Q. Circular RNA hsa\_circ\_0016788 regulates hepatocellular carcinoma tumorigenesis through miR-486/CDK4 pathway. *J Cell Physiol* 2018; 234: 500-508 [PMID: 29923236 DOI: 10.1002/jcp.26612]
  - 69 Zhu Q, Lu G, Luo Z, Gui F, Wu J, Zhang D, Ni Y. CircRNA circ\_0067934 promotes tumor growth and metastasis in hepatocellular carcinoma through regulation of miR-1324/FZD5/Wnt/ $\beta$ -catenin axis. *Biochem Biophys Res Commun* 2018; 497: 626-632 [PMID: 29458020 DOI: 10.1016/j.bbrc.2018.02.119]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红



## 细胆管癌的临床病理特征

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰, 海军军医大学附属东方肝胆外科医院胆道二科 上海市 200438

杨新伟, 主治医师. 研究方向为肝胆外科基础与临床研究.

基金项目: 上海市卫生和计划生育委员会课题, No. 20164Y0109; 国家自然科学基金, No. 81902940.

作者贡献分布: 杨新伟与傅晓辉对此文所作贡献均等; 此课题由张永杰设计; 研究过程和分析数据由杨新伟与傅晓辉完成; 本论文写作由杨新伟、傅晓辉及张永杰完成.

通讯作者: 张永杰, 教授, 主任医师, 200438, 上海市长海路225号, 海军军医大学附属东方肝胆外科医院胆道二科. danlit@sina.com  
电话: 021-81875271

收稿日期: 2019-03-20

修回日期: 2019-05-29

接受日期: 2019-06-05

在线出版日期: 2019-09-28

### Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma

Xin-Wei Yang, Xiao-Hui Fu, Yong-Jie Zhang

Xin-Wei Yang, Xiao-Hui Fu, Yong-Jie Zhang, Second Department of Biliary Tract Diseases, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital Affiliated to Naval Military Medical University, Shanghai 200438, China

Supported by: Shanghai Municipal Health and Family Planning Commission, No. 20164Y0109; National Natural Science Foundation of China, No. 81902940

Corresponding author: Yong-Jie Zhang, Professor, Chief Physician, Second Department of Biliary Tract Diseases, Eastern Hepatobiliary Surgery Hospital, Affiliated to Naval Military Medical University, No. 225 Changhai Road, Shanghai 200438, China. danlit@sina.com

Received: 2019-03-20

Revised: 2019-05-29

Accepted: 2019-06-05

Published online: 2019-09-28

### Abstract

Cholangiolocellular carcinoma (CLC), due to its special cell origin, has dual clinical and radiological features of hepatocellular carcinoma and cholangiocellular carcinoma, and has a relatively good prognosis due to the characteristics of inert growth. Its growth characteristics and clinical characteristics are obviously different from those of traditional intrahepatic cholangiocarcinoma (ICC). Therefore, CLC is a special type of primary liver malignancy. With regard to cell origin, clinical pathology, growth characteristics, and prognosis, CLC is a distinct disease from traditional hepatic cholangiocarcinoma; however, it is often confused with ICC in the relevant research worldwide. In this paper, we review the clinical and pathological characteristics of CLC to raise the attention to this problem and strengthen the relevant research.

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

Key Words: Cholangiolocellular carcinoma; Biological feature; Prognosis

Yang XW, Fu XH, Zhang YJ. Clinical and pathological characteristics of cholangiolocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1114-1117

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1114.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1114>

### 摘要

细胆管癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC)由于其特殊的细胞起源,具有肝细胞癌和胆管细胞癌的双重临床病理和影像学特点,由于惰性生长的特点、预后相对较好,其生长特点和临床特征明显有别于传统的肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma,



ICC), 是一种特殊类型的原发性肝脏恶性肿瘤。在细胞起源、临床病理特征、生长特点和预后等方面与传统意义的ICC是两种截然不同的疾病, 但国内外有关ICC的研究中往往将两者混为一谈, 没有明确的区分。本文就CLC临床病理特征进行综述, 以期引发大家对这一问题的重视, 并加强相关的研究。

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

关键词: 细胆管癌; 生物学特性; 预后

**核心提要:** 细胆管癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC)是一种罕见的肝脏恶性肿瘤, CLC起源于肝祖细胞, 与典型的肝内胆管癌相比, 影像学上可以显示出肝细胞癌和胆管癌的双重特征; 临床上呈明显的惰性生长, 预后相对要好很多, 临床上应加强鉴别和区分对待。

杨新伟, 傅晓辉, 张永杰. 细胆管癌的临床病理特征. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1114-1117

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1114.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1114>

## 0 引言

首先让我们来看一下细胆管癌的英文翻译, “Cholangiolocellular carcinoma”, 与胆管细胞癌的英文 “cholangiocellular carcinoma” 仅有细微差异, 但两种疾病从起源、临床症状、治疗和预后等各个方面均存明显差异, 甚至可以说细胆管癌(cholangiolocellular carcinoma, CLC)和胆管细胞癌(cholangiocellular carcinoma, CCC)是两种截然不同的疾病, 不应混为一谈。我们曾遇到一些患者, 因肝占位长期随访(1-3年), 后行手术, 病理示肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC), 但其生长缓慢、恶性程度较低的病程特点与传统ICC快速进展的特征明显不符, 术后进一步行病理及免疫组化检测, 后证实为CLC。

## 1 CLC的细胞起源

CLC是一种罕见的肝脏恶性肿瘤, 在最新的世界卫生组织(World Health Organization, WHO)分类中被归类为具有干细胞特征的肝细胞-胆管细胞混合型肝癌<sup>[1]</sup>。最近的研究表明: CLC来源于Hering管内的肝祖细胞(hepatic progenitor cell, HPC), HPC具有干细胞特征, 可分化为肝细胞和胆管细胞<sup>[2]</sup>。然而, 考虑到CLC形态学和免疫组织化学的研究结果, 一些研究人员提出CLC可能来源于小叶间胆管, 而不是HPC所存在的Hering管或胆小管<sup>[3,4]</sup>。前期的研究发现CLC的癌管大小远大于胆小管, 与小叶间胆管的大小相似, CLC胆管、胆小管和小叶间胆管的

平均直径分别为31.8、13.8和26.5  $\mu\text{m}$ <sup>[3]</sup>。此外, 免疫组织化学染色发现HPC标志物阳性的情况不仅见于胆小管, 还见于小叶间胆管。CLC来自Hering管或胆小管, 其特征是在大量纤维基质内出现类似于胆小管和导管反应样的小腺体<sup>[3,4]</sup>。因此, CLC的起源仍然存在争议, 需要更详细的分子水平研究来阐明CLC的起源问题。而通常型的ICC, 或者肝内大胆管癌主要起源于较粗的肝内胆管(隔胆管, 区域胆管, 段胆管等)。

## 2 CLC的病因

尽管CLC的详细发病机制尚不清楚, 但研究发现患者常存在慢性病毒性肝炎、非酒精性脂肪肝病和酗酒导致的慢性肝损伤<sup>[1,5]</sup>。此外, 前期报道显示HPC可以被慢性肝损伤所激活并造成导管内反应<sup>[6,7]</sup>。这些发现提示慢性肝损伤激活HPC是CLC的重要病因之一。很多情况下, CLC患者伴有丙型肝炎病毒或乙型肝炎感染的基础, 血管造影显示血管丰富<sup>[8]</sup>。因此, 在临床上CLC也常被误诊为肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)<sup>[9]</sup>。肝内大胆管癌则主要与肝内胆管结石、胆道寄生虫病等有关。

## 3 CLC的临床分类

Steiner等<sup>[10]</sup>首次报道, CLC占有原发性肝脏恶性肿瘤的1%, 而日本报道的发生率为0.57%<sup>[11]</sup>。最近随着对HPC的深入研究, 发现HPC存在于Hering管内, 而CLC起源于这些细胞<sup>[12]</sup>。因此, 在2010年最新的WHO消化系统肿瘤分类中, 将其归类为具有干细胞特征的混合型肝细胞-CCC<sup>[13]</sup>, 而在第5版的日本原发性肝脏恶性肿瘤的临床和病理学分类规范中, 提出CLC是独立于ICC的一种疾病<sup>[14]</sup>。

## 4 CLC的影像学特点

CLC的影像学表现多样<sup>[15-17]</sup>。在影像学上可以显示出HCC和CCC的双重特征, 例如具有早期强化、延迟消退的特点, 也可以表现为早期边缘增强、延迟向心填充的特点, 与通常类型的肝内胆管癌(intrahepatic cholangiocarcinoma, ICC)相比, 肿瘤近端胆管狭窄和外周胆管扩展的影像学表现非常少见。这些表现取决于纤维基质细胞的数量和分布情况<sup>[15]</sup>。此外, CLC被认为由各种组织学特征的区域所组成, 例如各种比例的CLC、HCC和CCC成分组成的不同区域<sup>[1,18]</sup>。在MRI的弥散加权图像上可表现为高信号。

有研究报道了两种不同表现的CT增强特点, 分别为早期整体强化且延迟消退和持续边缘增强且向心性延迟充盈<sup>[5]</sup>。在CLC患者中很少观察到肿瘤侵入肝内血管的情况<sup>[19]</sup>, 而在ICC、转移性肝癌和HCC中经常伴有血管侵犯的情况<sup>[20,21]</sup>。PET-CT在ICC诊断中的敏感性要

高于肝门部胆管癌和肝外胆管癌<sup>[22,23]</sup>. PET-CT在CLC鉴别诊断中的作用仍不明确<sup>[17,24,25]</sup>.

## 5 CLC的组织病理学特点

在显微镜下, CLC通常存在3种形态模式: CLC区域, HCC区域和ICC区域<sup>[12,25]</sup>. Kozaka等<sup>[26]</sup>将“纯CLC”定义为仅由CLC组成而没有任何HCC/CCC组分的肿瘤. 更多的情况下, CLC定义为至少80%<sup>[25]</sup>或90%<sup>[12]</sup>的肿瘤区域由经典CLC组成.

CLC表现为胆管腔侧EMA免疫组化染色阳性, 且肿瘤细胞内Hep-par 1阴性, CK19和NCAM阳性, 借此可以明确CLC的诊断. 在组织学上, CLC细胞的特点如下: 纤维组织丰富, 内有鹿角样的细腺管结构<sup>[27]</sup>. 通过基因谱分析: 与其他HPC衍生的肝脏肿瘤相比, CLC是一类独特的分子实体肿瘤, 表现为TGF- $\beta$ 信号通路和炎症-免疫应答信号通路的显著性上调, 例如白细胞介素-6、TNF- $\alpha$ 和趋化因子及其受体, 这些都是血管生成和炎症细胞浸润到肿瘤中的重要因子<sup>[28]</sup>. 这些发现表明CLC可能与血管生成和炎症密切相关, 但仍需要进一步的研究来阐明这些基因上调的重要性和具体分子机理. 而普通型的ICC, 其组织学表现为腺管直径明显较粗, EMA染色在胞浆阳性.

## 6 CLC的临床表现

CLC伴有门静脉侵犯的几率较低, 肿瘤组织内残留门静脉管道的数量明显高于ICC组, 通过组织学检查发现CLC主要表现为替代性生长模式, 肿瘤细胞围绕但不破坏肿瘤内残留门静脉血管<sup>[13]</sup>. 此外, CLC组肝内转移的发生率明显低于ICC组<sup>[29]</sup>. CLC与其他肝脏恶性肿瘤相比, 肿瘤直径较小(平均值3.5 cm)<sup>[16]</sup>, 计算所得的CLC肿瘤倍增时间(tumor doubling time, TDT)为285 d, 而HCC和CCC的中位TDT分别为85.7 d和70 d<sup>[30]</sup>. 这些数据表明缓慢增长是CLC的特征之一.

与CCC相比, CLC行根治性切除的预后较好<sup>[16,31]</sup>, CLC组5年总生存率和无瘤生存率明显高于ICC组<sup>[16]</sup>. 由于肝移植效果不佳, CCC患者并不适合行肝移植治疗<sup>[28]</sup>, 但CLC患者却可能从肝移植中获益. 因此, 当肝脏肿瘤显示出与CCC相似的影像学表现、且缓慢生长时, 我们必须考虑CLC的可能性, 活检可能有助于制定下一步的治疗策略和治疗建议.

## 7 结论

CLC的发病原因, 细胞起源, 免疫组化和病理表现都和通常型的ICC不同, 其影像学表现具有一定的特点, 但由于其病理基础的多样性, 这些影像学表现往往缺乏特异性. CLC肿瘤生长缓慢, 预后较好, 治疗原则上应有别

于通常型的ICC. 在临床工作和研究中应区分CLC和通常型的ICC, 加强对CLC的认知和研究.

## 8 参考文献

- Rhee H, Ko JE, Chung T, Jee BA, Kwon SM, Nahm JH, Seok JY, Yoo JE, Choi JS, Thorgeirsson SS, Andersen JB, Lee HS, Woo HG, Park YN. Transcriptomic and histopathological analysis of cholangiolocellular differentiation trait in intrahepatic cholangiocarcinoma. *Liver Int* 2018; 38: 113-124 [PMID: 28608943 DOI: 10.1111/liv.13492]
- Van Haele M, Roskams T. Hepatic Progenitor Cells: An Update. *Gastroenterol Clin North Am* 2017; 46: 409-420 [PMID: 28506372 DOI: 10.1016/j.gtc.2017.01.011]
- Maeno S, Kondo F, Sano K, Takada T, Asano T. Morphometric and immunohistochemical study of cholangiolocellular carcinoma: comparison with non-neoplastic cholangiole, interlobular duct and septal duct. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 289-296 [PMID: 22179577 DOI: 10.1007/s00534-011-0483-5]
- Kondo F, Fukusato T. Pathogenesis of Cholangiolocellular Carcinoma: Possibility of an Interlobular Duct Origin. *Intern Med* 2015; 54: 1685-1694 [PMID: 26179521 DOI: 10.2169/internalmedicine.54.3540]
- Akabane S, Ban T, Kouriki S, Tanemura H, Nakazaki H, Nakano M, Shinozaki N. Successful surgical resection of ruptured cholangiolocellular carcinoma: A rare case of a primary hepatic tumor. *World J Hepatol* 2017; 9: 752-756 [PMID: 28652894 DOI: 10.4254/wjh.v9.i16.752]
- Williams MJ, Clouston AD, Forbes SJ. Links between hepatic fibrosis, ductular reaction, and progenitor cell expansion. *Gastroenterology* 2014; 146: 349-356 [PMID: 24315991 DOI: 10.1053/j.gastro.2013.11.034]
- Carpino G, Cardinale V, Folseraas T, Overi D, Floreani A, Franchitto A, Onori P, Cazzagon N, Berloco PB, Karlén TH, Alvaro D, Gaudio E. Hepatic Stem/Progenitor Cell Activation Differs between Primary Sclerosing and Primary Biliary Cholangitis. *Am J Pathol* 2018; 188: 627-639 [PMID: 29248458 DOI: 10.1016/j.ajpath.2017.11.010]
- Kanamoto M, Yoshizumi T, Ikegami T, Imura S, Morine Y, Ikemoto T, Sano N, Shimada M. Cholangiolocellular carcinoma containing hepatocellular carcinoma and cholangiocellular carcinoma, extremely rare tumor of the liver: a case report. *J Med Invest* 2008; 55: 161-165 [PMID: 18319561]
- Fukukura Y, Hamanoue M, Fujiyoshi F, Sasaki M, Haruta K, Inoue H, Aiko T, Nakajo M. Cholangiolocellular carcinoma of the liver: CT and MR findings. *J Comput Assist Tomogr* 2000; 24: 809-812 [PMID: 11045707]
- Steiner PE, Higginson J. Cholangiolocellular carcinoma of the liver. *Cancer* 1959; 12: 753-759 [PMID: 13663020]
- Shiota K, Taguchi J, Nakashima O, Nakashima M, Kojiro M. Clinicopathologic study on cholangiolocellular carcinoma. *Oncol Rep* 2001; 8: 263-268 [PMID: 11182037]
- Komuta M, Spee B, Vander Borgh T, De Vos R, Verslype C, Aerts R, Yano H, Suzuki T, Matsuda M, Fujii H, Desmet VJ, Kojiro M, Roskams T. Clinicopathological study on cholangiolocellular carcinoma suggesting hepatic progenitor cell origin. *Hepatology* 2008; 47: 1544-1556 [PMID: 18393293 DOI: 10.1002/hep.22238]
- 李增山, 李青. 2010年版消化系统肿瘤WHO分类解读. *中华病理学杂志* 2011; 40: 351-354 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0529-5807.2011.05.019]
- Kudo M, Kitano M, Sakurai T, Nishida N. General Rules for the Clinical and Pathological Study of Primary Liver Cancer, Nationwide Follow-Up Survey and Clinical Practice Guidelines: The Outstanding Achievements of the Liver

- Cancer Study Group of Japan. *Dig Dis* 2015; 33: 765-770 [PMID: 26488173 DOI: 10.1159/000439101]
- 15 Asayama Y, Tajima T, Okamoto D, Nishie A, Ishigami K, Ushijima Y, Kakiyama D, Aishima S, Taketomi A, Honda H. Imaging of cholangiolocellular carcinoma of the liver. *Eur J Radiol* 2010; 75: e120-e125 [PMID: 19781883 DOI: 10.1016/j.ejrad.2009.09.010]
  - 16 Lee SW, Kim HJ, Park JH, Park DI, Cho YK, Sohn CI, Jeon WK, Kim BI. Clinical usefulness of 18F-FDG PET-CT for patients with gallbladder cancer and cholangiocarcinoma. *J Gastroenterol* 2010; 45: 560-566 [PMID: 20035356 DOI: 10.1007/s00535-009-0188-6]
  - 17 Takahashi Y, Sato S, Ishitobi H, Nagaoka M, Kobayashi Y, Fukuhara H, Yuki M, Komazawa Y, Kuroda H, Shizuku T. Intrahepatic Cholangiolocellular and Cholangiocellular Carcinoma - Differences in the 18 F-FDG PET/CT Findings. *Intern Med* 2017; 56: 3027-3031 [PMID: 28943569 DOI: 10.2169/internalmedicine.8839-17]
  - 18 Komuta M, Govaere O, Vandecaveye V, Akiba J, Van Steenberghe W, Verslype C, Laleman W, Pirenne J, Aerts R, Yano H, Nevens F, Topal B, Roskams T. Histological diversity in cholangiocellular carcinoma reflects the different cholangiocyte phenotypes. *Hepatology* 2012; 55: 1876-1888 [PMID: 22271564 DOI: 10.1002/hep.25595]
  - 19 Shinohara K, Ebata T, Yokoyama Y, Igami T, Sugawara G, Mizuno T, Yamaguchi J, Shimoyama Y, Shiina S, Tateishi R, Arano T, Nagino M. Successful local treatment for repeated hepatic recurrences of cholangiolocellular carcinoma: a report on a long-term survivor. *Surg Case Rep* 2017; 3: 120 [PMID: 29198012 DOI: 10.1186/s40792-017-0391-2]
  - 20 Seo N, Kim DY, Choi JY. Cross-Sectional Imaging of Intrahepatic Cholangiocarcinoma: Development, Growth, Spread, and Prognosis. *AJR Am J Roentgenol* 2017; 209: W64-W75 [PMID: 28570102 DOI: 10.2214/AJR.16.16923]
  - 21 Roberts LR, Sirlin CB, Zaiem F, Almasri J, Prokop LJ, Heimbach JK, Murad MH, Mohammed K. Imaging for the diagnosis of hepatocellular carcinoma: A systematic review and meta-analysis. *Hepatology* 2018; 67: 401-421 [PMID: 28859233 DOI: 10.1002/hep.29487]
  - 22 Lee Y, Yoo IR, Boo SH, Kim H, Park HL, Hyun O J. The Role of F-18 FDG PET/CT in Intrahepatic Cholangiocarcinoma. *Nucl Med Mol Imaging* 2017; 51: 69-78 [PMID: 28250860 DOI: 10.1007/s13139-016-0440-y]
  - 23 Mori N, Ichikawa T, Hashimoto J, Yamashita T, Yamada M, Hirabayashi K, Imai Y. Cholangiolocellular Carcinoma of the Liver Exhibiting High F-18 FDG Uptake. *Tokai J Exp Clin Med* 2016; 41: 60-64 [PMID: 27344994]
  - 24 Yamamoto M, Oshita A, Nishisaka T, Nakahara H, Itamoto T. Synchronous double primary hepatic cancer consisting of hepatocellular carcinoma and cholangiolocellular carcinoma: a case report. *J Med Case Rep* 2018; 12: 224 [PMID: 30119698 DOI: 10.1186/s13256-018-1762-4]
  - 25 Liao JY, Tsai JH, Yuan RH, Chang CN, Lee HJ, Jeng YM. Morphological subclassification of intrahepatic cholangiocarcinoma: etiological, clinicopathological, and molecular features. *Mod Pathol* 2014; 27: 1163-1173 [PMID: 24406866 DOI: 10.1038/modpathol.2013.241]
  - 26 Kozaka K, Matsui O, Kobayashi S, Koda W, Minami T, Kitao A, Inoue D, Yoneda N, Yoshida K, Toshima F, Nakanuma Y, Gabata T. Dynamic CT findings of cholangiolocellular carcinoma: correlation with angiography-assisted CT and histopathology. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42: 861-869 [PMID: 27747442 DOI: 10.1007/s00261-016-0944-z]
  - 27 Ishii N, Araki K, Yamanaka T, Handa T, Tsukagoshi M, Igarashi T, Watanabe A, Kubo N, Aishima S, Kuwano H, Shirabe K. Small cholangiolocellular carcinoma that was difficult to distinguish from cholangiocellular carcinoma: a case report. *Surg Case Rep* 2017; 3: 103 [PMID: 28916905 DOI: 10.1186/s40792-017-0377-0]
  - 28 Moeini A, Sia D, Zhang Z, Camprecios G, Stueck A, Dong H, Montal R, Torrens L, Martinez-Quetglas I, Fiel MI, Hao K, Villanueva A, Thung SN, Schwartz ME, Llovet JM. Mixed hepatocellular cholangiocarcinoma tumors: Cholangiolocellular carcinoma is a distinct molecular entity. *J Hepatol* 2017; 66: 952-961 [PMID: 28126467 DOI: 10.1016/j.jhep.2017.01.010]
  - 29 Guglielmi A, Ruzzenente A, Campagnaro T, Pachera S, Valdegamberi A, Nicoli P, Cappellani A, Malfermoni G, Iacono C. Intrahepatic cholangiocarcinoma: prognostic factors after surgical resection. *World J Surg* 2009; 33: 1247-1254 [PMID: 19294467 DOI: 10.1007/s00268-009-9970-0]
  - 30 De Rose AM, Cucchetti A, Clemente G, Ardito F, Giovannini I, Ercolani G, Giulianti F, Pinna AD, Nuzzo G. Prognostic significance of tumor doubling time in mass-forming type cholangiocarcinoma. *J Gastrointest Surg* 2013; 17: 739-747 [PMID: 23292461 DOI: 10.1007/s11605-012-2129-6]
  - 31 Chen J, He J, Deng M, Wu HY, Shi J, Mao L, Sun Q, Tang M, Fan XS, Qiu YD, Huang Q. Clinicopathological, radiologic, and molecular study of 23 combined hepatocellular-cholangiocarcinomas with stem cell features, cholangiolocellular type. *Hum Pathol* 2017; 64: 118-127 [PMID: 28431889 DOI: 10.1016/j.humpath.2017.01.016]

编辑: 崔丽君 电编: 刘继红





## 二甲基砒对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价

王婷, 林佳

王婷, 台州恩泽医疗中心(集团)路桥医院药剂科 浙江省台州市 318050

林佳, 嘉兴学院医学院 浙江省嘉兴市 314001

王婷, 主管药师, 主要从事临床药理学和基础药理方面的研究.

**作者贡献分布:** 此课题由林佳设计; 研究过程由王婷完成; 研究所用试剂及分析工具由王婷与林佳提供; 数据分析由林佳完成; 本论文写作由王婷完成.

**通讯作者:** 王婷, 主管药师, 318050, 浙江省台州市路桥区下里桥西路, 台州恩泽医疗中心(集团)路桥医院药剂科. wangting564@126.com  
电话: 0576-85120120

收稿日期: 2019-04-23

修回日期: 2019-06-25

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

### Protective effects of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice

Ting Wang, Jia Lin

Ting Wang, Department of Pharmacy, Luqiao Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), Taizhou 318050, Zhejiang Province, China

Jia Lin, School of Medicine, Jiaxing University, Jiaxing 314001, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Ting Wang, Pharmacist-in-Charge, Department of Pharmacy, Luqiao Hospital, Taizhou Grace Medical Center (Group), Xialiqiaoxi Road, Luqiao District, Taizhou 318050, Zhejiang Province, China. wangting564@126.com

Received: 2019-04-23

Revised: 2019-06-25

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

### Abstract

#### BACKGROUND

When the gastric mucosa (GM) is damaged by external stimulation, gastric ulcer forms. The pathogenic factors for gastric ulcer are various, including excessive gastric acid secretion, GM damage, *Helicobacter pylori* infection, and other factors. The clinical cure rate for gastric ulcer can reach 85%-95%. However, the recurrence of gastric ulcer is still one of the challenges in clinical treatment.

#### AIM

To investigate the protective effect of methylsulfonylmethane (MSM) against ethanol-induced gastric ulcer in mice.

#### METHODS

Mice were randomly divided into a blank control group, a gastric ulcer model group, and low-, medium, and high-dose MSM groups, with 10 rats in each group. GM tissue changes and ulcer index, histopathological changes, serum glutathione (GSH), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA), inflammatory factors [interleukin-6 (IL-6) and tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )], and the expression of connective tissue growth factor (CTGF) were observed.

#### RESULTS

MSM alleviated the pathological changes of ethanol-induced gastric ulcer in mice. MSM reduced the levels of MDA, GSH, and SOD in gastric tissue, decreased the levels of IL-6 and TNF- $\alpha$  in serum of mice with gastric ulcer, and increased the expression of CTGF protein.

#### CONCLUSION

MSM can alleviate ethanol-induced acute gastric ulcer in mice *via* mechanisms possibly related to scavenging oxygen free radicals, inhibiting lipid peroxidation,

inhibiting the release of inflammatory factors, and increasing the expression of CTGF protein.

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

Key Words: Methylsulfonylmethane; Alcoholic gastric ulcer; Inflammatory factors; Oxygen free radical

Wang T, Lin J. Protective effect of methylsulfonylmethane against ethanol-induced gastric ulcer in mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1118-1124  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1118.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1118>

## 摘要

### 背景

胃黏膜受到外界刺激出现破损时会形成胃溃疡(gastric mucosa, GM). GM发病因素多样, 包括胃酸分泌合成过多、胃黏膜受损、幽门螺旋杆菌感染等因素. GM临床治愈率可达到85%-95%, 然而GM的复发仍然是临床治疗的挑战之一.

### 目的

探讨二甲基砜(methylsulfonylmethane, MSM)对乙醇诱导小鼠GM的保护作用.

### 方法

将小鼠随机分为空白对照组、GM模型组、乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组, 每组10只小鼠. 观察各组小鼠胃黏膜组织和溃疡指数、组织病理学改变, 血清中谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、丙二醛(malondialdehyde, MDA)、炎症因子白介素-6(Interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )含量及胃组织中结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)蛋白表达.

### 结果

MSM可有效减轻小鼠乙醇所致GM病理学变化, 能显著降低GM小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD及血清中炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 水平, 增加CTGF蛋白表达水平.

### 结论

MSM可减轻乙醇所致小鼠急性GM, 对乙醇诱导的急性GM具有保护作用, 其机制可能是通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放, 增加CTGF蛋白的表达, 从而起到对小鼠乙醇型GM的保护作用.

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

关键词: 二甲基砜; 酒精性胃溃疡; 炎症因子; 氧自由基

**核心提要:** 本研究发现二甲基砜(methylsulfonylmethane, MSM)在乙醇所致急性胃溃疡(gastric mucosa, GM)小鼠模型中, 能显著降低胃组织中谷胱甘肽、超氧化物歧化酶、丙二醛含量及血清中炎症因子白介素-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$ 水平, 并降低胃组织中结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)蛋白表达. MSM对乙醇所致小鼠急性GM具有保护作用, 其机制可能是通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放, 增加CTGF蛋白的表达.

王婷, 林佳. 二甲基砜对乙醇诱导的小鼠胃溃疡作用的评价. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1118-1124

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1118.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1118>

## 0 引言

胃溃疡(gastric mucosa, GM)是全球范围内发病率和患病率不断上升的主要胃肠道疾病之一. 过度饮酒、饮食不当、压力、吸烟和长期摄入非甾体抗炎药等外源性损害因素都与GM的形成有关. GM是由侵略性因素和防御性因素失衡引起的, 这些因素反过来又能调节涉及中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和肥大细胞作用的炎症过程. 过量饮酒可导致胃黏膜损伤. 乙醇破坏胃黏膜血管内皮细胞, 损伤微循环, 引起活性氧自由基和炎性细胞因子的增加, 最终加重胃黏膜缺氧. 因此, 有能力有效保护胃黏膜形成GM的药物应具有减少氧化和炎症应激的能力<sup>[1-3]</sup>.

二甲基砜(methylsulfonylmethane, MSM)是二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)的氧化代谢产物, 也称作二甲砜或者DMSO<sub>2</sub>, 它是一种广泛存在于水果、蔬菜、谷物、动物和人体内的硫化合物. 已有试验证明, MSM有抗氧化和抗炎的作用, 对于消除人体内产生的氧自由基有非常重要的作用, 同时也有很好的临床治疗前景<sup>[4-7]</sup>. 然而国内外尚未报道有关MSM用于GM的研究, 故本试验着眼于MSM在GM中的抗炎、抗氧化机制的研究, 为临床治疗提供一条新的线索.

## 1 材料和方法

1.1 材料 乙醇购自于东莞万信公司; MSM试剂(货号: A506832)、组织蛋白提取试剂盒(货号: C510003)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )ELISA检测试剂盒(货号: ESK5001-96T)和白介素-6(Interleukin-6, IL-6)ELISA检测试剂盒(货号: C507044)购买自购买自上海生工生物有限公司; 丙二醛(malondialdehyde, MDA)

检测试剂盒(货号: SK039)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)检测试剂盒(货号: YT297)和超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)检测试剂盒(货号: YT311)购买自北京百奥莱博科技有限公司; GAPDH抗体、结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)抗体(货号: sc-101586)和HRP标记的Ig-G二抗(货号: sc-2789)购买自美国Santa Cruz公司。

## 1.2 方法

**1.2.1 实验动物及分组:** 50只ICR雄性小鼠(20-25 g)购买于浙江维通利华实验动物技术有限公司[SCXK(浙)2019-0001], 饲养于台州市食品药品检验所实验动物房[SYXK(浙)2015-0003], 小鼠适应性饲养一周后, 随机分成5组: 空白对照组、GM模型组、乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组, 每组10只小鼠。其中空白对照组每只小鼠进行灌胃0.2 ml生理盐水; GM模型组每只小鼠进行灌胃0.2 ml无水乙醇; 乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组每只小鼠进行灌胃乙醇前1.5 h分别2 mg/kg、20 mg/kg和100 mg/kg MSM<sup>[6]</sup>。乙醇灌胃4 h后, 麻醉后, 通过小鼠尾静脉每只小鼠取0.5 ml血, 然后处死小鼠, 打开腹腔, 摘除整个胃。

**1.2.2 观察计算溃疡指数:** 沿胃大弯从幽门处剪开, 同时用生理盐水冲洗, 最后展平, 置于手术台上, 观察溃疡。按点状溃疡个数或溃疡面积给予计分: (1)点状溃疡(黏膜缺损最大径小于1 mm或者出血性小点, 称为点状溃疡): 每3个点状溃疡计1分; (2)条状出血: 测量条状溃疡的最大长径以及垂直于其的最大短径, 二者的乘积即为溃疡指数。宽为1 mm者每1 mm计1分; 2 mm宽者每1 mm计2分; 3 mm宽者每1 mm计3分, 若宽度超过4 mm, 则分段记数, 即黏膜损伤长度的总计分作为溃疡指数(若长度非整数, 小数部分按四舍五入的方法取舍)<sup>[8]</sup>。

**1.2.3 小鼠胃病理学检查:** 胃组织以5%的多聚甲醛固定, 然后进行石蜡包埋组织。切成5 μm厚的石蜡切片。将石蜡切片干燥后, 进行常规脱蜡至水化。此后, 将切片用苏木精染色5 min, 在自来水中洗涤, 在1%酸性醇中分化, 在1%氨水中变蓝, 再用伊红复染1 min。然后将载玻片在流动的自来水中冲洗, 通过浓度逐渐下降的乙醇中脱水, 在二甲苯中处理后, 用中性胶固定。用Olympus BX51光学显微镜观察载玻片并拍照, 以评估小鼠胃黏膜病理改变。

**1.2.4 小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD检测:** 取小鼠胃组织称质量, 按质量(g): 体积(mL) = 1:9加入冰冻生理盐水, 冰水浴下机械匀浆, 2500 r/min, 离心10 min, 取上清液, 制成10%组织匀浆。根据试剂盒说明测定均浆中MDA含量、GSH、SOD活力。通过酶标仪分别测量532 nm、412 nm、560 nm处的吸光度。按照预制的标准曲线计算

MDA含量和GSH、SOD活性。MDA含量表示为nmol/mg, GSH、SOD活性表示为UI/mg。

**1.2.5 小鼠血清中IL-6、TNF-α检测:** 通过ELISA试剂盒检测IL-6和TNF-α水平。取小鼠尾静脉取0.5 ml血, 以2000 rpm离心15 min, 分离血清, 根据制造商的说明, 使用ELISA试剂盒测定血清中IL-6和TNF-α。每个反应孔中加入抗体缓冲液, 4 °C过夜, 次日加入血清样品100 μL, 37 °C孵育1 h。洗涤后加入酶标抗体, 37 °C孵育1 h。加入底物溶液, 37 °C反应30 min, 最后于加入硫酸终止反应。酶标仪中450 nm检测OD值。按照预制的标准曲线计算IL-6和TNF-α水平。IL-6和TNF-α水平表示为pg/ml。

**1.2.6 Western blot:** 利用组织蛋白提取试剂盒萃取胃组织蛋白, 利用BCA法将各组蛋白样品定量至相同浓度后, 取30 μg蛋白进行10%的SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳并转移至甲醇预活化的PVDF膜上。然后用5%脱脂奶粉在室温下封闭样品2 h, 并在4 °C用CTGF抗体一抗(1:500)孵育过夜。用TBST冲洗膜3次/5 min, 再与辣根过氧化物酶偶联的二抗反应, 增强化学发光法(ECL)发光试剂显影, 以GAPDH为内部参照, 利用灰度成像软件(UVP, UK)测定主带的光密度值以计算CTGF蛋白表达水平。

**统计学处理** 采用SPSS 13.0统计软件进行数据分析。数据以mean±SD表示, 多组间两两比较采用方差分析后LSD-*t*检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 MSM对乙醇致胃损伤小鼠胃黏膜形态和溃疡指数的影响** 如图1A所示, 空白对照组小鼠的胃黏膜光滑、平整; GM模型组胃黏膜可观察到不同程度的损伤, 黏膜明显出血、水肿, 大面积糜烂, 表面附着大块血痂; 乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组仅有轻度胃黏膜水肿, 未见明显出血和糜烂, 其中高剂量组作用最明显。如图1B所示, 与空白对照组比较, GM模型组的小鼠的胃黏膜溃疡指数增加明显( $P < 0.001$ ); 与GM模型组比较, 乙醇联合MSM低、中、高剂量处理组的溃疡指数显著降低( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ), 并且高剂量MSM对乙醇损伤胃黏膜的保护作用最显著( $P < 0.001$ )。

**2.2 MSM对乙醇致胃损伤小鼠胃黏膜组织的病理学变化的影响** HE结果显示, 空白对照组小鼠胃黏膜上皮完整, 连续性好, 腺体排列整齐, 黏膜层组织结构层次清楚; GM模型组的胃组织有很高程度的出血性损伤、水肿、上皮细胞丢失和炎症细胞浸润; 与GM模型组相比, 用低、中、高剂量MSM预处理对胃组织显示出较好的保护作用, 表现为水肿减轻、炎症细胞浸润减少(图2)。

**2.3 MSM对小鼠血清中IL-6、TNF-α含量, 胃组织中CTGF含量的影响** 与空白对照组相比, GM模型组血清



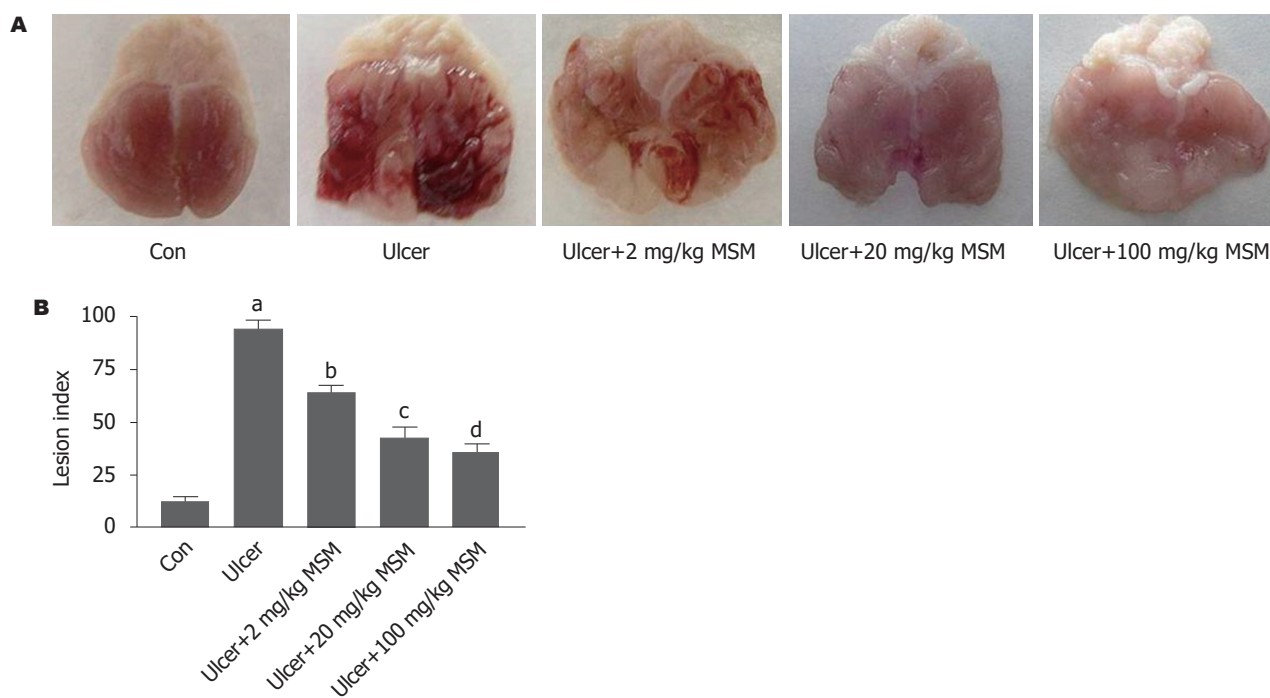


图1 二甲基砒对小鼠乙醇致胃损伤后胃黏膜形态的影响. A: 5组小鼠胃黏膜形态; B: MSM对小鼠乙醇致胃损伤后溃疡指数的影响.  $n = 10$ , <sup>a</sup> $P < 0.001$ , vs空白对照组; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.001$ , vs胃溃疡模型组. MSM: 二甲基砒.

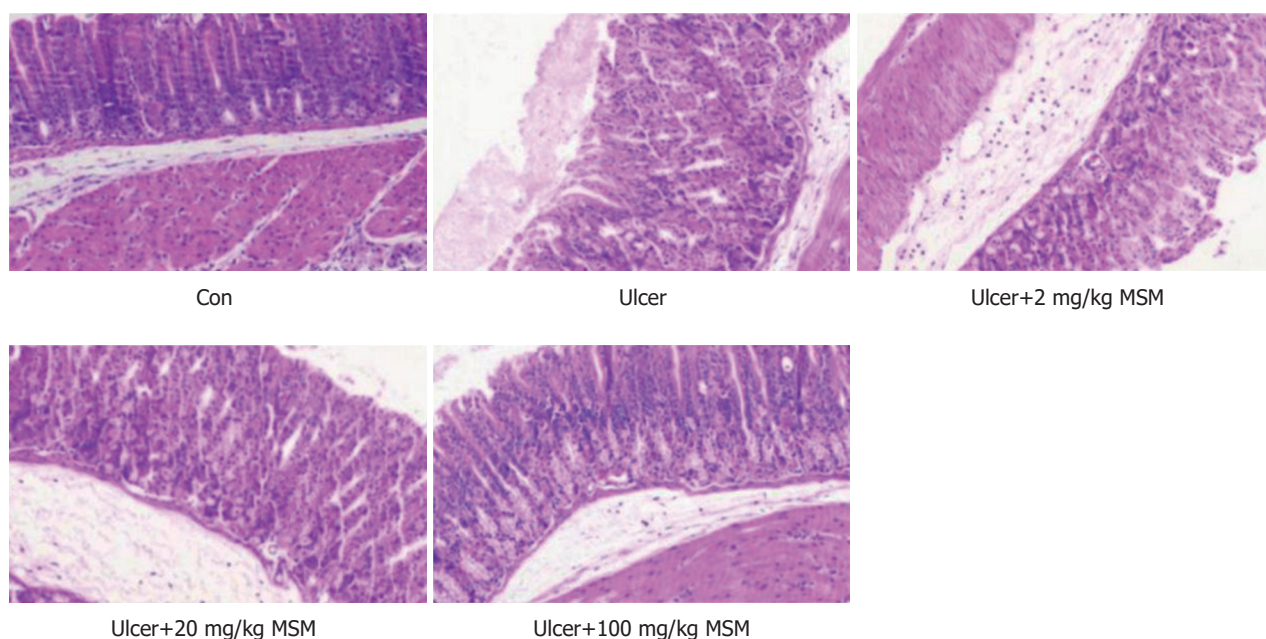


图2 二甲基砒对乙醇诱导小鼠酒精性胃炎胃组织病变的影响(H&E,  $\times 200$ ). MSM: 二甲基砒.

中IL-6和TNF- $\alpha$ 含量显著升高( $P < 0.001$ ). 与GM模型组比较, 乙醇联合低、中、高剂量MSM处理组血清液中IL-6和TNF- $\alpha$ 含量显著降低( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ), 其中乙醇联合高剂量MSM处理组降低最为显著( $P < 0.001$ ), 结果见图3A-B. 如图3C所示, 与空白组相比, GM模型组小鼠胃组织中CTGF蛋白表达水平显著降低( $P < 0.001$ ); 与GM模型组比较, 乙醇联合低、中、高剂量MSM处

理组小鼠胃组织中CTGF表达显著增加( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ).

2.4 MSM对小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD含量的影响 如图4所示, 与空白组相比, GM模型组小鼠MDA、GSH、SOD含量较空白组升高( $P < 0.001$ ). 与GM模型组比较, MDA、GSH和SOD在乙醇联合低、中、高剂量MSM处理组显著降低( $P < 0.05$ ;  $P < 0.01$ ;  $P < 0.001$ ), 其

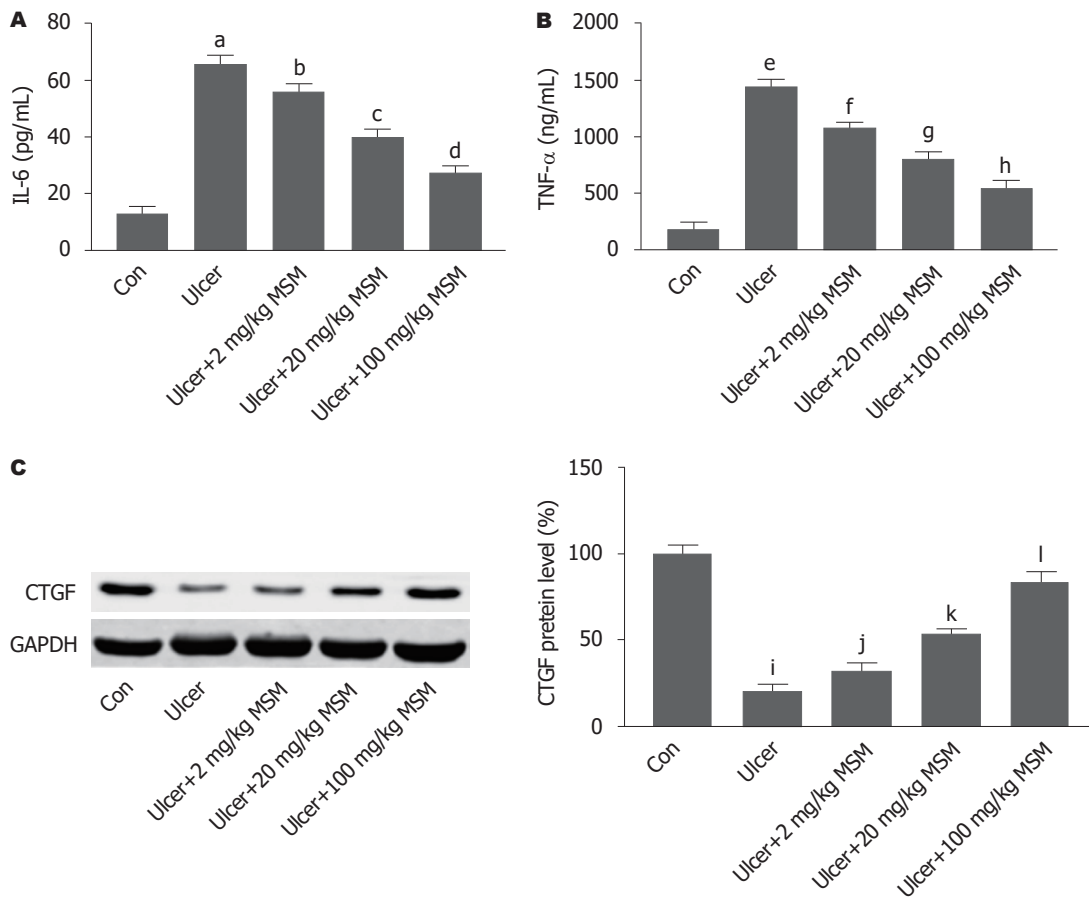


图 3 二甲基砷对小鼠血清中IL-6、TNF-α含量, 胃组织中CTGF含量的影响. A: 小鼠血清中IL-6水平变化.  $n = 10$ , <sup>a</sup> $P < 0.001$ , vs空白对照组; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.001$ , vs胃溃疡模型组; B: 小鼠血清中TNF-α水平变化.  $n = 10$ , <sup>e</sup> $P < 0.001$ , vs空白对照组; <sup>f</sup> $P < 0.05$ , <sup>g</sup> $P < 0.01$ , <sup>h</sup> $P < 0.001$ , vs胃溃疡模型组; C: 小鼠胃组织中CTGF表达水平变化.  $n = 10$ , <sup>i</sup> $P < 0.001$ , vs空白对照组; <sup>j</sup> $P < 0.05$ , <sup>k</sup> $P < 0.01$ , <sup>l</sup> $P < 0.001$ , vs胃溃疡模型组. MSM: 二甲基砷.

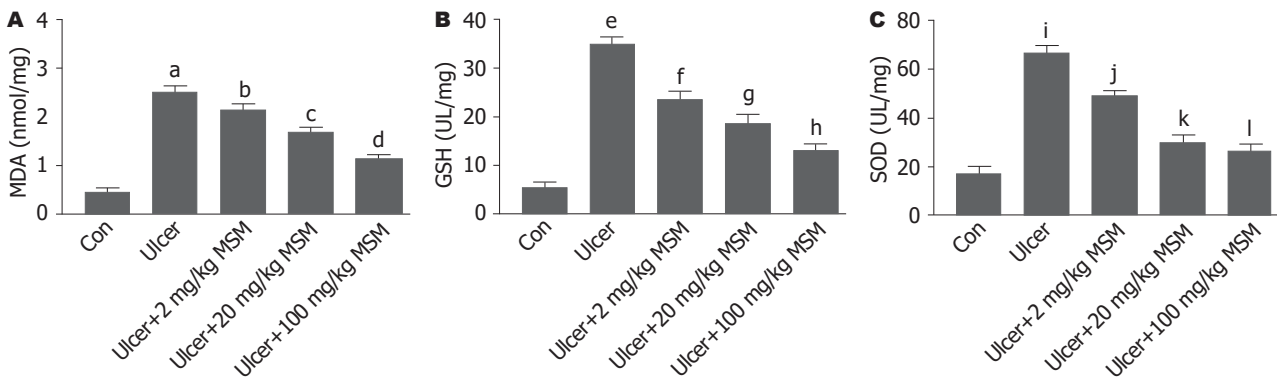


图 4 二甲基砷对小鼠胃组织中丙二醛、谷胱甘肽、超氧化物歧化酶含量的影响. A: 小鼠胃组织中MDA含量.  $n = 10$ , <sup>a</sup> $P < 0.001$  vs空白对照组; <sup>b</sup> $P < 0.05$ , <sup>c</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.001$  vs胃溃疡模型组; B: 小鼠胃组织中GSH含量.  $n = 10$ , <sup>e</sup> $P < 0.001$  vs空白对照组; <sup>f</sup> $P < 0.05$ , <sup>g</sup> $P < 0.01$ , <sup>h</sup> $P < 0.001$  vs胃溃疡模型组; C: 小鼠胃组织中SOD含量.  $n = 10$ , <sup>i</sup> $P < 0.001$  vs空白对照组; <sup>j</sup> $P < 0.05$ , <sup>k</sup> $P < 0.01$ , <sup>l</sup> $P < 0.001$  vs胃溃疡模型组. MSM: 二甲基砷; MDA: 丙二醛; GSH: 谷胱甘肽.

中高剂量MSM组MDA、GSH、SOD降低最为显著 ( $P < 0.001$ ), 以上结果说明MSM能降低乙醇引起急性GM小鼠胃组织中的MDA、GSH、SOD含量.

### 3 讨论

GM是一种病因众多的疾病, 病因包括自由基、乙醇、

胃酸等, 其中过度饮酒是GM的重要因素. 乙醇被认为是通过影响胃黏膜的保护因子(包括减少粘液生成和破坏黏膜内血液循环)从而造成胃损伤. 近几年来, 由于H2受体拮抗剂和质子泵抑制剂被广泛应用于临床, GM的近期愈合率得到了明显改善, 但这些药物的副作用以及停药后GM的复发率较高仍是尚未解决的问题. 而传统中

## 文章亮点

## 实验背景

胃溃疡(gastric mucosa, GM)是胃内壁黏膜或更深层发生溃疡而引起的疾病, 多发于40-60岁男性患者. GM发病因素多样, 目前临床多主张以联合药物治疗, 例如抑酸治疗、抗幽门螺杆菌治疗和保护胃黏膜治疗. GM临床治愈率可达到85%-95%, 然而GM的复发仍然是临床治疗的挑战之一.

## 实验动机

研究新型的GM治疗药物, 为临床治疗提供新的思路 and 手段.

## 实验目标

研究MSM对GM中的治疗作用以及可能的机制.

## 实验方法

通过乙醇诱导小鼠GM模型, 观察小鼠胃黏膜组织和溃疡指数变化, 通过HE染色研究组织病理学改变, 通过ELISA实验研究了小鼠胃组织中丙二醛(malondialdehyde, MDA)、谷胱甘肽(glutathione, GSH)、超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)及血清中炎症因子白介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )的表达水平, 通过蛋白免疫印迹实验研究了结缔组织生长因子(connective tissue growth factor, CTGF)的表达变化.

## 实验结果

MSM可改善乙醇引起的胃损伤, 降低胃黏膜水肿, 小鼠未表现出明显出血和糜烂. MSM能显著降低GM小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD及血清中炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 水平, 增加CTGF蛋白表达水平.

## 实验结论

MSM可通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放对乙醇诱导小鼠急性GM起到保护作用.

## 展望前景

该研究提供了MSM治疗GM以及其可能机制的新的见解. 这项研究的结果有助于临床GM治疗提供新的治疗手段, 但是作为未来的临床治疗推广, 其安全性和可靠性仍然需要深入的研究.

## 4 参考文献

- 1 胡宗苗, 刘景楠, 周园里, 邓颖颖, 刘继平. 灵芝孢子粉对乙醇诱导小鼠胃溃疡的保护作用. 陕西中医 2016; 37: 632-634 [DOI:

药则在减少复发、改善GM愈合情况、增强胃黏膜防御力等方面发挥出了优势<sup>[9]</sup>. MSM是一种天然存在的有机硫化物, 在牛奶和肉类中含量较高, 具有广泛的生物效应, 已经成为一种流行的膳食补充剂用于多种用途<sup>[5,10]</sup>. MSM对人体的健康发挥重要作用, 为抗氧化剂谷胱甘肽提供硫, 因此对消除人体产生的氧自由基起着十分重要的作用<sup>[11,12]</sup>. 本实验结果显示模型组溃疡面积显著高于空白对照组, 表明急性GM模型造模成功. 低、中、高MSM剂量组能显著减少乙醇所致小鼠急性GM的面积, 表明MSM具有一定的胃保护作用.

小鼠通过灌胃无水乙醇来诱发溃疡, 导致其机体的抗氧化能力下降, 形成的自由基增多, 并使生物膜中不饱和脂肪酸过氧化, 而形成了多种脂质过氧化物, 脂质过氧化物破坏溶酶体膜和线粒体, 形成溃疡, 最终造成细胞的死亡<sup>[9,13]</sup>. 由于氧自由基的增多, 产生相应的脂质过氧化物MDA, MDA能与核酸、蛋白质等生物大分子结合, 最终造成细胞的损伤. 人体内有完善的自由基清除系统, GSH是体内重要的抗氧化剂和自由基清除剂, 而SOD是机体主要的抗氧化酶, 是清除自由基的多种酶之一, 所以, 这些指标可以反映机体的抗氧化能力和清除自由基的能力<sup>[14,15]</sup>. GM模型组小鼠胃组织MDA、GSH、SOD水平明显高于空白对照组, 说明GM小鼠胃组织存在氧化应激损伤. 而乙醇联合MSM处理组GM小鼠胃组织中MDA、GSH、SOD水平有所降低, 说明MSM对降低小鼠胃组织氧化应激水平, 促进对自由基的清除作用, 抑制脂质过氧化产物的形成, 减轻氧自由基对胃组织的损害作用效果明显. 炎症细胞因子IL-6、TNF- $\alpha$ 等的大量合成与释放会造成炎症反应. GM模型组小鼠血清中IL-6、TNF- $\alpha$ 水平明显高于空白对照组, 而乙醇联合MSM处理组GM小鼠血清中IL-6、TNF- $\alpha$ 水平有所降低, 说明MSM可以抑制炎症因子IL-6、TNF- $\alpha$ 等的释放, 进而减轻其对胃黏膜的损伤. CTGF广泛存在于人类多种组织和器官中, 如结缔组织、心脏、脑、肝脏、胰腺和肌肉等, 与细胞增殖、分化、凋亡、伤口愈合等多种生理活动有关. 研究表明, CTGF参与了GM的发生与愈合过程, CTGF可能通过诱导成纤维细胞的增殖和细胞外基质的合成, 参与结缔组织的再生、肉芽组织的形成和机化; 另一方面, CTGF可能通过诱导血管内皮细胞的增殖, 促进微血管的形成, 参与结构重建, 最终有助于GM的愈合<sup>[16,17]</sup>. 本实验结果表明, MSM通过增加小鼠胃组织中CTGF蛋白的表达, 起到促进GM的愈合的作用.

综上所述, MSM可能通过清除氧自由基, 抑制脂质过氧化, 抑制炎症因子释放, 上调CTGF蛋白的表达, 起到对小鼠乙醇型GM的保护作用.



- 10.3969/j.issn.1000-7369.2016.05.049]
- 2 王淑敏, 曹菁, 穆双双, 王方, 祝恩智. 长柄侧耳发酵物对乙醇诱导小鼠胃溃疡的保护作用研究. 吉林中医药 2018; 38: 689-692 [DOI: 10.13463/j.cnki.jlzyy.2018.06.020]
- 3 沈玖君, 邓利玲, 帅天罡, 任旺, 邓利, 钟耕. 魔芋粉对小鼠急性酒精性胃黏膜损伤和慢性酒精性肠损伤的影响. 食品科学 2018; 39: 163-169 [DOI: 10.7506/spkx1002-6630-201809025]
- 4 Amirshahrokhi K, Khalili AR. Methylsulfonylmethane is effective against gastric mucosal injury. *Eur J Pharmacol* 2017; 811: 240-248 [PMID: 28666801 DOI: 10.1016/j.ejphar.2017.06.034]
- 5 Butawan M, Benjamin RL, Bloomer RJ. Methylsulfonylmethane: Applications and Safety of a Novel Dietary Supplement. *Nutrients* 2017; 9: E290 [PMID: 28300758 DOI: 10.3390/nu9030290]
- 6 Withee ED, Tippens KM, Dehen R, Tibbitts D, Hanes D, Zwickley H. Effects of Methylsulfonylmethane (MSM) on exercise-induced oxidative stress, muscle damage, and pain following a half-marathon: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. *J Int Soc Sports Nutr* 2017; 14: 24 [PMID: 28736511 DOI: 10.1186/s12970-017-0181-z]
- 7 Miller LE. Methylsulfonylmethane decreases inflammatory response to tumor necrosis factor- $\alpha$  in cardiac cells. *Am J Cardiovasc Dis* 2018; 8: 31-38 [PMID: 30038844]
- 8 李硕, 王睿泽, 孙敬昌. 松对无水乙醇所致胃溃疡的实验研究. 中国疗养医学 2016; 25: 959-961 [DOI: 10.13517/j.cnki.ccm.2016.09.026]
- 9 贡亮, 徐铁, 周微, 付宝慧, 郝乘仪, 李镐. 泽兰提取物对乙醇致小鼠胃溃疡保护作用. 时珍国医国药 2010; 21: 589-590. [DOI: 10.3969/j.issn.1008-0805.2010.03.038]
- 10 Coppa M, Martin B, Pradel P, Leotta B, Priolo A, Vasta V. Effect of a hay-based diet or different upland grazing systems on milk volatile compounds. *J Agric Food Chem* 2011; 59: 4947-4954 [PMID: 21434695 DOI: 10.1021/jf2005782]
- 11 Nakhostin-Roohi B, Barmaki S, Khoshkharesh F, Bohlooli S. Effect of chronic supplementation with methylsulfonylmethane on oxidative stress following acute exercise in untrained healthy men. *J Pharm Pharmacol* 2011; 63: 1290-1294 [PMID: 21899544 DOI: 10.1111/j.2042-7158.2011.01314.x]
- 12 Marañón G, Muñoz-Escassi B, Manley W, García C, Cayado P, de la Muela MS, Olábarri B, León R, Vara E. The effect of methyl sulphonyl methane supplementation on biomarkers of oxidative stress in sport horses following jumping exercise. *Acta Vet Scand* 2008; 50: 45 [PMID: 18992134 DOI: 10.1186/1751-0147-50-45]
- 13 周源, 刘英姿, 李锋, 郭智. 獐芽菜苦苷对乙醇致小鼠胃溃疡的保护作用. 中国新药杂志 2008; 17: 1768-1769 [DOI: 10.3321/j.issn:1003-3734.2008.20.010]
- 14 Chung SS, Kim M, Youn BS, Lee NS, Park JW, Lee IK, Lee YS, Kim JB, Cho YM, Lee HK, Park KS. Glutathione peroxidase 3 mediates the antioxidant effect of peroxisome proliferator-activated receptor gamma in human skeletal muscle cells. *Mol Cell Biol* 2009; 29: 20-30 [PMID: 18936159 DOI: 10.1128/MCB.00544-08]
- 15 Kono H, Asakawa M, Fujii H, Maki A, Amemiya H, Yamamoto M, Matsuda M, Matsumoto Y. Edaravone, a novel free radical scavenger, prevents liver injury and mortality in rats administered endotoxin. *J Pharmacol Exp Ther* 2003; 307: 74-82 [PMID: 12954792 DOI: 10.1124/jpet.103.053595]
- 16 李菊英, 苟笑丹, 贺菊香, 赵刚. 胃癌组织中CTGF蛋白表达及其临床意义. 山东医药 2010; 50: 21-22 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-266X.2010.07.008]
- 17 梁增文, 张法灿, 梁列新. 胃溃疡愈合前后胃黏膜中结缔组织生长因子的表达——附30例检测结果. 新医学 2007; 38: 304-306 [DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2007.05.012]

编辑: 马亚娟 电编: 刘继红



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

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 文献综述, 研究快报, 临床实践, 病例报告, 会议跟踪. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确.

# 内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科, 浙江省消化系统疾病病理生理重点实验室 浙江省杭州市 310006

马陈皋, 主要从事消化系统疾病的研究。

基金项目: 国家自然科学基金, Nos. 81600426, 81770535; 浙江省医药卫生科技计划项目, No. 2019RC229.

作者贡献分布: 此课题由吕宾、张璐、李蒙设计; 实验操作由王曦指导; 研究过程由马陈皋、毛立祺、王爽爽及应笑操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由吕宾提供; 数据分析由马陈皋与毛立祺完成; 本论文写作由吕宾与马陈皋完成。

通讯作者: 吕宾, 教授, 主任医师, 310053, 浙江省杭州市上城区邮电路54号, 浙江中医药大学附属第一医院消化内科。lvbin@medmail.com.cn  
电话: 0571-87068001

收稿日期: 2019-08-02

修回日期: 2019-09-06

接受日期: 2019-09-14

在线出版日期: 2019-09-28

## Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice

Chen-Gao Ma, Li-Qi Mao, Xiao Ying, Shuang-Shuang Wang, Meng Li, Lu Zhang, Xi Wang, Bin Lv

Chen-Gao Ma, Li-Qi Mao, Xiao Ying, Shuang-Shuang Wang, Meng Li, Lu Zhang, Xi Wang, Bin Lv, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang Key Laboratory of Pathophysiology of Digestive System Diseases, Hangzhou 310006, Zhejiang Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81770535 and No. 81600426; Medical Health Science and Technology Project of Zhejiang Provincial Health Commission, No. 2019RC229.

Corresponding author: Bin Lv, Professor, Department of Gastroenterology, First Affiliated Hospital, Zhejiang Chinese Medical University, No. 54, Youdian Road, Shangcheng District, Hangzhou

310006, Zhejiang Province, China. lvbin@medmail.com.cn

Received: 2019-08-02

Revised: 2019-09-06

Accepted: 2019-09-14

Published online: 2019-09-28

## Abstract BACKGROUND

The occurrence of visceral hypersensitivity is associated with the abnormal activation of mesenteric lymph node dendritic cells (MLNDCs); protein disulfide isomerase A3 (PDIA3) regulates the activity of the signal transduction and activator of transcription 3 (STAT3) pathway. We hypothesized that in MNLDCs, PDIA3 can inhibit the STAT3 pathway, activate MNLDCs, and ultimately cause visceral hypersensitivity.

## AIM

To explore the possible role of PDIA3/STAT3 in the abnormal immune activation of intestinal dendritic cells in visceral hypersensitivity mice

## METHODS

Forty C57BL/6 mice were randomly divided into a control group (20 mice) and a model group (20 mice). A visceral hypersensitivity model of irritable bowel syndrome was established by restraint stress, and the abdominal withdrawal reflex was used to evaluate the visceral sensitivity of mice. Magnetic label-based technique was used to separate MLNDCs. The purity of MLNDCs and the expression of major histocompatibility complex II (MHC-II) molecules on the surface of MLNDCs were analyzed by flow cytometry. Western blot and immunofluorescence technique were used to compare the expression level of PDIA3 and phosphorylated STAT3 (p-STAT3) between the two groups of MNLDCs. Mixed

lymphocyte reaction was used to compare the ability of dendritic cells (DCs) to activate the initial T lymphocytes.

## RESULTS

The colonic expansion volume threshold of the model group was significantly lower than that of the control group  $[(0.53 \text{ mL} \pm 0.07 \text{ mL}) \text{ vs } (0.85 \text{ mL} \pm 0.12 \text{ mL}), t = -10.845, P = 0.000]$ . The percentage of DC-specific antigen CD11c-positive MNLDCs was  $86.61\% \pm 7.02\%$ , and the expression of MHC-II molecules on the surface of MNLDCs in the model group was significantly higher than that in the control group  $[(73.08\% \pm 2.64\%) \text{ vs } (53.20\% \pm 4.50\%), t = -7.617, P = 0.000]$ . Compared with the control group, the expression of PDIA3 in the model group was significantly increased  $[(0.77 \pm 0.04) \text{ vs } (0.42 \pm 0.03), t = 11.086, P = 0.000]$ , while p-STAT3 decreased significantly  $[(0.73 \pm 0.03) \text{ vs } (1.24 \pm 0.18), t = -4.737, P = 0.038]$ . And the ability of DCs to stimulate the proliferation of initial T lymphocytes was significantly enhanced in the model group  $[(34.24\% \pm 2.95\%) \text{ vs } (17.22\% \pm 3.47\%), t = 6.472, P = 0.003]$ .

## CONCLUSION

Abnormal immune activation of MNLDCs in visceral hypersensitive mice may be associated with PDIA3/STAT3.

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

Key Words: Irritable bowel syndrome; Protein disulfide isomerase A3; Signal transduction and activator of transcription 3; High intestinal sensitivity

Ma CG, Mao LQ, Ying X, Wang SS, Li M, Zhang L, Wang X, Lv B. Correlation between abnormal activation of intestinal dendritic cells and PDIA3/STAT3 in visceral hypersensitivity mice. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1125-1132  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1125.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1125>

## 摘要

### 背景

内脏高敏感的发生与肠系膜淋巴结树突状细胞(mesenteric lymph node dendritic cells, MNLDC)的异常活化相关; 蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)可以调节信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)通路的活性。我们假设, 在MNLDC中, PDIA3可以抑制STAT3通路, 激活MNLDC, 并最终引起内脏高敏感。

### 目的

初步探讨PDIA3/STAT3在内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常免疫活化中的可能作用

## 方法

40只C57BL/6小鼠随机分成对照组(20只)和模型组(20只), 采用束缚应激建立小鼠肠易激综合征内脏高敏感模型, 用腹部撤回反射评估小鼠肠道敏感性, 磁珠分选技术分离两组小鼠MNLDC, 流式检测分选纯度以及比较两组MNLDC表面主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC-II)类分子的表达情况, 蛋白印记技术和免疫荧光技术比较两组MNLDC中PDIA3和磷酸化-信号转导与转录激活因子3(phosphorylated signal transduction and activator of transcription 3, P-STAT3)的表达及分布情况, 混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)比较两组DC对初始T淋巴细胞的激活能力。

## 结果

模型组小鼠结肠扩张容量阈值明显低于对照组 $[(0.53 \text{ mL} \pm 0.07 \text{ mL}) \text{ vs } (0.85 \text{ mL} \pm 0.12 \text{ mL}), t = -10.845, P = 0.000]$ ; 流式检测磁珠分选所得的小鼠树突状细胞特异性抗原CD11c阳性MNLDC为 $86.61\% \pm 7.02\%$ ; 模型组MNLDC表面MHC-II类分子表达显著高于对照组 $[(73.08\% \pm 2.64\%) \text{ vs } (53.20\% \pm 4.50\%), t = -7.617, P = 0.000]$ ; 与对照组相比, 模型组小鼠MNLDC表达PDIA3明显升高 $[(0.77 \pm 0.04) \text{ vs } (0.42 \pm 0.03), t = 11.086, P = 0.000]$ , 同时P-STAT3的表达明显下降 $[(0.73 \pm 0.03) \text{ vs } (1.24 \pm 0.18), t = -4.737, P = 0.038]$ , MLR中刺激初始T淋巴细胞增殖的能力明显增强 $[(34.24\% \pm 2.95\%) \text{ vs } (17.22\% \pm 3.47\%), t = 6.472, P = 0.003]$ 。

## 结论

内脏高敏感小鼠MNLDC的异常免疫活化或许和PDIA3/STAT3有关。

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

关键词: 肠易激综合征; 蛋白质二硫键异构酶A3; 信号转导与转录激活因子3; 肠道高敏感

**核心提要:** 本研究通过对比模型组和对照组实验动物肠系膜淋巴结树突状细胞(mesenteric lymph node dendritic cells, MNLDC)的活性差异、蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)和磷酸化-信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)的表达差异, 提示内脏高敏感的发生或许和PDIA3对STAT3通路的抑制所引起的MNLDC的异常免疫活化有关。

马陈皋, 毛立祺, 应笑, 王爽爽, 李蒙, 张璐, 王曦, 吕宾. 内脏高敏感小鼠肠道树突状细胞异常活化与PDIA3/STAT3的相关性研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1125-1132

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1125.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1125>



## 0 引言

肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)是世界范围内的多发病<sup>[1]</sup>, 但是其发病机制目前尚不明确. 近年来, 肠道免疫异常在IBS发生过程中的作用受到了越来越多的关注. 我们的前期研究显示, IBS大鼠肠道树突状细胞(dendritic cells, DC)数量增加<sup>[2]</sup>, 细胞表面主要组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC-II)类分子表达增加, 激活T淋巴细胞的能力显著增强<sup>[3]</sup>, 说明其可能通过自身的活化, 参与肠道免疫异常的发生, 并最终引起IBS内脏高敏感.

信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)通路在不同的细胞中发挥着多种不同的调节功能. 在DC中, STAT3通路的激活会对DC的活化产生明确的抑制作用<sup>[4]</sup>. 蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)主要位于内质网中, 以分子伴侣形式参与新生蛋白质的加工处理及质量监控. 多项研究表明PDIA3可以参与STAT3通路的激活调控<sup>[5-9]</sup>.

本课题组前期研究发现, PDIA3在应激IBS大鼠以及IBS患者肠黏膜病理标本中的表达明显高于对照组<sup>[10]</sup>. 结合PDIA3对STAT3通路的调节功能及STAT3通路在DC活化中发挥的关键性作用, 我们假设: IBS模型动物肠道DC的异常免疫活化或许和STAT3通路的抑制以及PDIA3的高表达有关.

## 1 材料和方法

1.1 材料 实验动物: C57BL/6小鼠、Balb/c小鼠购自浙江中医药大学动物实验研究中心.

主要试剂: RPMI1640、胎牛血清购自Sigma公司; 2-巯基乙醇(2-ME)、磷酸盐缓冲液(phosphate balanced solution, PBS)购自杭州吉诺生物医药技术有限公司; 组织细胞裂解液、ECL试剂盒购自北京普利莱基因技术有限公司; BCA蛋白定量试剂盒、羧基荧光素二醋酸盐琥珀酰亚胺酯(carboxyfluorescein succinimidyl amino ester, CFSE)购自美国赛默飞世尔科技公司; 抗PDIA3抗体、抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH)抗体购自美国CST公司; 流式抗体: FITC标记的CD11c抗体、APC标记的MHC-II抗体购自美国ebioscience公司; 小鼠初始CD4阳性T淋巴细胞分选试剂盒、小鼠CD11c阳性树突状细胞分选试剂盒购自美天旎生物技术有限公司; 免疫染色固定液、免疫染色强力通透液、免疫染色封闭液、抗荧光淬灭封片剂购自上海碧云天生物技术有限公司. 实验取得动物伦理委员会批准(ZSLL-2018-037).

## 1.2 方法

1.2.1 内脏高敏感小鼠建模: 参考Williams等<sup>[11]</sup>和Zheng等<sup>[12]</sup>的方法, 对小鼠造成人为的束缚应激, 使其内脏敏感性增加, 具体如下: 模型组小鼠20只, 雄性, 6-8 wk, 体重 $21 \text{ g} \pm 2 \text{ g}$ , 造模过程采用束缚器限制小鼠上半身、前肢及前肢的自由活动, 主要限制其前肢对头面部的清理动作, 对其造成慢性应激. 每日08:00-10:00造模, 持续1 h, 连续14 d. 造模结束3 d后小鼠禁食不禁水12 h, 随后对小鼠实行结直肠扩张(colorectal distension, CRD)试验, 然后用国际通用的腹部收缩反射评分<sup>[13]</sup>评价CRD后小鼠的内脏敏感性, 具体如下: 将石蜡润滑后的CRD装置插入小鼠肛门, 用胶布固定于鼠尾部, 让小鼠适应装置15 min. 然后对装置中的气囊注水, 使小鼠结肠被动扩张, 观察记录小鼠腹肌收缩、背部拱起时所注入的水量, 为小鼠的扩张容量阈值, 同一小鼠重复3次, 间隔4 min, 取平均值.

1.2.2 小鼠MLNDC的提取: 根据Van den Broeck等<sup>[14]</sup>对于小鼠肠系膜淋巴结分布的描述摘取小鼠腹腔肠系膜淋巴结, 具体如下: 将小鼠颈椎脱臼处死, 于75%酒精浸泡10 min, 然后无菌环境下剖开小鼠腹腔, 找到小鼠盲肠, 在升结肠与横结肠交界处的肠系膜根部可以找到空肠淋巴结以及结肠淋巴结共2-4颗. 用无菌玻璃板对所获得的淋巴结进行碾磨, 收集获得的淋巴细胞悬液, 过400目滤网除去纤维组织以及细胞团块. 按美天旎CD11c阳性树突状细胞分选试剂盒里的说明手册进行树突状细胞的分离, 具体如下: 将所获得的淋巴细胞悬液300 r/min离心10 min, 每 $1 \times 10^8$ 个细胞用400  $\mu\text{L}$ 磁珠分选缓冲液重悬, 加入100  $\mu\text{L}$  CD11c磁珠, 4  $^{\circ}\text{C}$ 孵育10 min; 加入10 mL预冷的磁珠分选缓冲液, 300 r/min离心10 min去除未结合的磁珠, 1 mL磁珠分选缓冲液重悬, 上磁珠架, 收集CD11c阳性MLNDC备用.

1.2.3 流式细胞术检测细胞表型: 取少量上述MLNDC单细胞悬液于1.5 mL EP管, 300 r/min离心10 min, 去上清, 100  $\mu\text{L}$ 流式上样缓冲液重悬细胞, 加入对应的流式抗体, 室温孵育15 min, 加入1 mL PBS, 300 r/min离心10 min, 去上清, 500  $\mu\text{L}$ 流式上样缓冲液重悬, 上机检测.

1.2.4 蛋白印记实验(western blot, WB): 按照Burnette等<sup>[15]</sup>提供的实验步骤进行WB. 具体如下: (1)细胞总蛋白的提取: 300 r/min, 4  $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min收集上述MLNDC单细胞悬液, 预冷PBS洗2次. 加入5倍于细胞沉淀体积的组织细胞裂解液, 冰上裂解15 min, 每隔5 min振荡1 min. 12000 g, 4  $^{\circ}\text{C}$ 离心10 min, 转移富含蛋白的上清到新EP管. 加入1/2体积的上样缓冲液, 加入1/30体积的二硫苏糖醇, 混匀, 水浴锅99  $^{\circ}\text{C}$ 加热5 min, 冰上冷却, 获

得蛋白样品,  $-80^{\circ}\text{C}$  冰箱保存。(2)SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳: 安装好电泳装置, 将蛋白样品按预先计算所得的上样量加到凝胶凹槽中, 接通电源, 电泳时, 浓缩胶电压70 V, 分离胶电压120 V. 酚红到达分离胶的底部后停止电泳。(3)转膜: 取出电泳后的凝胶, 切去多余部分, 取预先转移缓冲液湿润3张转印滤纸, 将上述凝胶置于其上, 再将PVDF膜置于凝胶上, 最后将另外3张转印滤纸盖于PVDF膜上, 用夹子夹好后, 置入电转移系统, 接通电源, 300 mA恒定电流转移2 h, 期间保持低温。(4)免疫检测: 用5%的脱脂牛奶常温封闭转膜结束后的PVDF膜2 h, 根据抗体说明书上描述分子量切下对应条带, 置于1:4000稀释后的抗PDIA3抗体、抗磷酸化-信号转导与转录激活因子3(phosphorylated signal transduction and activator of transcription 3, P-STAT3)抗体以及抗GAPDH抗体缓冲液中孵育,  $4^{\circ}\text{C}$  摇床过夜. TBST洗3次, 5 min/次. 1:4000稀释后的抗兔二抗或抗鼠二抗室温孵育1 h, TBST洗3次. 将ECL发光液均匀覆盖PVDF膜, 上机曝光、显影. 条带结果用Image Lab软件进行分析. PDIA3蛋白表达量用其与GAPDH蛋白对应条带的积分光密度值(integral optical density, IOD)的比值来表示、P-STAT3蛋白表达量用其与非磷酸化的STAT3蛋白对应条带的IOD的比值来表示。

1.2.5 免疫荧光技术: 用免疫荧光技术对PDIA3与P-STAT3进行亚细胞定位, 具体如下: 调整上述获得的MLNDC细胞悬液浓度至 $1 \times 10^6$ 个/mL, 取100  $\mu\text{L}$ 于1.5 mL EP管中, PBS洗2次, 重悬后加入到甩片机中, 3000 r/min, 10 min制成细胞甩片. 免疫染色固定液室温固定10 min, PBS洗3次, 5 min/次, 免疫染色强力通透液室温通透10 min, 免疫染色封闭液室温封闭1 h, 1:200兔来源抗PDIA3抗体、1:200鼠来源抗P-STAT3抗体 $4^{\circ}\text{C}$ 孵育过夜, PBS洗脱3次, FITC标记的山羊抗鼠抗体以及CY3标记的山羊抗兔抗体室温孵育1 h, PBS洗3次, 含4', 6-二脒基-2-苯基吲哚(4', 6-diamidino-2-phenylindole, DAPI)抗荧光淬灭封片剂封片, 共聚焦显微镜观察、拍照. 荧光图片采用Image J进行分析, 结果以绿色或红色荧光的平均光密度(mean optical density, MOD)来表示。

1.2.6 磁珠分选初始T淋巴细胞: 按照磁珠分选试剂盒说明书进行操作, 具体如下: 提取Balb/c小鼠脾脏细胞, 计数, 每 $10^7$ 个细胞进行如下处理: 加入40  $\mu\text{L}$ 预冷磁珠分选缓冲液, 10  $\mu\text{L}$ 抗体cocktail, 冰上孵育5 min, 加入额外的20  $\mu\text{L}$ 磁珠分选缓冲液, 20  $\mu\text{L}$ 磁珠, 冰上孵育10 min, 加入200  $\mu\text{L}$ 磁珠分选缓冲液, 300 r/min,  $4^{\circ}\text{C}$ 离心10 min去除未结合细胞的抗体和磁珠. 磁珠分选缓冲液重悬, 上分选架。

1.2.7 混合淋巴细胞反应: (1)对上述初始T淋巴细胞进行

细胞内染色标记: 取分选所得初始T淋巴细胞, 用PBS调整细胞浓度为 $5 \times 10^6$ 个/mL, 加入CFSE, 工作浓度为1.5  $\mu\text{mol/L}$ ,  $37^{\circ}\text{C}$ 培养箱孵育15 min, 每5 min振荡1次. 加入预冷的完全培养基终止反应, 300 r/min离心10 min, 去除上清多余染料; (2)调整染色后的初始T淋巴细胞浓度为 $10^6$ 个/mL, 取100  $\mu\text{L}$ 加入弧形底96孔板; (3)将上述获得的模型组及对照组MLNDC密度均调整为 $2 \times 10^6$ 个/mL, 以DC:T比例为1:1加入对应量的MLNDC细胞悬液, 最后加入完全培养液调整每孔终体积至200  $\mu\text{L}$ . 2 d后流式检测初始T淋巴细胞增殖情况。

**统计学处理** 数据采用SPSS 20.0软件进行统计学分析. 正态分布的计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组独立样本比较采用 $t$ 检验,  $P < 0.05$ 被认为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 小鼠的一般情况及模型验证 对照组小鼠一般情况良好. 模型组小鼠逐渐出现焦虑、烦躁, 出现重复刻板行为, 体重减轻, 大便偏稀, 肛门口大便污染. 造模结束3 d后, 对小鼠进行模型验证, 以模型组、对照组小鼠的扩张容量阈值作为评价指标. 结果模型组小鼠的内脏敏感性显著高于对照组[(0.53 mL  $\pm$  0.07 mL) vs (0.85 mL  $\pm$  0.12 mL),  $t = -10.845$ ,  $P = 0.000$ ].

2.2 流式检测小鼠MLNDC的分离情况 收集磁珠分离得到的MLNDC, 流式鉴定CD11c阳性MLNDC细胞比例为 $86.61\% \pm 7.02\%$ , 台盼蓝染色后相差显微镜下观察计数显示所获得的DC活性大于95%。

2.3 流式检测MLNDC表面MHC-II类分子表达情况 如图1, 模型组小鼠MLNDC细胞表面MHC-II类分子表达高于对照组[(73.08%  $\pm$  2.64%) vs (53.20%  $\pm$  4.50%),  $t = -7.617$ ,  $P = 0.000$ ].

2.4 WB检测MLNDC中PDIA3、P-STAT3蛋白的表达量 模型组MLNDC中PDIA3表达量明显高于对照组[(0.77  $\pm$  0.04) vs (0.42  $\pm$  0.03),  $t = 11.086$ ,  $P = 0.000$ ]; P-STAT3表达量显著降低[(0.73  $\pm$  0.03) vs (1.24  $\pm$  0.18),  $t = -4.737$ ,  $P = 0.038$ ](图2)。

2.5 免疫荧光(immunofluorescence, IF)检测PDIA3、P-STAT3蛋白在MLNDC中的定位及含量 小鼠MLNDC中PDIA3和P-STAT3多分布于细胞膜上(图3); 相比较于对照组, 模型组P-STAT3对应的绿色荧光的MOD降低[(0.0358  $\pm$  0.0036) vs (0.0745  $\pm$  0.0119),  $t = -17.782$ ,  $P = 0.000$ ], 与此同时, 与PDIA3对应的红色荧光的MOD升高[(0.0639  $\pm$  0.0142) vs (0.0567  $\pm$  0.0003),  $t = 8.758$ ,  $P = 0.013$ ].

2.6 流式检测混合淋巴细胞反应(mixed lymphocyte reaction, MLR)中小鼠CD4阳性T淋巴细胞的增殖情

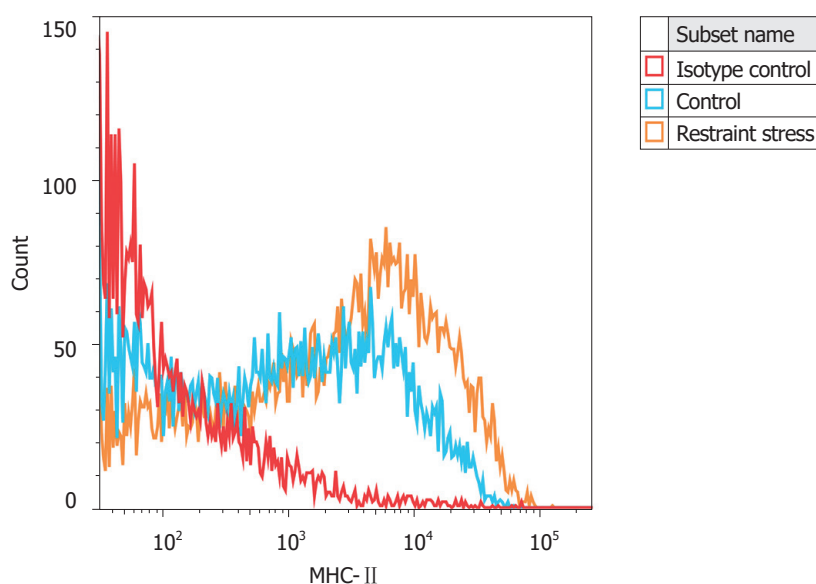


图1 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞表面MHC-II类分子表达情况, 模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞表面MHC-II类分子表达高于对照组. MLNDC: 肠系膜淋巴结树突状细胞; MHC-II: 主要组织相容性复合体II; Control: 对照组; Restraint stress: 模型组.

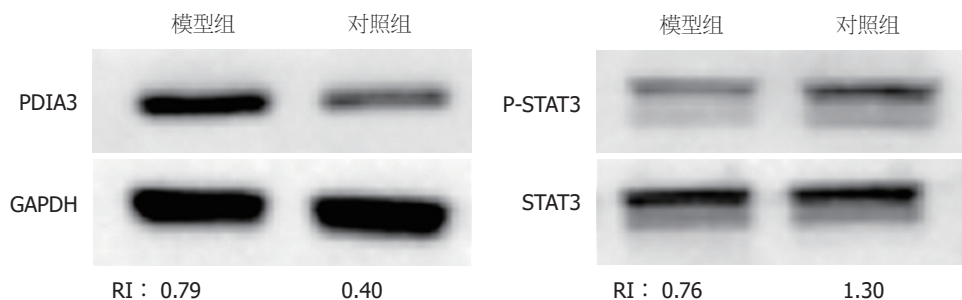


图2 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞中PDIA3、P-STAT3蛋白表达情况, 模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞中PDIA3表达升高、P-STAT3表达减少. PDIA3: 蛋白质二硫键异构酶A3; GAPDH: 抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶; P-STAT3: 抗磷酸化-信号转导与转录激活因子3; STAT3: 信号转导与转录激活因子3.

况 如图4, 未加入BMDC的反应孔(BMDC: T = 0:1)初始T淋巴细胞几乎不出现增殖; 加入模型组MLNDC的MLR体系中, 初始T细胞的增殖细胞百分比高于对照组(control), 差异有统计学意义 $[(34.24\% \pm 2.95\%) \text{ vs } (17.22\% \pm 3.47\%), t = 6.472, P = 0.003]$ .

### 3 讨论

IBS的发病率逐年增高, 近来, 免疫失衡在IBS的发病过程中的作用引起了越来越多的关注, DC作为机体免疫系统的核心, 广泛分布于胃肠道中, 在免疫失衡引起的IBS内脏高敏感中发挥重要作用.

本课题组前期研究发现, IBS模型组MLNDC中MHC-II类分子表达增加, 同时激活T淋巴细胞的能力增强<sup>[3]</sup>. 在此基础上, 本研究进一步探索IBS模型组MLNDC异常活化的可能机制.

STAT3是信号转导与转录激活因子家族中重要的成员. STAT3通路是一条由细胞因子激活、众多相关蛋

白调节的信号转导通路, 广泛参与细胞的增殖、分化、凋亡等多种重要的生物学功能. 通路被激活后, STAT3蛋白发生酪氨酸磷酸化, 随后发生二聚化, 二聚体P-STAT3进入细胞核, 结合对应的DNA结合序列, 发挥转录调控的作用. 大量研究表明, STAT3通路的激活, 对DC的活化有明确的抑制作用<sup>[4]</sup>. 我们的研究发现, 模型组MLNDC细胞表面MHC-II分子表达增加; 在MLR体系中, 激活初始T细胞的能力增强; 同时其内部P-STAT3的表达减弱. 这提示MLNDC中STAT3通路的抑制, 或许是引起DC免疫异常, 并最终导致IBS内脏高敏感发生的一个可能因素.

PDIA3也被称为Erp57或GRP58, 是蛋白质二硫键异构酶家族的一员, 主要功能是通过催化内质网中蛋白质二硫键的形成, 促进合成后蛋白质的正确折叠. 同时作为STAT3的伴侣蛋白, PDIA3也可以调节STAT3通路的活化<sup>[5-9]</sup>.

本课题组前期研究发现IBS模型动物以及IBS患者



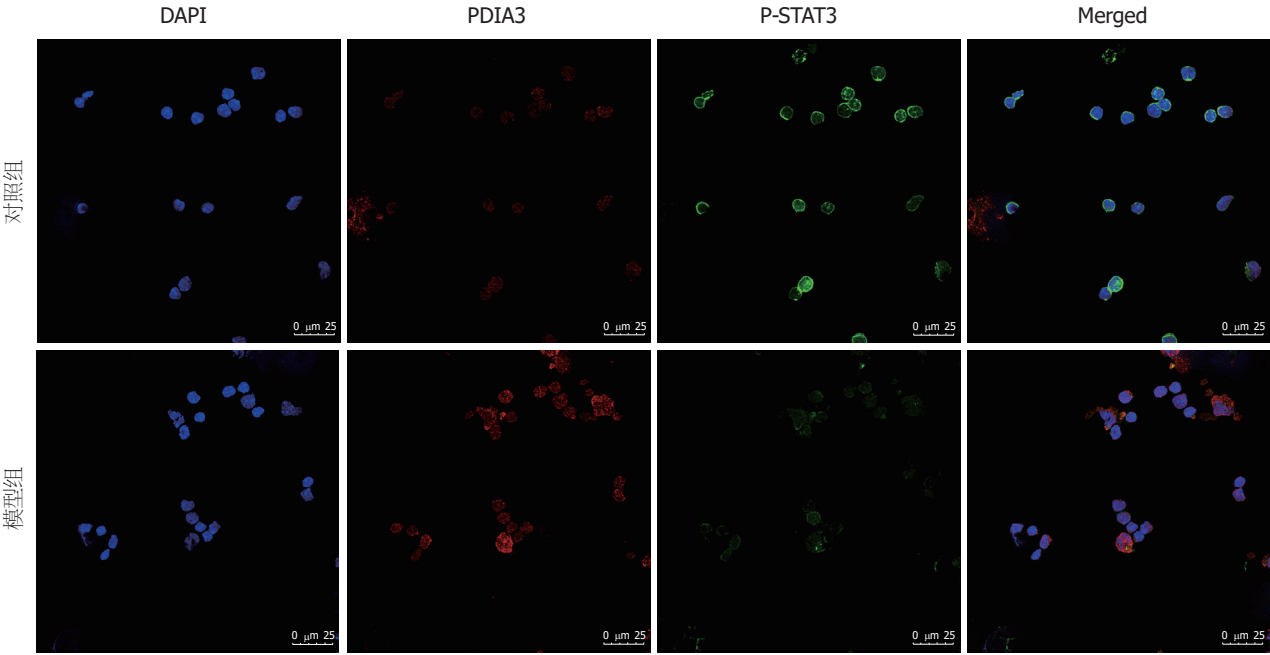


图 3 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞中PDIA3、P-STAT3蛋白的表达与分布情况, PDIA3、P-STAT3主要分布于MLNDC细胞膜, 模型组P-STAT3对应的绿色荧光的MOD降低, PDIA3对应的红色荧光的MOD升高. DAPI: 4', 6-二脒基-2-苯基吗啉; PDIA3: 蛋白质二硫键异构酶A3; P-STAT3: 抗磷酸化-信号转导与转录激活因子3.

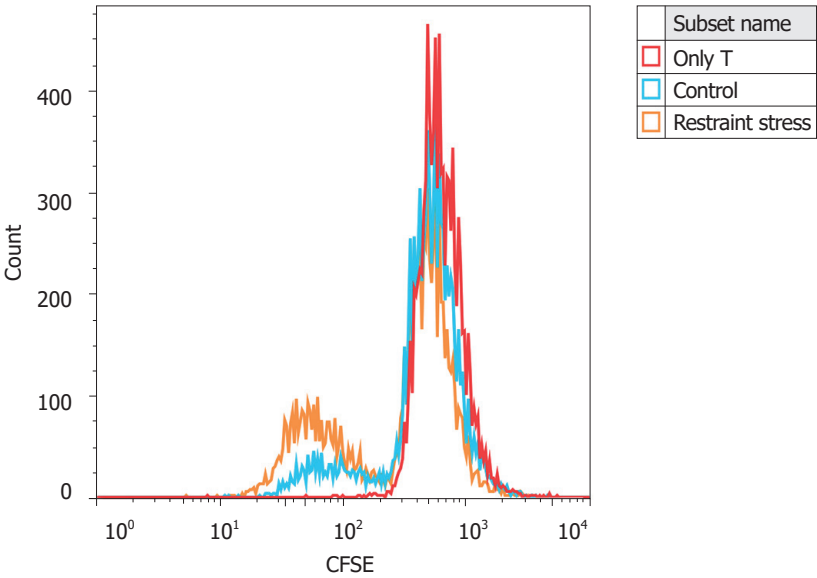


图 4 对照组、模型组小鼠肠系膜淋巴结树突状细胞在混合淋巴细胞反应中刺激初始T淋巴细胞增殖的能力比较, 模型组比对照组表现出更强的刺激能力. Only T: 初始T淋巴细胞; Control: 对照组; Restraint stress: 模型组.

肠系膜病理标本PDIA3表达增加<sup>[10]</sup>, 并且明确了PDIA3在DC介导的免疫异常所引起的IBS内脏高敏感中的作用<sup>[16]</sup>. 在此基础上, 本研究试图探索PDIA3此种作用的发挥与STAT3通路之间的相关性. 我们发现, 模型组MLNDC中P-STAT3表达减弱的同时伴随着PDIA3的表达增高; 在激光共聚焦显微镜下, PDIA3、P-STAT3多分布于细胞膜上, 在空间上存在共定位的可能性, 且模型组PDIA3对应的红色荧光的MOD上升, 而P-STAT3对

应的绿色荧光MOD明显减少. 这一结果和Sehgal等<sup>[7]</sup>的研究结果相似, Sehgal等<sup>[7]</sup>认为, PDIA3和P-STAT3会共同存在于细胞膜的脂筏结构中, PDIA3的存在会抑制P-STAT3与DNA的结合. 这提示PDIA3作为IBS模型组与对照组的差异蛋白, 或许可以通过抑制STAT3通路, 引起DC免疫异常, 最终导致IBS内脏高敏感的发生. 关于PDIA3对于STAT3通路活化的调节, 现有研究结果尚不一致. Coe等<sup>[6]</sup>的研究发现, 在小鼠的胚胎成

纤维干细胞中, PDIA3和STAT3蛋白主要在内质网中发挥相互作用, PDIA3基因的敲除会引起P-STAT3表达增加, 并且重新过表达的PDIA3必须带有内质网定位序列才能逆转这种情况, 提示内质网中的PDIA3才是引起STAT3通路抑制的关键分子. 另一方面, Kondo等<sup>[9]</sup>和Chichiarelli等<sup>[5]</sup>在M14黑色素瘤细胞以及HepG2肝癌细胞中发现两者的共定位发生于核内, PDIA3的敲低表达显著抑制STAT3通路的活化, 并且抑制了随后的STAT3通路依赖性的C反应蛋白的表达. 在我们的研究中, 小鼠MLNDC中PDIA3和P-STAT3大量共存于细胞膜上, 且PDIA3的表达增加伴随着P-STAT3的表达下降以及DC活性的异常增加.

本研究尚存在一定的局限性. 由于本研究为模型组与对照组的横断面比较研究, 所以并不能充分说明PDIA3高表达与STAT3通路的抑制之间的因果关系. 随后的研究可以从改变MLNDC中PDIA3的表达量, 然后观察STAT3通路的活化情况来入手.

综上, 本实验通过建立内脏高敏感小鼠模型, 对比模型组和对照组小鼠MLNDC的活性以及其PDIA3、P-STAT3蛋白的表达差异, 提示了IBS内脏高敏感小鼠MLNDC的异常免疫活化或许和PDIA3/STAT3有关, 为IBS内脏高敏感的发病机制提供了新的研究思路, 为进一步的治疗提供了一个潜在的靶点.

## 文章亮点

### 实验背景

蛋白质二硫键异构酶A3(protein disulfide isomerase A3, PDIA3)/信号转导与转录激活因子3(signal transduction and activator of transcription 3, STAT3)通路在肠系膜淋巴结树突状细胞(mesenteric lymph node dendritic cells, MLNDC)介导的肠易激综合征(irritable bowel syndrome, IBS)内脏高敏感发生发展中的作用还是一个未知数.

### 实验动机

探究PDIA3/STAT3通路在IBS内脏高敏感发生发展中的作用.

### 实验目标

比较模型组和对照组小鼠MLNDC的免疫活性及其PDIA3、P-STAT3的表达和分布情况.

### 实验方法

束缚应激建立IBS内脏高敏感小鼠模型, 磁珠分选获取MLNDC, 用MLR和细胞表面组织相容性复合体II(major histocompatibility complex II, MHC-II)的含量反

映树突状细胞(dendritic cells, DC)的免疫活性, WB比较组间PDIA3以及P-STAT3的表达差异, 免疫荧光比较两者分布差异.

### 实验结果

IBS模型组小鼠MLNDC免疫活性增强, PDIA3表达增加, 但是P-STAT3表达下降.

### 实验结论

PDIA3/STAT3通路或许在MLNDC介导的IBS内脏高敏感的发生发展中起到一定作用.

### 展望前景

PDIA3/STAT3通路和IBS内脏高敏感发生发展的相关性的确立, 可以为后续IBS内脏高敏感发生机制的研究提供思路, 为临床IBS内脏高敏感症状的治疗提供新的靶点.

## 4 参考文献

- Cashman MD, Martin DK, Dhillon S, Puli SR. Irritable Bowel Syndrome: A Clinical Review. *Curr Rheumatol Rev* 2016; 12: 13-26 [PMID: 26717952]
- 李蒙, 张璐, 吕宾, 孟立娜, 陈喆, 鉏莉. 树突细胞异常免疫应答在大鼠内脏高敏感形成中的作用. *中华医学杂志* 2013; 93: 2904-2908 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2013.36.015]
- 李蒙, 胡玥, 王霄腾, 吕宾, 张梦, 陈超英. ERK1/2通路对内脏高敏感大鼠肠道树突细胞表面MHC-II分子表达的影响. *中华医学杂志* 2015; 95: 3930-3934 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2015.48.013]
- Barton BE. STAT3: a potential therapeutic target in dendritic cells for the induction of transplant tolerance. *Expert Opin Ther Targets* 2006; 10: 459-470 [PMID: 16706685 DOI: 10.1517/14728222.10.3.459]
- Chichiarelli S, Gaucci E, Ferraro A, Grillo C, Altieri F, Cocchiola R, Arcangeli V, Turano C, Eufemi M. Role of ERp57 in the signaling and transcriptional activity of STAT3 in a melanoma cell line. *Arch Biochem Biophys* 2010; 494: 178-183 [PMID: 19995546 DOI: 10.1016/j.jabb.2009.12.004]
- Coe H, Jung J, Groenendyk J, Prins D, Michalak M. ERp57 modulates STAT3 signaling from the lumen of the endoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 2010; 285: 6725-6738 [PMID: 20022947 DOI: 10.1074/jbc.M109.054015]
- Sehgal PB. Plasma membrane rafts and chaperones in cytokine/STAT signaling. *Acta Biochim Pol* 2003; 50: 583-594 [PMID: 14515141]
- Guo GG, Patel K, Kumar V, Shah M, Fried VA, Etlinger JD, Sehgal PB. Association of the chaperone glucose-regulated protein 58 (GRP58/ER-60/ERp57) with Stat3 in cytosol and plasma membrane complexes. *J Interferon Cytokine Res* 2002; 22: 555-563 [PMID: 12060494 DOI: 10.1089/10799900252982034]
- Kondo R, Ishino K, Wada R, Takata H, Peng WX, Kudo M, Kure S, Kaneya Y, Taniai N, Yoshida H, Naito Z. Downregulation of protein disulfide-isomerase A3 expression inhibits cell proliferation and induces apoptosis through STAT3 signaling in hepatocellular carcinoma. *Int J Oncol* 2019; 54: 1409-1421 [PMID: 30720090 DOI: 10.3892/ijo.2019.4710]
- Ding Y, Lu B, Chen D, Meng L, Shen Y, Chen S. Proteomic analysis of colonic mucosa in a rat model of irritable bowel syndrome. *Proteomics* 2010; 10: 2620-2630 [PMID: 20461717 DOI: 10.1002/pmic.200900572]

- 11 Williams CL, Villar RG, Peterson JM, Burks TF. Stress-induced changes in intestinal transit in the rat: a model for irritable bowel syndrome. *Gastroenterology* 1988; 94: 611-621 [PMID: 2828144 DOI: 10.1016/0016-5085(88)90231-4]
- 12 Zheng PY, Feng BS, Oluwale C, Struikma S, Chen X, Li P, Tang SG, Yang PC. Psychological stress induces eosinophils to produce corticotrophin releasing hormone in the intestine. *Gut* 2009; 58: 1473-1479 [PMID: 19651632 DOI: 10.1136/gut.2009.181701]
- 13 刘雁冰, 袁耀宗, 陶然君, 翟祖康, 陈红专. 大鼠肠道高敏感性模型的建立及其内脏敏感性评估. *中华消化杂志* 2003; 23: 34-37 [DOI: 10.3760/j.issn:0254-1432.2003.01.009]
- 14 Van den Broeck W, Derore A, Simoons P. Anatomy and nomenclature of murine lymph nodes: Descriptive study and nomenclatory standardization in BALB/cAnNCrl mice. *J Immunol Methods* 2006; 312: 12-19 [PMID: 16624319 DOI: 10.1016/j.jim.2006.01.022]
- 15 Burnette WN. "Western blotting": electrophoretic transfer of proteins from sodium dodecyl sulfate--polyacrylamide gels to unmodified nitrocellulose and radiographic detection with antibody and radioiodinated protein A. *Anal Biochem* 1981; 112: 195-203 [PMID: 6266278 DOI: 10.1016/0003-2697(81)90281-5]
- 16 Zhuang Z, Zhang L, Wang X, Tao L, Lv B. PDIA3 gene induces visceral hypersensitivity in rats with irritable bowel syndrome through the dendritic cell-mediated activation of T cells. *PeerJ* 2016; 4: e2644 [PMID: 27896022 DOI: 10.7717/peerj.2644]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》正文要求

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



## 前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送, 浙江大学医学院附属第一医院肿瘤外科 浙江省杭州市 310003

张俊斌, 住院医师, 主要从事胃癌的基础与临床研究。

**作者贡献分布:** 实验设计由滕理送与王浩浩完成; 数据获取由王海勇与陆轶民完成; 数据统计由张俊斌与俞雄飞完成; 论文撰写由张俊斌与王伟斌完成; 实验监督由王伟斌完成。

**基金项目:** 浙江省医药卫生科技计划省部共建重点项目, No. 2017209495。

**通讯作者:** 滕理送, 教授, 主任医师, 310003, 浙江省杭州市庆春路79号, 浙江大学医学院附属第一医院肿瘤外科。lsteng@zju.edu.cn  
电话: 0571-87236881

收稿日期: 2019-07-02

修回日期: 2019-08-23

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

### Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer

Jun-Bin Zhang, Hao-Hao Wang, Wei-Bin Wang, Hai-Yong Wang, Yi-Min Lu, Xiong-Fei Yu, Li-Song Teng

Jun-Bin Zhang, Hao-Hao Wang, Wei-Bin Wang, Hai-Yong Wang, Yi-Min Lu, Xiong-Fei Yu, Li-Song Teng, Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, Hangzhou 310003, Zhejiang Province, China

**Supported by:** the Provincial Co-Construction Key Projects of Medical Health Science and Technology Plan in Zhejiang Province, No. 2017209495.

**Corresponding author:** Li-Song Teng, Professor, Chief Surgeon, Department of Surgical Oncology, the First Affiliated Hospital, School of Medicine, Zhejiang University, No. 79, Qingchun Road, Hangzhou 310003, Zhejiang Province, China. lsteng@zju.edu.cn

Received: 2019-07-02

Revised: 2019-08-23

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

### Abstract

#### BACKGROUND

Previous studies have shown that prealbumin (PA) and fibrinogen (Fib) can be used to predict the clinicopathological features and prognosis of a variety of malignant tumors. Therefore, we speculated that the prealbumin-to-fibrinogen ratio (PA/F) can predict the clinicopathological features of patients with gastric cancer (GC) and tumor progression preoperatively.

#### AIM

To explore the relationship between the PA/F ratio and clinicopathological features of patients with GC.

#### METHODS

The preoperative clinical and pathological data of 210 patients with GC admitted to the First Affiliated Hospital of Zhejiang University from January 2017 to March 2019 were retrospectively analyzed. The patients were divided into either a low PA/F group or high PA/F group. The differences in clinical data and pathological features were compared between the two groups, and the correlation between PA/F values and other prognosis-related immunonutrient indicators was also analyzed.

#### RESULTS

The PA/F ratio was significantly associated with age, tumor size, degree of differentiation, depth of invasion, lymph node metastasis, TNM stage, and neurovascular invasion ( $P < 0.05$ ). The low PA/F value group showed greater age, larger tumor diameter, lower degree of differentiation, deeper infiltration, advanced TNM stage, and more frequent neurovascular invasion ( $P < 0.05$ ). PA/F values were negatively correlated with multiple immune nutrition indicators, such as neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR), platelet-to-lymphocyte ratio (PLR), C-reactive protein-to-albumin ratio (CAR), and systemic immune-inflammation index (SII), but positively

correlated with prognostic nutritional index (PNI).

## CONCLUSION

The PA/F ratio can be used as a predictor of preclinical clinicopathological features in patients with GC, and patients with a PA/F ratio  $\leq 9.07$  have a relatively poor prognosis. The PA/F value is associated with NLR, PLR, CAR, SII, and PNI.

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

Key Words: Prealbumin; Fibrinogen; Gastric cancer; Clinicopathologic characteristics

Zhang JB, Wang HH, Wang WB, Wang HY, Lu YM, Yu XF, Teng LS. Association of prealbumin/fibrinogen ratio with clinicopathologic characteristics of gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1133-1141  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1133.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1133>

## 摘要

### 背景

既往研究表明前白蛋白(prealbumin, PA)与纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)可用于判断多种恶性肿瘤的临床病理特征及预后。因此本研究推测前白蛋白/纤维蛋白原比值(prealbumin-to-fibrinogen, PA/F)可预测胃癌(gastric cancer, GC)患者临床病理特征, 术前辅助判断肿瘤进展程度。

### 目的

探讨术前PA与Fib比值PA/F和GC临床病理特征的关系。

### 方法

回顾性分析2017-01/2019-03浙江大学附属第一医院肿瘤外科收治的210例GC患者术前临床病理资料并分为低PA/F组和高PA/F组。比较两组临床资料及病理学特征的差异并分析PA/F值与其他预后相关免疫营养指标的相关性。

### 结果

PA/F值与年龄、肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移、TNM分期和神经血管侵犯相关( $P<0.05$ )。低PA/F值组表现出患者年龄更大、肿瘤最大径更大、分化程度更差、浸润深度更深、TNM分期更晚和更易神经血管侵犯( $P<0.05$ )。PA/F值与中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板与淋巴细胞比值(platelet-to-lymphocyte ratio, PLR)、C反应蛋白与白蛋白比值(C-reactive protein-to-albumin ratio, CAR)和系统性免疫炎症指数(systemic immune-inflammation index, SII)呈负相关性,

与预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI)呈正相关性。

## 结论

PA/F值可作为GC患者术前临床病理特征的判断指标, 其值 $\leq 9.07$ 提示肿瘤处于进展期, TNM分期相对较差, PA/F值与NLR、PLR、CAR、SII和PNI多种GC预后指数具有相关性。

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

关键词: 前白蛋白; 纤维蛋白原; 胃癌; 临床病理特征

**核心提要:** 分析胃癌患者外周血前白蛋白与纤维蛋白原比值(prealbumin-to-fibrinogen ratio, PA/F)与临床病理特征的关系, 结果表明PA/F值与肿瘤大小、分化程度、浸润深度、淋巴结转移和TNM分期等相关, 并且与其他多种免疫预后指标呈负相关性。

张俊斌, 王浩浩, 王伟斌, 王海勇, 陆轶民, 俞雄飞, 滕理送. 前白蛋白/纤维蛋白原比值与胃癌临床病理特征的关系. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1133-1141

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1133.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1133>

## 0 引言

胃癌(gastric cancer, GC)是我国常见的消化系统恶性肿瘤, 每年全球GC新增病例中约41%发生在中国, 据最新中国恶性肿瘤流行情况分析表明, GC目前已成为我国发病率第二和死亡率第三的恶性肿瘤<sup>[1]</sup>。随着外科的发展及肿瘤化疗、放疗、靶向治疗等多学科诊疗技术的进步、早诊早治率的提高, GC的临床预后较之前已有明显改善。但目前GC患者的分期仍主要依赖于术后病理, 亟需发展一套可术前评估GC患者肿瘤进展程度的体系, 从而指导多学科治疗方案的制定。

恶性肿瘤的发生发展及侵袭转移程度不仅与肿瘤细胞本身特性有关, 而且还受到机体对肿瘤反应的影响, 这其中就包括了宿主本身的营养状况。血清前白蛋白(prealbumin, PA)是由肝脏合成的、能较敏感反映机体蛋白更新程度的一种蛋白质, 能够比白蛋白更好的反应机体的营养状况<sup>[2]</sup>。之前研究报道了PA在判断结直肠癌、肝内胆管细胞癌、食管癌、GC等消化系统恶性肿瘤诊断和预后方面具有重要作用<sup>[3-6]</sup>。

研究发现肿瘤患者常表现出一项或多项凝血功能指标的异常, 其中也包括血浆纤维蛋白原。纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)是由肝脏产生的一类糖蛋白, 在临床上尤其是外科术前常规检测的凝血指标。Fib参与了恶性

肿瘤的发生发展和侵袭转移。在GC中,血浆Fib水平与GC进展程度及预后不佳呈正相关<sup>[7]</sup>。

基于以上研究发现,我们推测由PA和Fib组合构建的PA与Fib比值(prealbumin-to-fibrinogen ratio, PA/F)能够较好的预测GC患者临床病理特征。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 回顾性统计分析2017-01/2019-03浙江大学附属第一医院收治的210例GC患者临床及病理资料,术后病理分期以美国国立综合癌症网络发表的GC第2018.2版指南为依据,术后病理诊断胃腺癌,根据术后病理确定肿瘤分化程度,分为高分化组、中分化组、低分化组(未分化癌、粘液腺癌、印戒细胞癌、肝样腺癌)。

210例接受手术治疗的GC患者平均年龄为61.2岁 $\pm$ 0.71岁,其中 $\leq 60$ 岁者共94例,占44.8%; $>60$ 岁者共116例,占55.2%。男性共143例,占68.1%;女性共67例,占31.9%。根据肿瘤中心所在的部位分类,绝大部分GC位于远端胃,高位、中位、低位肿瘤的比例分别为11.4%(24例)、29.5%(62例)和59.1%(124例)。48.6%(102例)的GC最大径 $\leq 3$  cm, 51.4%(108例)的GC最大径 $>3$  cm。仅16.7%(35例)的GC病人伴有血清癌胚抗原(carcino-embryonic antigen, CEA)水平增高。大部分(78.1%, 164例)GC患者的术后病理组织学类型为低分化腺癌,而高分化和中分化腺癌分别占5.7%(12例)和16.2%(34例)。GC累犯神经和脉管的比例基本相同,分别为24.3%(51例)和23.8%(50例)。根据第八版GC TNM分期, I、II、III、IV期GC患者分别占GC手术患者总数的36.7%(77例)、28.1%(59例)、30.9%(65例)和4.3%(9例)。所有患者中53.8%(113例)的GC病人伴有淋巴结转移( $N>0$ ), 4.3%(9例)的GC病人伴有远处转移( $M=1$ )(表1)。

### 1.2 方法

**1.2.1 纳入与排除标准:** 纳入标准: (1)患者术前经胃镜活检及术后行病理常规检测证实为胃腺癌的手术病人; (2)血液学标本在手术前1 wk内获得。排除标准: (1)术前进行过放疗或者化疗的患者; (2)合并同时或异时的其他恶性肿瘤的患者; (3)伴随其他可能影响血常规及肝肾功能疾病, 比如自身免疫性疾病、感染性疾病及肝炎肝硬化等; (4)术前出现过严重消化道梗阻、穿孔或大出血等并发症的患者; (5)术前影像学检查已发现肝、肺等远处转移的患者; (6)临床及病理资料缺失或随访失访的患者。

**1.2.2 数据计算方式:** 术前一周进行血常规、凝血功能及生化检查, 根据结果计算PA/F值、中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板与淋巴细胞比值(platelet-to-lymphocyte ratio, PLR)、C反

应蛋白与白蛋白比值(C-reactive protein-to-albumin ratio, CAR)、预后营养指数(prognostic nutritional index, PNI),  $PNI = \text{血清白蛋白值(g/L)} + 5 \times \text{外周淋巴细胞总数}(\times 10^9/\text{L})$ 、系统性免疫炎症指数(systemic immune-inflammation index, SII),  $SII = \text{外周血小板总数}(\times 10^9/\text{L}) / \text{外周中性粒细胞总数}(\times 10^9/\text{L})$ 。与之前研究报道相似<sup>[8]</sup>, 我们选取PA/F值平均值为截断值, 对全部210例GC患者进行统计分析, 得出PA/F值的均值为9.07, 将PA/F值 $\geq 9.07$ 定义为高PA/F值组, 将PA/F值 $<9.07$ 定义为低PA/F值组。各比值之间关系(图1)。

**统计学处理** 采用SPSS 16.0统计学软件进行数据的统计分析。符合正态分布的计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 两组之间的均数比较采用独立样本 $t$ 检验, 多组均数比较采用单因素方差分析; 不符合正态分布的计量资料以中位数和四分位数[ $M(P_{25}, P_{75})$ ]表示, 比较采用秩和检验。计数资料以例数和百分数表示, 计数资料比较采用 $\chi^2$ 检验或者Fisher确切概率法分析。通过计算PA/F值绘制PA/F受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线并测定PA/F值敏感性和特异性。  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 PA/F与各临床病理特征关系** 进一步分析显示, 术前PA/F值与年龄、肿瘤部位及术前肿瘤标志物CEA水平无密切关系( $P>0.05$ )。但在年龄大于60岁的老年GC患者中PA/F值更低( $t = 2.956, P = 0.004$ )。此外, PA/F值与肿瘤大小及分化程度密切相关, 肿瘤最大径 $>3$  cm的GC患者PA/F值更低( $t = 4.271, P<0.001$ ); 低分化GC患者的PA/F值明显低于高分化GC患者, 但高分化GC患者与中分化GC患者, 中分化GC与低分化GC患者PA/F值无统计学差异( $F = 2.056, P = 0.003$ ; 组间比较 $P_{\text{高分化-低分化}} = 0.006$ )。肿瘤浸润程度越重, PA/F值越低( $F = 19.56, P<0.001$ ; 组间比较 $P_{1-3}<0.001, P_{1-4}<0.001, P_{2-3} = 0.001, P_{2-4} = 0.003$ )。有淋巴结转移组PA/F值明显低于无淋巴结转移组GC患者( $F = 8.019, P<0.001$ ; 组间比较 $P_{0-3}<0.001$ )。在肿瘤侵犯神经脉管的GC患者中, 其PA/F值低于未侵犯GC患者( $t_{\text{神经}} = 2.72, P = 0.007; t_{\text{脉管}} = 3.484, P<0.001$ )。临床TNM分期越晚, PA/F值越低, 呈逐步降低趋势( $F = 16.19, P<0.001$ ; 组间比较 $P_{1-2} = 0.001, P_{1-3}<0.001, P_{1-4}<0.001, P_{2-4} = 0.039$ )(表1)。

**2.2 高PA/F值组和低PA/F值组临床病理特征比较** 经计数得出PA/F值的均值为 $9.07 \pm 0.24$ , 因此, 我们根据此值将GC患者分为高PA/F值组和低PA/F值组。结果显示, 高PA/F值组共有患者100例, 其中男性69例(69%), 女性31例(31%); 年龄 $\leq 60$ 岁者共53例(53%), 年龄 $>60$ 岁者共47例(47%)。低PA/F值组共有患者110例, 其中男性74例



表 1 210例胃癌患者术前PA/F值与临床病理特征

因素	例数	PA/F值	t值/F值	P值
性别			1.336	0.183
男	143	9.288 ± 0.302		
女	67	8.598 ± 0.387		
年龄(岁)			2.956	0.004
≤60	94	9.842 ± 0.358		
>60	116	8.439 ± 0.314		
肿瘤部位			1.368	0.257
高位	24	7.978 ± 0.643		
中位	62	9.295 ± 0.429		
低位	124	9.171 ± 0.322		
肿瘤大小(cm)			4.271	<0.001
≤3	102	10.09 ± 0.321		
>3	108	8.115 ± 0.332		
分化程度			6.02	0.003
高分化	12	11.85 ± 0.606		
中分化	34	9.897 ± 0.691		
低分化	164	8.693 ± 0.261		
脉管浸润			3.484	<0.001
有	50	7.614 ± 0.511		
无	160	9.528 ± 0.263		
神经侵犯			2.72	0.007
有	51	7.921 ± 0.411		
无	159	9.432 ± 0.283		
浸润深度			19.56	<0.001
TIS, T1	68	11.04 ± 0.371		
T2	31	10.15 ± 0.618		
T3	87	7.647 ± 0.317		
T4	24	7.169 ± 0.658		
淋巴结转移			8.019	<0.001
N0	97	10.11 ± 0.336		
N1	35	9.119 ± 0.614		
N2	34	8.430 ± 0.593		
N3	44	7.250 ± 0.440		
远处转移			3.047	0.003
M0	201	9.223 ± 0.244		
M1	9	5.682 ± 0.722		
TNM分期			16.19	<0.001
0-I期	77	10.88 ± 0.365		
II期	59	8.717 ± 0.444		
III期	65	7.713 ± 0.369		
IV期	9	5.682 ± 0.722		
CEA水平			0.116	0.908
≤5	175	9.083 ± 0.263		
>5	35	9.010 ± 0.597		

PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; CEA: 癌胚抗原.

(67%), 女性36例(33%); 年龄≤60岁者共41例(37.3%), 年龄>60岁者共69例(63.7%). 此外, 低PA/F值组与高PA/F值组相比, 有更大的肿瘤最大径( $\chi^2 = 18.19, P < 0.001$ )、

更深的浸润深度( $\chi^2 = 24.08, P < 0.001$ )、更多的淋巴结转移( $\chi^2 = 16.85, P < 0.001$ )、更多神经脉管侵犯( $\chi^2 = 4.1, P_{\text{神经}} = 0.04$ 和 $\chi^2 = 8.17, P_{\text{脉管}} = 0.004$ )、分化程度更差( $\chi^2 = 11, P$

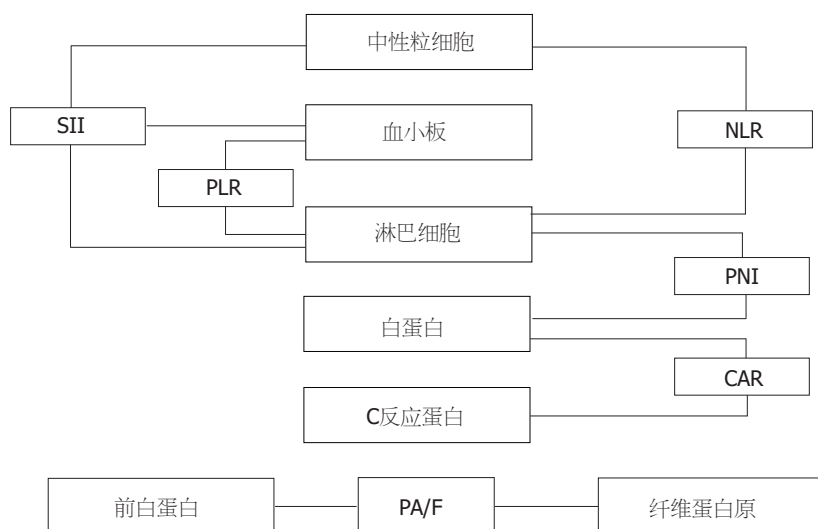


图1 各免疫营养预测指标关系。PA/F: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值; CAR: C反应蛋白/白蛋白比值; PNI: 预后营养指数; SII: 系统性免疫炎症指数。

= 0.004)和较晚的TNM分期( $\chi^2 = 36.18, P < 0.001$ );而两组患者性别、肿瘤部位和术前CEA水平的差异均无统计学差异( $P > 0.05$ )(表2)。

进一步分析淋巴结转移率看到,低PA/F值组的淋巴结转移率(67.3%)明显高于高PA/F值组(39%)( $\chi^2 = 21.28, P < 0.001$ )。对GC患者的T1/T2期和T3/T4期进行ROC曲线统计分析,取所有患者PA/F值的平均数9.07作为分界值,其敏感度为72.9%,特异度为58.5%,ROC曲线下面积(area under the curve, AUC)值为0.71;而在判断淋巴结是否转移上,其敏感度为65.5%,特异度为62.5%,AUC值为0.67(表3)。

2.3 PA/F值与各免疫营养指标相关性 此外,本研究进一步统计分析了PA/F值与其他免疫营养指标的相关性,发现早期GC的NLR、PLR、CAR和SII明显小于进展期GC, PNI明显大于进展期GC( $P < 0.05$ )(表4)。经过Pearson相关性分析显示,PA/F值与NLR( $r = -0.247, P = 0.001$ )、PLR( $r = -0.245, P = 0.001$ )、CAR( $r = -0.517, P < 0.001$ )和SII( $r = -0.313, P < 0.001$ )呈负相关,与PNI( $r = -0.449, P < 0.001$ )呈正相关;其中PA/F值与CAR的相关性最高(图2)。

### 3 讨论

据统计2015年我国GC总发病例数约67.9万,总死亡例数约49.8万,总体预后仍然较差<sup>[9]</sup>。虽然对GC的诊断及治疗方法众多,然而,由于其症状缺乏特异性和晚期GC患者治疗的有限性,较难在初诊时对GC进展程度进行快速有效评估。目前TNM分期仍是判断GC患者预后的主要指标,但由于其依赖于术后病理,具有一定的局限性。因此,研究GC发生发展及转移相关的预测指标对评估患者病情从而制定治疗方案具有重要意义。

既往研究表明,肿瘤患者的营养状况与患者的年龄、疾病进展程度和预后相关。PA与白蛋白功能相似,但半衰期更短,能够较敏感的评估机体营养状况和免疫功能,而这与肿瘤的复发和预后密切相关<sup>[10]</sup>。前白蛋白降低会增加GC患者术后并发症的发生率,包括组织修复功能下降、吻合口瘘、营养支持获益差等。而且还会促进全身炎症反应,从而引发促进肿瘤的发展,导致患者预后较差。改善患者的营养状况可缩短住院时间、降低术后并发症的发生率,从而影响患者预后。纤维蛋白原又称为凝血因子I,是由肝脏产生的血液中含量最高的凝血因子,在手术、感染、炎症、外伤及肿瘤等多种病理生理情况下均出现不同程度的升高<sup>[11]</sup>。在恶性肿瘤中往往伴随一项或多项凝血功能的异常,凝血系统的激活及凝血相关分子的释放在肿瘤进展过程中发挥了重要作用<sup>[12]</sup>,其中便包括纤维蛋白原含量的改变。研究表明,大约50%未转移和90%已转移的肿瘤患者存在一定的凝血功能异常<sup>[13]</sup>,而无明显诱因情况出现血栓性疾病的患者可能存在隐匿性恶性肿瘤<sup>[14]</sup>。越来越多的研究发现Fib与恶性肿瘤之间存在密切关系,其与多种肿瘤的进展、化疗反应不佳及临床预后不良相关<sup>[15,16]</sup>。其机制可能是纤维蛋白原可在肿瘤细胞外基质中起到骨架作用,从而促进肿瘤血管的生成,增强肿瘤细胞的粘附、迁移和侵袭<sup>[17]</sup>。

综上所述,我们推测以前白蛋白和纤维蛋白原为基础的指标PA/F值可预测GC患者的临床病理特征。但对于PA/F值与GC患者TNM分期及预后的关系及其内在机制目前仍不清楚,仍需进一步基础机制研究加以论证。本研究回顾性分析了GC患者术前的PA/F值与临床病理特征的关系,并首次报道了肿瘤直径越大、分化程

表 2 PA/F值分组后210例胃癌患者临床病理特征

因素	低PA/F组(n = 110)	高PA/F组(n = 100)	$\chi^2$ 值	P值
性别			0.072	0.789
男	74 (67.27%)	69 (69.00%)		
女	36 (32.73%)	31 (31.00%)		
年龄(岁)			5.24	0.022
≤60	41 (37.27%)	53 (53.00%)		
>60	69 (62.73%)	47 (47.00%)		
肿瘤部位			2.745	0.254
高位	16 (14.55%)	8 (8.00%)		
中位	29 (26.36%)	33 (33.00%)		
低位	65 (59.09%)	59 (59.00%)		
肿瘤大小(cm)			18.19	<0.001
≤3	38 (34.55%)	64 (64.00%)		
>3	72 (65.45%)	36 (36.00%)		
分化程度			11	0.004
高分化	1 (0.90%)	11 (11.00%)		
中分化	16 (14.55%)	18 (18.00%)		
低分化	93 (84.55%)	71 (71.00%)		
脉管浸润			8.167	0.004
有	35 (31.82%)	15 (15.00%)		
无	75 (68.18%)	85 (85.00%)		
神经侵犯			4.102	0.043
有	33 (30.00%)	18 (18.00%)		
无	77 (70.00%)	82 (82.00%)		
浸润深度			24.08	<0.001
早期(TIS, T1)	19 (17.27%)	49 (49.00%)		
进展期(T2-T4)	91 (82.73%)	51 (51.00%)		
淋巴结转移			16.85	<0.001
无(N0)	36 (32.73%)	61 (61.00%)		
有(N1、N2、N3)	74 (67.27%)	39 (39.00%)		
远处转移			8.548	0.004
M0	101 (91.82%)	100 (100.00%)		
M1	9 (8.18%)	0 (0.00%)		
TNM分期			36.18	<0.001
0-I 期	21 (19.09%)	56 (56.00%)		
II 期	35 (31.82%)	24 (24.00%)		
III期	45 (40.91%)	20 (20.00%)		
IV期	9 (8.18%)	0 (0.00%)		
CEA水平			0.061	0.805
≤5	91 (82.73%)	84 (84.00%)		
>5	19 (17.27%)	16 (16.00%)		

PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; CEA: 癌胚抗原.

度越差、浸润深度越深、淋巴结转移率越高、TNM分期越晚的GC患者往往伴随较低的PA/F值, 此类患者也更易伴发神经管侵犯. 以上都提示了低PA/F值GC患者术后复发率更高、预后更差, 需要较强的术后化疗方案及更频繁的随访周期. 同样临床上可以看到, 肿瘤越大、浸润深度越深、淋巴结转移数目越多的GC患者往

往更容易出现营养消耗、恶病质、体内凝血系统的激活等情况, 这也反应了肿瘤引发的患者免疫、营养状态的下降, 从而引起PA/F值降低.

过去几十年中, 大量的研究发现由血常规结果得出的炎症指数, 比如NLR、PLR和SII可用于判断恶性肿瘤的疾病进展程度和预后<sup>[18]</sup>. 与之前研究报道一致, 我



表 3 PA/F值分组后淋巴结转移率

组别	例数	N0	N1	N2	N3	转移率
低PA/F值组	110	36	18	23	33	67.27%
高PA/F值组	100	61	17	11	11	39.00%
合计	210	97	35	34	44	53.81%

PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值。

表 4 不同TNM分期术前NLR、PLR、CAR、PNI和SII参数

变量	0-I期( <i>n</i> = 77)	II-IV期( <i>n</i> = 133)	<i>P</i> 值
NLR	1.865 (1.915–2.423)	2.55 (2.481–2.896)	<0.001
PLR	125.6 (126.3–150.7)	156.3 (155.0–181.9)	0.002
CAR	0.009 (0.013–0.041)	0.029 (0.063–0.128)	<0.001
PNI	54.83 ± 0.533	52.21 ± 0.439	<0.001
SII	414.4 (396.5–511.6)	617.4 (605.8–734.9)	<0.001

NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值; CAR: C反应蛋白/白蛋白比值; PNI: 预后营养指数; SII: 系统性免疫炎症指数。

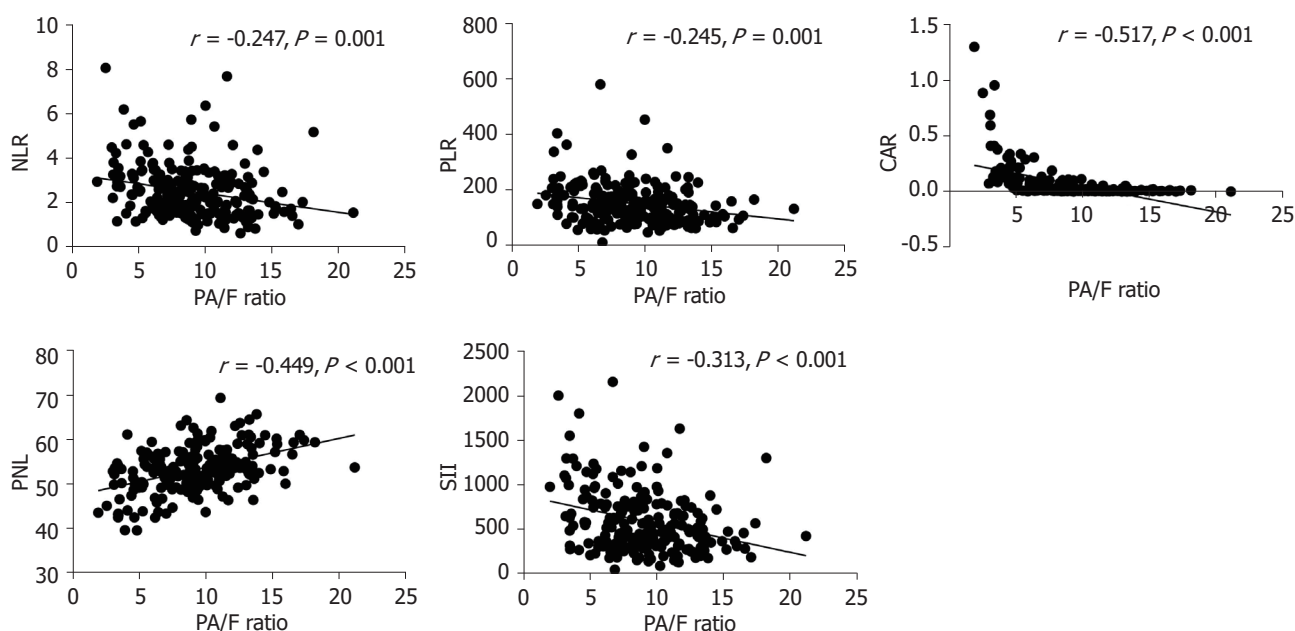


图 2 PA/F值与NLR、PLR、CAR、PNI和SII的相关性。PA/F值: 前白蛋白/纤维蛋白原比值; NLR: 中性粒细胞/淋巴细胞比值; PLR: 血小板/淋巴细胞比值; CAR: C反应蛋白/白蛋白比值; PNI: 预后营养指数; SII: 系统性免疫炎症指数。

们同样发现, NLR、PLR、CAR及SII随着TNM分期的进展, 呈上升趋势, 而PNI呈下降趋势, 差异具有统计学意义。进一步分析发现PA/F值与呈PNI正相关, 与NLR、PLR、CAR及SII呈负相关。

但本研究仍有不足之处, 首先, 本研究术后单中心回顾性研究, 存在选择偏倚, 后期仍需多中心、大样本、前瞻性研究加以证实; 其次, 由于大多医院尚未将前白蛋白列为术前常规检测项目, 浙江大学医学院附属

第一医院近两年才开始对恶性肿瘤病人进行术前检测前白蛋白等营养指标, 因此缺乏随访及预后数据。

综上所述, 低PA/F值组GC患者的肿瘤较大、分化程度更差、浸润深度更深、淋巴结转移更多、更容易侵犯神经脉管, 从而表现出TNM分期更晚, 提示此类患者预后较差, 需加强随访。PA/F值可作为术前评估GC患者TNM分期的重要工具, 据此判断患者术后并发症的发生和预后, 指导临床医生制定更好的治疗方案。

## 文章亮点

## 实验背景

胃癌(gastric cancer, GC)是我国常见的消化道恶性肿瘤之一, 具有较高的发病率和死亡率. 因此, 术前对GC患者疾病状态的判断并选择合理的治疗方案有助于改善患者生存时间, 具有重要的临床意义. 既往研究表明前白蛋白(prealbumin, PA)和纤维蛋白原(fibrinogen, Fib)对包括GC在内的多种恶性肿瘤的进展和预后具有判断作用. 然而, 我国尚无PA与Fib比值(prealbumin-to-fibrinogen, PA/F)在GC患者中作用的报道. 本研究旨在探讨PA/F值对GC患者临床病理特征的判断作用, 并分析其与多种免疫预后指标的关系.

## 实验动机

本研究旨在研究PA/F值对GC临床病理特征的预测判断价值, 并进一步探讨其与多种免疫预后指标的相关性, 以期临床提供更多术前决策手段, 从而提高GC患者的术后生存时间.

## 实验目标

本研究分析了术前PA/F值与GC各临床病理特征的关系, 进一步比较了PA/F值与多种免疫预后指标的相关性.

## 实验方法

本研究采用回顾性分析的研究方法, 记录其术前实验室检查数据并计算相应预测指标, 得出PA/F值的平均值为9.07, 根据此将所有GC患者分为高PA/F值组 and 低PA/F值组. 比较两组GC患者临床病理特征差异及分析PA/F值与其他免疫预后指标的相关性.

## 实验结果

随着GC进展程度的增加, PA/F值逐渐降低. 低PA/F组患者的肿瘤最大径更大、浸润深度更深、淋巴结转移更多、神经管侵犯更多、分化程度更差和TNM分期更晚. 低PA/F值组的淋巴结转移率(67.3%)明显高于高PA/F值组(39%). PA/F值与中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板与淋巴细胞比值、C反应蛋白与白蛋白比值(C-reactive protein-to-albumin ratio, CAR)和系统性免疫炎症指数呈负相关性, 与预后营养指数呈正相关性, 其中PA/F值与CAR的相关性最大( $r = -0.517$ ).

## 实验结论

PA/F值与GC患者的临床病理特征密切相关, 低PA/F值患者表现出肿瘤明显进展, 并且PA/F值与NLR等多种免

疫预后指标相关.

## 展望前景

本研究对PA/F值与GC患者的临床病理特征进行分析研究, 但仍需长期随访明确其在预后判断中的作用, 依据后续依靠大样本多中心随机对照实验予以验证其对GC进展判断的有效性.

## 4 参考文献

- Zhu Z. [2017 hotspots review and outlook on gastric cancer surgery in China]. *Zhonghua Wei Chang Wai Ke Za Zhi* 2018; 21: 7-14 [PMID: 29354892]
- Lu J, Xu BB, Zheng ZF, Xie JW, Wang JB, Lin JX, Chen QY, Cao LL, Lin M, Tu RH, Huang ZN, Zheng CH, Huang CM, Li P. CRP/prealbumin, a novel inflammatory index for predicting recurrence after radical resection in gastric cancer patients: post hoc analysis of a randomized phase III trial. *Gastric Cancer* 2019; 22: 536-545 [PMID: 30377862 DOI: 10.1007/s10120-018-0892-0]
- Zhou H, Jiang X, Li Q, Hu J, Zhong Z, Wang H, Wang H, Yang B, Hu H. A simple and effective prognostic staging system based on clinicopathologic features of intrahepatic cholangiocarcinoma. *Am J Cancer Res* 2015; 5: 1831-1843 [PMID: 26175951]
- Han WX, Chen ZM, Wei ZJ, Xu AM. Preoperative pre-albumin predicts prognosis of patients after gastrectomy for adenocarcinoma of esophagogastric junction. *World J Surg Oncol* 2016; 14: 279 [PMID: 27809860 DOI: 10.1186/s12957-016-1035-x]
- Chiang JM, Chang CJ, Jiang SF, Yeh CY, You JF, Hsieh PS, Huang HY. Pre-operative serum albumin level substantially predicts post-operative morbidity and mortality among patients with colorectal cancer who undergo elective colectomy. *Eur J Cancer Care (Engl)* 2017; 26 [PMID: 26526411 DOI: 10.1111/ecc.12403]
- Shen Q, Liu W, Quan H, Pan S, Li S, Zhou T, Ouyang Y, Xiao H. Prealbumin and lymphocyte-based prognostic score, a new tool for predicting long-term survival after curative resection of stage II/III gastric cancer. *Br J Nutr* 2018; 120: 1359-1369 [PMID: 30370885 DOI: 10.1017/S0007114518002854]
- Song S, Cong X, Li F, Xue Y. The Fibrinogen to Mean Platelet Volume Ratio Can Predict Overall Survival of Patients with Non-Metastatic Gastric Cancer. *J Gastric Cancer* 2018; 18: 368-378 [PMID: 30607300 DOI: 10.5230/jgc.2018.18.e36]
- Li S, Xu X, Liang D, Tian G, Song S, He Y. [Prognostic value of blood neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) and platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) in patients with gastric cancer]. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2014; 36: 910-915 [PMID: 25623765]
- Ni XC, Xu J, Yi Y, Fu YP, Cai XY, Liu G, Huang JL, Gan W, Qiu SJ. Inflammation-nutrition score predicts prognosis of patients with resectable hepatocellular carcinoma. *Int J Clin Oncol* 2019; 24: 825-835 [PMID: 31020447 DOI: 10.1007/s10147-019-01402-4]
- Jia RR, Zhong JH, Huo RR, Su QB, Xiang X, Zhao FL, Qin ZB, Chen JH, Liao YY, Ma L, Xiang BD, Zhang CY, Li LQ. Correlation between serum prealbumin and prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy. *J Surg Oncol* 2019; 119: 794-800 [PMID: 30648280 DOI: 10.1002/jso.25378]
- Tilley RE, Holscher T, Belani R, Nieve J, Mackman N. Tissue factor activity is increased in a combined platelet and microparticle sample from cancer patients. *Thromb Res* 2008; 122: 604-609 [PMID: 18262600 DOI: 10.1016/j.thromres.2007.12.023]
- Marco P, Marco A. [Biomolecular markers in cancer-associated thromboembolism]. *Med Clin (Barc)* 2015; 144 Suppl 1: 21-25

- [PMID: 25771088 DOI: 10.1016/S0025-7753(15)30014-2]
- 13 Zhang D, Zhou X, Bao W, Chen Y, Cheng L, Qiu G, Sheng L, Ji Y, Du X. Plasma fibrinogen levels are correlated with postoperative distant metastasis and prognosis in esophageal squamous cell carcinoma. *Oncotarget* 2015; 6: 38410-38420 [PMID: 26334098 DOI: 10.18632/oncotarget.4800]
  - 14 Tang L, Liu K, Wang J, Wang C, Zhao P, Liu J. High preoperative plasma fibrinogen levels are associated with distant metastases and impaired prognosis after curative resection in patients with colorectal cancer. *J Surg Oncol* 2010; 102: 428-432 [PMID: 20672316 DOI: 10.1002/jso.21668]
  - 15 Fan N, Chen D, Zheng J, Wen Z, Lin P. A novel preoperative plasma indicator to predict prognoses for patients with esophageal squamous cell carcinoma after radical esophagectomy: fibrinogen-to-lymphocyte ratio. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 4719-4728 [PMID: 31213896 DOI: 10.2147/CMAR.S204938]
  - 16 Xu H, Ai JZ, Tan P, Lin TH, Jin X, Gong LN, Lei HR, Yang L, Wei Q. Pretreatment elevated fibrinogen level predicts worse oncologic outcomes in upper tract urothelial carcinoma. *Asian J Androl* 2019 [PMID: 31169138 DOI: 10.4103/aja.aja\_38\_19]
  - 17 Zhang Y, Xiao G. Prognostic significance of the ratio of fibrinogen and albumin in human malignancies: a meta-analysis. *Cancer Manag Res* 2019; 11: 3381-3393 [PMID: 31114374 DOI: 10.2147/CMAR.S198419]
  - 18 Kumarasamy C, Sabarimurugan S, Madurantakam RM, Lakhotiya K, Samiappan S, Baxi S, Nachimuthu R, Gothandam KM, Jayaraj R. Prognostic significance of blood inflammatory biomarkers NLR, PLR, and LMR in cancer-A protocol for systematic review and meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2019; 98: e14834 [PMID: 31192906 DOI: 10.1097/MD.00000000000014834]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》修回稿须知

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

#### 1 修回稿信件

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

#### 2 稿件修改

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

#### 3 版权

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



# 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 刘超, 四川大学华西医院  
成办分院消化内科 四川省成都市 610041

邓凯, 四川大学华西医院消化内科 四川省成都市 610041

宦徽, 主治医师, 主要从事消化病学研究方向.

基金项目: 西藏自治区自然科学基金, No. XZ2017ZRG-91.

作者贡献分布: 此文由胡红与邓凯协助设计指导; 由陈小红、高薇娜、  
李玲丽及李骥协助临床支持; 由刘超指导临床及课题设计; 由宦徽全面实  
施、数据分析及论文写作.

通讯作者: 刘超, 副主任医师, 610041, 四川省成都市武侯区洗面桥横街  
20号, 四川大学华西医院成办分院消化内科. liuchao-delta@126.com  
电话: 028-85599051

收稿日期: 2019-07-24

修回日期: 2019-08-15

接受日期: 2019-09-13

在线出版日期: 2019-09-28

## Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing

Hui Huan, Hong Hu, Xiao-Hong Chen, Wei-Na Gao, Ling-Li Li, Ji Li, Kai Deng, Chao Liu

Hui Huan, Hong Hu, Xiao-Hong Chen, Wei-Na Gao, Ling-Li Li, Ji Li, Chao Liu, Department of Gastroenterology, Hospital of Chengdu Office of People's Government of Tibetan Autonomous Region, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Kai Deng, Department of Gastroenterology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China

Supported by: Tibet Autonomous Region Natural Foundation, No. XZ2017ZRG-91.

Corresponding author: Chao Liu, Deputy Chief Physician, Department of Gastroenterology, Hospital of Chengdu Office of

People's Government of Tibetan Autonomous Region, No. 20, Ximianqiao Hengjie, Wuhou District, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. liuchao-delta@126.com

Received: 2019-07-24

Revised: 2019-08-15

Accepted: 2019-09-13

Published online: 2019-09-28

## Abstract BACKGROUND

A large number of studies have confirmed that intestinal flora imbalance exists in patients with liver cirrhosis, which provides new clues and ideas for clinical prevention and treatment of liver cirrhosis and its complications. The living environment and dietary habits of Tibetan people are different from those of Han people, so the structure and diversity of intestinal flora in Tibetan patients with liver cirrhosis may also be different.

## AIM

To explore the structure, abundance, and diversity of intestinal flora in Tibetan patients with cirrhosis, and to compare the differences and characteristics of intestinal flora between Tibetan and Han patients with cirrhosis.

## METHODS

Sixteen Chinese Han patients with liver cirrhosis (control group) and 20 Tibetans with liver cirrhosis (experimental group) were enrolled from October 2017 to October 2018. Basic information, routine blood examination, biochemical information, coagulation function, and imaging information of the patients were detected and collected. DNA was extracted from fecal samples and the V4 variable region of 16S rDNA was amplified. The amplification products were sequenced using the Illumina Miseq platform, and the sequencing results

were subject to cluster analysis of OTUs (operational taxonomic units), species annotation, and alpha diversity analysis.

## RESULTS

A total of 15006 and 36872 valid tags were obtained in the control and experimental groups, respectively. Chao1 index of the experimental group decreased significantly when compared to the control group, indicating a lower abundance of gut microbiota in the experimental group. Based on a 97% similarity, species annotation and the comparison of abundance between two groups were carried out. In the experimental group, at the phylum level, the relative abundance level of *Bacteroidetes* was significantly lower ( $P < 0.001$ ), while the relative abundance level of *Firmicutes* and *Actinobacteria* significantly increased ( $P < 0.01$  and  $P < 0.05$ ). At the genus level, the relative abundance of *Staphylococcus* and *Actinomycetes* decreased ( $P < 0.01$ ), while the relative abundance of *Lactobacillus* increased ( $P < 0.01$ ).

## CONCLUSION

There is a significant difference in the constitution of gut microbiota between Tibetan and Chinese Han patients with liver cirrhosis. This work for the first time reveals the feature of intestinal microbiota in Tibetan patients with liver cirrhosis, which lays a foundation for individual treatment of liver cirrhosis.

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

Key Words: Tibetan; Liver cirrhosis; Gut microbiota; High-throughput sequencing

Huan H, Hu H, Chen XH, Gao WN, Li LL, Li J, Deng K, Liu C. Diversity of intestinal microflora in tibetan patients with liver cirrhosis based on high-throughput sequencing. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1142-1148  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1142.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1142>

## 摘要

### 背景

大量研究已证实肝硬化患者存在肠道菌群失调的现象, 这为临床防治肝硬化及并发症提供了新的线索与思路. 藏族人群生活环境和饮食习惯有别于汉族人群, 因而藏族肝硬化患者肠道菌群结构及多样性亦可能存在差异.

### 目的

探讨藏族肝硬化患者肠道菌群结构、丰度与多样性, 并对比汉族肝硬化患者肠道菌群的差异及特点.

### 方法

前瞻性纳入2017-10/2018-10四川大学华西医院成办

分院消化内科36例肝硬化患者, 其中20例藏族设为实验组, 16例汉族肝硬化患者设为对照组; 收集患者基本信息、血常规、生化、凝血功能、影像学等, 并采集大便标本, 提取基因组DNA并对细菌16S rRNA基因V4区进行PCR扩增, 应用Illumina Miseq平台进行高通量测序, 测序原始结果进行Reads拼接、操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类、物种注释、Alpha多样性分析等, 最终得到样品的生物信息学结果.

## 结果

对照组和实验组分别获得15006和36872条有效序列, 在实验组中Chao1指数显著降低( $P < 0.01$ ), 实验组的物种丰富度较对照组显著降低. 基于97%的相似性进行物种注释, 对实验组和对照组进行微生物物种丰度比较. 结果显示, 相较于对照组, 在门水平上, 实验组中拟杆菌门显著减少( $P < 0.001$ ), 厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加( $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ ); 在属水平上, 葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少( $P < 0.01$ ), 乳杆菌属显著增加( $P < 0.01$ ).

## 结论

藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异. 本研究首次展现了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 为肝硬化的个性化治疗奠定了基础.

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

关键词: 藏族; 肝硬化; 肠道菌群; 高通量测序

**核心提要:** 通过肠道菌群高通量测序, 探讨藏族肝硬化患者肠道菌群结构、丰度与多样性, 并对比汉族肝硬化患者肠道菌群的差异及特点. 结论: 藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异.

宦徽, 胡红, 陈小红, 高薇娜, 李玲丽, 李骥, 邓凯, 刘超. 基于高通量测序技术的藏族肝硬化患者肠道菌群多样性研究. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1142-1148

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1142.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1142>

## 0 引言

在我国, 肝硬化占有所有疾病的1.39%, 占全部肝病住院病例的51.1%, 是我国最严重的公共卫生问题之一, 而在藏区这一疾病的高发性尤为突出. 大量研究证实在肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象. 藏族人群生活环境和饮食习惯有别于汉族人群, 这些差异可能影响肠道菌群, 目前缺乏藏族肝硬化患者肠道菌群的研究, 国内

国外均未见报道, 亟待相关研究填补空白. 本研究对比藏族肝硬化与汉族肝硬化患者肠道菌群差异, 为下一步探索个性化治疗提供依据.

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 前瞻性纳入2017-10/2018-10四川大学华西医院成办分院消化内科41例肝硬化患者. 纳入标准: (1)肝硬化患者(存在可引起肝硬化的病因; 存在门静脉高压和或肝功能障碍表现; 腹部CT或彩超等影像学证据支持); (2)年龄18-75岁; (3)同意参加本临床研究并签署知情同意书(2017研第10号). 排除标准: (1)有外科分流、肝叶切除、肝移植手术等肝脏手术史者; (2)未控制的感染或败血症; (3)合并恶性肿瘤患者; (4)近2 wk内使用抗生素、类固醇等激素和益生菌制剂; (5)恶病质; (6)妊娠期或哺乳期女性; (7)1 mo内有肠道感染病史者; (8)存在重要器官功能衰竭的患者; (9)藏族患者离开高原环境2 wk以上, 且饮食习惯发生明显改变者.

其中, 1例因存在重要器官功能衰竭; 2例藏族患者因离开高原环境2 wk以上且饮食习惯发生明显改变; 1例合并恶性肿瘤; 1例近2 wk内使用抗生素被排除, 最终36例纳入本研究. 将此中20例藏族肝硬化患者设为实验组; 16例汉族肝硬化患者设为对照组. 收集患者基本信息、血常规、生化、凝血功能、影像学等.

### 1.2 方法

**1.2.1 粪便样本的收集与DNA提取:** 采集36例肝硬化患者的大便标本(在清洁环境中采集研究对象的新鲜粪便(不少于6 g), 采集到的粪便样本立即放入-80 °C冰箱进行冻存. 采用DNA提取试剂盒(DNeasy PowerSoil Kit, 天根生化科技有限公司, 中国北京)对粪便样本的总DNA进行提取, 提取方法参考试剂盒操作说明书. 提取得到的总DNA用琼脂糖凝胶电泳检测其完整性, 并用NanoDrop检测DNA的浓度. 检测合格的DNA放入-20 °C冻存待下一步的操作.

**1.2.2 16S rRNA基因V4区扩增与测序结果分析:** 使用16S rRNA基因通用引物343F(5'-TACGGRAGGCAGCAG-3')和798R(5'-AGGGTATCTAATCCT-3')对V4区可变区进行PCR扩增, 扩增产物应用Illumina Miseq平台进行高通量测序, 由上海欧易生物医学科技有限公司完成(中国上海). 采用QIIME 1.8.0软件对测序原始结果进行过滤, 过滤得到的clean tags按照97%的相似性进行操作分类单元(operational taxonomic units, OTUs)聚类, 对分类的OTUs进行物种注释分析, 并进行Alpha多样性计算, 包括香农(Shannon)指数、辛普森(Simpson)指数和丰富度指数Chao1. 此外, 根据分类学层次门和属分析微生物的群落结构以及物种丰度.

**统计学处理** 采用SPSS 19.0软件进行统计学分析.

呈正态分布的计量资料以mean±SD表示, 比较采用方差分析; 非正态分布, 资料以中位数及四分位数表示, 比较采用Kruskal-Wallis检验. 计数资料以例数和百分数表示, 比较采用 $\chi^2$ 检验. 基于Illumina Miseq测序平台获得关于肠道细菌16S rDNA的测序结果, 并在对原始数据进行质量控制后, 采用相应的生物数据分析方法比较各组肠道菌群情况.  $P<0.05$ 认为有统计学差异.

## 2 结果

**2.1 一般资料** 两组在性别、年龄、白蛋白、总胆红素、PT、腹水及Child-Pugh评分均无显著差异(表1).

**2.2 测序质量统计** 收集到的36个样本进行16S rDNA基因序列测序, 利用QIIME软件对原始序列进行过滤, 最终对照组和实验组分别得到平均19963和48338条clean tags, 其中有效tags分别为15006(75.17%)和36872(76.28%), 有效tags平均读长分别为428 bp和431 bp. Shannon指数稀释曲线显示在Shannon指数为4-6时, 绝大多数样本的稀释曲线趋向平坦, 说明测序深度合理(图1).

**2.3 Alpha多样性分析** Alpha多样性是对样本中物种多样性的分析, 基于OTU种类和丰度计算Chao1、Shannon指数和Simpson指数. 实验组和对照组的各样本的覆盖度均大于99%, 说明本次测序所检测到的微生物物种能够覆盖样本中大多数的物种, 与Shannon指数稀释曲线的结果一致. Chao1指数反映样本中物种的丰度, 即OTU的数量. Chao1值越大代表物种总数越多, 表明丰富度越高. 如图2A, 实验组的Chao1指数为332.30, 对照组的Chao1指数为493.38, 实验组的物种丰富度较对照组显著降低( $P<0.01$ ), 说明藏、汉肝硬化患者肠道微生物物种丰度有显著差异.

Shannon和Simpson指数用于反映群落的多样性, 包括物种丰度和物种均匀度, Shannon越大和Simpson指数越小, 样品中的物种多样性越高. 结果显示, 实验组的Shannon指数中值为5.15略低于对照组的5.98, 但差异并不显著( $P=0.060$ ). Simpson指数中值实验组与对照组分别为0.936与0.949, 差异无统计学意义( $P=0.632$ )(图2B、C).

**2.4 肠道菌群的结构与优势菌群分析** 与Ribosomal Database Project数据库进行相似性比对以及物种注释, 在门和属两个分类层次下对各个样品的物种丰度进行统计. 在门水平下, 两组均以拟杆菌门和厚壁菌门的丰度最高, 其中拟杆菌门对照组与实验组丰度百分比分别占到61.76%和36.86%, 实验组显著减少( $P<0.001$ ); 厚壁菌门分别占到32.95%和48.24%, 实验组显著增加( $P<0.01$ ); 其次, 丰度较高的是放线菌门对照组与实验组分别是2.10%和6.62%, 实验组增加( $P<0.05$ ). 同样丰度较



表 1 一般情况及肝功对比

组别	例数	性别(男/女(例))	年龄(岁)	白蛋白(g/L)	总胆红素(mmol/L)	PT (s)	肝性脑病(例)	腹水(例)	Child-Pugh(分)
实验组	20	16/4	51.20 ± 11.18	34.88 ± 6.27	21.68 ± 10.70	14.26 ± 1.87	1	11	6.9
对照组	16	13/3	49.18 ± 10.67	35.40 ± 6.99	19.83 ± 9.82	13.79 ± 1.76	3	9	6.5
P值		0.261	0.583	0.798	0.558	0.410	0.472	0.940	0.473

PT: 凝血酶原时间.

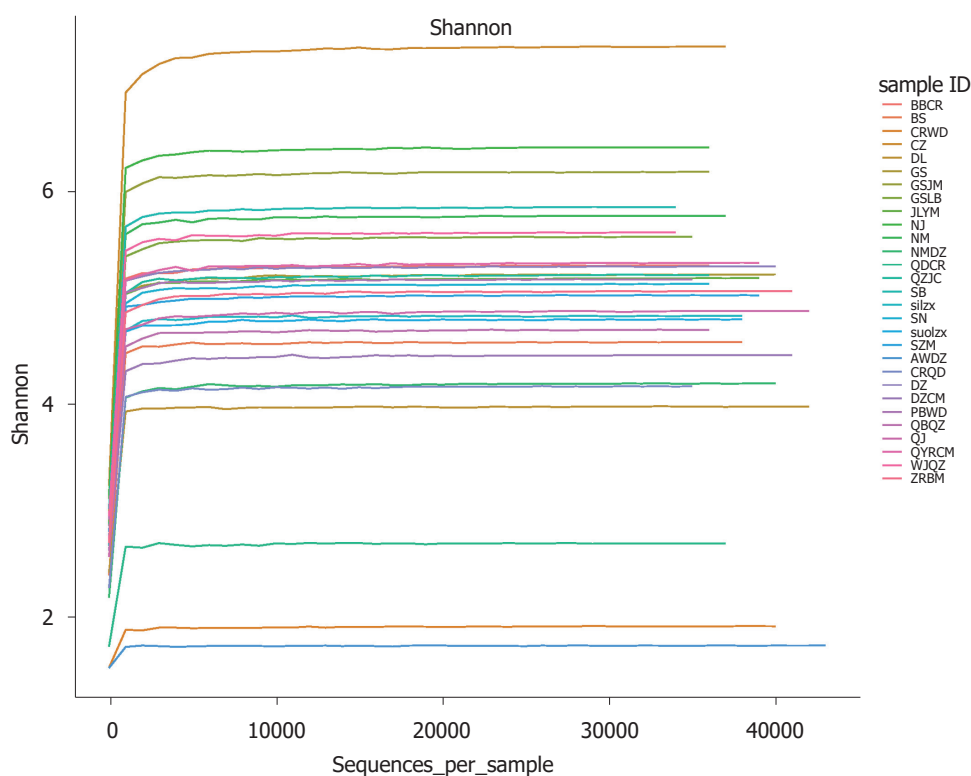


图 1 各样本肠道菌群Shannon指数曲线.

高的变形菌门、梭杆菌门实验组分别占比为3.09%和0.06%, 对照组为8%和0.05%, 但两组比较差异均不显著 ( $P>0.05$ )(图3).

在属水平上, 对照组和实验组的top15优势菌主要有普氏菌属\_9、拟杆菌属、粪杆菌属、普氏菌属\_2、双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、志贺氏埃希菌属、假丁酸弧菌属、布劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*、另枝菌属、*Subdoligranulum*、拟普雷沃菌属、长奈瑟氏菌. 如图4, 实验组与对照组的肠道微生物组成由明显差异, 普氏菌属\_9为对照组的主要优势菌, 而实验组的菌群组成更加复杂. 与对照组相比, 实验组葡萄球菌、放线菌明显减少, 差异显著 ( $P<0.01$ ); 乳杆菌属明显增加, 差异显著 ( $P<0.01$ ).

### 3 讨论

肝脏与消化道毗邻, 因其特殊的解剖位置, 可形成所谓

的肝-肠轴, 肝脏因此成为抵御抗原、细菌和细菌产物等的第一道防线. 大量研究已充分证实肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象, 主要表现为固有定植菌的减少, 非固有定植菌的增多, 其中以厌氧菌及革兰氏阴性杆菌增多更为明显<sup>[1-4]</sup>. 然而, 肠道菌群失调与肝硬化之间是否存在因果关系及其具体病理生理机制目前仍不清楚. 有研究推测肠道菌群失调可通过改变胆汁酸生成, 增加肠道黏膜通透性, 引起细菌移位及小肠细菌过度生长等方式共同参与肝硬化及其并发症的发病过程<sup>[5,6]</sup>. 如肠道菌群失调参与细菌移位、内毒素血症、甚至肝性脑病、自发性细菌性腹膜炎等的发生. 有报道证实肝性脑病患者中肠道微生物平衡失调可导致细菌抗原移位, 从而促进炎症反应的发生, 损伤宿主肠道黏膜屏障的抵御机制, 参与门静脉高压、肝性脑病等的发病机制<sup>[5,7]</sup>. 还有研究发现随着肝脏疾病恶化, 肝硬化患者的肠道菌群也会随之改变, 其中微生物基因组中

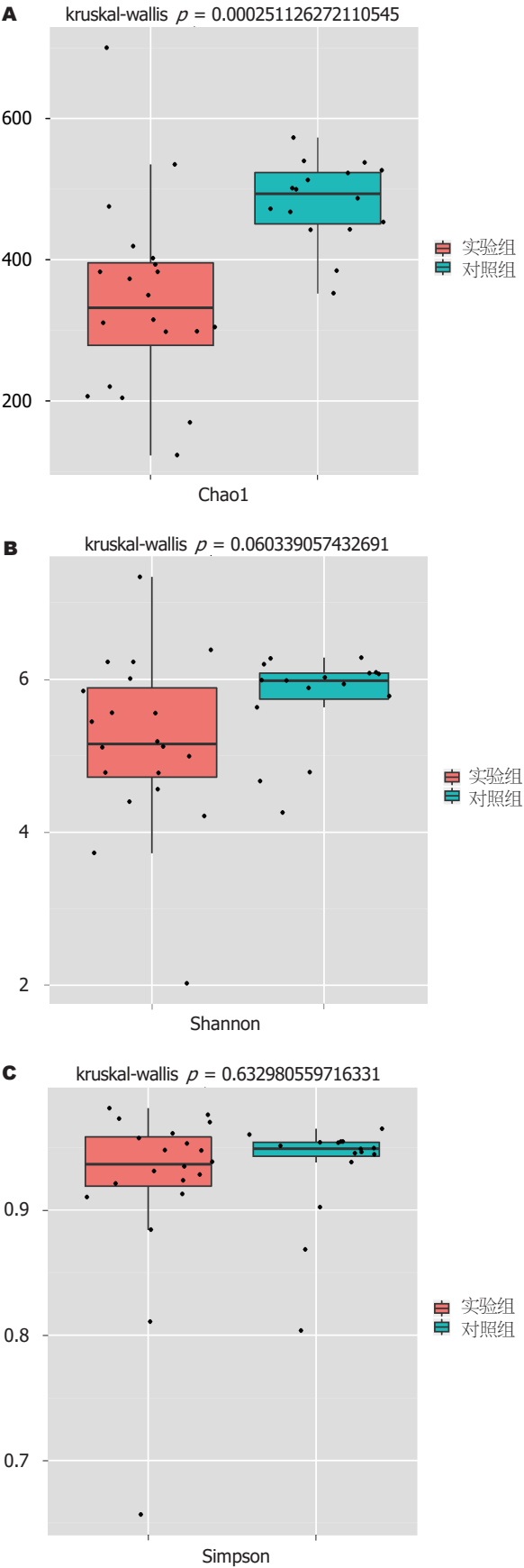


图 2 Alpha多样性分析. A: 两组Chao1指数对比; B: 两组Shannon指数对比; C: 两组Simpson指数对比.

丰度较高的细菌种属与疾病的严重性有明显关系<sup>[8]</sup>.

高通量Illumina测序可检测不可人工培养的肠道细菌, 测序快速且结果准确度高, 可全面反应复杂样品的微生物群落的组成, 是目前微生物多样性研究的重要技术手段之一<sup>[9]</sup>. 本研究采用该技术对16S rDNA的V4可变区进行测序, 首次开展藏族肝硬化人群肠道细菌菌落组成分析. 研究对20例藏族肝硬化患者(实验组)和16例汉族肝硬化患者(对照组)粪便样本中微生物的多样性和群落结构进行了初步分析, Chao1指数在实验组和对照组之间有显著差异( $P < 0.05$ ), 说明种族会对肝硬化患者的微生物丰度产生影响, 藏族肝硬化患者的微生物丰度相较于汉族肝硬化患者降低. 物种丰度统计分析结果显示, 在门水平上, 两组的微生物种类主要有拟杆菌门、厚壁菌门、放线菌门、变形菌门、梭杆菌门, 其中拟杆菌门在实验组中显著减少( $P < 0.001$ ), 而厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加( $P < 0.01$ 和 $P < 0.05$ ); 在属水平上, 两组的前15微生物种类主要有普氏菌属\_9、拟杆菌属、粪杆菌属、普氏菌属\_2、双歧杆菌属、乳杆菌属、链球菌属、志贺氏埃希菌属、假丁酸弧菌属、布劳特氏菌属、*Lachnoclostridium*、另枝菌属、*Subdoligranulum*、拟普雷沃菌属、长奈瑟氏菌, 其中葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少( $P < 0.01$ ), 乳杆菌属显著增加( $P < 0.01$ ).

实验组中拟杆菌门和厚壁菌门丰度百分比的显著改变将会对F/B值(厚壁菌门/拟杆菌门丰度比值)造成较大的影响, F/B是衡量肠道菌群失调的标准之一, F/B值的改变说明在藏族肝硬化患者和汉族肝硬化患者之间存在不同程度的肠道菌群失调, 将会对肝硬化的进一步发展以及并发症的发生造成不同程度的影响<sup>[10]</sup>. 藏族人群世居青藏高原, 独特的环境气候也使藏族人群形成了独特的饮食习惯. 在藏族人群的日常饮食中, 肉类(例如牛肉、羊肉等)和发酵类食品(例如酸奶)为主要食材, 而对于碳水化合物、蔬菜和水果的摄入较少<sup>[11]</sup>. 此外, 也有报道表明人种所带来的基因上的差异也是造成藏汉肠道微生物组成差异的原因之一<sup>[12]</sup>. 由此可见, 了解藏族肝硬化患者的肠道微生物组成将是建立肝硬化个性化治疗方案的重要基础, 有利于藏族肝硬化患者的治疗及预后的改善. 本研究利用16S rDNA测序技术初步探索了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 为进一步了解藏族肝硬化患者的肝硬化的发展进程奠定了基础, 同时为失代偿性肝硬化的个性化治疗及预后的改善提供方向. 但基于本研究病例数较少, 不可避免地存在偏倚, 因此需要更多大样本、多中心、多层次的随机对照研究进一步证实.

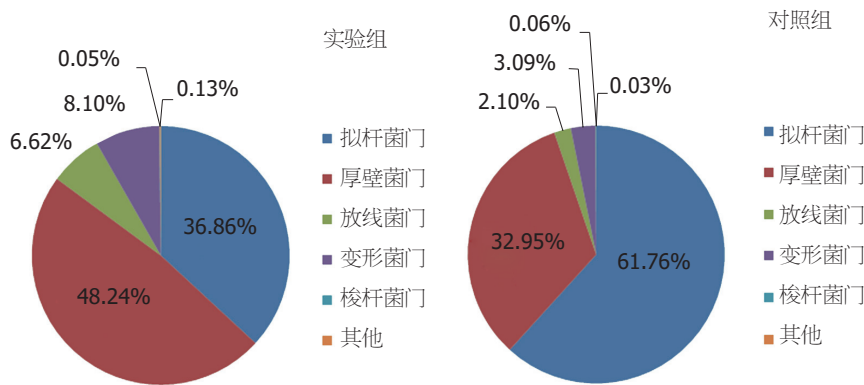


图 3 两组肠道菌群门水平比较。

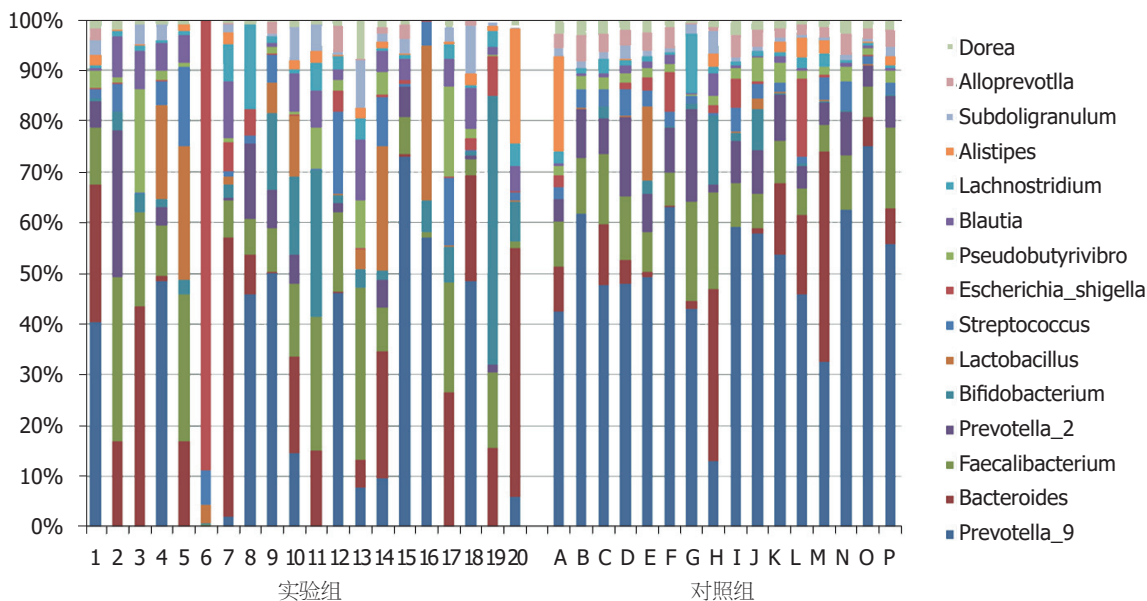


图 4 微生物种水平相对丰度统计分析实验组(1-20)和对照组(A-P)。Prevotella\_9: 普氏菌属\_9; Bacteroides: 拟杆菌属; Faecalibacterium: 粪杆菌属; Prevotella\_2: 普氏菌属\_2; Bifidobacterium: 双歧杆菌属; Lactobacillus: 乳杆菌属; Streptococcus: 链球菌属; Escherichia\_Shigella: 志贺氏埃希菌属; Pseudobutyrvibrio: 假丁酸弧菌属; Blautia: 布劳氏菌属; Alistipes: 另枝菌属; Alloprevotella: 拟普雷沃菌属; Dorea: 长奈瑟氏菌。

## 文章亮点

### 实验背景

肝硬化是我国最严重的公共卫生问题之一，而在藏区这一疾病的高发性尤为突出。大量研究已充分证实肝硬化患者中明显存在肠道菌群失调的现象，主要表现为固有定植菌的减少，非固有定植菌的增多。这为临床防治肝硬化及并发症提供了新的线索与思路。揭示肝硬化患者肠道菌群的特征，将有助于进一步认识肠道微生态与肝硬化的关系，必将推进肠道微生态在肝硬化综合治疗中的地位。由于藏族人群所生活的环境和饮食习惯及构成均不同于普通人群，这些因素均参与人体肠道微生态的形成，也必将导致藏族人群肠道菌群特征也不同于普通人群，因此很有必要专门针对藏族人群肠道菌群特

征进行针对性研究。然而目前针对藏族人群肠道菌群特征，特别是针对藏族肝硬化患者肠道菌群的研究，国内国外均未见报道，亟待相关研究填补空白。因此本研究拟针对藏族肝硬化肠道微生态进行针对性研究，旨在揭示藏族人群中肠道菌群特征与肝硬化及相关并发症的关系。

### 实验动机

进一步认识肠道微生态与肝硬化的关系，为临床防治藏族肝硬化及并发症提供新的线索与思路。

### 实验目标

对比藏、汉族肝硬化患者肠道菌群的差异，探讨可能的内在联系。



## 实验方法

收集纳入受试者新鲜粪便, 迅速于-80 °C度冰箱保存, 同时收集受试者临床相关资料. 16S rRNA测序及数据分析(高通量测序): (1)肠道微生物DNA提取; (2)荧光定量PCR反应; (3)PCR产物凝胶电泳; (4)PCR产物混合及纯化; (5)测序分析: 将纯化的PCR混合产物使用Illumina Miseq测序平台行双端测序, 并根据测序结果行相应的生物数据统计分析. 测序技术可以在不需要培养的条件下进行混合细菌的鉴定, 特别是一些目前还无法培养的细菌可通过测序分析, 极大丰富了肠道微生物的数据库. 特别是高通量是测序技术, 针对大样本的研究, 只要能够提供满足测序要求的DNA, 就可以对样本中可能存在的微生物进行分析.

## 实验结果

本研究达到了试验目标, 结果显示实验组的Chao1指数为332.30, 对照组的Chao1指数为493.38, 实验组的物种丰富度较对照组显著降低( $P<0.01$ ), 说明藏、汉肝硬化患者肠道微生物物种丰度有显著差异. 在反映群落的多样性的Shannon、Simpson指数上, 两组对比差异无统计学意义. 基于97%的相似性进行物种注释, 对实验组和对照组进行微生物物种丰度及构成比上, 门水平上实验组中拟杆菌门显著减少( $P<0.001$ ), 厚壁菌门和放线菌门在实验组中增加( $P<0.01$ 和 $P<0.05$ ); 在属水平上, 葡萄球菌属、放线菌属在实验组中显著减少( $P<0.01$ ), 乳杆菌属显著增加( $P<0.01$ ). 说明藏、汉族肝硬化患者的肠道微生物肠道微生物构成比存在着差异. 上述发现, 填补了目前有关藏族肝硬化患者肠道菌群特征的空白.

## 实验结论

本研究发现藏族肝硬化患者的肠道微生物丰度明显低于汉族肝硬化患者, 肠道微生物组成存在着差异. 推测可能与高原环境、饮食习惯及基因差异等有关. 这些差异可能参与了肝硬化疾病的发展, 如果能进一步明确这些有差异的微生物的功能与代谢机制, 阐明微生物与疾病的内在联系, 可为肝硬化的个性化治疗提供可行方案.

## 展望前景

本研究首次展现了藏族肝硬化患者的肠道微生物组成特点, 下一步可探究微生物的功能与代谢机制, 进一步

探讨微生物与疾病的内在联系, 为肝硬化的个性化治疗, 提供更详实的理论基础及可行方案.

## 4 参考文献

- 1 Bajaj JS, Hylemon PB, Ridlon JM, Heuman DM, Daita K, White MB, Monteith P, Noble NA, Sikaroodi M, Gillevet PM. Colonic mucosal microbiome differs from stool microbiome in cirrhosis and hepatic encephalopathy and is linked to cognition and inflammation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G675-G685 [PMID: 22821944 DOI: 10.1152/ajpgi.00152.2012]
- 2 Bajaj JS, Ridlon JM, Hylemon PB, Thacker LR, Heuman DM, Smith S, Sikaroodi M, Gillevet PM. Linkage of gut microbiome with cognition in hepatic encephalopathy. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 302: G168-G175 [PMID: 21940902 DOI: 10.1152/ajpgi.00190.2011]
- 3 Qin N, Yang F, Li A, Prifti E, Chen Y, Shao L, Guo J, Le Chatelier E, Yao J, Wu L, Zhou J, Ni S, Liu L, Pons N, Batto JM, Kennedy SP, Leonard P, Yuan C, Ding W, Chen Y, Hu X, Zheng B, Qian G, Xu W, Ehrlich SD, Zheng S, Li L. Alterations of the human gut microbiome in liver cirrhosis. *Nature* 2014; 513: 59-64 [PMID: 25079328 DOI: 10.1038/nature13568]
- 4 Tuomisto S, Pessi T, Collin P, Vuento R, Aittoniemi J, Karhunen PJ. Changes in gut bacterial populations and their translocation into liver and ascites in alcoholic liver cirrhosis. *BMC Gastroenterol* 2014; 14: 40 [PMID: 24564202 DOI: 10.1186/1471-230X-14-40]
- 5 Macnaughtan J, Jalan R. Clinical and pathophysiological consequences of alterations in the microbiome in cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2015; 110: 1399-410; quiz 1411 [PMID: 26416191 DOI: 10.1038/ajg.2015.313]
- 6 Wiest R, Lawson M, Geuking M. Pathological bacterial translocation in liver cirrhosis. *J Hepatol* 2014; 60: 197-209 [PMID: 23993913 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.07.044]
- 7 Gómez-Hurtado I, Such J, Francés R. Microbiome and bacterial translocation in cirrhosis. *Gastroenterol Hepatol* 2016; 39: 687-696 [PMID: 26775042 DOI: 10.1016/j.gastrohep.2015.10.013]
- 8 Bajaj JS, Heuman DM, Hylemon PB, Sanyal AJ, White MB, Monteith P, Noble NA, Unser AB, Daita K, Fisher AR, Sikaroodi M, Gillevet PM. Altered profile of human gut microbiome is associated with cirrhosis and its complications. *J Hepatol* 2014; 60: 940-947 [PMID: 24374295 DOI: 10.1016/j.jhep.2013.12.019]
- 9 Woo PC, Lau SK, Teng JL, Tse H, Yuen KY. Then and now: use of 16S rDNA gene sequencing for bacterial identification and discovery of novel bacteria in clinical microbiology laboratories. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 908-934 [PMID: 18828852 DOI: 10.1111/j.1469-0691.2008.02070.x]
- 10 Acharya C, Bajaj JS. Gut Microbiota and Complications of Liver Disease. *Gastroenterol Clin North Am* 2017; 46: 155-169 [PMID: 28164848 DOI: 10.1016/j.gtc.2016.09.013]
- 11 Li K, Dan Z, Gesang L, Wang H, Zhou Y, Du Y, Ren Y, Shi Y, Nie Y. Comparative Analysis of Gut Microbiota of Native Tibetan and Han Populations Living at Different Altitudes. *PLoS One* 2016; 11: e0155863 [PMID: 27232599 DOI: 10.1371/journal.pone.0155863]
- 12 Li L, Zhao X. Comparative analyses of fecal microbiota in Tibetan and Chinese Han living at low or high altitude by barcoded 454 pyrosequencing. *Sci Rep* 2015; 5: 14682 [PMID: 26443005 DOI: 10.1038/srep14682]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## 胃内微生物与胃部疾病关系的研究进展

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽

刘芳, 梁田, 李岩松, 康龙丽, 西藏民族大学医学院, 西藏高原相关疾病分子遗传机制研究与干预重点实验室, 西藏民族大学环境与疾病相关基因研究高校重点实验室 陕西省咸阳市 712082

白骥, 西藏民族大学附属医院消化内科 陕西省咸阳市 712082

刘芳, 主治医师, 主要从事消化道疾病微生态特征性研究.

基金项目: 国家自然科学基金, No. 31660307; 西藏自治区科技厅项目, No. XZ201801-GB-03; 西藏自治区自然科学基金, No. XZ2018ZR G-75(Z).

作者贡献分布: 本文由刘芳完成; 刘芳和梁田收集资料; 李岩松和白骥整理资料; 康龙丽审核.

通讯作者: 康龙丽, 教授, 712082, 陕西省咸阳市文汇东路6号, 西藏民族大学医学院, 西藏高原相关疾病分子遗传机制研究与干预重点实验室, 西藏民族大学环境与疾病相关基因研究高校重点实验室.  
longli\_kang@163.com  
电话: 029-33755799

收稿日期: 2019-08-13

修回日期: 2019-08-29

接受日期: 2019-09-02

在线出版日期: 2019-09-28

### Gastric microflora and gastric disease

Fang Liu, Tian Liang, Yan-Song Li, Su Bai, Long-Li Kang

Fang Liu, Tian Liang, Yan-Song Li, Long-Li Kang, Key Laboratory for Molecular Genetic Mechanisms and Intervention Research on High Altitude Disease of Tibet Autonomous Region, Key Laboratory of High Altitude Environment and Genes Related to Diseases of Tibet Autonomous Region, School of Medicine, Xizang Minzu University, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China

Su Bai, Department of Digestive Medicine, Affiliated Hospital of Tibet University for Nationalities, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 31660307; the Science and Technology Department Project of Tibet Autonomous Region; No. XZ201801-GB-03; the Natural Science Foundation of Xizang (Tibet) Autonomous Region, No. XZ2018ZR

G-75(Z).

Corresponding author: Long-Li Kang, Professor, School of Medicine, Xizang Minzu University, Key Laboratory for Molecular Genetic Mechanisms and Intervention Research on High Altitude Disease of Tibet Autonomous Region, Key Laboratory of High Altitude Environment and Genes Related to Diseases of Tibet Autonomous Region, No. 6, Wenhui East Road, Xianyang 712082, Shaanxi Province, China. longli\_kang@163.com

Received: 2019-08-13

Revised: 2019-08-29

Accepted: 2019-09-02

Published online: 2019-09-28

### Abstract

Gastric environment has long been considered sterile, but the discovery of *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) changed such concept in 1982. Over the past few decades, modern techniques have provided insight into microbial communities in the stomach and the interactions between communities, ranging from methods that rely on bacterial culture to the application of macrogenomics and high-throughput sequencing techniques. *H. pylori* is an important risk factor for gastric disease, but there may be other bacteria involved in the occurrence of gastric disease. This review summarizes the current progress in the understanding of the relationship between gastric microflora and gastric disease.

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

Key Words: Gastric microbiome; *H. pylori*; Gastric disease; Chronic atrophic gastritis; Peptic ulcer disease; Gastric cancer

Liu F, Liang T, Li YS, Bai S, Kang LL. Gastric microflora and gastric disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1149-1154

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1149.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1149>

## 摘要

长期以来, 学术界认为胃内是无菌的环境, 但1982年幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的发现改变了这一概念. 在过去的几十年里, 检测方法从传统的细菌培养, 到宏基因组高通量测序技术的应用, 这些现代技术为洞察胃内的微生物群落、分析群落间的相互作用提供了支持. *H. pylori*是胃部疾病重要的危险因素, 但可能还有别的菌群也参与了胃部疾病的发生. 本文就目前有关胃微生物群与胃部疾病的相互关系的研究进展作一综述, 旨从微生态角度对胃部疾病的防治策略提供新的思路.

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

关键词: 胃内微生物群; 幽门螺杆菌; 胃部疾病; 萎缩性胃炎; 消化性溃疡; 胃癌

**核心提要:** 胃内微生态特别是幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)与胃部疾病密切相关, 探究*H. pylori*与胃内其他微生物的相互作用, 及其在胃部疾病中的特征和机制, 有助于对胃部疾病的诊治提供新的策略.

刘芳, 梁田, 李岩松, 白骥, 康龙丽. 胃内微生态与胃部疾病的关系研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1149–1154

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1149.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1149>

## 0 引言

由于胃内高酸环境及不断蠕动等特点, 过去一度认为胃是无菌的环境, 直到1982年幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)的发现改变了这一观点, 同时也发现这一细菌引起了多种胃部疾病<sup>[1]</sup>. 随着研究手段的发展, 从依赖细菌培养的传统检测方法, 到宏基因组学高通量测序技术的应用, 这些现代技术帮助我们对微生物认识的深入, 发现胃内除了*H. pylori*, 还有其他的细菌共同构成了胃内微生态, 也揭示胃微生物群和胃部疾病之间关系. 在不同疾病状态下, 胃内的微生物群落各有特点, 各类群落间又相互作用. 因此, 越来越多的证据表明,*H. pylori*尽管是多种疾病微生物方面最相关的病因, 但其它细菌的存在可能协同或者拮抗它的作用, 导致胃部疾病的发生. 本文综述了*H. pylori*及胃内其他微生物的最新发现及其在胃病进展中的作用, 旨在为基于微生态的胃部疾病诊治策略提供新的思路.

## 1 胃内微生态环境

之前的研究认为, 胃内粘液层、胃酸构成了生理屏障, 并提出了“胃是无菌器官”的概念<sup>[2]</sup>, 而后*H. pylori*的发

现, 推翻了这一说法. 随着检测技术的进一步发展, 宏基因组学高通量测序技术的应用, 人们发现胃内存在独特和复杂的菌群结构. 微生物种属和数量虽然没有下消化道多, 但是胃在消化道中独特的酸性环境, 构成了独特的微生物群. 胃环境中细菌的多样性与口腔和食道中的细菌多样性有显著差异, 说明人类胃部可能是一个独特的微生物群落. 随着检测技术的进步, 还发现一些过路菌如乳酸菌、梭菌等. 虽然它们在胃内停留时间较短, 但是这些暂时性的细菌联合穿过粘液层的能力引起了人们的关注. Delgado等<sup>[3]</sup>采用了古典培养和独立培养技术相结合的方法, 发现丰富较高的细菌主要是链球菌、乳酸菌和丙酸杆菌. Bik等<sup>[4]</sup>通过使用小亚基16S rRNA基因克隆文库方法, 分析胃活检样本并鉴定出128个种系型, 主要分为五种不同的细菌门类: 变形菌门(相对丰度51.9%)、厚壁菌门(25.3%), 拟杆菌门(10.5%), 放线菌门(9.0%)和梭杆菌门(3.1%). 此外, 作者对健康个体胃黏膜中的优势菌种进行了汇总(表1)<sup>[3-6]</sup>. 发现不同的研究显示出不一致的结果, 这可能是由于胃内微生态受到了饮食、环境、年龄、益生菌和抗生素使用的影响, 以及不同检测方法导致结果的差异<sup>[7]</sup>. 随着基因组测序、荧光原位杂交、代谢组学和细菌转录分析等现代技术的发展, 科学家们可以深入地了解胃生态系统及其在健康和疾病中的分子机制, 鉴定细菌的功能特征和理解微生物与宿主之间复杂的相互关系.

## 2 胃部微生物及相互影响

2.1 *H. pylori* *H. pylori*是现代公认的慢性胃炎和胃溃疡的重要诱因, 也是导致胃癌(gastric cancer, GC)和胃淋巴瘤的危险因素之一, 是一级致癌物<sup>[8]</sup>, 它是一种革兰氏阴性杆菌, 螺旋形、微需氧、有鞭毛, 主要分布在胃黏膜组织中. *H. pylori*能产生尿素酶, 创造碱性环境, 这是*H. pylori*在胃黏膜屏障下生存的关键. 它还表达粘附素, 促进细菌附着在胃上皮, 如血型抗原粘附素(blood group antigen binding adhesion, BabA)或炎症蛋白粘附素(outer inflammatory protein A, OipA)<sup>[8]</sup>. 这些功能都有助于细菌在这种不利的酸性环境中定殖和存活, 继而产生复杂的炎症反应, 损伤胃黏膜并引起相关消化系统疾病. *H. pylori*的毒力通过各种致病性标志物表达, 如细胞毒素相关基因A(cytotoxin-associated gene A, CagA), BabA粘附素和空泡细胞毒素(vacuolating cytotoxin A, VacA)<sup>[9]</sup>, 也是目前胃病发展研究的新焦点. 研究表明, VacA和CagA可以相互调节, CagA可以拮抗VacA诱导的细胞凋亡, 并激活MAPK/ERK通路和抗凋亡因子MCL1介导的细胞存活途径, 从而影响宿主反应<sup>[10]</sup>. CagA还可激活VacA所拮抗的NFAT和EGFR通路<sup>[10,11]</sup>. 此外, VacA通过多种癌症



表 1 胃内优势菌种分析研究汇总

作者	出版年份	研究方法	人数	优势菌种
Bik等 <sup>[4]</sup>	2006	16S rRNA	23	Streptococcus; Prevotella; Rothia; Fusobacterium; Veillonella
Li等 <sup>[5]</sup>	2009	16S rRNA	10	Streptococcus; Prevotella; Neisseriae; Haemophilus; Porphyromonas
Delgado等 <sup>[3]</sup>	2013	细菌培养及16S rDNA	12	Streptococcus; Propionibacterium; Lactobacillus
Parsons等 <sup>[6]</sup>	2017	16S rRNA测序	20	Prevotellaceae; Streptococcaceae; Paraprevotellaceae; Fusobacteriaceae

Streptococcus: 链球菌; Prevotella: 普雷沃氏菌; Fusobacterium: 梭杆菌属; Veillonella: 韦荣球菌; Haemophilus: 嗜血杆菌; Porphyromonas: 单胞菌; Propionibacterium: 丙酸杆菌; Lactobacillus: 乳酸菌。

相关途径参与GC的发生, 如Wnt/b-catenin、PI3K/Akt信号通路<sup>[12-14]</sup>和VEGF通路<sup>[15]</sup>。CagA、VacA<sup>+</sup>的*H. pylori*可诱导上皮-间质转化, 从而参与肿瘤进展<sup>[16]</sup>。有研究表明, 虽然几乎所有*H. pylori*菌株都含有VacA基因, 可编码空泡细胞毒素, 但大约半数的菌株都不表达该毒素, 因此不同基因型的菌株会对宿主产生不同的临床表现。

**2.2 *H. pylori*与胃内其它菌群的关系** *H. pylori*与其他胃内菌群间的相互作用似乎比原先想象的要复杂得多。*H. pylori*首先改变自己的微环境, 分解尿素生产氨和碳酸氢盐的产物, 可作为其他微生物群落的底物。此外, 它还使胃酸分泌减少, 从而提高了胃的pH值, 为其他微生物的定植创造了有利的生态环境。另一方面, *H. pylori*能诱导细胞因子和抗菌肽的产生, 从而导致慢性胃炎, 抑制其他局部微生物<sup>[17]</sup>。有研究表明, 成人和儿童感染*H. pylori*时, 它在所有胃微生物群落中的相对丰度最高<sup>[4,18]</sup>。Khosravi等<sup>[19]</sup>研究发现, 131例*H. pylori*阳性者与84例*H. pylori*阴性个体胃微生物组成无显著性差异, *H. pylori*的存在对胃微生物群的多样性无明显影响。但是*H. pylori*感染后胃黏膜中细菌生物多样性的研究尚存在争议。这些研究结果的差异可能是由于不同菌株的*H. pylori*对胃内其它细菌的影响及检测方法敏感度的不同, 对结构的分析造成困难所致。

有研究表明胃内*H. pylori*感染可以影响胃和十二指肠中微生物的种类和数量, 抑制乳酸杆菌的增殖, 而肠球菌、葡萄球菌等几乎不受影响<sup>[20]</sup>。Osaki等<sup>[21]</sup>还描述了长期*H. pylori*感染可以改变啮齿动物胃中微生物的组成。Okamoto等<sup>[22]</sup>研究发现*H. pylori*与人呼吸道的一种共同存在的耐酸金氏菌混合后, *H. pylori*在酸性条件下的存活率比单独培养的*H. pylori*明显增加, 两者的结合似乎保护了细菌体, 使*H. pylori*在酸性条件下存活。其他报道也表明, 某些种类的乳酸菌具有很强的拮抗作用, 并能抑制*H. pylori*的生长<sup>[23]</sup>。同样, 链球菌是胃环境中的一种常见细菌, 它很可能抑制*H. pylori*细胞的生长并促使*H. pylori*的形状由螺旋形变为球形<sup>[24]</sup>。这些发现都证明了*H. pylori*与胃微生物群落之间存在着密切的联系。

由于胃生态系统的结构受多种因素影响, 因此需要进一步的实验来确定*H. pylori*与其他胃微生物的确切关系, 从而更好地了解*H. pylori*及其他细菌在健康和疾病中的作用。

### 3 胃内微生物与胃部疾病的关系

**3.1 慢性萎缩性胃炎** 慢性萎缩性胃炎(chronic atrophic gastritis, CAG)是常见的消化道慢性疾病, 其特征是胃黏膜固有腺体减少, 伴或不伴有肠上皮化生。有研究表明萎缩性胃炎是一种癌前疾病, 特别是伴有腺体不典型增生时癌变率更高, 因此, 早期诊断可以显著降低死亡率<sup>[25]</sup>。该病的主要原因是持续的*H. pylori*感染, 可能导致癌症发展<sup>[26]</sup>。

*H. pylori*诱导的免疫反应是导致胃黏膜损伤的重要因素。在*H. pylori*感染过程中, 脂多糖和表面蛋白释放并刺激促进细胞和巨噬细胞产生促炎因子, 如白细胞介素(interleukin, IL)-1、IL-8和活性氧<sup>[27]</sup>。此外, *H. pylori*本身可以与上皮细胞相互作用产生IL-8、金属蛋白酶-10<sup>[28,29]</sup>。这些炎症介质的释放可诱导白细胞中CD11b/CD18和内皮细胞中细胞粘附分子-1的表达, 促进白细胞迁移至炎症部位并最终导致CAG<sup>[30]</sup>。

在CAG患者中观察到, 胃酸屏障的减少使胃内有更多的微生物定植, 这在健康胃内较少发生。总体而言, 亚洲患者血清胃蛋白酶原 I /胃蛋白酶原 II 比值与微生物丰度呈正相关<sup>[31]</sup>。此外, 与正常胃相比, *H. pylori*诱导的CAG患者胃中的坦纳菌, 密螺旋体和雷沃氏菌的比例显著低于正常胃<sup>[32]</sup>。

**3.2 自身免疫性胃炎** 自身免疫性胃炎(autoimmune gastritis, AIG)是一种自身免疫功能失调所致疾病, 其特征是胃黏膜的慢性进行性炎症, 最终演变为萎缩性胃炎。与CAG不同, AIG并非由*H. pylori*感染所致, 而胃内微生态表现也有所不同。研究表明<sup>[7]</sup>, AIG患者胃内细菌丰度及多样性高于CAG患者及健康人群, 以链球菌为主。这可能是由于淋巴细胞、浆细胞浸润胃黏膜, 破坏壁细胞及主细胞, 最终导致胃酸分泌减少所致; 其次,

AIG胃内免疫背景的不同, 可能也是胃内细菌丰度及多样性较高的原因<sup>[30]</sup>. 现有对AIG胃内微生态特征性研究还较少, 还有待进一步研究加深认识.

**3.3 消化性溃疡病** 消化性溃疡病(peptic ulcer disease, PUD)是胃及十二指肠黏膜屏障功能减退及胃酸和胃蛋白酶的消化作用增强, 导致黏膜损伤、断裂至黏膜下层. *H. pylori*感染是PUD的微生物方面的重要病因, 然而, 细菌毒力与宿主的相互作用决定病变程度. 有研究表明, CagA及其他细菌毒力因子与宿主组织有很强的相互作用, 并与胃黏膜炎症细胞浸润和胃上皮损伤有关<sup>[23,24,33]</sup>.

在一项基于细菌培养的研究中发现, 胃溃疡组与非溃疡性消化不良组相比, 非*H. pylori*类细菌的定植率较低<sup>[34]</sup>. 此外, 另一项研究采用16 S rRNA进行了测序发现, 链球菌与PUD之间存在显著相关性<sup>[19]</sup>. 这项研究虽然可能受地域等因素的影响, 但是也提出了PUD除了*H. pylori*以外的其他微生物病因的可能, 提示*H. pylori*以外的细菌也许通过复杂的机制和相互作用, 促进胃十二指肠疾病的发生.

**3.4 GC** GC是世界上第四大常见癌症, 是癌症相关性死亡的第二大原因, 发展中国家高发<sup>[35]</sup>, 在中国, 许多被诊断患有GC的患者通常处于晚期阶段<sup>[36]</sup>. *H. pylori*感染是GC的最大危险因素, 是全世界近75%GC的罪魁祸首<sup>[37]</sup>. 如前所述, *H. pylori*感染引发胃黏膜炎症, 导致黏膜萎缩, 并可能随后导致癌症发展. 此外, *H. pylori*菌株变异、宿主反应和环境因素也是GC发展的关键因素<sup>[38]</sup>. 虽然*H. pylori*是GC发生最相关的微生物危险因素, 但胃内其他菌种无疑与GC的发生有关. 细菌在胃黏膜中的过度生长已经在各种癌前疾病中被发现, 甚至还发现病毒或真菌在胃黏膜的定居<sup>[39]</sup>. 其原因可能是由于*H. pylori*感染导致胃酸产生过少, 也可能是由于癌性黏膜有利于细菌增殖. 而有些细菌如韦荣球菌、梭菌、嗜血杆菌和葡萄球菌可增加亚硝酸盐的产生, 长期积累又促进GC的发展. GC患者胃黏膜富集的细菌是乳酸菌、链球菌、普雷沃氏菌、韦荣球菌<sup>[40]</sup>. 有研究通过比较CAG与GC患者胃黏膜微生物群落的生物多样性、结构和组成, 发现GC患者的微生物结构更为多样. GC患者黏膜中以变形杆菌、厚壁菌、拟杆菌、梭杆菌和放线菌为主, 这一特征可能与GC的发生发展有关<sup>[36]</sup>, 该研究还发现β-变形菌纲和γ-变形菌纲在GC患者胃黏膜中富集, 这些发现揭示了非*H. pylori*变形菌可能与GC密切相关. 微生物的多样性、结构和胃微生物群的组成可以影响GC的发展<sup>[41]</sup>. Eun等<sup>[42]</sup>显示GC、肠化生和慢性胃炎患者的胃微生物群落存在差异, 并表明胃共生菌群可能在*H. pylori*的致癌性中发挥了一定作用. 然而, 另一种可能的解释是, 由于*H. pylori*诱导的组织学变化而导致的胃酸改变使得胃

上皮更容易受到其他微生物影响. 慢性胃炎、肠化生和GC患者胃微生物的多样性和丰富性显示, 与其他组相比, GC中的杆菌种类有所增加<sup>[2]</sup>, 然而, 最近的一项研究显示, GC患者的微生物群落的特征是生物多样性降低, 螺杆菌丰度降低<sup>[43]</sup>.

微生物可以通过几种机制来驱动和导致癌症的发生发展, 包括刺激炎症、诱导细胞增殖、破坏干细胞生理调节以及产生不利健康的代谢物<sup>[44]</sup>. 因此, 了解*H. pylori*与胃肠微生物组之间的关系, 对更好地理解GC的发生具有重要意义.

## 4 结论

从依赖培养研究的先驱时代转移到宏基因组学时代, 随着对上消化道微生物群研究的深入, 我们发现, 胃微生物群在胃部疾病的发展和进展中起着至关重要的作用. *H. pylori*是消化性疾病重要的危险因素, 并且根除这种细菌可以提供良好的疾病预后<sup>[45,46]</sup>. 然而, 也有证据表明幽门螺旋杆菌感染对炎症肠病的潜在保护作用<sup>[47,48]</sup>. *H. pylori*可能是人类的“土著微生物菌群”<sup>[33]</sup>, 它的丧失可能导致过敏和代谢疾病的增加, 正如“消失的微生物群”假说<sup>[49]</sup>所描述的那样.

*H. pylori*只是胃内微生物群中的一小部分, 胃内微生态与胃部疾病和健康状态关系密切, 微生物群和胃黏膜之间相互作用的详细机制仍需要进一步阐明. 最近的科学发现认为肠道微生物群可能作为炎症和肿瘤性胃肠疾病的未来诊断和治疗目标. 我们应该积极探索胃内菌群相互之间的作用、谨慎地干预微生物组的结构, 从全局出发, 为临床消化性疾病的预防和治疗提供指导.

## 5 参考文献

- 1 Trieu JA, Bilal M, Sarairoh H, Wang AY. Update on the Diagnosis and Management of Gastric Intestinal Metaplasia in the USA. *Dig Dis Sci* 2019; 64: 1079-1088 [PMID: 30771043 DOI: 10.1007/s10620-019-05526-5]
- 2 Nardone G, Compare D. The human gastric microbiota: Is it time to rethink the pathogenesis of stomach diseases? *United European Gastroenterol J* 2015; 3: 255-260 [PMID: 26137299 DOI: 10.1177/2050640614566846]
- 3 Delgado S, Cabrera-Rubio R, Mira A, Suárez A, Mayo B. Microbiological survey of the human gastric ecosystem using culturing and pyrosequencing methods. *Microb Ecol* 2013; 65: 763-772 [PMID: 23397369 DOI: 10.1007/s00248-013-0192-5]
- 4 Bik EM, Eckburg PB, Gill SR, Nelson KE, Purdom EA, Francois F, Perez-Perez G, Blaser MJ, Relman DA. Molecular analysis of the bacterial microbiota in the human stomach. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 732-737 [PMID: 16407106 DOI: 10.1073/pnas.0506655103]
- 5 Li XX, Wong GL, To KF, Wong VW, Lai LH, Chow DK, Lau JY, Sung JJ, Ding C. Bacterial microbiota profiling in gastritis without *Helicobacter pylori* infection or non-steroidal anti-inflammatory drug use. *PLoS One* 2009; 4: e7985 [PMID: 19956741 DOI: 10.1371/journal.pone.0007985]



- 6 Parsons BN, Ijaz UZ, D'Amore R, Burkitt MD, Eccles R, Lenzi L, Duckworth CA, Moore AR, Tiszlavicz L, Varro A, Hall N, Pritchard DM. Comparison of the human gastric microbiota in hypochlorhydric states arising as a result of Helicobacter pylori-induced atrophic gastritis, autoimmune atrophic gastritis and proton pump inhibitor use. *PLoS Pathog* 2017; 13: e1006653 [PMID: 29095917 DOI: 10.1371/journal.ppat.1006653]
- 7 Espinoza JL, Matsumoto A, Tanaka H, Matsumura I. Gastric microbiota: An emerging player in Helicobacter pylori-induced gastric malignancies. *Cancer Lett* 2018; 414: 147-152 [PMID: 29138097 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.009]
- 8 Yao X, Smolka AJ. Gastric Parietal Cell Physiology and Helicobacter pylori-Induced Disease. *Gastroenterology* 2019; 156: 2158-2173 [PMID: 30831083 DOI: 10.1053/j.gastro.2019.02.036]
- 9 Kusters JG, van Vliet AH, Kuipers EJ. Pathogenesis of Helicobacter pylori infection. *Clin Microbiol Rev* 2006; 19: 449-490 [PMID: 16847081 DOI: 10.1128/CMR.00054-05]
- 10 Backert S, Tegtmeyer N. The versatility of the Helicobacter pylori vacuolating cytotoxin vacA in signal transduction and molecular crosstalk. *Toxins (Basel)* 2010; 2: 69-92 [PMID: 22069547 DOI: 10.3390/toxins2010069]
- 11 Tegtmeyer N, Neddermann M, Asche CI, Backert S. Subversion of host kinases: a key network in cellular signaling hijacked by Helicobacter pylori CagA. *Mol Microbiol* 2017; 105: 358-372 [PMID: 28508421 DOI: 10.1111/mmi.13707]
- 12 Song X, Xin N, Wang W, Zhao C. Wnt/ $\beta$ -catenin, an oncogenic pathway targeted by H. pylori in gastric carcinogenesis. *Oncotarget* 2015; 6: 35579-35588 [PMID: 26417932 DOI: 10.18632/oncotarget.5758]
- 13 Liu N, Zhou N, Chai N, Liu X, Jiang H, Wu Q, Li Q. Helicobacter pylori promotes angiogenesis depending on Wnt/ $\beta$ -catenin-mediated vascular endothelial growth factor via the cyclooxygenase-2 pathway in gastric cancer. *BMC Cancer* 2016; 16: 321 [PMID: 27198692 DOI: 10.1186/s12885-016-2351-9]
- 14 Nakayama M, Hisatsune J, Yamasaki E, Isomoto H, Kurazono H, Hatakeyama M, Azuma T, Yamaoka Y, Yahiro K, Moss J, Hirayama T. Helicobacter pylori VacA-induced inhibition of GSK3 through the PI3K/Akt signaling pathway. *J Biol Chem* 2009; 284: 1612-1619 [PMID: 18996844 DOI: 10.1074/jbc.M806981200]
- 15 Caputo R, Tuccillo C, Manzo BA, Zarrilli R, Tortora G, Blanco Cdel V, Ricci V, Cardiello F, Romano M. Helicobacter pylori VacA toxin up-regulates vascular endothelial growth factor expression in MKN 28 gastric cells through an epidermal growth factor receptor-, cyclooxygenase-2-dependent mechanism. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 2015-2021 [PMID: 12796363]
- 16 Krzysiek-Maczka G, Targosz A, Szczyrk U, Strzałka M, Sliwowski Z, Brzozowski T, Czyz J, Ptak-Belowska A. Role of Helicobacter pylori infection in cancer-associated fibroblast-induced epithelial-mesenchymal transition in vitro. *Helicobacter* 2018; 23: e12538 [PMID: 30246423 DOI: 10.1111/hel.12538]
- 17 Mustapha P, Paris I, Garcia M, Tran CT, Cremniter J, Garnier M, Faure JP, Barthes T, Boneca IG, Morel F, Lecron JC, Burucoa C, Bodet C. Chemokines and antimicrobial peptides have a cag-dependent early response to Helicobacter pylori infection in primary human gastric epithelial cells. *Infect Immun* 2014; 82: 2881-2889 [PMID: 24778119 DOI: 10.1128/IAI.01517-13]
- 18 Llorca L, Pérez-Pérez G, Urruzuno P, Martínez MJ, Izumi T, Gao Z, Sohn J, Chung J, Cox L, Simón-Soro A, Mira A, Alarcón T. Characterization of the Gastric Microbiota in a Pediatric Population According to Helicobacter pylori Status. *Pediatr Infect Dis J* 2017; 36: 173-178 [PMID: 27820723 DOI: 10.1097/INF.0000000000001383]
- 19 Khosravi Y, Dieye Y, Poh BH, Ng CG, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J. Culturable bacterial microbiota of the stomach of Helicobacter pylori positive and negative gastric disease patients. *ScientificWorldJournal* 2014; 2014: 610421 [PMID: 25105162 DOI: 10.1155/2014/610421]
- 20 Yin YN, Wang CL, Liu XW, Cui Y, Xie N, Yu QF, Li FJ, Lu FG. Gastric and duodenum microflora analysis after long-term Helicobacter pylori infection in Mongolian Gerbils. *Helicobacter* 2011; 16: 389-397 [PMID: 21923685 DOI: 10.1111/j.1523-5378.2011.00862.x]
- 21 Osaki T, Matsuki T, Asahara T, Zaman C, Hanawa T, Yonezawa H, Kurata S, Woo TD, Nomoto K, Kamiya S. Comparative analysis of gastric bacterial microbiota in Mongolian gerbils after long-term infection with Helicobacter pylori. *Microb Pathog* 2012; 53: 12-18 [PMID: 22783557]
- 22 Okamoto T, Hayashi Y, Mizuno H, Yanai H, Nishikawa J, Nakazawa T, Iizasa H, Jinushi M, Sakaida I, Yoshiyama H. Colonization of an acid resistant Kingella denitrificans in the stomach may contribute to gastric dysbiosis by Helicobacter pylori. *J Infect Chemother* 2014; 20: 169-174 [PMID: 24462438 DOI: 10.1016/j.jiac.2013.09.007]
- 23 Delgado S, Leite AM, Ruas-Madiedo P, Mayo B. Probiotic and technological properties of Lactobacillus spp. strains from the human stomach in the search for potential candidates against gastric microbial dysbiosis. *Front Microbiol* 2015; 5: 766 [PMID: 25642213 DOI: 10.3389/fmicb.2014.00766]
- 24 Khosravi Y, Dieye Y, Loke MF, Goh KL, Vadivelu J. Streptococcus mitis induces conversion of Helicobacter pylori to coccoid cells during co-culture in vitro. *PLoS One* 2014; 9: e112214 [PMID: 25386948 DOI: 10.1371/journal.pone.0112214]
- 25 Wang X, Ling L, Li S, Qin G, Cui W, Li X, Ni H. The Diagnostic Value of Gastrin-17 Detection in Atrophic Gastritis: A Meta-Analysis. *Medicine (Baltimore)* 2016; 95: e3599 [PMID: 27149493 DOI: 10.1097/MD.0000000000003599]
- 26 Salama NR, Hartung ML, Müller A. Life in the human stomach: persistence strategies of the bacterial pathogen Helicobacter pylori. *Nat Rev Microbiol* 2013; 11: 385-399 [PMID: 23652324 DOI: 10.1038/nrmicro3016]
- 27 de Jesus Souza M, de Moraes JA, Da Silva VN, Helal-Neto E, Uberti AF, Scopel-Guerra A, Olivera-Severo D, Carlini CR, Barja-Fidalgo C. Helicobacter pylori urease induces pro-inflammatory effects and differentiation of human endothelial cells: Cellular and molecular mechanism. *Helicobacter* 2019; 24: e12573 [PMID: 30907046 DOI: 10.1111/hel.12573]
- 28 Furuta T, El-Omar EM, Xiao F, Shirai N, Takashima M, Sugimura H. Interleukin 1 $\beta$  polymorphisms increase risk of hypochlorhydria and atrophic gastritis and reduce risk of duodenal ulcer recurrence in Japan. *Gastroenterology* 2002; 123: 92-105 [PMID: 12105837 DOI: 10.1053/gast.2002.34156]
- 29 Lv YP, Cheng P, Zhang JY, Mao FY, Teng YS, Liu YG, Kong H, Wu XL, Hao CJ, Han B, Ma Q, Yang SM, Chen W, Peng LS, Wang TT, Zou QM, Zhuang Y. Helicobacter pylori-induced matrix metalloproteinase-10 promotes gastric bacterial colonization and gastritis. *Sci Adv* 2019; 5: eaau6547 [PMID: 30949574 DOI: 10.1126/sciadv.aau6547]
- 30 Naito Y, Yoshikawa T. Molecular and cellular mechanisms involved in Helicobacter pylori-induced inflammation and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 2002; 33: 323-336 [PMID: 12126754 DOI: 10.1016/s0891-5849(02)00868-7]
- 31 Yu G, Gail MH, Shi J, Klepac-Ceraj V, Paster BJ, Dye BA, Wang GQ, Wei WQ, Fan JH, Qiao YL, Dawsey SM, Freedman ND, Abnet CC. Association between upper digestive tract microbiota and cancer-predisposing states in the esophagus and stomach. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23: 735-741 [PMID: 24700175 DOI: 10.1158/1055-9965.EPI-13-0855]
- 32 Alarcón T, Llorca L, Perez-Perez G. Impact of the Microbiota and Gastric Disease Development by Helicobacter pylori. *Curr*



- Top Microbiol Immunol* 2017; 400: 253-275 [PMID: 28124157 DOI: 10.1007/978-3-319-50520-6\_11]
- 33 Chang WL, Yeh YC, Sheu BS. The impacts of *H. pylori* virulence factors on the development of gastroduodenal diseases. *J Biomed Sci* 2018; 25: 68 [PMID: 30205817 DOI: 10.1186/s12929-018-0466-9]
  - 34 Hu Y, He LH, Xiao D, Liu GD, Gu YX, Tao XX, Zhang JZ. Bacterial flora concurrent with *Helicobacter pylori* in the stomach of patients with upper gastrointestinal diseases. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 1257-1261 [PMID: 22468090 DOI: 10.3748/wjg.v18.i11.1257]
  - 35 Zhang XY, Zhang PY, Aboul-Soud MA. From inflammation to gastric cancer: Role of *Helicobacter pylori*. *Oncol Lett* 2017; 13: 543-548 [PMID: 28356927 DOI: 10.3892/ol.2016.5506]
  - 36 Hu YL, Pang W, Huang Y, Zhang Y, Zhang CJ. The Gastric Microbiome Is Perturbed in Advanced Gastric Adenocarcinoma Identified Through Shotgun Metagenomics. *Front Cell Infect Microbiol* 2018; 8: 433 [PMID: 30619779 DOI: 10.3389/fcimb.2018.00433]
  - 37 von Rosenvinge EC, Song Y, White JR, Maddox C, Blanchard T, Fricke WF. Immune status, antibiotic medication and pH are associated with changes in the stomach fluid microbiota. *ISME J* 2013; 7: 1354-1366 [PMID: 23466701 DOI: 10.1038/ismej.2013.33]
  - 38 Amieva M, Peek RM Jr. Pathobiology of *Helicobacter pylori*-Induced Gastric Cancer. *Gastroenterology* 2016; 150: 64-78 [PMID: 26385073 DOI: 10.1053/j.gastro.2015.09.004]
  - 39 Schulz C, Koch N, Schütte K, Pieper DH, Malferttheiner P. *H. pylori* and its modulation of gastrointestinal microbiota. *J Dig Dis* 2015; 16: 109-117 [PMID: 25624012 DOI: 10.1111/1751-2980.12233]
  - 40 Dicksved J, Lindberg M, Rosenquist M, Enroth H, Jansson JK, Engstrand L. Molecular characterization of the stomach microbiota in patients with gastric cancer and in controls. *J Med Microbiol* 2009; 58: 509-516 [PMID: 19273648 DOI: 10.1099/jmm.0.007302-0]
  - 41 Wang L, Zhou J, Xin Y, Geng C, Tian Z, Yu X, Dong Q. Bacterial overgrowth and diversification of microbiota in gastric cancer. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2016; 28: 261-266 [PMID: 26657453 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000542]
  - 42 Eun CS, Kim BK, Han DS, Kim SY, Kim KM, Choi BY, Song KS, Kim YS, Kim JF. Differences in gastric mucosal microbiota profiling in patients with chronic gastritis, intestinal metaplasia, and gastric cancer using pyrosequencing methods. *Helicobacter* 2014; 19: 407-416 [PMID: 25052961 DOI: 10.1111/hel.12145]
  - 43 Ferreira RM, Pereira-Marques J, Pinto-Ribeiro I, Costa JL, Carneiro F, Machado JC, Figueiredo C. Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. *Gut* 2018; 67: 226-236 [PMID: 29102920 DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314205]
  - 44 Abreu MT, Peek RM Jr. Gastrointestinal malignancy and the microbiome. *Gastroenterology* 2014; 146: 1534-1546.e3 [PMID: 24406471 DOI: 10.1053/j.gastro.2014.01.001]
  - 45 Nakamura S, Sugiyama T, Matsumoto T, Iijima K, Ono S, Tajika M, Tari A, Kitadai Y, Matsumoto H, Nagaya T, Kamoshida T, Watanabe N, Chiba T, Origasa H, Asaka M; JAPAN GAST Study Group. Long-term clinical outcome of gastric MALT lymphoma after eradication of *Helicobacter pylori*: a multicentre cohort follow-up study of 420 patients in Japan. *Gut* 2012; 61: 507-513 [PMID: 21890816 DOI: 10.1136/gutjnl-2011-300495]
  - 46 Cheung KS, Chan EW, Wong AYS, Chen L, Seto WK, Wong ICK, Leung WK. Aspirin and Risk of Gastric Cancer After *Helicobacter pylori* Eradication: A Territory-Wide Study. *J Natl Cancer Inst* 2018; 110: 743-749 [PMID: 29361002 DOI: 10.1093/jnci/djx267]
  - 47 Yu Y, Zhu S, Li P, Min L, Zhang S. *Helicobacter pylori* infection and inflammatory bowel disease: a crosstalk between upper and lower digestive tract. *Cell Death Dis* 2018; 9: 961 [PMID: 30237392 DOI: 10.1038/s41419-018-0982-2]
  - 48 Hold GL, Hansen R. Impact of the Gastrointestinal Microbiome in Health and Disease: Co-evolution with the Host Immune System. *Curr Top Microbiol Immunol* 2019; 421: 303-318 [PMID: 31123894 DOI: 10.1007/978-3-030-15138-6\_12]
  - 49 Blaser MJ. Who are we? Indigenous microbes and the ecology of human diseases. *EMBO Rep* 2006; 7: 956-960 [PMID: 17016449 DOI: 10.1038/sj.embor.7400812]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



## MicroRNA-146a生物学作用的研究进展

吴慧, 范恒, 刘星星

吴慧, 华中科技大学同济医学院 湖北省武汉市 430030

范恒, 刘星星, 华中科技大学同济医学院附属协和医院中西医结合科 湖北省武汉市 430022

吴慧, 主要从事消化系统疾病研究.

作者贡献分布: 本文综述由吴慧与范恒完成; 刘星星负责校审.

基金项目: 国家自然科学基金资助项目, No. 81503416; 国家自然科学基金资助项目, No.81573784.

通讯作者: 刘星星, 讲师, 430022, 湖北省武汉市江汉区解放大道1277号, 华中科技大学附属协和医院中西医结合科. 277258255@qq.com  
电话: 027-85726395

收稿日期: 2019-08-07

修回日期: 2019-08-27

接受日期: 2019-09-08

在线出版日期: 2019-09-28

### Biological role of microRNA-146a

Hui Wu, Heng Fan, Xing-Xing Liu

Hui Wu, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Heng Fan, Xing-Xing Liu, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 81503416 and No. 81573784.

Corresponding author: Xing-Xing Liu, lecturer, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, No. 1277, Jiefang Road, Jiangnan District, Wuhan 430022, Hubei Province, China. 277258255@qq.com

Received: 2019-08-07

Revised: 2019-08-27

Accepted: 2019-09-08

Published online: 2019-09-28

### Abstract

MicroRNAs are endogenous single-stranded non-coding small RNAs that specifically bind to target mRNAs to degrade mRNAs or hinder their translation to regulate the expression of target mRNAs at the post-transcriptional level. MicroRNA-146a is involved in a bulk of biological processes and has a variety of biological functions. This article will review several aspects of the role of microRNA-146a, including controlling inflammation, regulating immunity, mediating myeloid cell proliferation, and involvement in tumor occurrence and development.

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

Key Words: MicroRNA-146a; Biological role; Review

Wu H, Fan H, Liu XX. Biological role of microRNA-146a. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2019; 27(18): 1155-1160  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1155.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1155>

### 摘要

MicroRNA是一种内源性单链非编码小分子RNA, 通过与靶mRNA的特异性结合, 以降解mRNA或阻碍其翻译从而在转录后水平调节靶mRNA的表达. MicroRNA-146a参与机体的多种生物学过程, 具有多种生物学功能. 本文将从其控制炎症反应, 调节免疫, 介导髓样细胞增殖以及肿瘤发生发展等几个方面进行综述.

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

关键词: MicroRNA-146a; 生物学作用; 综述

**核心提要:** MicroRNA-146a可通过与靶基因mRNA的3'-非翻译区结合, 介导转录抑制和mRNA降解, 在多个信号通路中发挥作用, 与免疫炎症反应、髓性增生、肿瘤、造血等生物过程有着密切联系。

吴慧, 范恒, 刘星. MicroRNA-146a生物学作用的研究进展. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1155-1160

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1155.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1155>

## 0 引言

机体的各项生命活动之所以能够正常有序的进行及终止, 这得益于体内各种分子参与其中, 发挥有效的生物学作用. 除蛋白质外, microRNA(miRNA)在生物体维持自身稳态中起着不可或缺的作用, 并逐渐成为研究的热点. 其中, MicroRNA-146a(miR-146a)因为其能够负向调节核因子 $\kappa$ B(nuclear factor  $\kappa$ B, NF- $\kappa$ B)信号通路, 在控制炎症反应及免疫调节中扮演着重要角色, 而得到众多学者的关注. 通过进一步研究发现, miR-146a同样可以通过不同的分子机制影响骨髓造血稳态的维持及肿瘤形成. 本文将通过参阅文献拟就miR-146a的控制炎症, 调节免疫, 介导髓样细胞增殖及肿瘤的发生发展等几个突出的生物学作用作一综述(图1).

## 1 miRNAs

miRNAs是一类在进化上保守的内源性非编码小分子RNA, 其大小约19-23核苷酸. 截至目前, 在人体的基因组中已经发现了超过2000种miRNAs<sup>[1]</sup>. miRNAs可参与一系列生物过程, 包括细胞分化<sup>[2]</sup>、发育<sup>[3]</sup>、增殖<sup>[4]</sup>、造血<sup>[5]</sup>、凋亡<sup>[6]</sup>、应激反应<sup>[7]</sup>以及免疫功能<sup>[8]</sup>的调节. miRNAs的经典合成途径包括两步<sup>[9,10]</sup>: 在动物, 首先, miRNA基因的长初级转录物(pri-miRNAs, pri-miR)在胞核中被Drosha加工形成发夹状前体(pre-miRNAs, pre-miR), 然后, Dicer进一步切割被转运至胞质中的pre-miR, 最终形成其成熟形式. 成熟的miRNA参与形成RNA诱导沉默复合体(RNA-induced silencing complex, RISC)<sup>[11,12]</sup>, 通过与靶基因mRNA的3'-非翻译区(untranslated region, UTR)结合, 介导转录抑制和mRNA降解<sup>[13]</sup>. 目前检测miRNA的方法主要有Northern印迹分析, 微点阵分析和实时定量PCR.

## 2 miR-146a的生物学作用

miR-146a属于miR-146家族(包括miR-146a和miR-146b). miR-146a和miR-146b分别位于人染色体组的5号和10号染色体上, 二者成熟序列的区别仅表现为在3'端相差2

个核苷酸. miR-146a广泛表达于免疫系统, 并且, 通常在前体细胞其表达量低, 而随着细胞成熟及活化后其表达上调<sup>[14]</sup>.

**2.1 miR-146a与免疫炎症反应** miR-146a前体形成是一个NF- $\kappa$ B转录活性依赖过程<sup>[15]</sup>, 而 miR-146a又被证明能反过来影响NF- $\kappa$ B通路, 从而形成一个环形调节通路. 启动子分析显示miR-146a的启动子区含有两个NF- $\kappa$ B共有序列, 这两个序列是脂多糖(lipopolysaccharides, LPS), 白细胞介素-1 $\beta$ (interleukin-1 $\beta$ , IL-1 $\beta$ ), 肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)等炎症刺激诱导下miR-146a基因转录活化中必不可少的. 病毒感染刺激引起的miR-146a诱导表达同样依赖于NF- $\kappa$ B信号通路<sup>[16]</sup>.

研究显示, 类风湿性关节炎<sup>[17]</sup>, 银屑病<sup>[18]</sup>, 干燥综合征<sup>[19]</sup>, 以及系统性红斑狼疮<sup>[20]</sup>等多种自身免疫性疾病中miR-146a的表达存在异常. Boldin等<sup>[21]</sup>证实miR-146a主要表达在免疫组织, 在免疫细胞成熟和/或活化时其表达上调. miR-146a基因敲除小鼠会表现出一些免疫相关的表型, 且该改变与miR-146a的表达位置密切相关. miR-146a基因缺陷的巨噬细胞对细菌LPS刺激有更强的反应性; 在miR-146a基因敲除小鼠表现为内毒素刺激会诱导出较野生型小鼠更为严重的炎症反应. 并且, 过表达miR-146a可逆转这些敲除所引起的异常反应. 随着年龄的增长, miR-146a缺陷小鼠会自发出现自身免疫系统紊乱, 具体表现为脾大、淋巴结肿大及早死<sup>[21,22]</sup>. 严重的组织炎症, 细胞因子产量基础水平升高和自身抗体滴度增高也都反映了小鼠由于基因敲除引起的自身免疫性疾病. 巨噬细胞对病原体的高反应性, 外周效应T细胞对自身组织成分的反应性<sup>[21]</sup>, 以及Tregs细胞功能不良<sup>[23]</sup>, 等细胞异常导致上述miR-146a缺陷遗传背景下自身免疫性疾病的发生.

无论体内还是体外条件下, miR-146a异常表达或者通过miR-146a模拟物过表达均可降低促炎细胞因子的表达水平, 减轻细菌或病毒刺激引起的炎症反应<sup>[24,25]</sup>. 已有的研究表明, miR-146a在内毒素耐受这一过程中起到了重要作用<sup>[26,27]</sup>. 1947年已有实验室证明暴露于亚致死剂量LPS会造成细胞暂时性低反应性, 即细胞所产生的炎症介质较未处理细胞更低. 这种对LPS低反应性状态使细胞在紧接着的二次致死剂量的LPS作用下受到一定保护作用. 其原因在于, 一方面miR-146a可促进RelB与促炎因子如TNF启动子的结合以阻碍其表达; 另一方面miR-146a可使RISC募集至TNF的RNA转录物从而促进TNF在转录水平的抑制. 实验证明miR-146a可通过抑制TLR4下游通路中的IRAK1和TRAF6活性来减轻免疫炎症反应所引起的肝移植损伤<sup>[28]</sup>. 最新研究报道, miR-146a



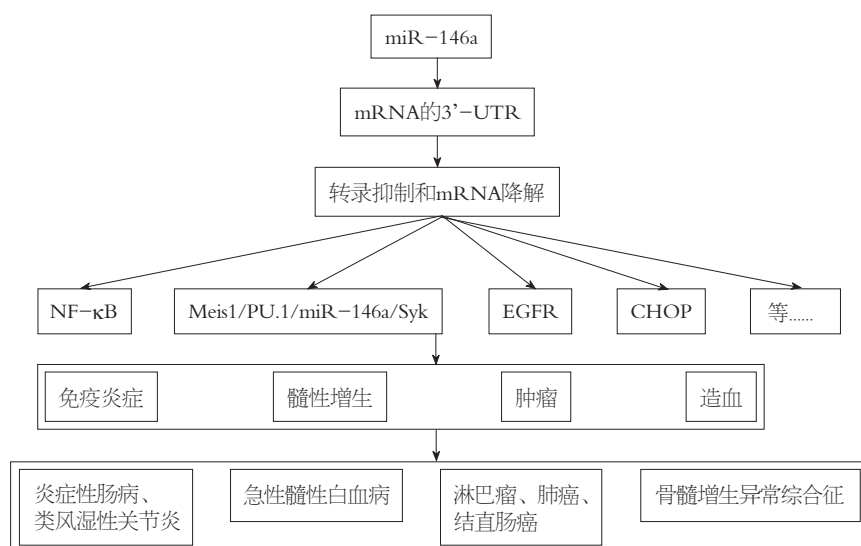


图 1 miR-146a作用机制简略图.

通过负向调节TLR4/NF-κB信号通路来抑制类风湿性关节炎成纤维细胞样滑膜细胞增殖及炎症反应<sup>[29]</sup>.

**2.2 MiR-146a与髓性增生** 在不少研究中观察到, miR-146a缺失会导致进行性髓样增生, 在脾脏以CD11b+GR1+幼稚细胞增生为主, 在骨髓则主要是CD11b+前体细胞, 通过特异性敲除NF-κB的p50亚基可有效抑制上述病理进程, 从侧面证实这种髓样增生与NF-κB通路有着密切关系<sup>[21,30]</sup>. 进一步的研究则证明, NF-κB信号通路上游的miR-146a-Traf6轴参与了髓细胞的异常增殖改变<sup>[22]</sup>. Li等<sup>[31]</sup>通过体内体外实验发现, miR-146a在巨噬细胞集落刺激因子(macrophage colony-stimulating factor, G-CSF)影响下表达上调, 进而抑制其下游分子CXCR4和Smad4, 抑制白血病细胞转移, 促进白血病细胞进入细胞周期, 改善老年急性髓性白血病患者的预后. 另一方面, Mohr等<sup>[32]</sup>利用多基因改造及多组学技术明确了miR-146a参与Hoxa9和Meis1基因融合背景下, Meis1/PU.1/miR-146a/Syk通路介导的以过度增殖、分化停滞及凋亡异常为特征的急性髓性白血病(acute myeloid leukemia, AML)的发病, 使以Syk为靶点的成药性研究及AML治疗突破成为可能.

**2.3 miR-146a与肿瘤** 在多种恶性肿瘤中可观察到miR-146a表达异常, 进一步探索发现, miR-146a可能参与抑制肿瘤转移<sup>[33-35]</sup>. 经分析, 胃癌<sup>[36]</sup>, 宫颈癌<sup>[37]</sup>, 及甲状腺癌<sup>[38]</sup>均存在miR-146a表达下调. Contreras等<sup>[39]</sup>人通过转基因技术及高通量测序等方法发现原癌基因c-Myc过表达同时伴随miR-146a缺陷将导致侵袭性更强的肿瘤形成, 其深层原因在于由于miR-146a被敲除及c-Myc过表达对miR-146a产生的抑制作用而引起miR-146a表达下调, 继而造成miR-146a下游的基因异常表达. 靶基因

预测算法和荧光素酶报告实验证明miR-146a可通过抑制垂体瘤转化基因1的表达和活性, 进而抑制膀胱癌的迁移, 侵袭, 转移和生长<sup>[40]</sup>. 此外, 一项meta分析显示, 高表达miR-146a-5p的实体瘤肿瘤患者往往能有更好的预后, 尤其是生殖和消化系统肿瘤<sup>[41]</sup>.

**2.3.1 淋巴瘤:** NKT细胞淋巴瘤(natural killer/T-cell lymphoma, NKTCL)是一种罕见而侵袭性强的非霍奇金淋巴瘤(non-Hodgkin lymphoma, NHL), 属于的B细胞淋巴瘤一种. NF-κB构成性活化是许多造血系统肿瘤及实体瘤的一个标志性改变<sup>[42,43]</sup>. Alizadeh等<sup>[44]</sup>亦证实B细胞淋巴瘤与NF-κB构成性活化密切相关. miR-146a作为NF-κB信号通路的负向调节分子, 该小RNA的表达缺失可能是B细胞恶性肿瘤的病理机制之一. NKTCL组织和SNK6、YT肿瘤细胞系中miR-146a异常低表达, miR-146a启动子表现出过度的甲基化, 应用去甲基化制剂可上调miR-146a表达; 过表达miR-146a通过抑制肿瘤坏死因子受体相关因子6(TNF receptor-associated factor 6, TRAF6), 下调NF-κB活性, 也可抑制细胞增殖, 诱导凋亡并增强肿瘤细胞化疗敏感性<sup>[45]</sup>. 这提示, miR-146a在此型淋巴瘤的发病中有着不可忽视的意义. 临床数据表明, miR-146a低表达是预后不良的独立危险因素<sup>[46]</sup>. 另一种NHL即弥漫性大B细胞淋巴瘤(diffuse large B-cell lymphoma, DLBCL)中, miR-146a在外泌体中的表达水平要明显高于血浆, 这为外泌体来源的miR-146a作为DLBCL治疗反应性和复发风险的生物学指标提供了可靠依据<sup>[47]</sup>.

**2.3.2 肺癌:** miR-146a表达异常在非小细胞肺癌(non-small cell lung cancer, NSCLC)中也同样存在. 体外实验显示, miR-146a抑制表皮生长因子受体(epidermal growth factor

receptor, EGFR)和NF- $\kappa$ B信号通路, 抑制肿瘤细胞生长, 诱导凋亡, 降低其迁移能力<sup>[48]</sup>. 临床肺肿瘤组织样本检测发现, miR-146a低表达与晚期TNM分期和NSCLC远处转移相关. 而肿瘤组织高表达miR-146a的患者表现出无进展带瘤存活时间更长. miR-146a除了通过调节上述两条通路参与NSCLC发病, 其下游分子肿瘤胶原酶刺激因子(tumor collagenase stimulatory factor, TCSF)亦可通过影响细胞活性、增殖及凋亡介导NSCLC的病理进程<sup>[49]</sup>. 另一项研究则证实, 肺癌中miR-146a异常表达对细胞的生长不会产生影响, 但可通过下调DNA损伤诱导转录因子3(DNA damage inducible transcript 3, DDIT3/CHOP)影响自噬及凋亡相关基因, 最终导致肺肿瘤细胞的耐药性增加, 易复发, 提示着较差的预后<sup>[50]</sup>. 虽然不同研究结果略显矛盾, 但这也反映miR-146a参与多种生物过程, 在肺癌中发挥着复杂的作用.

**2.3.3 结直肠癌:** Lu等<sup>[51]</sup>发现miR-146a-5p在结直肠癌(colorectal cancer, CRC)中异常高表达, 并促进CRC细胞的转移. 具体机制涉及高表达的miR-146a-5p下调羧肽酶(carboxypeptidase M, CPM), 进而上调Src和FAK表达, 从而促进肿瘤细胞的侵袭和转移. 在基因表达芯片和miRNA分析等技术的辅助下, Bleau等<sup>[52]</sup>则证明了miR-146a可阻碍下游原癌基因c-met翻译, 抑制CRC肝转移, 抑制肿瘤发生. 一项大样本病例对照研究显示, miR-146a+60位点处存在的C-G基因多态现象(rs2910164)可能会降低中国人群中不吸烟者及不饮酒者罹患CRC的风险<sup>[53]</sup>. 对miR-146a表达量的影响可能是miR-146a基因多态性与CRC关系的主要影响因素. 由此可见, miR-146a基因型及表达量对CRC的发生发展及预后有着深远影响.

**2.3.4 miR-146a与造血:** 报道显示miR-146a在造血干细胞稳态维持及骨髓生成方面发挥着重要作用<sup>[54]</sup>. 随着衰老进程, miR-146a基因敲除小鼠逐渐发展为以全血细胞减少及骨髓纤维化为主要表现的骨髓造血功能衰竭<sup>[30]</sup>. 而骨髓增生异常综合征(myelodysplastic syndrome, MDS)及急性髓性白血病患者显示也存在miR-146a低表达<sup>[55]</sup>. Varney等<sup>[56]</sup>同时还发现miR-146a被认为是人类染色体5q上可能的单倍体不足基因, 介导MDS的常见亚型即5q-综合征. MDS及再生障碍性贫血中进展性的全血细胞减少被认为是正常的造血干细胞微环境遭到破坏<sup>[57]</sup>. 转导淋巴细胞活化分子系统发现miR-146a基因敲除小鼠骨髓中的长期造血干细胞显著减少, 并进一步证实miR-146a介导的骨髓T细胞来源的IFN- $\gamma$ 在模型鼠造血微环境破坏中起到了至关重要的作用<sup>[22]</sup>.

### 3 结论

miR-146a调控下游基因表达的多样性和复杂性, 反映了

其可参与机体多个生物过程, 发挥着重要的生物学作用. 而miR-146a在不同疾病模型中表达水平各异, 所介导的信号通路和所造成的最终结局也不尽相同. 是疾病或病理过程中确实发生的基因、蛋白等水平差异表达, 而得到相异的结论, 还是在现有的实验条件及实验水平下, 实验设计缺陷等其他干扰因素造成, 目前尚未有一致的定论. 因此, 有必要不断完善研究, 以进一步明确miR-146a生物学作用, 尤其是在各种疾病及病理过程的作用. 随着对其在生物体内功能的进一步探索, 将会为免疫炎症肿瘤等方面疾病的诊断、治疗及预后判断提供新思路.

### 4 参考文献

- 1 Kozomara A, Griffiths-Jones S. miRBase: annotating high confidence microRNAs using deep sequencing data. *Nucleic Acids Res* 2014; 42: D68-D73 [PMID: 24275495 DOI: 10.1093/nar/gkt1181]
- 2 Liang B, Chen Y, Yuan W, Qin F, Zhang Q, Deng N, Liu X, Ma X, Zhang X, Zhang B, Deng Q, Huang M, Tang H, Liu L, Chen W, Xiao Y. Down-regulation of miRNA-451a and miRNA-486-5p involved in benzene-induced inhibition on erythroid cell differentiation in vitro and in vivo. *Arch Toxicol* 2018; 92: 259-272 [PMID: 28733890 DOI: 10.1007/s00204-017-2033-7]
- 3 Kumar Kingsley SM, Vishnu Bhat B. Role of MicroRNAs in the development and function of innate immune cells. *Int Rev Immunol* 2017; 36: 154-175 [PMID: 28471289 DOI: 10.1080/08830185.2017.1284212]
- 4 Yao C, Sun M, Yuan Q, Niu M, Chen Z, Hou J, Wang H, Wen L, Liu Y, Li Z, He Z. MiRNA-133b promotes the proliferation of human Sertoli cells through targeting GLI3. *Oncotarget* 2016; 7: 2201-2219 [PMID: 26755652 DOI: 10.18632/oncotarget.6876]
- 5 Jia W, Liang D, Li N, Liu M, Dong Z, Li J, Dong X, Yue Y, Hu P, Yao J, Zhao Q. Zebrafish microRNA miR-210-5p inhibits primitive myelopoiesis by silencing *foxj1b* and *slc3a2a* mRNAs downstream of *gata4/5/6* transcription factor genes. *J Biol Chem* 2019; 294: 2732-2743 [PMID: 30593510 DOI: 10.1074/jbc.RA118.005079]
- 6 Ihle MA, Trautmann M, Kuenstlinger H, Huss S, Heydt C, Fassunke J, Wardelmann E, Bauer S, Schildhaus HU, Buettner R, Merkelbach-Bruse S. miRNA-221 and miRNA-222 induce apoptosis via the KIT/AKT signalling pathway in gastrointestinal stromal tumours. *Mol Oncol* 2015; 9: 1421-1433 [PMID: 25898773 DOI: 10.1016/j.molonc.2015.03.013]
- 7 Megha S, Basu U, Kav NNV. Regulation of low temperature stress in plants by microRNAs. *Plant Cell Environ* 2018; 41: 1-15 [PMID: 28346818 DOI: 10.1111/pce.12956]
- 8 Murer A, Rühl J, Zbinden A, Capaul R, Hammerschmidt W, Chijioke O, Münz C. MicroRNAs of Epstein-Barr Virus Attenuate T-Cell-Mediated Immune Control *In Vivo*. *MBio* 2019; 10 [PMID: 30647153 DOI: 10.1128/mBio.01941-18]
- 9 Krol J, Loedige I, Filipowicz W. The widespread regulation of microRNA biogenesis, function and decay. *Nat Rev Genet* 2010; 11: 597-610 [PMID: 20661255 DOI: 10.1038/nrg2843]
- 10 Kim VN, Han J, Siomi MC. Biogenesis of small RNAs in animals. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2009; 10: 126-139 [PMID: 19165215 DOI: 10.1038/nrm2632]
- 11 Kawamata T, Tomari Y. Making RISC. *Trends Biochem Sci* 2010; 35: 368-376 [PMID: 20395147 DOI: 10.1016/j.tibs.2010.03.009]
- 12 Ameres SL, Zamore PD. Diversifying microRNA sequence and function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2013; 14: 475-488 [PMID: 23645511 DOI: 10.1038/nrm3632]

- 23800994 DOI: 10.1038/nrm3611]
- 13 Iwakawa HO, Tomari Y. The Functions of MicroRNAs: mRNA Decay and Translational Repression. *Trends Cell Biol* 2015; 25: 651-665 [PMID: 26437588 DOI: 10.1016/j.tcb.2015.07.011]
  - 14 Starczynowski DT, Kuchenbauer F, Wegrzyn J, Rouhi A, Petriv O, Hansen CL, Humphries RK, Karsan A. MicroRNA-146a disrupts hematopoietic differentiation and survival. *Exp Hematol* 2011; 39: 167-178.e4 [PMID: 20933052 DOI: 10.1016/j.exphem.2010.09.011]
  - 15 Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of innate immune responses. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2006; 103: 12481-12486 [PMID: 16885212 DOI: 10.1073/pnas.0605298103]
  - 16 Heinz S, Glass CK. Roles of lineage-determining transcription factors in establishing open chromatin: lessons from high-throughput studies. *Curr Top Microbiol Immunol* 2012; 356: 1-15 [PMID: 21744305 DOI: 10.1007/82\_2011\_142]
  - 17 Singh A, Patro PS, Aggarwal A. MicroRNA-132, miR-146a, and miR-155 as potential biomarkers of methotrexate response in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol* 2019; 38: 877-884 [PMID: 30511295 DOI: 10.1007/s10067-018-4380-z]
  - 18 Mensà E, Recchioni R, Marcheselli F, Giuliodori K, Consales V, Molinelli E, Praticchizzo F, Rippo MR, Campanati A, Procopio AD, Olivieri F, Offidani AM. MiR-146a-5p correlates with clinical efficacy in patients with psoriasis treated with the tumour necrosis factor-alpha inhibitor adalimumab. *Br J Dermatol* 2018; 179: 787-789 [PMID: 29624637 DOI: 10.1111/bjd.16659]
  - 19 Wang-Renault SF, Boudaoud S, Nocturne G, Roche E, Sigrist N, Daviaud C, Bugge Tinggaard A, Renault V, Deleuze JF, Mariette X, Tost J. Deregulation of microRNA expression in purified T and B lymphocytes from patients with primary Sjögren's syndrome. *Ann Rheum Dis* 2018; 77: 133-140 [PMID: 28916716 DOI: 10.1136/annrheumdis-2017-211417]
  - 20 Shumnalieva R, Kachakova D, Shoumnalieva-Ivanova V, Miteva P, Kaneva R, Monov S. Whole peripheral blood miR-146a and miR-155 expression levels in Systemic lupus erythematosus patients. *Acta Reumatol Port* 2018; 43: 217-225 [PMID: 30414370]
  - 21 Boldin MP, Taganov KD, Rao DS, Yang L, Zhao JL, Kalwani M, Garcia-Flores Y, Luong M, Devrekanli A, Xu J, Sun G, Tay J, Linsley PS, Baltimore D. miR-146a is a significant brake on autoimmunity, myeloproliferation, and cancer in mice. *J Exp Med* 2011; 208: 1189-1201 [PMID: 21555486 DOI: 10.1084/jem.20101823]
  - 22 Magilnick N, Reyes EY, Wang WL, Vonderfecht SL, Gohda J, Inoue JJ, Boldin MP. miR-146a-Traf6 regulatory axis controls autoimmunity and myelopoiesis, but is dispensable for hematopoietic stem cell homeostasis and tumor suppression. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2017; 114: E7140-E7149 [PMID: 28784800 DOI: 10.1073/pnas.1706833114]
  - 23 Lu LF, Boldin MP, Chaudhry A, Lin LL, Taganov KD, Hanada T, Yoshimura A, Baltimore D, Rudensky AY. Function of miR-146a in controlling Treg cell-mediated regulation of Th1 responses. *Cell* 2010; 142: 914-929 [PMID: 20850013 DOI: 10.1016/j.cell.2010.08.012]
  - 24 Hou J, Wang P, Lin L, Liu X, Ma F, An H, Wang Z, Cao X. MicroRNA-146a feedback inhibits RIG-I-dependent Type I IFN production in macrophages by targeting TRAF6, IRAK1, and IRAK2. *J Immunol* 2009; 183: 2150-2158 [PMID: 19596990 DOI: 10.4049/jimmunol.0900707]
  - 25 Bai X, Zhang J, Cao M, Han S, Liu Y, Wang K, Han F, Li X, Jia Y, Wang X, Shi J, Hu D. MicroRNA-146a protects against LPS-induced organ damage by inhibiting Notch1 in macrophage. *Int Immunopharmacol* 2018; 63: 220-226 [PMID: 30103197 DOI: 10.1016/j.intimp.2018.07.040]
  - 26 Dai Y, Jia P, Fang Y, Liu H, Jiao X, He JC, Ding X. miR-146a is essential for lipopolysaccharide (LPS)-induced cross-tolerance against kidney ischemia/reperfusion injury in mice. *Sci Rep* 2016; 6: 27091 [PMID: 27250735 DOI: 10.1038/srep27091]
  - 27 El Gazzar M, Church A, Liu T, McCall CE. MicroRNA-146a regulates both transcription silencing and translation disruption of TNF- $\alpha$  during TLR4-induced gene reprogramming. *J Leukoc Biol* 2011; 90: 509-519 [PMID: 21562054 DOI: 10.1189/jlb.0211074]
  - 28 Jiang W, Ni Q, Tan L, Kong L, Lu Y, Xu X, Kong L. The microRNA-146a/b attenuates acute small-for-size liver graft injury in rats. *Liver Int* 2015; 35: 914-924 [PMID: 25156638 DOI: 10.1111/liv.12674]
  - 29 Liu W, Wu YH, Zhang L, Xue B, Wang Y, Liu B, Liu XY, Zuo F, Yang XY, Chen FY, Duan R, Cai Y, Zhang B, Ji Y. MicroRNA-146a suppresses rheumatoid arthritis fibroblast-like synoviocytes proliferation and inflammatory responses by inhibiting the TLR4/NF-kB signaling. *Oncotarget* 2018; 9: 23944-23959 [PMID: 29844864 DOI: 10.18632/oncotarget.24050]
  - 30 Zhao JL, Rao DS, Boldin MP, Taganov KD, O'Connell RM, Baltimore D. NF-kappaB dysregulation in microRNA-146a-deficient mice drives the development of myeloid malignancies. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011; 108: 9184-9189 [PMID: 21576471 DOI: 10.1073/pnas.1105398108]
  - 31 Li X, Xu L, Sheng X, Cai J, Liu J, Yin T, Xiao F, Chen F, Zhong H. Upregulated microRNA-146a expression induced by granulocyte colony-stimulating factor enhanced low-dosage chemotherapy response in aged acute myeloid leukemia patients. *Exp Hematol* 2018; 68: 66-79.e3 [PMID: 30208330 DOI: 10.1016/j.exphem.2018.09.002]
  - 32 Mohr S, Doebele C, Comoglio F, Berg T, Beck J, Bohnenberger H, Alexe G, Corso J, Ströbel P, Wachter A, Beissbarth T, Schnütgen F, Cremer A, Haetscher N, Göllner S, Rouhi A, Palmqvist L, Rieger MA, Schroeder T, Bönig H, Müller-Tidow C, Kuchenbauer F, Schütz E, Green AR, Urlaub H, Stegmaier K, Humphries RK, Serve H, Oellerich T. Hoxa9 and Meis1 Cooperatively Induce Addiction to Syk Signaling by Suppressing miR-146a in Acute Myeloid Leukemia. *Cancer Cell* 2017; 31: 549-562.e11 [PMID: 28399410 DOI: 10.1016/j.ccell.2017.03.001]
  - 33 Labbaye C, Testa U. The emerging role of MIR-146A in the control of hematopoiesis, immune function and cancer. *J Hematol Oncol* 2012; 5: 13 [PMID: 22453030 DOI: 10.1186/1756-8722-5-13]
  - 34 Rusca N, Monticelli S. MiR-146a in Immunity and Disease. *Mol Biol Int* 2011; 2011: 437301 [PMID: 22091404 DOI: 10.4061/2011/437301]
  - 35 Yao Q, Cao Z, Tu C, Zhao Y, Liu H, Zhang S. MicroRNA-146a acts as a metastasis suppressor in gastric cancer by targeting WASF2. *Cancer Lett* 2013; 335: 219-224 [PMID: 23435376 DOI: 10.1016/j.canlet.2013.02.031]
  - 36 Hou Z, Xie L, Yu L, Qian X, Liu B. MicroRNA-146a is down-regulated in gastric cancer and regulates cell proliferation and apoptosis. *Med Oncol* 2012; 29: 886-892 [PMID: 21347720 DOI: 10.1007/s12032-011-9862-7]
  - 37 Yue C, Wang M, Ding B, Wang W, Fu S, Zhou D, Zhang Z, Han S. Polymorphism of the pre-miR-146a is associated with risk of cervical cancer in a Chinese population. *Gynecol Oncol* 2011; 122: 33-37 [PMID: 21529907 DOI: 10.1016/j.ygyno.2011.03.032]
  - 38 Jazdzewski K, Murray EL, Franssila K, Jarzab B, Schoenberg DR, de la Chapelle A. Common SNP in pre-miR-146a decreases mature miR expression and predisposes to papillary thyroid carcinoma. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008; 105: 7269-7274 [PMID: 18474871 DOI: 10.1073/pnas.0802682105]
  - 39 Contreras JR, Palanichamy JK, Tran TM, Fernando TR,



- Rodriguez-Malave NI, Goswami N, Arboleda VA, Casero D, Rao DS. MicroRNA-146a modulates B-cell oncogenesis by regulating Egr1. *Oncotarget* 2015; 6: 11023-11037 [PMID: 25906746 DOI: 10.18632/oncotarget.3433]
- 40 Xiang W, Wu X, Huang C, Wang M, Zhao X, Luo G, Li Y, Jiang G, Xiao X, Zeng F. PTTG1 regulated by miR-146a-3p promotes bladder cancer migration, invasion, metastasis and growth. *Oncotarget* 2017; 8: 664-678 [PMID: 27893422 DOI: 10.18632/oncotarget.13507]
- 41 Li MW, Gao L, Dang YW, Li P, Li ZY, Chen G, Luo DZ. Protective potential of miR-146a-5p and its underlying molecular mechanism in diverse cancers: a comprehensive meta-analysis and bioinformatics analysis. *Cancer Cell Int* 2019; 19: 167 [PMID: 31285693 DOI: 10.1186/s12935-019-0886-y]
- 42 Bosman MC, Schuringa JJ, Vellenga E. Constitutive NF- $\kappa$ B activation in AML: Causes and treatment strategies. *Crit Rev Oncol Hematol* 2016; 98: 35-44 [PMID: 26490297 DOI: 10.1016/j.critrevonc.2015.10.001]
- 43 Pham LV, Tamayo AT, Yoshimura LC, Lin-Lee YC, Ford RJ. Constitutive NF-kappaB and NFAT activation in aggressive B-cell lymphomas synergistically activates the CD154 gene and maintains lymphoma cell survival. *Blood* 2005; 106: 3940-3947 [PMID: 16099873 DOI: 10.1182/blood-2005-03-1167]
- 44 Alizadeh AA, Eisen MB, Davis RE, Ma C, Lossos IS, Rosenwald A, Boldrick JC, Sabet H, Tran T, Yu X, Powell JL, Yang L, Marti GE, Moore T, Hudson J Jr, Lu L, Lewis DB, Tibshirani R, Sherlock G, Chan WC, Greiner TC, Weisenburger DD, Armitage JO, Warnke R, Levy R, Wilson W, Grever MR, Byrd JC, Botstein D, Brown PO, Staudt LM. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000; 403: 503-511 [PMID: 10676951 DOI: 10.1038/35000501]
- 45 Paik JH, Jang JY, Jeon YK, Kim WY, Kim TM, Heo DS, Kim CW. MicroRNA-146a downregulates NF $\kappa$ B activity via targeting TRAF6 and functions as a tumor suppressor having strong prognostic implications in NK/T cell lymphoma. *Clin Cancer Res* 2011; 17: 4761-4771 [PMID: 21610143 DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-11-0494]
- 46 Mei M, Zhang M. Non-coding RNAs in Natural Killer/T-Cell Lymphoma. *Front Oncol* 2019; 9: 515 [PMID: 31263681 DOI: 10.3389/fonc.2019.00515]
- 47 Zare N, Eskandari N, Mehrzad V, Javanmard SH. The expression level of hsa-miR-146a-5p in plasma-derived exosomes of patients with diffuse large B-cell lymphoma. *J Res Med Sci* 2019; 24: 10 [PMID: 30988678 DOI: 10.4103/jrms.JRMS\_507\_18]
- 48 Chen G, Umelo IA, Lv S, Teugels E, Fostier K, Kronenberger P, Dewaele A, Sadones J, Geers C, De Grève J. miR-146a inhibits cell growth, cell migration and induces apoptosis in non-small cell lung cancer cells. *PLoS One* 2013; 8: e60317 [PMID: 23555954 DOI: 10.1371/journal.pone.0060317]
- 49 Huang WT, He RQ, Li XJ, Ma J, Peng ZG, Zhong JC, Hu XH, Chen G. miR-146a-5p targets TCSF and influences cell growth and apoptosis to repress NSCLC progression. *Oncol Rep* 2019; 41: 2226-2240 [PMID: 30816543 DOI: 10.3892/or.2019.7030]
- 50 Tan W, Liao Y, Qiu Y, Liu H, Tan D, Wu T, Tang M, Zhang S, Wang H. miRNA 146a promotes chemotherapy resistance in lung cancer cells by targeting DNA damage inducible transcript 3 (CHOP). *Cancer Lett* 2018; 428: 55-68 [PMID: 29702190 DOI: 10.1016/j.canlet.2018.04.028]
- 51 Lu D, Yao Q, Zhan C, Le-Meng Z, Liu H, Cai Y, Tu C, Li X, Zou Y, Zhang S. MicroRNA-146a promote cell migration and invasion in human colorectal cancer via carboxypeptidase M/src-FAK pathway. *Oncotarget* 2017; 8: 22674-22684 [PMID: 28186967 DOI: 10.18632/oncotarget.15158]
- 52 Bleau AM, Redrado M, Nistal-Villan E, Villalba M, Exposito F, Redin E, de Aberasturi AL, Larzabal L, Freire J, Gomez-Roman J, Calvo A. miR-146a targets c-met and abolishes colorectal cancer liver metastasis. *Cancer Lett* 2018; 414: 257-267 [PMID: 29133238 DOI: 10.1016/j.canlet.2017.11.008]
- 53 Ma L, Zhu L, Gu D, Chu H, Tong N, Chen J, Zhang Z, Wang M. A genetic variant in miR-146a modifies colorectal cancer susceptibility in a Chinese population. *Arch Toxicol* 2013; 87: 825-833 [PMID: 23306950 DOI: 10.1007/s00204-012-1004-2]
- 54 Zhao JL, Starczynowski DT. Role of microRNA-146a in normal and malignant hematopoietic stem cell function. *Front Genet* 2014; 5: 219 [PMID: 25071842 DOI: 10.3389/fgene.2014.00219]
- 55 Wang Y, Li Z, He C, Wang D, Yuan X, Chen J, Jin J. MicroRNAs expression signatures are associated with lineage and survival in acute leukemias. *Blood Cells Mol Dis* 2010; 44: 191-197 [PMID: 20110180 DOI: 10.1016/j.bcmd.2009.12.010]
- 56 Varney ME, Niederkorn M, Konno H, Matsumura T, Gohda J, Yoshida N, Akiyama T, Christie S, Fang J, Miller D, Jerez A, Karsan A, Maciejewski JP, Meetei RA, Inoue J, Starczynowski DT. Loss of Tifab, a del(5q) MDS gene, alters hematopoiesis through derepression of Toll-like receptor-TRAF6 signaling. *J Exp Med* 2015; 212: 1967-1985 [PMID: 26458771 DOI: 10.1084/jem.20141898]
- 57 Zhao JL, Rao DS, O'Connell RM, Garcia-Flores Y, Baltimore D. MicroRNA-146a acts as a guardian of the quality and longevity of hematopoietic stem cells in mice. *Elife* 2013; 2: e00537 [PMID: 23705069 DOI: 10.7554/eLife.00537]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



# 经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝细胞癌残留状态的增强CT与超声造影比较

黄浩峰, 庞强

黄浩峰, 浙江省嘉善县中医医院放射科 浙江省嘉兴市 314100

庞强, 浙江省肿瘤医院放射科 浙江省杭州市 310022

黄浩峰, 主治医师, 研究方向为放射诊断.

**作者贡献分布:** 此课题由黄浩峰设计; 研究过程由黄浩峰与庞强共同操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由庞强提供; 数据分析与论文写作由黄浩峰完成.

**通讯作者:** 黄浩峰, 主治医师, 314100, 浙江省嘉兴市嘉善县魏塘街道顾家埭38号, 浙江省嘉善县中医医院放射科. [huanghaofeng201555@163.com](mailto:huanghaofeng201555@163.com)  
电话: 0573-89106776

收稿日期: 2019-06-06

修回日期: 2019-08-12

接受日期: 2019-09-08

在线出版日期: 2019-09-28

## Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization

Hao-Feng Huang, Qiang Pang

Hao-Feng Huang, Department of Radiology, Zhejiang Jiashan Traditional Chinese Medical Hospital, Jiashan 314100, Zhejiang Province, China

Qiang Pang, Department of Radiology, Zhejiang Tumor Hospital, Hangzhou 310022, Zhejiang Province, China

**Corresponding author:** Hao-Feng Huang, Chief Physician, Department of Radiology, Zhejiang Jiashan traditional Chinese Medical Hospital, No. 38, Gujiaduo, Weitang Street, Jiashan County, Jiashan 314100, Zhejiang Province, China. [huanghaofeng201555@163.com](mailto:huanghaofeng201555@163.com)

Received: 2019-06-06

Revised: 2019-08-12

Accepted: 2019-09-08

Published online: 2019-09-28

## Abstract BACKGROUND

Transcatheter arterial chemoembolization (TACE) can inactivate tumors by embolizing the main blood supply arteries of tumors through selectively inserting microcatheters into the arteries and injecting chemotherapy drugs. Effective TACE treatment will inevitably lead to changes of the microcirculation perfusion state of tumors. Contrast-enhanced ultrasound can accurately reflect the perfusion process of tumors to accurately evaluate the efficacy of TACE.

## AIM

To evaluate the clinical value of contrast-enhanced CT (CECT) and contrast-enhanced ultrasound (CEUS) in determining the residual status of hepatocellular carcinoma (HCC) after TACE.

## METHODS

Seventy-one HCC patients with a total of 125 lesions who underwent TACE were selected as study subjects during September 2016 and March 2019. One month after TACE, all patients were examined by CEUS and CECT. The results of digital subtraction angiography (DSA) were used as the "gold standard" to compare the value of CEUS and CECT in evaluating the efficacy of TACE.

## RESULTS

DSA found 97 residual lesions and 28 non-residual lesions. The accuracy, sensitivity, and specificity of CEUS in determining residual lesions were 96.00%, 96.91%, and 92.86%, respectively, and the corresponding values for CECT were 88.00%, 87.63%, and 89.29%. The sensitivity

and accuracy of CEUS in determining residual lesions were higher than those of CECT ( $P < 0.05$ ).

## CONCLUSION

CEUS can show the blood perfusion status of HCC after TACE, and is superior to CECT in determining residual lesions, thus providing a new and effective method for clinical evaluation of the efficacy of TACE.

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

Key Words: Contrast-enhanced ultrasound; Transcatheter arterial chemoembolization; Hepatocellular carcinoma; Residual

Huang HF, Pang Q. Comparison of contrast-enhanced CT and contrast-enhanced ultrasound for assessing residual status of primary hepatocellular carcinoma after transcatheter arterial chemoembolization. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1161-1166  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1161.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1161>

## 摘要

### 背景

经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是通过微导管选择性插入至肿瘤主要供血动脉后, 栓塞动脉及注入化疗药物使肿瘤发生缺血坏死, 从而发挥灭活肿瘤作用。有效的TACE治疗势必引起肿瘤微循环血流灌注状态改变, 而超声造影能准确反映肿瘤组织的血流灌注过程, 从而实现TACE疗效的准确评估。

### 目的

探讨运用增强CT(contrast-enhanced CT, CECT)、超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)判定TACE后原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)残留状态的临床应用价值。

### 方法

选取2016-09/2019-03期间, 在浙江省肿瘤医院行TACE术治疗的71例患者作为研究对象, 共125个病灶。所有患者TACE术后1 mo均行CEUS、CECT检查, 以同期数字减影血管造影(digital subtraction angiography, DSA)检查结果作为“金标准”, 比较CEUS与CECT在评估TACE疗效中的应用价值。

### 结果

DSA发现病灶残留97个, 无残留28个; CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别为96.00%、96.91%、92.86%; CECT判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别88.00%、87.63%、89.29%; CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度均高于CECT, 差异

有统计学意义( $P < 0.05$ )。

## 结论

CEUS能显示TACE术后HCC病灶组织的血流灌注状态, 在判定病灶残留方面优于CECT, 可为临床评估TACE术后疗效提供新的有效手段。

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

关键词: 超声造影; 经导管肝动脉化疗栓塞术; 原发性肝细胞癌; 残留

**核心提要:** 临床常采用影像学方法评估经导管肝动脉化疗栓塞术对肝癌的治疗效果, 而超声造影能实时反映病灶的微循环血流灌注全过程, 对病灶是否存在残留具有较高的甄别能力。

黄浩峰, 庞强. 经导管肝动脉化疗栓塞术后原发性肝细胞癌残留状态的增强CT与超声造影比较. *世界华人消化杂志* 2019; 27(18): 1161-1166  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1161.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1161>

## 0 引言

原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是发生于肝细胞的肝脏恶性肿瘤, 在我国有着较高发病率及病死率, 其恶性程度高、进展速度快、起病隐匿, 导致大部分患者被确诊时已经处于中晚期, 错过手术切除治疗最佳时机, 而只能行非手术治疗<sup>[1]</sup>。目前, 经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)是临床非手术治疗HCC的重要方法之一<sup>[2]</sup>。准确评估TACE术后病灶是否残留, 对病情判断, 指导临床制定下一步治疗方案具有重要意义。本研究运用超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)判定TACE术后HCC病灶残留状态, 并与增强CT(contrast-enhanced CT, CECT)进行比较, 探讨其临床应用价值(图1)。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 选取2016-09/2019-03期间, 在浙江省肿瘤医院行TACE治疗的71例HCC患者作为研究对象, 其中男53例, 女18例, 年龄32-74岁, 平均51.00岁 $\pm$ 8.25岁。共125个病灶(20例3个病灶; 14例2个病灶; 37例单个病灶), 最大直径3.5-10.1 cm, 平均6.35 cm $\pm$ 1.43 cm。纳入标准: (1)均为HCC; (2)Child-Pugh分级为A-B级; (3)患者能配合检查。排除标准: (1)伴有其它恶性肿瘤; (2)严重感染; (3)肝肾功能衰竭; (4)凝血功能障碍。本研究经本院医学伦理委员会同意, 患者均知情同意并签署知情同意书。



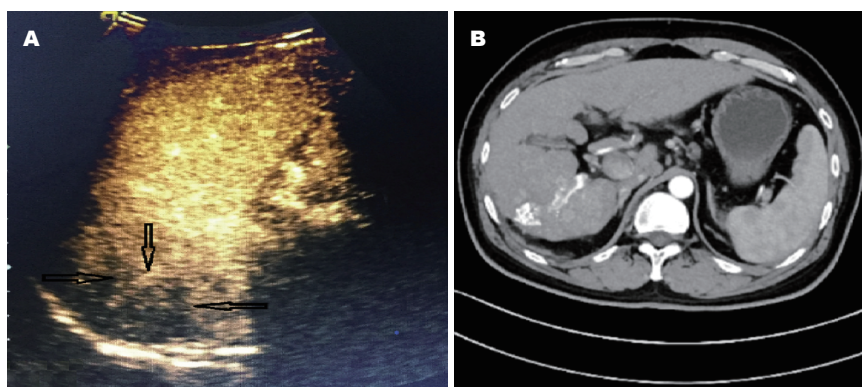


图1 经导管肝动脉化疗栓塞术后病灶残留: A: 超声造影显示病灶局部增强; B: 增强CT显示病灶碘油沉积不均匀并存在强化区。

**1.2 方法** TACE术(化疗药物采用5-10 mL 40%超液化碘油、50-100 mg奥沙利铂、1.0-1.5 g氟尿嘧啶、20-40 mg多柔比星)后1 mo行CEUS、CECT以及DSA检查, 时间间隔不超过7 d。

**CEUS检查:** 采用西门子s2000超声诊断仪, 探头频率3-5 MHz。首先行常规超声检查, 观察病灶位置、大小、回声、边界、血流等情况。然后固定探头于某一体表位置, 可通过侧动探头观察目标病灶整体血流灌注状态。启动CEUS模式。采用声诺维(磷脂微囊六氯化硫)作为造影剂, 经肘部浅静脉团注2.4 mL造影剂, 并同步计时, 储存影像资料作后续分析。观察造影各时相的病灶血流灌注情况: 动脉相(0-30 s)、门脉相(31-120 s)与延迟相(121-300 s)。由一名高年资且经验丰富的超声科医生进行评估。

**CECT扫描:** 采用GE Discovery750HD CT机进行CECT检查。嘱患者禁食8 h, 检查前15 min口服温开水1-1.5 L。嘱患者取仰卧位, 上举双臂, 首先行常规扫描, 然后采用370 mg/mL的碘帕醇作为造影剂, 经肘静脉以3.0 mL/s流速注射后, 行增强扫描, 管电压: 120 kV, 管电流: 300 mA, 矩阵: 242×242, 螺距: 1.0, 层距: 5 mm, 层厚: 5 mm。注射后20 s, 动脉期扫描; 注射后1 min, 门脉期扫描; 注射后5 min, 延迟期扫描。由一名高年资且经验丰富的放射科医生进行评估。

**CEUS评估标准:** 病灶于动脉相或门脉相存在造影剂填充, 延迟相造影剂消退, 呈低或等增强, 即病灶残留, 判断为阳性; 病灶于造影全程均无造影剂填充, 边界清晰, 表现为“黑洞征”, 即病灶无残留, 判断为阴性。

**CECT评估标准:** 病灶区域碘油沉积稀少或斑片状沉积, 于动脉期病灶存在可辨强化区, 即病灶残留, 判断为阳性; 病灶区域碘油沉积均匀分布, 于动脉期病灶无强化, 即病灶无残留, 判断为阴性。

以DSA检查结果作为判定“金标准”, 计算各检查方法的灵敏度 = 真阳性人数/(真阳性人数+假阴性人数)

×100%, 特异度 = 真阴性人数/(真阴性人数+假阳性人数)×100%, 准确度 = (真阳性例数+真阴性例数)/(真阳性例数+假阴性例数+假阳性例数+真阴性例数)×100%。

**统计学处理** 采用SPSS 20.0统计学软件进行数据处理。计数资料以(%)表示, 组间比较行 $\chi^2$ 检验。P<0.05为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 DSA检查结果** 71例HCC患者, 共125个病灶, TACE术后1 mo DSA检查发现HCC残留病灶97个, 无残留病灶28个。

**2.2 CECT检查结果** TACE术后1 mo CECT判定88个病灶残留, 表现为病灶区域碘油沉积稀少或呈斑片状分布, 动脉期局部存在强化区; CECT判定37个病灶无残留, 彻底灭活, 表现为病灶内碘油沉积均匀分布, 动脉期无强化区。以DSA结果作为“金标准”, CECT判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别88.00%、87.63%、89.29%(表1)。

**2.3 CEUS检查结果** TACE术后1 mo CEUS判定96个病灶残留, 表现为病灶局部或边缘呈不同程度增强, 其中63个病灶表现为动脉相呈高增强, 门脉相和(或)延迟相呈低增强; 21个病灶表现为动脉相呈等增强, 门脉相和(或)延迟相呈低增强; 12个病灶表现为动脉相呈等增强, 门脉相和(或)延迟相呈等增强; CEUS判定29个病灶无残留, 病灶被彻底灭活, 均表现为三期无造影剂填充, 病灶边界清晰, 呈“黑洞征”。以DSA结果作为“金标准”, CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别为96.00%、96.91%、92.86%(表2)。

**2.4 CEUS与CECT应用价值比较** CEUS判定HCC病灶残留的准确度( $\chi^2 = 5.435, P = 0.02$ )及灵敏度( $\chi^2 = 5.853, P = 0.016$ )均高于CECT, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); CEUS判定HCC病灶残留的特异度与CECT比较差异无统计学意义( $\chi^2 = 0.220, P = 0.639$ )。

表 1 增强CT判定病灶残留情况(例)

CECT	DSA		总计
	残留	无残留	
残留	85	3	88
无残留	12	25	37
总计	97	28	125

CECT: 增强CT; DSA: 数字减影血管造影.

表 2 超声造影判定病灶残留情况(例)

CEUS	DSA		总计
	残留	无残留	
残留	94	2	96
无残留	3	26	29
总计	97	28	125

CEUS: 超声造影; DSA: 数字减影血管造影.

### 3 讨论

HCC在我国有着较高发病率,手术切除病灶是治疗HCC的最佳治疗手段,但由于HCC发病隐匿,大多数患者被确诊时已为中晚期而错过手术切除治疗最佳时机,不得不选择非手术治疗<sup>[3]</sup>. TACE是HCC非手术治疗的常用治疗手段,其原理是将微导管经股动脉选择性插入到病灶供血动脉,然后注入碘化油及化疗药物,导致肿瘤细胞发生缺血坏死,从而发挥控制肿瘤生长,杀灭肿瘤作用<sup>[4]</sup>. 由于HCC属于富血供肿瘤,同时接受肝动脉及门静脉双重血供,当供血动脉被栓塞后,可通过建立侧支循环使病灶组织坏死不彻底,发生残留<sup>[5]</sup>. 因此,准确评估TACE术后病灶残留状态,有助于临床制定下一步治疗措施.

TACE术后HCC病灶残留状态评估的主要手段包括甲胎蛋白定量、超声、CT、MRI以及DSA等,而DSA是目前公认的评估TACE疗效“金标准”<sup>[6]</sup>,可通过消除病灶碘油沉积影响而清晰显示病灶异常血供,从而准确评估TACE术后病灶残留与否,具有较高的诊断准确性<sup>[7]</sup>. 但DSA具有创伤性,其临床应用受到一定限制.

CECT检查是临床评估TACE术后病灶残留的常用方法,因其后处理技术强大,扫描速度快,能清晰显示肿瘤位置、大小、内部碘油沉积、强化区域分布等情况,有助于临床评估TACE术后病灶残留,若发现病灶存在强化区域,即提示病灶残留<sup>[8]</sup>. 本研究中,CECT判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别88.00%、87.63%、89.29%,证实了CECT有助于临床判定TACE

术后病灶残留,可用于评估TACE术后疗效. 虽然CECT在显示碘油沉积分布方面具有一定优势,但是良好的碘油沉积不能完全代表病灶组织被彻底灭活坏死,因为高密度的碘油沉积影响下,可在一定程度上遮挡了肿瘤血管的真实分布状态,同时治疗后病灶局部及周围发生炎症细胞浸润、纤维组织增生及肉芽组织增生,均可影响CECT对病灶组织是否存活的判定<sup>[3]</sup>.

超声造影剂是一种理想的血池显像剂,造影剂微泡直径远小于病灶组织内微循环血管内径,可清晰显示造影剂微泡对病灶组织的灌注及退出全程,从而动态反映病灶组织在各时相的微循环血流灌注特征及血流动力学变化,有助于临床根据病灶内是否存在血流灌注充填而判断其残留状态<sup>[9]</sup>. 本研究结果显示,CEUS判定病灶残留的准确度、灵敏度、特异度分别为96.00%、96.91%、92.86%,提示CEUS能有效评估TACE术后HCC病灶残留状态,其在TACE术后疗效评估中具有较高应用价值,有助于指导临床进一步制定治疗方案. 本研究结果显示,CEUS判定HCC病灶残留的准确度及灵敏度均高于CECT( $P<0.05$ ),提示在评估TACE术后病灶是否残留方面CEUS可能更优于CECT,更有助于监测TACE疗效. 原因可能是: (1)CEUS以超声微泡作为血管示踪剂,可清晰显示病灶微小血管分布及微循环灌注特征,更有助于微小病变的准确判断<sup>[10]</sup>; (2)HCC病灶血供丰富,含有大量异常新生微小血管,其在CEUS下呈现出特有的“快进快出”增强模式,有助于临床直观评估病灶性质<sup>[11]</sup>; (3)CEUS为即时性检查手段,超声医师能实时

动态观察病灶组织造影全过程, 而CECT即不能实时动态观察. 但需要注意的是, 本研究有2例病灶呈假阳性, 分析原因可能是病灶周围发生炎性充血带所致, 而3例病灶呈假阴性, 分析原因可能是病灶位置靠近膈顶或胃肠道, 受气体干扰所致<sup>[12]</sup>. 因此, 必要时CEUS应结合其它检查以进一步减少漏诊或误诊.

总之, CEUS能显示TACE术后HCC病灶组织的血流灌注状态, 在判定病灶残留方面优于CECT, 可为临床评估TACE术后疗效提供新的有效手段.

## 文章亮点

### 实验背景

经导管肝动脉化疗栓塞术(transcatheter arterial chemoembolization, TACE)后病灶血流灌注发生改变, 而利用超声造影(contrast-enhanced ultrasound, CEUS)能实时反映微循环血供的特点, 可准确评估TACE治疗效果, 有着重要临床意义.

### 实验动机

运用CEUS能无创性评估TACE疗效, 可为临床评估TACE疗效提供一种全新影像学方法, 有助于指导临床治疗.

### 实验目标

本论文主要目标为采用CEUS评估TACE治疗后的原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)残留情况, 结果证实CEUS能有效反映TACE疗效, 可为临床评估TACE疗效提供有效手段.

### 实验方法

本研究以CEUS评估TACE疗效. CEUS是一种十分灵敏的血流检测技术, 能实时显示肿瘤的微循环血流灌注过程.

### 实验结果

本研究达到了实验目标, 研究结果提示CEUS能有效甄别TACE后HCC残留状态, 具有较高临床应用价值. 运用CEUS能有效评估TACE疗效, 为TACE疗效评估提供一种可靠的无创性方法.

### 实验结论

在CEUS下TACE后HCC残留组织呈不同程度增强. TACE疗效可通过CEUS进行有效评估, 为临床评估TACE疗效提供血流动力学信息. CEUS能有效反映肿瘤的血流灌注状态, 能有效监测和无创性评估TACE疗

效, 能准确有效地评估TACE后HCC残留状态, 其诊断能力在一定程度上优于增强CT. CEUS为临床准确评估TACE疗效提供了一种可靠的新方法.

### 展望前景

肿瘤位置、患者呼吸配合程度、体型等因素可影响CEUS评估TACE疗效的准确性. 未来研究的方向是运用CEUS评估TACE后HCC的血流灌注参数变化. 未来研究的最佳方法是三维超声造影评估TACE后HCC残留情况.

## 4 参考文献

- Xu L, Zhang M, Zheng X, Yi P, Lan C, Xu M. The circular RNA ciRS-7 (Cdr1as) acts as a risk factor of hepatic microvascular invasion in hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2017; 143: 17-27 [PMID: 27614453 DOI: 10.1007/s00432-016-2256-7]
- Nörthen A, Asendorf T, Shin HO, Hinrichs JB, Werncke T, Vogel A, Kirstein MM, Wacker FK, Rodt T. Parametric response mapping cut-off values that predict survival of hepatocellular carcinoma patients after TACE. *Abdom Radiol (NY)* 2018; 43: 3288-3300 [PMID: 29680967 DOI: 10.1007/s00261-018-1610-4]
- Najmi Varzaneh F, Pandey A, Aliyari Ghasabeh M, Shao N, Khoshpouri P, Pandey P, Zarghampour M, Fouladi D, Liddell R, Anders RA, Kamel IR. Prediction of post-TACE necrosis of hepatocellular carcinoma using volumetric enhancement on MRI and volumetric oil deposition on CT, with pathological correlation. *Eur Radiol* 2018; 28: 3032-3040 [PMID: 29383518 DOI: 10.1007/s00330-017-5198-9]
- Zhao M, Xiang P, Jiang H. TransArterial ChemoEmbolization (TACE) with platinum versus anthracyclines for hepatocellular carcinoma: A meta-analysis. *Int J Surg* 2018; 53: 151-158 [PMID: 29602011 DOI: 10.1016/j.ijsu.2018.03.049]
- Chintalapati SP, Patel A, Conjeevaram H. Gastric and duodenal ischaemia after transarterial chemoembolisation for hepatocellular carcinoma: an unexpected but significant complication. *BMJ Case Rep* 2018; 2018 [PMID: 29467124 DOI: 10.1136/bcr-2017-223339]
- 朱凤叶, 李红, 乔继红, 王全华. CT与MRI在诊断原发性肝癌介入术后病灶残留及复发中的应用价值. *中国CT和MRI杂志* 2018; 16: 76-78 [DOI: 10.3969/j.issn.1672-5131.2018.03.024]
- 杨耀文, 王志涛, 王颖. MR DWI在肝癌TACE术后评估中的应用研究. *实用放射学杂志* 2018; 34: 600-602 [DOI: 10.3969/j.issn.1002-1671.2018.04.030]
- 龚海峰. CT增强扫描对原发性肝癌TACE术后肿瘤残留及新发病灶的检出效果. *影像研究与医学应用* 2018; 2: 140-141 [DOI: 10.3969/j.issn.2096-3807.2018.19.090]
- Lekht I, Nayyar M, Luu B, Guichet PL, Ho J, Ter-Oganesyan R, Katz M, Gulati M. Intra-arterial contrast-enhanced ultrasound (IA CEUS) for localization of hepatocellular carcinoma (HCC) supply during transarterial chemoembolization (TACE): a case series. *Abdom Radiol (NY)* 2017; 42: 1400-1407 [PMID: 28008454 DOI: 10.1007/s00261-016-1016-0]
- Moudgil S, Kalra N, Prabhakar N, Dhiman RK, Behera A, Chawla YK, Khandelwal N. Comparison of Contrast Enhanced Ultrasound With Contrast Enhanced Computed Tomography for the Diagnosis of Hepatocellular Carcinoma. *J Clin Exp Hepatol* 2017; 7: 222-229 [PMID: 28970709 DOI: 10.1016/j.jceh.2017.03.003]



- 11 Schellhaas B, Görtz RS, Pfeifer L, Kielisch C, Neurath MF, Strobel D. Diagnostic accuracy of contrast-enhanced ultrasound for the differential diagnosis of hepatocellular carcinoma: ESCULAP versus CEUS-LI-RADS. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2017; 29: 1036-1044 [PMID: 28562394 DOI: 10.1097/MEG.0000000000000916]
- 12 Fetzner DT, Rafailidis V, Peterson C, Grant EG, Sidhu P, Barr RG. Artifacts in contrast-enhanced ultrasound: a pictorial essay. *Abdom Radiol (NY)* 2018; 43: 977-997 [PMID: 29198008 DOI: 10.1007/s00261-017-1417-8]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红



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

## • 消息 •

### 《世界华人消化杂志》消化护理学领域征稿启事

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

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

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

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

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

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

## 食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习

云晓静, 白玉焕, 敬长春

云晓静, 白玉焕, 敬长春, 山东省聊城市第二人民医院消化内科 山东省临清市 252600

云晓静, 主治医师, 主要研究胃肠道疾病的诊治.

作者贡献分布: 所有作者贡献均等; 此课题由云晓静与敬长春设计; 研究过程与论文写作由云晓静与白玉焕共同完成; 敬长春审核.

通讯作者: 敬长春, 主任医师, 252600, 山东省临清市健康街306号, 山东省聊城市第二人民医院消化内科. [jingcc518@sina.com](mailto:jingcc518@sina.com)  
电话: 0635-2366082

收稿日期: 2019-07-03

修回日期: 2019-08-11

接受日期: 2019-09-08

在线出版日期: 2019-09-28

### Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature

Xiao-Jing Yun, Yu-Huan Bai, Chang-Chun Jing

Xiao-Jing Yun, Yu-Huan Bai, Chang-Chun Jing, Department of Gastroenterology, The Second People's Hospital of Liaocheng, Linqing 252600, Shandong Province, China

Corresponding author: Changchun Jing, Chief Physician, Department of Gastroenterology, The Second People's Hospital of Liaocheng, No. 306, Jiankang Street, Linqing 252600, Shandong Province, China. [jingcc518@sina.com](mailto:jingcc518@sina.com)

Received: 2019-07-03

Revised: 2019-08-11

Accepted: 2019-09-08

Published online: 2019-09-28

### Abstract

#### BACKGROUND

Granular cell tumor (GCT) is a rare soft tissue tumor that has malignancy potential. Despite the lack of specific clinical manifestations, GCT has special gastroscopic and

endoscopic ultrasonographic manifestations.

#### CASE SUMMARY

A male patient was admitted because of epigastric pain for 20 d, and there were no positive signs of abdominal examination. Gastroscopy showed that there was a 0.5 cm × 0.7 cm submucous eminence on the right wall of the esophagus at 39 cm from the incisor, and the tumor had a yellowish and smooth surface, and was hard and movable on touch. Endoscopic ultrasonography showed that the lesion was slightly hyperechoic and originated from the submucosa. After endoscopic submucosal dissection, it was confirmed pathologically to be an esophageal GCT.

#### CONCLUSION

Esophageal GCT is clinically rare and has specific endoscopic and pathological manifestations. Because of the malignancy potential, active endoscopic treatment is necessary. Surgical treatment is still needed for malignant lesions or lesions invading the muscle layer.

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

Key Words: Granular cell tumor; Esophagus; Diagnosis

Yun XJ, Bai YH, Jing CC. Granular cell tumor of the esophagus: Report of one case and review of the Chinese literature. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2019; 27(18): 1167-1170  
URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1167.htm>  
DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v27.i18.1167>

### 摘要

#### 背景

颗粒细胞瘤(granular cell tumor, GCT)是少见的软组织肿瘤, 具有潜在的恶性. 虽然临床表现缺乏特异性,

在内镜和超声内镜下有其独特的表现。

### 病例简介

患者因上腹部疼痛20 d就诊, 腹部查体无阳性体征。胃镜显示距门齿39 cm食管右侧壁有一0.5 cm×0.7 cm黏膜下隆起, 表面呈淡黄色, 光滑, 活检钳触之质硬, 活动。超声内镜: 病灶处呈稍高回声改变, 起源于黏膜下层。行黏膜下肿瘤剥离治疗后标本送检证实为食管颗粒细胞瘤。

### 结论

食管颗粒细胞瘤临床少见, 但该病在内镜及病理学上有特异性表现。因食管颗粒细胞瘤有潜在恶性, 应积极进行内镜下切除治疗, 对于恶性病变或侵及肌层、病变范围大者仍需外科治疗。

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

关键词: 颗粒细胞瘤; 食管; 诊断

**核心提要:** 颗粒细胞瘤是一种少见的软组织肿瘤, 具有潜在恶性。本文报道了1例经病理证实的食管颗粒细胞瘤患者并复习了1985/2018国内相关文献, 并结合此病例进行综合分析, 以提高临床医师对该病的认识。

云晓静, 白玉焕, 敬长春. 食管颗粒细胞瘤1例并国内文献复习. 世界华人消化杂志 2019; 27(18): 1167-1170

URL: <https://www.wjgnet.com/1009-3079/full/v27/i18/1167.htm>

DOI: <https://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v27.i18.1167>

## 0 引言

颗粒细胞瘤(granular cell tumor, GCT)是一种临床罕见、具有潜在恶性的软组织肿瘤。可发生于全身各部位, 仅8%左右发生在消化道, 其中约1/3位于食管<sup>[1]</sup>。现将聊城市第二人民医院消化内科收治的1例食管颗粒细胞瘤, 并结合国内文献报道如下。

## 1 病例简介

患者, 男, 54岁, 因上腹部疼痛20 d就诊, 无进食梗阻感, 无恶心、呕吐, 无烧心、反酸。腹部查体无阳性体征。胃镜所见(图1): 距门齿39 cm食管右侧壁有一0.5 cm×0.7 cm黏膜下隆起, 表面呈淡黄色, 光滑, 活检钳触之质硬, 活动。超声内镜(图2): 病灶处呈稍高回声改变, 起源于黏膜下层。

## 2 最后诊断

切除组织病理(图3A, 图3B): 食管颗粒细胞瘤, 免疫组化(图3C, 图3D): S100(+), CD34(-), CD117(-), Ki67(+3%)。

## 3 治疗

行内镜黏膜下剥离术(endoscopic submucosal dissection, ESD): 内镜下抬举注射后应用DU刀沿病变边缘环形切开, 沿黏膜下完整剥离病变, 创面无出血及穿孔, 应用钛夹夹闭创面。

## 4 结果和随访

患者术后无出血、穿孔、感染等并发症, 术后第3天流质饮食, 逐步过渡为正常饮食。半年后随访胃镜无复发征象。

## 5 讨论

国内文献复习: 以“食管颗粒细胞瘤”为主题词进行检索中国知网数据库, 1985-2018年相关文献共64篇, 其中综述2篇。剔除不完整、重复的数据, 共筛选资料全面的病例62例, 结合本院1例, 对63例患者的一般资料、临床特征、诊断、治疗、预后等进行回顾性分析。如下: (1)一般临床资料: 63例患者中, 男性40例, 女性23例, 男女比例约2:1。发病年龄为28-66岁, 平均年龄为45.5岁, 以中年男性多见。(2)临床特征: 上腹部胀满17例, 上腹部不适、隐痛13例, 进食吞咽不畅或进食梗阻感9例, 健康查体6例, 暖气7例, 烧心、反酸5例, 胸痛3例, 咽部不适1例, 纳差1例, 呕血1例(非颗粒细胞瘤部位出血)。腹部查体除部分病例有上腹部轻压痛外, 均未见阳性体征。(3)肿瘤的部位、形态、大小: 位于食管上段9例, 中段15例, 下段39例, 以食管下段多见。内镜下表现为光滑隆起共56例(其中表面黏膜为淡黄色24例, 白色6例, 无颜色变化以及未提及变化者26例); 息肉样改变共4例; 糜烂、浅溃疡表现3例。肿瘤最大径为0.4-5.5 cm不等, 但多数在1 cm以内。共28例患者行超声内镜检查: 18例起源于黏膜下层, 3例起源于黏膜层, 5例起源于黏膜肌层, 2例起源于固有肌层。3例表现为偏高回声, 其余25例均表现为均匀低回声。(4)治疗及预后: 63例中10手术治疗, 其余为内镜下切除治疗; 术后病理均证实为食管颗粒细胞瘤, 其中1例为恶性颗粒细胞瘤, 其余62例为良性。5例伴有鳞状上皮瘤样增生, 2例合并食管癌。58例行免疫组化检查: S-100(+), NES(+), Vimentin(+); 部分病例显示CD68、PAS染色(+)。随访均无肿瘤复发。

食管颗粒细胞瘤是一种少见的具有恶性潜能的软组织肿瘤。组织起源尚不明确, 近年来超微结构研究显示, 大多学者认为其起源于施万细胞分化的神经鞘膜细胞或外周神经<sup>[2]</sup>。食管颗粒细胞瘤可发生在任何年龄, 多见于40岁左右的患者, 男性多于女性(约2:1), 与国外报道相一致。临床表现不特异, 如上腹部胀痛、暖气等, 多在胃镜检查时偶然发现。少数患者因瘤体较大可表现





图1 胃镜显示下段食管黏膜下隆起, 呈淡黄色, 表面光滑。

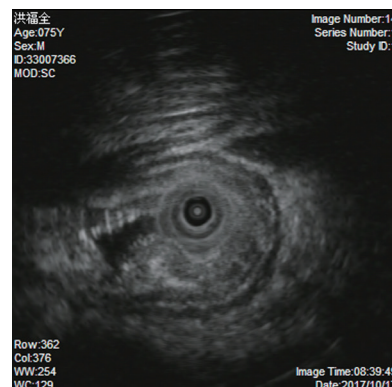


图2 超声内镜显示病变处呈稍高回声, 起源于黏膜下层。

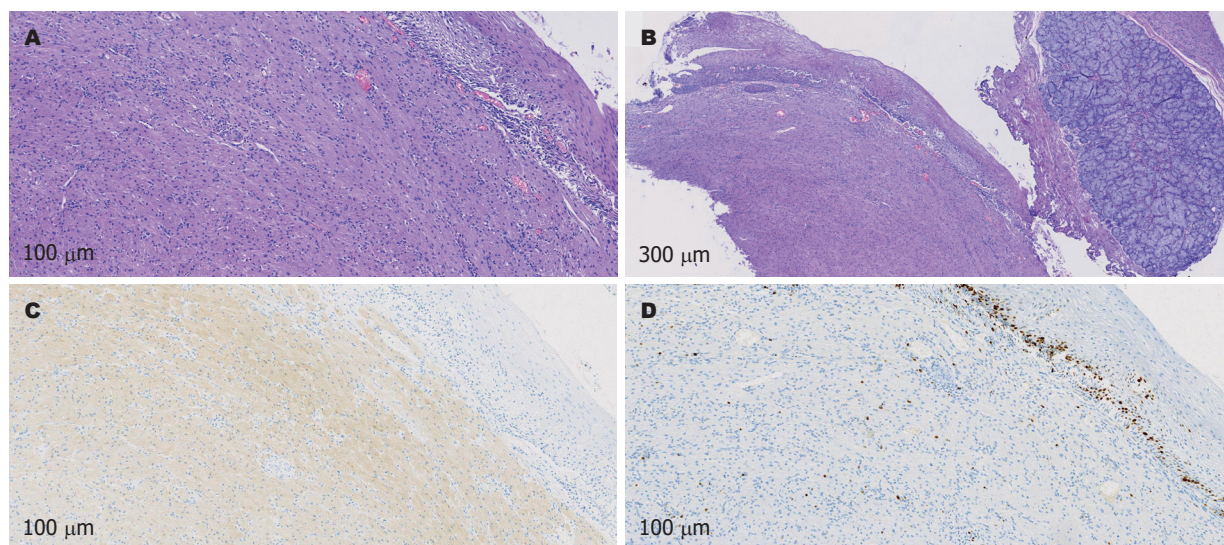


图3 标本病理及免疫组化结果。A: HE × 4; B: HE × 20; C: HE × 10, 免疫组化显示瘤细胞表达S-100蛋白; D: HE × 4, Ki-67增殖指数较低。

为吞咽不畅。国外报道食管多发的颗粒细胞瘤以及合并有其他器官的颗粒细胞瘤的发生率约10%<sup>[3]</sup>, 国内仅赵志峰等<sup>[4]</sup>报道有1例合并皮肤颗粒细胞瘤病史。

食管颗粒细胞瘤的内镜、超声内镜表现有一定特异性: (1)食管颗粒细胞瘤在内镜下多表现为淡黄色或灰白色黏膜下隆起, 表面光滑, 边界清晰; (2)触之质硬, 可滑动; (3)超声内镜检查主要表现为低回声团块, 内部回声均匀, 多起源于黏膜下层, 边界清晰, 与间质瘤、神经内分泌肿瘤鉴别困难, 超声引导下穿刺可明确诊断, 但因为肿瘤的表面性质、体积大小和细胞学诊断困难等因素, 导致EUS引导的组织获取成功率较低<sup>[5]</sup>。

在组织形态上, 食管颗粒细胞瘤多位于黏膜下层, 瘤细胞呈条索或巢状排列, 可伴有鳞状上皮瘤样增生, 应警惕有被覆浸润性鳞状细胞癌的可能<sup>[6]</sup>。胞质丰富且含有大量的红色嗜酸性颗粒, 大小、分布均匀; 细胞核小, 居中深染, 无明显核分裂像<sup>[7]</sup>。免疫组化显示S-100、

NES、Vimentin阳性, 本研究病例中S-100均表达强阳性, 部分病例PAS染色、CD68阳性。有研究发现瘤细胞中虽然CD34呈阴性表达, 但在肿瘤细胞周围的间质却呈强阳性表达, 有鉴别诊断意义<sup>[8]</sup>。恶性颗粒细胞瘤所占比例不到2%<sup>[9]</sup>, 位于食管者更为罕见。恶性食管颗粒细胞瘤在病理学上和良性者高度相似, 不易鉴别, 目前临床上多以是否转移、浸润及核分裂的多少作为判定良恶性的标准<sup>[2]</sup>。本研究中唯一的1例恶性食管颗粒细胞瘤的病理为恶性, 但术中证实肿瘤已侵及气管, 符合恶性的判定标准<sup>[10]</sup>。

因食管颗粒细胞瘤有潜在恶性, 需要积极治疗。对于直径<2 cm的病变首选内镜下黏膜切除术或ESD等治疗; 对于2-3 cm的病变, 有学者提出可应用黏膜下隧道内镜切除术<sup>[11]</sup>; 恶性食管颗粒细胞瘤或侵及肌层、病变范围较大者仍需外科手术治疗。放化疗对于恶性颗粒细胞瘤的疗效目前仍有争议<sup>[12,13]</sup>。

## 6 结论

本组病例总结: (1)食管颗粒细胞瘤临床少见, 恶性者更为罕见, 临床表现不典型; (2)该病在内镜及病理学上有特异性表现, 故诊断及鉴别诊断不难; (3)因食管颗粒细胞瘤有潜在恶性, 应积极进行内镜下切除治疗, 对于恶性病变或侵及肌层、病变范围大者仍需外科治疗。

## 7 参考文献

- 1 王志强, 杨云生. 消化道颗粒细胞瘤. 中华消化内镜杂志 2002; 19: 57-58 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2002.01.046]
- 2 张芳, 徐永红, 闫领, 张子璐. 食管颗粒细胞瘤的研究进展. 世界华人消化杂志 2016; 17: 2647-2653 [DOI: 10.11569/wjcd.v24.i17.2647]
- 3 John BK, Dang NC, Hussain SA, Yang GC, Cham MD, Yantiss R, Joseph AS, Giashuddin SM, Lee PC, Fleming R, Somnay K. Multifocal granular cell tumor presenting as an esophageal stricture. *J Gastrointest Cancer* 2008; 39: 107-113 [PMID: 19340612 DOI: 10.1007/s12029-009-9056-0]
- 4 赵志峰, 匡丽, 张宁, 麻树人, 张馨予. 内镜治疗食管颗粒细胞瘤6例及文献复习. 中华消化内镜杂志 2011; 28: 469-470 [DOI: 10.3760/cma.j.issn.1007-5232.2011.08.017]
- 5 Zhong N, Katzka DA, Smyrk TC, Wang KK, Topazian M. Endoscopic diagnosis and resection of esophageal granular cell tumors. *Dis Esophagus* 2011; 24: 538-543 [PMID: 21539675 DOI: 10.1111/j.1442-2050.2011.01197.x]
- 6 Saito K, Kato H, Fukai Y, Kimura H, Miyazaki T, Kashiwabara K, Nakajima T, Kuwano H. Esophageal granular cell tumor

covered by intramucosal squamous cell carcinoma: report of a case. *Surg Today* 2008; 38: 651-655 [PMID: 18612793 DOI: 10.1007/s00595-007-3694-2]

- 7 Terada T. A clinicopathologic study of esophageal 860 benign and malignant lesions in 910 cases of consecutive esophageal biopsies. *Int J Clin Exp Pathol* 2013; 6: 191-198 [PMID: 23330004 DOI: 10.2147/OTT.S28155]
- 8 樊祥山, 张明, 吴鸿雁, 黄勤. 上消化道颗粒细胞肿瘤10例临床病理学分析. 临床与实验病理学杂志 2010; 26: 158-162 [DOI: 10.3969/j.issn.1001-7399.2010.02.009]
- 9 王坚, 朱雄增, 张仁元. 恶性颗粒细胞瘤10例临床病理学观察及文献复习. 中华病理学杂志 2004; 33: 497-502 [DOI: 10.3760/j.issn.0529-5807.2004.06.001]
- 10 王健, 史国振, 高鹏飞, 王红敏, 蒋国军, 李明娜. 食管恶性颗粒细胞瘤误诊为食管平滑肌瘤一例分析. 现代医学 2017; 45: 583-586 [DOI: 10.3969/j.issn.1671-7562.2017.04.029]
- 11 Chen WS, Zheng XL, Jin L, Pan XJ, Ye MF. Novel diagnosis and treatment of esophageal granular cell tumor: report of 14 cases and review of the literature. *Ann Thorac Surg* 2014; 97: 296-302 [PMID: 24140217 DOI: 10.1016/j.athoracsur.2013.08.042]
- 12 Maekawa H, Maekawa T, Yabuki K, Sato K, Tamazaki Y, Kudo K, Wada R, Matsumoto M. Multiple esophagogastric granular cell tumors. *J Gastroenterol* 2003; 38: 776-780 [PMID: 14505133 DOI: 10.1007/s00535-002-1145-9]
- 13 Di Tommaso L, Magrini E, Consales A, Poppi M, Pasquinelli G, Dorji T, Benedetti G, Baccarini P. Malignant granular cell tumor of the lateral femoral cutaneous nerve: report of a case with cytogenetic analysis. *Hum Pathol* 2002; 33: 1237-1240 [PMID: 12514794 DOI: 10.1053/hupa.2002.129207]

编辑: 王禹乔 电编: 刘继红





## 1 投稿总则

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

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

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

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

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

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

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

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

<https://www.wjgnet.com>

Telephone: +1-925-223-8242

Fax: +1-925-223-8243

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

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<https://www.wjgnet.com>

1.8 编辑部 《世界华人消化杂志》编辑部主任马亚娟, 联系地址如下:

《世界华人消化杂志》编辑部

北京百世登生物医学科技有限公司

100025, 北京市朝阳区东四环中路62号

远洋国际中心D座903室

电话: 010-5908-0035

传真: 010-8538-1893

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

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

<http://www.wjgnet.com>

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

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

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

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

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

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



## 2 手稿要求

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

### 3 手稿全文中文格式

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

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

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

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

3.5 作者贡献分布 格式如: 陈湘川与庞丽娟对此文所

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

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

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

传真: 0351-4086337

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

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

#### 0 引言

应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系.

#### 1 材料和方法

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

#### 2 结果

实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论.

#### 3 讨论

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

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

志谢后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐.

#### 4 参考文献

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

#### 4 手稿英文摘要书写要求

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

4.2 作者 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名后姓;



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

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

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

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

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

## 5 手稿写作格式实例

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

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

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

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

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

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

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



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



ISSN 1009-3079

