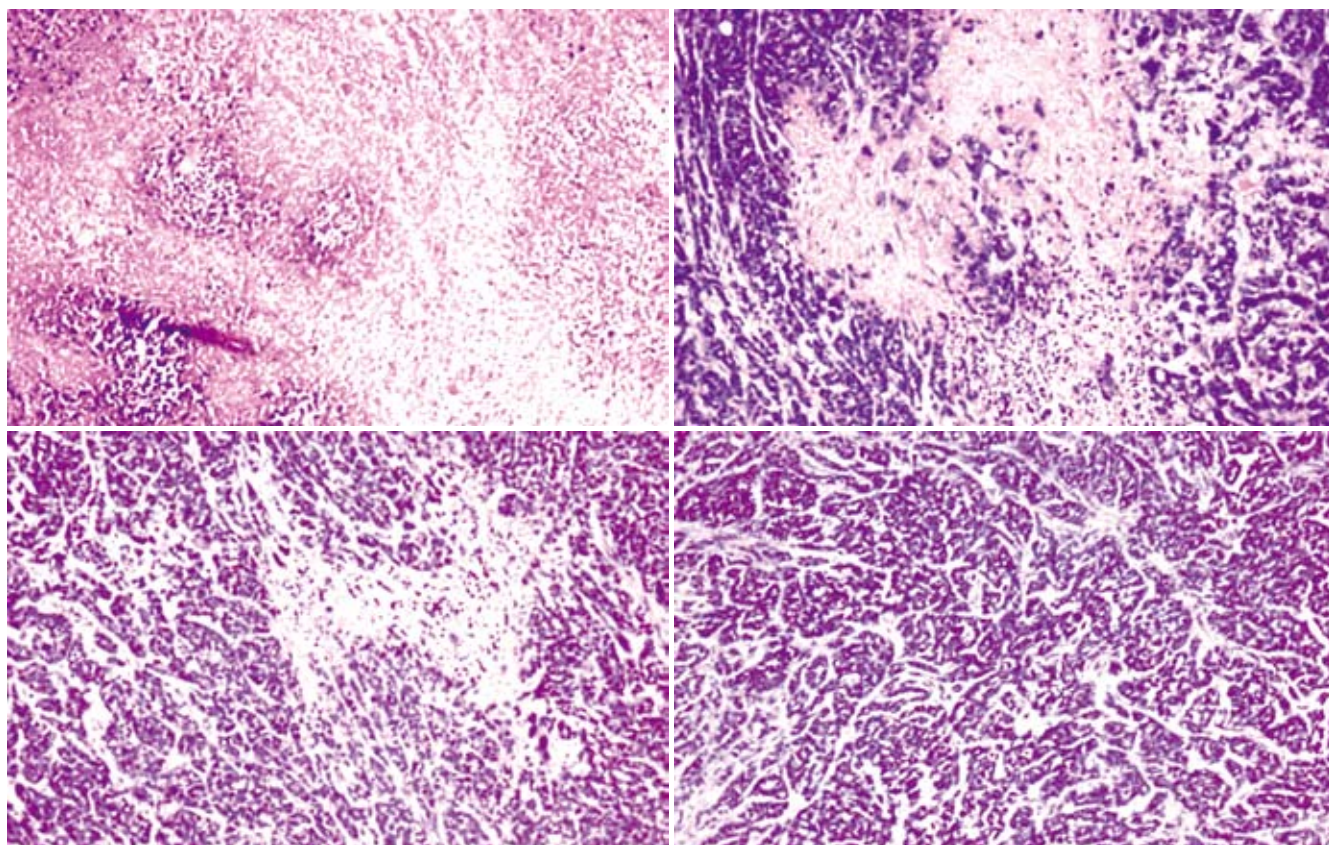


世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2008 年 3 月 8 日 第 16 卷 第 7 期 (Volume 16 Number 7)



7 / 2008

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》对所有来稿均进行同行评议，是一份被《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。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》，荷兰《医学文摘库/医学文摘》，俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2006-01-01/2008-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
裘法祖教授
王宝恩教授
危北海研究员
吴孟超教授
杨春波教授
周殿元教授

名誉总编辑

潘伯荣教授

社长/总编辑

马连生教授

副总编辑

房殿春教授
纪小龙教授
姜洪池教授
王苑本教授
吴云林教授
徐克成教授
杨思凤教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

成军教授
程英升副教授
范学工教授
高毅主任医师
江学良主任医师
李岩教授
刘连新教授
吕宾教授
罗和生教授
聂青和教授
王小众教授

编委

消化内科学
白爱平副教授
白文元教授
花新明教授
陈洪副教授
陈尼维主任医师
陈其奎教授

陈卫昌教授
陈贻胜教授
陈玉林教授
程斌副教授
迟宝荣教授
邓长生教授
丁士刚主任医师
董蕾教授
杜雅菊主任医师
樊晓明主任医师
房静远教授
冯红主任医师
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
高峰副教授
戈之铮教授
关晓辉主任医师
关玉盘教授
郭晓钟教授
郭新宁教授
洪天配教授
侯晓华教授
胡伏莲教授
胡和平主任医师
黄晓东副主任医师
黄颖秋教授
黄裕新教授
霍丽娟主任医师
季国忠副教授
姜春萌教授
姜慧卿教授
金懋林教授
金瑞教授
蓝宇教授
李定国教授
李继强教授
李淑德教授
李晓宇主任医师
李延青教授
李瑜元教授
李玉民教授
李玉明教授
李兆申教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘改芳主任医师
刘海林主任医师
刘铁夫教授
刘占举教授
陆伦根教授
吕志武教授

马金城教授
马欣主任医师
毛高平主任医师
倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴熙绪主任医师
朴云峰教授
秦成勇教授
曲智威副主任医师
任粉玉副教授
任建林教授
邵先玉教授
沈琳主任医师
沈守荣教授
沈薇教授
施瑞华教授
宋于刚教授
孙富强副教授
孙侃教授
唐采白副教授
唐芙爱教授
唐丽安教授
田德安主任医师
童强主任医师
王邦茂教授
王炳元教授
王承党副教授
王吉耀教授
王莉瑛教授
王晓艳副教授
闻勤生教授
吴萍主任医师
徐秀英副教授
许春舫主任医师
许乐主任医师
许亚平副教授
杨冬华教授
杨建民教授
杨希山教授
杨幼林主任医师
杨云生教授
杨昭徐教授
姚树坤教授
叶红军主任医师
于红刚副教授
于晓峰主任医师
袁伟建教授
展玉涛副主任医师
张方信主任医师
张国梁主任医师

张吉翔教授
张集昌主任医师
张军教授
张小晋主任医师
张晓岚教授
张筱茵副教授
张志坚教授
赵晓晏教授
郑鹏远教授
智发朝教授
周国雄主任医师
朱春兰主任医师
朱人敏教授

消化外科学

别平教授
蔡开琳副教授
蔡三军主任医师
曹杰主任医师
陈光教授
陈海龙教授
陈积圣教授
陈建荣副教授
陈克能主任医师
陈力教授
陈立波副教授
陈凇教授
陈强谱教授
陈亚军主任医师
陈知水教授
陈祖林副教授
程爱国教授
程爱群主任医师
程树群副教授
迟强教授
仇毓东副教授
崔彦教授
崔云甫教授
代文杰教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
丁义涛教授
董明教授
房林副教授
傅红副教授
傅华群教授
傅志仁主任医师
高成新教授
葛海燕教授
龚建平教授
巩鹏副教授

谷俊朝主任医师
顾岩教授
郭克建教授
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何超教授
何生教授
何裕隆教授
何振平教授
黄志勇副教授
季加孚教授
姜波健教授
蒋龙元副教授
兰平教授
黎乐群教授
李国威教授
李华山副主任医师
李靖副教授
李奇林教授
李胜研究员
李涛主治医师
李小荣教授
李旭副教授
李志霞教授
李宗芳教授
梁力建教授
林胜璋副教授
刘建教授
刘颖斌副教授
刘志苏教授
刘作金副教授
卢实春教授
陆才德教授
陆云飞教授
禄韶英主治医师
吕明德教授
吕云福教授
梅铭惠教授
彭波副教授
彭吉润主任医师
彭心宇教授
彭志海教授
钱建民教授
乔岐禄主任医师
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦仁义教授
邱宝安主任医师
邱双健副教授

世界华人消化杂志®

编辑委员会

邱伟华副主任医师
袁正军教授
任建安教授
荣大庆教授
邵成浩讲师
邵永孚教授
沈柏用副教授
沈世强教授
沈岩主任医师
师英强博士
施诚仁教授
宋世兵主任医师
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙家邦教授
孙学英教授
孙延平副主任医师
邵升副教授
谭群友副教授
汤恢焕教授
汤展宏副教授
唐文皓副主任医师
田素礼教授
田晓峰教授
万德森教授
汪波副主任医师
汪根树副教授
王春友教授
王凤山副教授
王广义教授
王济明教授
王健生副教授
王烈主任医师
王鲁副教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王效民教授
王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
卫洪波教授
吴德全教授
吴河水教授
吴健雄教授
吴金术教授
吴泰璜教授
吴志勇教授
席启主任医师
谢敏主任医师
谢晓华副教授
邢光明教授
徐大华主任医师

徐智教授
许戈良教授
严律南教授
严以群主任医师
杨广顺教授
杨维良教授
杨尹默教授
伊力亚尔·夏合丁教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于恩达教授
于健春教授
于良副教授
于则利教授
郁宝铭教授
郁正亚副教授
曾勇教授
张柏和教授
张群华教授
张水军教授
张肇达教授
张宗明教授
赵增仁副主任医师
郑民华教授
钟德珩教授
周丁华主任医师
周伟平教授
朱立元教授
邹小明教授

消化感染病学
陈国凤主任医师
陈红松副研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
陈耀凯副教授
党双锁副教授
丁惠国教授
范建高教授
范小玲主任医师
高润平教授
高泽立副教授
龚国忠教授
管世鹤副教授
郝春秋副教授
何生松教授
江家骥教授
李智伟教授
林菊生教授
刘杞教授
刘正稳教授
孟庆华教授
宁琴教授
牛俊奇教授

钱林学主任医师
秦波教授
石统东副教授
孙殿兴主任医师
谭德明教授
唐霓副研究员
唐世刚教授
唐晓鹏教授
王凯教授
王怡主任医师
魏来教授
吴建国教授
吴君主任医师
谢青教授
徐小元教授
宣世英教授
闫惠平研究员
杨林副研究员
姚鹏副教授
张继明教授
张明辉副主任医师
张绪清副教授
张占卿主任医师
赵桂鸣主任医师
赵桂珍教授
赵连三教授
周伯平教授
周文兴教授
周霞秋教授
朱传武副主任医师
庄林主任医师

消化中医药学
蔡淦教授
陈治水主任医师
杜群副研究员
黄恒青主任医师
劳绍贤教授
李军祥教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员
刘平教授
刘绍能主任医师
龙致贤教授
牛建昭教授
沈洪教授
唐旭东主任医师
唐志鹏研究员
王新月教授
徐列明教授
许玲副教授
张声生教授

消化肿瘤学
白玉贤教授
曹秀峰主任医师
曹志成院士
陈公琰主任医师
李璦教授
刘宝瑞教授
刘彬彬副研究员
刘云鹏教授
马力文主任医师
吴晴教授
熊斌教授
张凤春教授

消化影像学
程红岩教授
韩新巍教授
黄金华副教授
匡安仁教授
李健丁教授
鲁华玉研究员
魏经国教授
肖恩华教授
徐爱民副教授
杨建勇教授

消化内镜学
崔毅主任医师
丁佑铭教授
范志宁主任医师
郝俊鸣副主任医师
潘林娜教授
沈俊教授
孙明军教授
万军教授

消化介入治疗学
卢榜裕教授
茅爱武主任医师
吴硕东教授
袁友红副教授
郑加生主任医师

消化中西医结合学
崔乃强教授
李方儒教授
刘鲁明教授
唐文富主治医师
王学美研究员

消化基础研究
曹洁副教授
樊红副教授
高春芳研究员

高峰教授
高英堂研究员
管冬元副教授
黄文林教授
李东辉教授
李杰副教授
李永哲副研究员
李增山副教授
梅林教授
彭曦副研究员
钱睿哲教授
任超世研究员
孙秀发教授
谭学瑞教授
屠红副研究员
汪思应教授
吴晓东教授
夏建川研究员
徐存拴教授
徐德忠教授
徐宁志研究员
徐迎新研究员
许文燮教授
姚登福教授
阴赓宏研究员
喻荣彬副教授
张青云研究员
张学教授
赵平副教授
周士胜教授
周晓东研究员
周晓武副主任医师
左国营副主任药师

消化病理学
杜祥教授
刘勇钢副主任医师
吕宁主任医师
马大烈教授
潘兴华副主任医师
向德兵讲师
阎晓初副教授
易永芬教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵景民教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2008 年 3 月 8 日 第 16 卷 第 7 期 (总第231期)

述 评

- 685 医源性胆道狭窄的治疗现状
周丁华, 李耀峰, 孙强
- 688 高场强磁共振在肝癌诊断与治疗中的应用进展
李艳辉, 梁斌, 肖恩华

基 础 研 究

- 695 调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠的疗效
时昭红, 张介眉, 郝建军, 冯云霞, 陈洲
- 701 沙棘与疏肝理气及清热利湿方配伍对脂肪肝大鼠的防治作用
吴振宇, 张云, 李永海, 吴广均, 张红梅, 温中平, 刘晓梅, 王荣梅
- 706 ER β 重组质粒的构建及其在结肠癌细胞株Caco-2中的表达
翟荣林, 王国斌, 蔡开琳, 许飞, 田元
- 711 结肠癌Lovo细胞RUNX3基因的表达与其增殖及凋亡的关系
倪志, 鲍缦夕, 刘南植, 赵秋, 覃华, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷

临 床 研 究

- 716 慢性乙型肝炎患者中医证型特点及分布差异
王凤云, 唐旭东, 刘燕玲, 卞立群, 张引强
- 721 细胞角质素CK18和CK19在肝细胞癌组织中的表达
李蔚, 周慧聪, 李继昌, 段芳龄
- 726 定量术前评价胰腺癌血管侵犯多排CT技术
李震, 褚倩, 肖明, 沈亚琪, 宋金梅, 张进华, 胡道予
- 732 结肠癌组织中整合素 $\alpha 3$ 的表达与侵袭转移性的关系
姚立彬, 赵金鹏, 陈一尘, 杨松林, 苑海刚

文 献 综 述

- 737 促动力药物在胃食管反流病治疗中的研究进展
朱琦, 刘文忠
- 746 Budd-Chiari综合征影像诊断的进展
王丹, 张在人, 李艳英, 闫文颖, 赵德利, 万勇

研 究 快 报

- 751 扶正理气合剂对实验性功能消化不良大鼠胃排空和胃动素的影响
张超贤, 秦咏梅, 韩宇
- 755 链激酶对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用
宋少伟, 刘永锋, 梁健, 何三光
- 759 肝内胆管癌细胞系ICC-9810与肝细胞系L02蛋白质组学的差异分析
刘博, 肖雪媛, 董家鸿, 何大澄, 黄志强
- 763 联合应用供体未成熟树突状细胞与CD40L mAb诱导大鼠小肠移植免疫耐受
王海权, 陈涛, 徐皓, 肇毅, 吴文溪
- 767 RNAi沉默PRL-3基因对大肠癌细胞侵袭的抑制
钱立平, 范钰, 陈坚, 林庚金

临 床 经 验

- 771 高危生活方式食管癌患者放化疗临床疗效的比较
李刚, 朱川, 任必勇, 邓超, 张军, 张力, 李庆平, 刘学芬, 熊德明
- 776 胃癌中Ezrin, E-cadherin及CD44的表达及意义
张建新, 毛正发, 王旭青, 王崇高, 吴建农
- 780 胃癌中高表达ATP/GTP结合蛋白1基因的筛选及验证
张宇川, 张尤历, 王文兵, 高广, 陆芬英

	<p>784 心脏病术后胃肠功能紊乱的中医辨证思路和疗效 马丽红, 曲家珍, 张瑞华</p> <p>787 ERCP中十二指肠镜下胆管腔内超声胆管取石的应用价值 文卫, 王敏, 范志宁, 蒋国斌, 吴萍</p> <p>792 APACHE 评分系统在重症急性胰腺炎预后评估中的应用 樊景云, 黄宗文, 郭佳, 何馥倩, 陈燕, 马悦</p>
病例报告	<p>796 胆囊脂肪瘤1例 夏念信, 邱宝安, 刘澎, 白刚, 王立秋</p>
致谢	<p>798 致谢世界华人消化杂志编委</p>
消息	<p>687 欢迎订阅2008年《世界华人消化杂志》</p> <p>694 中国学术期刊综合引证报告(2007)</p> <p>705 世界华人消化杂志在线办公系统</p> <p>710 《世界华人消化杂志》简介</p> <p>720 <i>WCJD</i>和<i>WJG</i> 2008年对同行评议开始实行公开策略</p> <p>725 世界华人消化杂志个性化服务订购活动</p> <p>736 <i>WCJD</i>和<i>WJG</i> 2008年对作者贡献分布开始实行公开策略</p> <p>754 第二十次全国中西医结合消化学术会议征文通知</p> <p>762 世界华人消化杂志关于作者署名的声明</p> <p>775 世界华人消化杂志的同行评价</p> <p>783 <i>WCJD</i> 和<i>WJG</i>开始实行网络版文章与该文章发表前纪录的链接</p> <p>786 世界华人消化杂志电子杂志的开放存取出版</p> <p>791 世界华人消化杂志作者修改稿增加科学新闻稿的内容</p>
封面故事	<p>Guang-Hua Guo, Su-Zuan Chen, Jing Yu, Juan Zhang, Li-Li Luo, Li-Hua Xie, Zhong-Jing Su, Hong-Mei Dong, Hong Xu, Li-Biao Wu. <i>In vivo</i> anti-tumor effect of hybrid vaccine of dendritic cells and esophageal carcinoma cells on esophageal carcinoma cell line 109 in mice with severe combined immune deficiency. <i>World J Gastroenterol</i> 2008; 14(8): 1167-1174 www.wjgnet.com/1007-9327/14/1167</p>
本期责任人	<p>编务 江艳; 送审编辑 程剑侠; 组版编辑 何基才; 责任编辑 李军亮; 英文编辑 张海宁; 审核编辑 张海宁; 形式规范 马连生</p>

<div>世界华人消化杂志</div> <div>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</div> <div>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊) 创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2008-03-08 原刊名 新消化病学杂志</div> <div>名誉总编辑 潘伯荣 总 编 辑 马连生 常务副总编辑 张海宁 编辑部主任 张海宁 期 刊 名 称 世界华人消化杂志 主 管 单 位 山西省科学技术厅 主 办 单 位 太原消化病研治中心</div>	<div>编辑 世界华人消化杂志编辑委员会 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</div> <div>出版 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</div> <div>印刷 北京科信印刷厂</div> <div>发行 国内: 北京报刊发行局 国外: 中国国际图书贸易总公司 (100044, 北京市399信箱)</div> <div>订购 全国各地邮电局</div> <div>邮购 世界华人消化杂志编辑部 030001, 山西省太原市双塔西街77号 电话: 0351-4078656 E-mail: wcjd@wjgnet.com http://www.wjgnet.com</div>	<div>世界华人消化杂志对所有来稿均进行同行评议, 是一份被《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。《世界华人消化杂志》的英文摘要被美国《化学文摘》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘》, 俄罗斯《文摘杂志》收录。</div> <div>世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(http://wcjd.wjgnet.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、编者之间的信息反馈交流。</div> <div>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。</div> <div>2008年版权归世界华人消化杂志所有</div>			
中国标准连续出版物号	ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R	邮发代号 82-262	国外代号 M 4481	国内定价 每期24.00元 全年864.00元	广告经营许可证 1401004000050

World Chinese Journal of Digestology

March 2008 Contents in Brief Volume 16 Number 7

EDITORIAL	<p>685 Progress in treatment of iatrogenic bile duct stenosis <i>Zhou DH, Li YF, Sun Q</i></p> <p>688 Progress in application of high-field-strength MR to diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma <i>Li YH, Liang B, Xiao EH</i></p>
BASIC RESEARCH	<p>695 Assessment on effects of Tiaozhong granule on experimental mixed reflux esophagitis in rats <i>Shi ZH, Zhang JM, Hao JJ, Feng YX, Chen Z</i></p> <p>701 Preventative and curative function of <i>Hippophae rhamnoides</i> L combined with Shugan Liqi or Qingre Lishi drugs on mice with fatty liver diseases <i>Wu ZY, Zhang Y, Li YH, Wu GJ, Zhang HM, Wen ZP, Liu XM, Wang RM</i></p> <p>706 Recombination of ERβ eukaryotic expression vector and its expression in Caco-2 cells <i>Zhai RL, Wang GB, Cai KL, Xu F, Tian Y</i></p> <p>711 Relationship between tumor suppressor gene <i>RUNX3</i> expression and cell proliferation and apoptosis in colonic cancer cell line Lovo <i>Ni Z, Bao MX, Liu NZ, Zhao Q, Qin H, Yang Y, Qiu YJ, Wang TT</i></p>
CLINICAL RESEARCH	<p>716 Syndrome type characteristics and their distribution differences in patients with chronic hepatitis B <i>Wang FY, Tang XD, Liu YL, Bian LQ, Zhang YQ</i></p> <p>721 Expressions of cytokeratin 18 and cytokeratin 19 in hepatocellular carcinoma tissues <i>Li W, Zhou HC, Li JC, Duan FL</i></p> <p>726 Quantitative preoperative assessment of vascular involvement in pancreatic carcinoma by multi-detector row computer tomography <i>Li Z, Chu Q, Xiao M, Shen YQ, Song JM, Zhang JH, Hu DY</i></p> <p>732 Expression of integrin $\alpha 3$ in colon cancer and its relationship with invasion and metastasis <i>Yao LB, Zhao JP, ChenYC, Yang SL, Yuan HG</i></p>
REVIEW	<p>737 Advance in roles of prokinetic agents in the treatment of gastroesophageal reflux disease <i>Zhu Q, Liu WZ</i></p> <p>746 Advance in imaging diagnosis of Budd-Chiari syndrome <i>Wang D, Zhang ZR, Li YY, Yan WY, Zhao DL, Wan Y</i></p>
RAPID COMMUNICATION	<p>751 Effects of Fuzheng Liqi mixture on gastric emptying and serum motilin content in rats with functional dyspepsia <i>Zhang CX, Qin YM, Han Y</i></p> <p>755 Protective effect of streptokinase on rat liver ischemia reperfusion injury <i>Song SW, Liu YF, Liang J, He SG</i></p> <p>759 Differential expression of proteins in intrahepatic cholangiocarcinoma cell line ICC-9810 and liver cell line L02 <i>Liu B, Xiao XY, Dong JH, He DC, Huang ZQ</i></p> <p>763 Combination of immature dendritic cells and anti-CD40L monoclonal antibody induce immune tolerance of intestinal allograft in rats <i>Wang HQ, Chen T, Xu H, Zhao Y, Wu WX</i></p> <p>767 Silence of PRL-3 gene by RNA interference in inhibiting the invasion of human colon cancer cells <i>Qian LP, Fan Y, Chen J, Lin GJ</i></p>

CLINICAL PRACTICE	<p>771 Clinical effective analysis of chemo-radiotherapy for esophageal carcinoma patients with dietary and lifestyle informations of high and low risk <i>Li G, Zhu C, Ren BY, Deng C, Zhang J, Zhang L, Li QP, Liu XF, Xiong DM</i></p> <p>776 Expression of Ezrin, E-cadherin and CD44 and their significances in gastric carcinoma <i>Zhang JX, Mao ZF, Wang XQ, Wang CG, Wu JN</i></p> <p>780 Screening and identification of ATP/GTP binding protein 1 gene expressed highly in gastric cancer <i>Zhang YC, Zhang YL, Wang WB, Gao G, Lu FY</i></p> <p>784 The way and therapeutic efficacy of traditional Chinese medicine treatments based on the differentiation of symptoms and signs on gastrointestinal function disorder after cardiovascular surgery <i>Ma LH, Qu JZ, Zhang RH</i></p> <p>787 Applicative value of intraductal ultrasonography in the removal of calculus by endoscopic retrograde cholangiopancreatography <i>Wen W, Wang M, Fan ZN, Jiang GB, Wu P</i></p> <p>792 Value of APACHE II scoring system in predicting the prognosis of severe acute pancreatitis <i>Fan JY, Huang ZW, Guo J, He FQ, Chen Y, Ma Y</i></p>
CASE REPORT	<p>796 One-case analysis of gallbladder lipoma <i>Xia NX, Qiu BA, Liu P, Bai G, Wang LQ</i></p>
ACKNOWLEDGMENT	<p>798 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology</p>
COVER	<p><i>Guo GH, Chen SZ, Yu J, Zhang J, Luo LL, Xie LH, Su ZJ, Dong HM, Xu H, Wu LB. In vivo anti-tumor effect of hybrid vaccine of dendritic cells and esophageal carcinoma cells on esophageal carcinoma cell line 109 in mice with severe combined immune deficiency. World J Gastroenterol 2008; 14(8): 1167-1174 www.wjgnet.com/1007-9327/14/1167</i></p>
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Yan Jiang</i> Review Editor: <i>Jian-Xia Cheng</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i> Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> English Language Editor: <i>Hai-Ning Zhang</i> Proof Editor: <i>Hai-Ning Zhang</i> Layout Editor: <i>Lian-Sheng Ma</i></p>

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

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

Founded on January 15, 1993
Renamed on January 25, 1998
Publication date March 8, 2008

NAME OF JOURNAL

World Chinese Journal of Digestology

RESPONSIBLE INSTITUTION

Department of Science and Technology
of Shanxi Province

SPONSOR

Taiyuan Research and Treatment Center
for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie,
Taiyuan 030001, Shanxi Province, China

EDITING

Editorial Board of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wcjdnet.com

PRINTING

Beijing Kexin Printing House

PUBLISHING

Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China
Telephone: +86-351-4078656
E-mail: wjcd@wcjdnet.com
<http://www.wcjdnet.com>

OVERSEAS DISTRIBUTOR

Beijing Bureau for Distribution of Newspapers and Journals (Code No. 82-261)
China International Book Trading Corporation PO Box 399, Beijing, China (Code No. M4481)

HONORARY EDITOR-IN-CHIEF

Bo-Rong Pan

EDITOR-IN-CHIEF

Lian-Sheng Ma

SCIENCE EDITORS

Director: Hai-Ning Zhang

SUBSCRIPTION

RMB 24 Yuan for each issue
RMB 864 Yuan for one year

CSSN

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R

COPYRIGHT

© 2008 Published by *WCJD*. All rights reserved; no part of this publication may be reproduced, stored in a retrieval system, or transmitted in any form or by any means, electronic, mechanical, photocopying, recording, or otherwise without the prior permission of *WCJD*. Authors are required to grant *WCJD* an exclusive licence to publish.

SPECIAL STATEMENT

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

INSTRUCTIONS TO AUTHORS

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

Copyright © 2008 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

医源性胆道狭窄的治疗现状

周丁华, 李耀峰, 孙强

周丁华, 李耀峰, 孙强, 中国人民解放军二炮总医院肝胆外科 北京市 100088

周丁华, 主任医师, 主要从事复杂肝胆疾病及肝脏移植研究工作. 作者贡献分布: 周丁华, 李耀峰对此文所作贡献均等; 此课题由周丁华, 李耀峰设计; 研究过程由周丁华, 李耀峰, 孙强操作完成; 本论文写作由周丁华, 李耀峰完成.

通讯作者: 周丁华, 100088, 北京市西城区新街口外大街16号, 中国人民解放军二炮总医院肝胆外科. zhouhd@sina.com

电话: 010-66343412

收稿日期: 2007-10-14 修回日期: 2008-01-17

Progress in treatment of iatrogenic bile duct stenosis

Ding-Hua Zhou, Yao-Feng Li, Qiang Sun

Ding-Hua Zhou, Yao-Feng Li, Qiang Sun, Department of Hepatobiliary Surgery, General Hospital of the Second Artillery Forces of Chinese PLA, Beijing 100088, China

Correspondence to: Ding-Hua Zhou, Department of Hepatobiliary Surgery, General Hospital of the Second Artillery Forces of Chinese PLA, Beijing 100088, China. zhouhd@sina.com

Received: 2007-10-14 Revised: 2008-01-17

Abstract

The occurrence of iatrogenic biliary tract injury is frequently increased due to the wide practice of laparoscopic cholecystectomy. How to choose the appropriate operation time and procedure, is a challenge with which clinical doctor must face. Although there are many therapies for iatrogenic biliary tract injury, no therapy is perfect. We should pay our attention to the selection of therapies for it in order to achieve its better clinical therapeutic effect.

Key Words: Iatrogenic bile duct stenosis; Injury; Treatment

Zhou DH, Li YF, Sun Q. Progress in treatment of iatrogenic bile duct stenosis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 685-687

摘要

伴随腹腔镜胆囊手术的普遍开展, 医源性胆道损伤的发病越来越多, 如何选择恰当的手术时机和处理方式, 是临床医生需要面对的问题, 尽管20年来对医源性胆管损伤的治疗方法层出不穷, 但是没有一种方法尽善尽美. 我们应

该对每一种方法选择性的对待, 个体化治疗, 以期达到较好的临床效果.

关键词: 医源性胆道狭窄; 损伤; 治疗

周丁华, 李耀峰, 孙强. 医源性胆道狭窄的治疗现状. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 685-687

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/685.asp>

0 引言

良性胆管狭窄是胆道外科复杂的病变与并发症, 多由胆管损伤, 肝胆管结石和胆管炎反复发生所致. 其后果是导致肝实质损害, 胆汁性肝硬化, 治疗颇为棘手. 特别是随着微创外科的发展, 经腹腔镜胆囊、胃、十二指肠、肝脏切除逐渐成为常规手术, 由此引起的胆管损伤越来越多. 良性胆管狭窄处理的难易程度、手术的风险性、预后差别大, 影响预后的因素很多. 近几年对胆管损伤性狭窄形态学和免疫组化的研究较多, 随着认识的提高和手术方法, 手术器械, 材料的改进, 各种治疗方法也是层出不穷. 经历了从外科手术到微创内镜下的介入, 到重新认识Oddi括约肌功能的历史. 如何在众多的方法中找出好的处理措施, 把握恰当的手术时机, 是困扰我们的难题.

1 良性胆管狭窄的手术时机

现在对良性胆管狭窄的手术时机的把握尚有争议, 有些问题有待达成共识. 胆管良性狭窄的手术时机的选择十分关键, 时机掌握不好常导致手术的再次失败. 以Bismuth为代表的传统观点是首先作好引流, 待肝管汇合部扩张至1.0 cm以上时, 才施行修复手术, 因此需要等待2-3 mo的时间. 1999年Murr *et al*^[1]对此持同样的观点, 然而此观点在当前受到挑战, 近年来以黄志强为代表的较多专家更趋向于早期修复手术. 2002年詹国清 *et al*^[2]在损伤性胆管狭窄手术时机对肝功能变化影响的实验研究中认为早期行胆管修复重建术为宜. 我们更倾向于治疗的个体化.

2 良性胆管狭窄的手术方式

关于良性胆管狭窄的手术方式的选择更是各

背景资料

医源性胆管损伤后造成的良性胆管狭窄越来越常见, 后期的处理措施以及手术时机的选择一直没有定论. 近年来以黄志强为代表的专家趋向于早期修复手术. 对于术式选择一般根据Bismuth分型采用胆管端端吻合、胆肠重建、胆道修补成型等不同术式.

同行评议者

戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

研发前沿
胆道内镜和介入
治疗作为一种新
的发展趋势,其治
疗价值仍有待进
一步论证.

家争论的焦点.对胆管狭窄一般仍采用Bismuth分型. Bismuth I型并且手术当中发现的胆管横断,如没有张力,则可行端端吻合术,端端吻合以烙制肠线或其他可吸收缝线行单层间断缝合,丝线不适合,原因是丝线存在于肝胆管腔内成为一个异物或溶解导致结石形成,吻合后50%-60%出现再狭窄. 2002年黄志强在损伤性胆管狭窄的治疗中对缝合材料有特别的说明.高位狭窄的修复(Bismuth II, III, IV型)可采用多种方法.大多数Bismuth II, III, IV型狭窄,可通过上述解剖左肝管径路,以充分显露胆管.这种方法基于Couinand的研究,并由Hepp和Couinand详细描述.新近的报道见于Blumgart.有时在某些Bismuth IV型患者需要游离甚至切开肝方叶.各种胆肠重建手术方式,也是各有特点.如胆管空肠吻合术;间置空肠胆管十二指肠吻合术;肝门胆管十二指肠端端大口吻合,并十二指肠球部与十二指肠III段同步端侧吻合术;以及Ho-Seong Han在1997-2002年对89例患者在腹腔镜下行Roux-Y吻合术,并认为是非常好的选择^[3].但是上述手术后有反流性胆管炎的发生,影响患者的生活质量.在20世纪70-80年代,我国同道曾在Y型空肠的输胆袢上附加多种形式的人工抗反流装置,如空肠套叠式瓣膜,人工乳头,矩形瓣等,但均未达到预期目的.在此基础上尚有皮下盲袢式胆管空肠Roux-Y吻合术,皮肤肠漏式胆管空肠Roux-Y吻合术.以便术后经此通道采用非手术方法处理胆道残留或复发的病灶,可减少或避免再次手术.增强抗反流能力,但是效果都不能令人满意.人们开始重新关注Oddi括约肌功能的重要性,1980年冉瑞图教授提出,对狭窄胆管整形时,保留Oddi括约肌的生理功能来制止反流的设想,并报道了成功的病例.黄志强,蔡景修,张长工 *et al*相继用带蒂的空肠壁,胃窦浆肌层,带蒂奇静脉,胆囊壁等组织作为狭窄肝胆管成型的材料,恢复胆汁经Oddi括约肌入肠的正常通道,均获成功.

3 良性胆管狭窄的内镜下介入

伴随医疗器械的改进良性胆管狭窄的内镜和介入治疗是一新的发展趋势,给患者提供了好的疗效,曾一度出现取代手术治疗的趋势.1996年Vitale *et al*^[4]报道86例良性胆管狭窄的病例,其中65例行内镜下介入治疗,45例行内镜下支撑管置入,其中18例行乳头切开术,2例失败,成功率达到97%.2005年Kuzela *et al*^[5]曾报道近20年

内镜下治疗是胆管狭窄治疗的首选.内镜对于70%-80%的患者疗效较好,长期的随访患者安全,现在手术仅用在横断性损伤再次手术,以及内镜下治疗失败的患者.内镜下治疗包括气囊扩张或放置永久性内支撑管等,气囊导管的成功率50%-97%.气囊扩张治疗胆管狭窄简单易行,但再狭窄率较高,一组随访5-7.5年的病例中,再狭窄率达到45%.金属内支架最常用的是一种自膨式螺旋镍钛合金支架,以及现在的塑料支架,近期疗效较好.1997年Yoon *et al*^[6]报道26例良性胆管狭窄的患者行胆道金属支架,在6, 12, 24, 36 mo的通畅率分别是92%, 75%, 67%, 46%,引起胆管再次狭窄的原因是结石和淤胆以及上皮细胞的增生,反复化脓性胆管炎.因此金属支架在良性胆管狭窄的治疗中并不是有效的长期方法.2000年Tocchi *et al*^[7]回顾性分析42例良性胆管狭窄的患者,分为手术组和内镜下支架组,随访60 mo,结果虽然内镜组在近期并发症方面优于手术组但是术后长期效果优于内镜下支架组.2004年Tsukamoto *et al*^[8]报道2例自动膨胀金属支架治疗良性胆管狭窄,认为金属支架治疗良性胆管狭窄仍旧是有争议的,他应该作为备用的最后方案.

我们也尝试应用各种治疗方法治疗良性胆管狭窄,认为不能随意废弃患者的Oddi括约肌的功能,应该重新认识保留Oddi括约肌功能的狭窄修复术.我们曾经对23例行胆管空肠吻合后严重反流的患者,0.5-4年后重新利用患者的Oddi括约肌,患者术后反流控制良好.内镜下的介入治疗也应该从盲目的跟从,到理性的回归,我们应该从提高患者的生活质量入手,根据患者的自身差异个体化治疗,但是根深蒂固的观念如果转变,还需要时间和对知识的再认识,任重而道远.

4 参考文献

- 1 Murr MM, Gigot JF, Nagorney DM, Harmsen WS, Ilstrup DM, Farnell MB. Long-term results of biliary reconstruction after laparoscopic bile duct injuries. *Arch Surg* 1999; 134: 604-609; discussion 609-610
- 2 詹国清,董家鸿,王槐志,杨占宇,陈耿.损伤性胆管狭窄手术时机对肝功能变化影响的实验研究. *中华肝胆外科* 2002; 8: 629-630
- 3 Han HS, Yi NJ. Laparoscopic Roux-en-Y choledochojunostomy for benign biliary disease. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2004; 14: 80-84
- 4 Vitale GC, George M, McIntyre K, Larson GM, Wieman TJ. Endoscopic management of benign and malignant biliary strictures. *Am J Surg* 1996; 171: 553-557
- 5 Kuzela L, Oltman M, Sutka J, Hrccka R, Novotna

- T, Vavrecka A. Prospective follow-up of patients with bile duct strictures secondary to laparoscopic cholecystectomy, treated endoscopically with multiple stents. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1357-1361
- 6 Yoon HK, Sung KB, Song HY, Kang SG, Kim MH, Lee SG, Lee SK, Auh YH. Benign biliary strictures associated with recurrent pyogenic cholangitis: treatment with expandable metallic stents. *AJR Am J Roentgenol* 1997; 169: 1523-1527
- 7 Tocchi A, Mazzoni G, Liotta G, Costa G, Lepre L, Miccini M, De Masi E, Lamazza MA, Fiori E. Management of benign biliary strictures: biliary enteric anastomosis vs endoscopic stenting. *Arch Surg* 2000; 135: 153-157
- 8 Tsukamoto T, Hirohashi K, Kubo S, Tanaka H, Hamba H, Shuto T, Takemura S, Kinoshita H. Self-expanding metallic stent for benign biliary strictures: seven-year follow-up. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 658-660

同行评价
本文在一定程度上反映了目前医源性胆道狭窄的治疗现状, 具有一定的可读性.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

欢迎订阅 2008 年《世界华人消化杂志》

本刊讯 《世界华人消化杂志》为中国科技核心期刊、2003年百种中国杰出学术期刊、《中文核心期刊要目总览》2004年版内科学类的核心期刊、中国科技论文统计源期刊,《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘 (Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘 (EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志 (Abstracts Journals)》收录.

《世界华人消化杂志》报道消化疾病的评论及临床和基础研究, 包括消化肿瘤学、消化感染病学、消化内科学、消化外科学、消化内镜学、消化影像学、消化介入治疗学、消化中医药、中西医结合学、消化基础研究、消化病理学、消化循证医学等内容.

《世界华人消化杂志》2008年由北京报刊发行局发行, 国际标准刊号 ISSN 1009-3079, 国内统一刊号 CN 14-1260/R, 邮发代号82-262, 出版日期每月8, 18, 28日, 月价72.00, 年价864元. 欢迎广大消化科医务工作者及科教人员、各大图书馆订阅. 联系地址: 100023, 北京市2345信箱. 联系电话: 010-85381901-638; 传真: 010-85381893; E-mail: wjcd@wjgnet.com; <http://www.wjgnet.com>.

高场强磁共振在肝癌诊断与治疗中的应用进展

李艳辉, 梁斌, 肖恩华

背景资料
磁共振作为一种现代影像设备不仅可用于疾病诊断, 而且能参与疾病治疗。随着外加静磁场的增加, 高场强MR成像系统的优势日渐发挥, 应用范围也不断扩大。

李艳辉, 梁斌, 肖恩华, 中南大学湘雅二医院放射科 湖南省长沙市 410011
肖恩华, 博士后, 教授, 主要从事肝脏疾病影像诊断与介入治疗研究。

国家十一科技攻关课题资助项目, No. 2007BAI05B06
国家自然科学基金资助项目, No. 30070235, No. 30470508
湖南省自然科学基金资助项目, No. 06JJ20081
湖南省科技厅基金资助项目, No. 04-SK-306-2
湖南省中医药管理局基金资助项目, No. 202064, No. 204057
作者贡献分布: 肖恩华与李艳辉对此文所作贡献均等; 此课题由肖恩华设计; 研究过程由李艳辉及梁斌操作完成; 研究所用分析工具由李艳辉提供; 数据分析由肖恩华、李艳辉及梁斌完成; 本论文写作由肖恩华、李艳辉及梁斌完成。

通讯作者: 肖恩华, 410011, 湖南省长沙市人民中路139号, 中南大学湘雅二医院放射科. cjr.xiaoenhua@vip.163.com
电话: 0731-5292116

收稿日期: 2007-10-16 修回日期: 2008-01-23

Progress in application of high-field-strength MR to diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma

Yan-Hui Li, Bin Liang, En-Hua Xiao

Yan-Hui Li, Bin Liang, En-Hua Xiao, Department of Radiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, Changsha 410011, Hunan Province, China

Supported by: the National Key Technologies Research and Development Program of China during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2007BAI05B06; National Natural Science Foundation of China No. 30070235 and No. 30470508; the Natural Science Foundation of Hunan Province, No. 06JJ20081; the Foundation of Science and Technology Department of Hunan Province No. 04-SK-306-2; the Foundation of Administration of Traditional Chinese Medicine of Hunan Province, No. 202064 and No. 204057

Correspondence to: Dr. En-Hua Xiao, Department of Radiology, the Second Xiangya Hospital, Central South University, 139 Renmin Middle Road, Changsha 410011, Hunan Province, China. cjr.xiaoenhua@vip.163.com

Received: 2007-10-16 Revised: 2008-01-23

Abstract

Magnetic resonance imaging (MRI), a modern imaging modality, can not only diagnose diseases, but also participate in their treatment. With the increase in static magnetic field strength, the features of high-field-strength MRI become increasingly predominant, thus MRI has been widely used in the diagnosis and treatment of diseases. MRI at high field strength can provide information on abnormal function and metabolism, monitor therapeutic procedures and

reactions, and present excellent morphologic images for hepatocellular carcinoma.

Key Words: Magnetic resonance imaging; Hepatocellular carcinoma; Diagnosis; Therapeutics

Li YH, Liang B, Xiao EH. Progress in application of high-field-strength MR to diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 688-694

摘要

磁共振作为一种现代影像设备不仅可用于疾病诊断, 而且能参与疾病治疗。随着外加静磁场的增加, 高场强MR成像系统的优势日渐发挥, 应用范围也不断扩大。对于肝癌的诊断与治疗, 高场强MR仪既能提供优质的形态图像, 又能提供病变功能及代谢方面的信息, 还可用于治疗过程及反应的监测。

关键词: 磁共振成像; 肝细胞癌; 诊断; 治疗

李艳辉, 梁斌, 肖恩华. 高场强磁共振在肝癌诊断与治疗中的应用进展. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 688-694
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/688.asp>

0 引言

磁共振成像(magnetic resonance imaging, MRI)以其独特的成像原理和图像特点于1980年开始应用于临床。近年来, MRI设备和技术发展十分迅速, 并且臻完善, 检查范围基本覆盖全身各系统。MR成像系统按照磁体场强大小, 分为低场、中场和高场几种。一般来说, 场强<0.5 T为低场, 0.5 T≤场强<1.0 T为中场, 场强≥1.0T为高场^[1]。另外, 随着3 T、4 T、7 T、8 T、9.4 T甚至更高场强MR成像系统的相继问世^[2-3], 学术界习惯上把场强≥3 T的称为超高场MR。目前3.0 T的MR仪已投入临床应用。

场强的增加能够提高信噪比(signal-to-noise ratio, SNR)、改变组织弛豫时间和对比剂效应、增强磁敏感性和化学位移效应等^[3-4], 这使得高场强MR成像系统既可以提供更优良的常规加权像、MR血管造影(MR angiography,

同行评议者
孙诚谊, 教授, 贵阳医学院附属医院院长办

MRA)及MR胆胰管造影(MR cholangiopancreatography, MRCP)图像, 更有利于磁共振波谱(MR spectroscopy, MRS)、弥散加权成像(diffusion-weighted imaging, DWI)、灌注加权成像(perfusion-weighted imaging, PWI)、血氧水平依赖成像(blood oxygenation level dependent, BOLD)等功能性MRI的应用. 对于肝癌, 高场强MR经过实验、临床试验等阶段研究, 已经在其诊断、治疗导向、疗效监测等方面取得了初步成果, 具有良好的应用前景.

1 高场强磁共振的物理性质与优势

1.1 SNR 物理学上, 质子进入外磁场后产生的纵向磁化矢量与外加静磁场强度呈线性相关. 例如对于相同温度下同数量级的质子群, 进入3.0 T磁场中所产生的纵向磁化矢量将是1.5 T磁场中的2倍. 这种上升的磁化强度能成倍增加射频激发后的信号强度, 而噪声几乎不受场强变化的影响, 所以SNR增加. 理论上, 场强从1.5 T上升至3.0 T, SNR应成倍增加. 而实际应用中, SNR却因组织的不同各异, 特别是对于实质性组织, 其SNR增加只有30%-60%, 原因可能是场强增加的同时导致质子弛豫时间发生变化, 从而引起信号强度下降^[5]. 尽管如此, SNR的提高足以使高场强MR在相同的成像时间内更加清晰地显示正常解剖结构和病变, 或者在保持相同图像质量的情况下缩短成像时间.

1.2 化学位移效应 化学位移现象是由于原子核受周围电子云影响使部分外磁场受到屏蔽而引起的. 该屏蔽作用与外加静磁场强度呈正比, 这意味着处于不同化学结构分子中的同一种磁性原子核, 他们之间Larmor频率的差异将随着场强的增加而加大. 例如, 水信号与亚甲基信号之间化学位移的差异在1.5 T场强中为220 Hz, 而在3.0 T中增加至440 Hz. 高场强MR正是通过增大各种代谢产物之间的Larmor频率差异, 同时提供更高的SNR及磁场均匀度, 达到更好地区分各种代谢产物的效果, 从而有利于MRS研究.

1.3 弛豫时间 随着MR场强的增加, 大多数组织的T1显著增加, 但不同组织间变化有差异. 例如3.0 T场强与1.5 T相比, 骨肌系统的T1增加约5%, 肝、肾皮质及脾的T1增加约21%^[6], 而大脑白质增加近40%^[7]. T2对场强的依赖性较小, 随场强增加轻度缩短, 大多数器官的T2变化范围在5%-10%之间^[6]. 而T2随场强的增大显著下降, 这是因为组织磁敏感性在较高的磁场中得到提高(即对微观磁场的不均匀性更加敏感), 该现象

有别于弛豫效应, 被称之为“磁化率效应”. 这些变化可使MR图像的对比度增加, 尤其在对比增强MRA图像中见长.

1.4 磁化率效应 如同植入的金属物质一样, 机体所有的顺磁性和抗磁性组织间隔都会导致局部及周围磁场的不均匀, 并且只要没有另外的强磁性物质引入, 该种原因的磁场不均匀性与所处的外部静磁场强度呈正比. 微观磁场的不均匀会加速质子的失相位, 场强越高, 质子的失相位越明显. 因此, 该特点对显示组织结构不均一的机体固有组织类型非常重要, 如肺和松质骨髓. 此外, 由于血液中的去氧血红蛋白(与BOLD信号效应有关)、肝脏内的含铁血黄素以及引入的顺磁性对比剂等物质都会造成局部磁场不均匀导致周围质子失相位, 所以随着场强的增高, 质子失相位加重, 产生的信号改变也越明显. 磁化率效应主要表现在梯度回波序列和平面回波序列即T2加权成像. 值得一提的是, 微观磁场的不均匀也可能导致自旋回波成像中信号下降, 特别是回波时间较长的序列, 因为自旋质子的弥散运动可能干扰由磁化率效应诱导的相位改变的充分回聚^[3-4].

2 高场强磁共振成像技术在肝癌诊断中的应用

2.1 常规平扫及动态增强MRI 肝癌的常规MRI扫描包括T1WI、T2WI及动态增强扫描, 常用的序列如下: SE T1WI; FSE T2WI, 同时采用脂肪抑制技术; 动态增强扫描常用梯度回波序列(GRE), 增强前先行该序列平扫, 后行动态扫描, 分别于动脉期(20-25 s)、静脉期(60-70 s)、延时期(5-6 min)采集图像, 常用对比剂为钆剂. 最新研究表明, T1WI呈稍低信号或低信号而T2WI呈稍高信号为肝癌的典型信号特点, 门静脉瘤栓、肿瘤脂肪变性、假包膜形成及瘤周水肿为肝癌的特征性MRI表现, 转移癌等其他肿瘤很少有脂肪变性和门脉瘤栓^[8].

2.2 PWI MR灌注成像是将组织毛细血管水平的血流灌注情况, 通过磁共振成像的方式显示出来, 从磁共振影像角度评估局部的组织活力及功能, 他可以快速、准确、几乎无创地评价微血管内的血液动力学变化. 灌注成像对硬件要求较高, 目前常用于肝灌注成像的主磁体场强多为1.5-3.0 T, 脉冲线圈多为体部相控阵线圈, 主要常用序列有: (1)快速梯度回波序列. 不同厂家采用的具体名称不同, 如扰相快速小角度激发成像(FLASH, Siemens公司); 扰相梯度恢复(SFGR, GE公司); 扰相快速获得稳态(扰相FAST,

研发前沿
高场强磁共振在肝癌的诊断与治疗中的作用是当前研究的热点问题.

相关报道
尚全良 *et al* 报道利用DWI对肿瘤组织不同时点平均ADC值的测量、对比可以量化动态评价肝癌组织TACE术后的坏死、复发情况。

Pickler公司)等。(2)回波平面成像(EPI)序列,为目前临床上成像最快的序列,已广泛应用在MR的功能性成像中,主要有3种方法:对比剂团注示踪法,是目前最常用的灌注成像方法;动脉血质子自旋标记法(ASL);BOLD对比增强技术。后两种方法在肝脏灌注成像中运用较少^[9-10]。评价肝脏灌注成像的主要参数包括肝动脉灌注指数、肝动脉灌注量、门静脉灌注量、门静脉灌注指数、对比剂的平均通过时间以及对比剂峰值时间等参数,可以计算出如肝血流灌注图、时间-信号强度曲线(以注射对比剂后连续动态扫描获得的病变区信号强度为纵坐标,以相应的扫描时间为横坐标各点连接而成的曲线图)、病灶增强百分率、局部组织血容量以及局部肝组织血流量等参数值。

在肝细胞癌中,灌注量的变化与微血管密度及分布密切相关。肿瘤恶性程度越高,肿瘤内微血管密度也越高。多数报道肝动脉灌注指数明显升高,门静脉灌注量及其灌注指数明显减少,血流灌注图上显示为高灌注,时间-信号强度曲线在T1WI上表现为速升速降,在T2WI上为速降速升,增强后20-30 s达到峰值或低谷;在动态Gd-DTPA增强时动脉期有明显强化,其时间-信号曲线表现为灌注阶段信号幅度快速大幅下降,而后恢复也很快^[9,11]。Yoshioka *et al*^[12]报道,在检测肝细胞癌时高分辨力灌注成像的敏感度达91.7%,甚至对于1 cm或更小肝细胞癌也可达78.6%,而在对照组仅为76.3%和27.3%,提示高分辨力灌注成像能提高小细胞肝癌的检出率。因此,对于微小肝细胞癌,动态MR灌注成像根据绘制的时间-强度曲线仍能作出诊断,在小肝癌定性诊断方面具有独特优势。也有学者研究MR动态增强模式与组织学上HCC微血管生成之间的关系,以VEGF表达升高及MVD密度增加为表现的微血管生成对HCC的动态强化模式产生影响,反映出肿瘤的新生动脉血供^[13]。

2.3 DWI 磁共振DWI技术是目前唯一能检测活体组织内水分子扩散运动即布朗运动的影像技术,该技术通过检测活体组织内水分子的微观扩散运动状态来反映机体组织结构的生理、病理特点,他不同于常规的MRI技术,是新型的磁共振功能成像技术中的一种,为疾病的诊断提供了一条无创安全的新途径,目前最常用的DWI的扫描序列为EPI技术。在活体组织中,扩散系数受到许多微循环因素影响,如体液的流动、细胞的渗透性、温度、毛细血管灌注和细

胞膜通透性的方向等,同时受宏观因素的影响,如呼吸、血管搏动、肠道蠕动等生理活动方面的影响。因此,在实际工作中常用表观扩散系数(apparent diffusion coefficient, ADC)来代替真正的扩散系数。

肝脏内占位性病变中肝癌、血管瘤和肝囊肿三者的平均ADC值之间存在显著差异,肝癌ADC值最低,血管瘤次之,肝囊肿最高,转移瘤与原发肝癌之间ADC值无显著差异^[14]。对于肝脏内良恶性病变的ADC值是否存在绝对的分界点,目前尚缺乏大规模的研究报道。Kim *et al*^[15]研究认为ADC值为 $1.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,作为鉴别肝脏良恶性肿瘤的分界点敏感性达98%,特异性为80%。良性病变的ADC值多 $>1.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,恶性病变的ADC值多 $<1.6 \times 10^{-3} \text{ mm}^2/\text{s}$,但病例太少,难以有绝对的说服力,尚需进一步研究探讨。

2.4 MRS 是无损伤性研究活体器官组织代谢、生化变化及化合物定量分析的惟一方法。肝脏MRS的临床研究尚处于初步阶段,主要是³¹P谱和¹H谱。肝脏³¹P谱通常可以检出6条不同的共振峰,从左向右依次为磷酸单酯(PEM)、无机磷(Pi)、磷酸二酯(PDE)和三磷酸腺苷(γ ATP、 α ATP及 β ATP)。活体内³¹P-MRS研究显示肝脏恶性肿瘤的磷酸单酯/磷酸盐(PME/Pi)、磷酸单酯/ β -三磷酸腺苷(PME/ β -ATP)比值升高,可能与合成磷脂膜的中间产物PC和PE增高有关,恶性肿瘤的pH值比正常肝实质高^[16];较多研究^[17-18]表明肝脏肿瘤的³¹P-MRS主要表现为肿瘤组织内出现以PME增高为特征的高水平磷酸代谢和细胞内pH值呈碱性。与其他肝良性病变或正常肝相比,其他共振峰显示降低。因此,肝脏³¹P-MRS有助于鉴别肝脏的良恶性病变。但也有研究者认为,³¹P-MRS对肝脏良恶性病变的鉴别诊断价值有限,虽然多项研究显示肝脏肿瘤性病变出现PME/ATP升高等改变,但并无特异性,无法鉴别良恶性,也无法鉴别不同的肿瘤类型,这可能与活体³¹P-MRS对肝脏代谢标记物的检测能力有限等因素有关^[19]。Kuo *et al*^[20]用3 T MRA机研究了¹H-MRS在较大肝脏肿瘤(3 cm以上)鉴别诊断中的作用,发现良恶性肿瘤的胆碱/脂质(Cho/Lip)差异有统计学意义,恶性肿瘤Cho/Lip升高。然而,由于¹H-谱的化学位移范围较窄,为8-10 ppm($\times 10^{-6}$),许多化合物的峰相互重叠,有时难以区分,并且谱线SNR较低,使其代谢产物分析结果的可信度降低,有待进一步研究。

2.5 MRA 三维造影剂增强磁共振血管成像

(three-dimensional contrast-enhanced magnetic resonance angiography, 3D CE MRA)是最近发展起来的无创性技术, 操作简便, 适用于门静脉检查^[21-23]. 使用该技术, 只需从外周静脉注射少量钆剂(gadolinium, Gd), 一次屏气即能完成门脉成像. 钆剂比CT及X线血管造影所用的含碘造影剂安全性高, 能缩短血流T1值, 3D CE MRA克服了用时间飞越法(time of flight, TOF)和相位对比法(phase contrast, PC)的流动伪影和饱和作用, 而且无辐射之忧. 林江 *et al*研究表明3D CE MRA能准确地判断肝癌患者门脉受累的情况, 其总体敏感性为99%, 特异性为96%, 阳性预测值为91%, 阴性预测值为99%. 该法显示门脉主干的准确性达100%^[24]. 3D CE MRA能较清楚地显示门脉癌栓、门静脉海绵样变、肝动静脉瘘等肝癌血管性并发症, 可用于评价肝癌的分期及治疗方案的选择^[25].

3 高场强磁共振成像技术在肝癌治疗中的应用

3.1 MRI对肝癌TACE疗效的随访 由于肝癌TACE术难以达到肿瘤完全坏死, 且肝癌易复发, 因此肝癌TACE术后患者须定期随访, 早期发现存活瘤组织及复发灶, 以决定下一步治疗. 随着磁共振硬件及软件技术的发展和完善, 尤其是具有高场强磁共振机的研制成功以及快速扫描技术的出现, 为受呼吸、心跳等因素影响较为明显的肝脏进行各种磁共振功能成像提供了可能, 使得MRI对评价肝癌的TACE术疗效有了较高的价值, 因此在随访过程中应合理应用MRI各种检查技术, 以更好地指导临床治疗.

MRI常规平扫和动态增强扫描对肝癌TACE疗效的随访价值较大, 特别是SE序列的T2WI, 术前病灶为高信号, 术后信号下降呈低信号或等信号, 活检证实为病灶坏死, 故TACE术后T2WI上呈低信号或原来的信号由高转低者, 都代表凝固性坏死^[26]. 肿瘤残存在T2WI上为轻-中等度高信号, 动态增强早期可见强化; 肿瘤自然坏死、出血在T2WI上可为高信号, 但在动态增强中无强化可与肿瘤残存鉴别, 凝固性坏死、纤维化在T2WI上为等、低信号, 动态增强无强化^[27]. 增强扫描早期对肿瘤存活的判断更为可靠, 而增强晚期有强化者, 可以是肿瘤组织, 也可以是炎性细胞的浸润, 二者的鉴别有一定的困难. 虽然MRI对判断肝癌TACE治疗后肿瘤坏死和残存有较高的准确性, 但对于纤维间隔包裹或增强早期无强化的包膜下少量肿瘤残存难以识别^[28].

MRI灌注图在检测TACE术后残存肿瘤组织的灌注方面很有价值^[29], TACE的疗效可以通过比较术前术后相对肝血容量图(rHBV图)的灌注差异而评估^[30]. Tsui *et al*^[30]报道, TACE术前, 除了坏死区域肿瘤在rHBV图上都表现为高灌注(由于瘤内微血管形成), 相应动脉造影示富血供; 术后大多数肿瘤都为明显的低灌注, 在信号强度-时间曲线上肿瘤显示暂时信号回落, 一旦对比剂重分布至胞外间隙, 信号回落消失. Chan *et al*^[29]报道10例原发性肝癌和2例转移性肝癌, 同样发现所有肿瘤的时间-信号强度曲线都有暂时信号回落, 重建肝血容量图可见大多数肿瘤(80%)术前为高灌注, 术后为低灌注, 肿瘤内残存的高灌注区血管造影显示为富血供区, 提示通过MRI检测残余瘤组织的灌注来评估TACE对HCC的疗效是很有价值的. 对直径>1 cm的单发病灶检出最佳, 这项技术为非侵入性, 可作为常规的随访方法^[30].

利用DWI技术能定量和定性地评价TACE的疗效. ADC图能够定量分析扩散过程, 存活瘤和坏死瘤的ADC值有明显差异. Geschwind *et al*^[31]对VX2肿瘤兔模型进行VX2瘤TACE术, 术后2 d左右对肿瘤进行DWI, 发现DWI上坏死的肿瘤组织呈低信号, 存活的肿瘤组织呈高信号, 坏死肿瘤内的ADC值明显高于存活的肿瘤组织, 这是由于坏死区细胞溶解致胞外大量水分子自由扩散致. Kamel *et al*^[32]报道了8例HCC患者的9个病灶, 行TACE术后DWI示6个病灶高信号(可能由于栓塞后凝固性坏死), 2个低信号, 1个为等信号, 不强化区(坏死的肿瘤)的ADC值明显高于强化区(存活的肿瘤), 通过与病理对照, 认为DWI测定TACE术后肿瘤坏死程度优于常规T1WI、T2WI及Gd-DTPA增强MRI, DWI能用于评估大肝癌TACE术后肿瘤坏死程度并且能指导患者的下一步处理. 尚全良 *et al*^[33]则将原发性肝癌患者23例按TACE术时点不同分为4组观察, 分别行DWI, 发现术后各时点肝癌组织的平均ADC值较术前明显升高, 差异有显著性; 此外, 术后30-38 d大部分病灶的平均ADC值都较术后7-10 d的平均ADC值有不同程度下降, 表明这些病例都有不同程度复发, 其中平均ADC值下降明显的2例复发也最为明显, 因此, 利用DWI对肿瘤组织不同时点平均ADC值的测量、对比可以量化动态评价肝癌组织TACE术后的坏死、复发情况.

MRS对肝癌TACE的随访价值还在不断

应用要点
对肝癌的诊断与治疗, 高场强MRI既能提供优质的形态图像, 又能提供病变功能及代谢方面的信息, 还可用于治疗过程及反应的监测.

名词解释

磁化率效应: 组织磁敏感性在较高的磁场中得到提高的现象, 表现为T2随场强的增大而显著下降。

探索当中。有学者对肝癌化疗或化学栓塞后 ^{31}P -MRS变化进行了研究, 发现局部化疗或栓塞早期: Pi显著升高, α 、 β -磷酸核苷酸(NTP)下降; 治疗后期: PME增高, PDE下降^[34]。这些初步研究表明 ^{31}P -MRS波谱分析可以用来检测肝癌化疗栓塞后的代谢反应, 有效地监测疾病进程和治疗效果。此外, 有研究报道 ^1H -MRS对检测肝癌在TACE术后的早期代谢改变很有价值^[20,34]。 ^1H -MRS研究中, 肝脏肿瘤与正常肝实质或肝硬化相比, 其Cho峰升高, Lip峰下降; 肝癌在TACE术后的Cho峰值显著降低; Cho/Lip比值也较术前明显下降, 因而测定Cho对于监测TACE对肝癌的疗效很有意义。

3.2 MRI对肝癌三维适形放疗(3-DCRT)后肝损伤的评价 近年来随着3-DCRT技术在临床的应用, 肝癌放疗的局部疗效明显提高, 随之放射性肝损伤的发生率也增加, 及时准确的判断并评价肝脏放射性损伤的有无及其程度, 对临床药物治疗、肿瘤放疗方案的制定与修正显得尤为重要。放射性肝损伤MRI表现有一定的特征性, MRI平扫与动态增强扫描有较高的诊断价值。急性放射性肝损伤表现为与受照射区形态相似大片状肝水肿, T1WI上为低信号, T2WI为高信号, Gd-DTPA增强后动脉期无强化; 慢性放射性肝损伤平扫T1WI为不规则片状稍低信号, T2WI为稍高信号, Gd-DTPA增强后动脉期强化不明显, 静脉期及延迟期强化明显^[35]。随着MRI许多新技术的出现, 将为肝损伤提供更方便、准确的新方法, 如磁化传递成像能更早期显示肝纤维, DWI与PWI不但能显示早期肝损伤的变化, 还可显示肝肿瘤放疗后微血管血流灌注的变化, 有助于评价放疗结果, 而MRS的应用, 将能鉴别肿瘤残灶、肿瘤复发与慢性放射性肝损伤。总之, MRI将在肝脏3-DCRT中发挥更大的作用^[36]。

3.3 MRI对肝癌消融治疗的评价 影像引导下经皮消融治疗因具有微创、易于实施、疗效确切、可反复进行等优点, 已越来越多地用于治疗肝癌。用影像学方法观察肿瘤灭活是否彻底、有无肿瘤复发, 对提高治愈率、生存率具有重要的意义^[37-38]。

肝癌的热消融包括经皮射频消融术, 经皮微波消融术、经皮激光消融术等, 这些方法都是对病灶的局部进行加温, 使肿瘤细胞因高温而坏死。那么温度应加到什么程度, 如何在尽量地杀死肿瘤细胞的同时保护正常组织等一些问题是国内外广大学者一直研究的课题, 这些问

题的中心点就是如何准确地测温^[39]。过去人们曾应用在病灶内插入热敏电耦的方法来测温, 但这是一种有损伤的测温方法, 另外插入的探针不可能太多, 所以对加温过程中病灶温度变化的监测有局限性。MRI是唯一能将直观选择层面的实时成像与温度图相结合的成像方式^[40]。这种无损伤的测温技术, 主要有3个参数与温度相关: 自旋晶格弛豫时间(T1), 分子弥散系数(D)和质子频移(proton resonance frequency shift, PRFS), 基于PRFS理论的温度测量方法被认为是最有前途的测温方法^[41]。MR对热消融治疗肝癌的优势在于, 不仅可以实时进行温度检测, 还可以用以确定靶区, 提供早期的治疗效果评价。

有文献报道磁共振DWI对肝脏消融治疗后存活肿瘤检出能力高于常规MRI^[42], 能对肝癌消融治疗后各组织成分定性, 有望提高消融后局部疗效的准确性^[43]。亦有文献报道MRI常规平扫和动态增强扫描评价氩氦刀冷冻消融治疗肝癌的疗效可靠、准确, 术后定期MRI随访对疗效评价具有重要意义^[44]。

4 结论

目前高场强MR成像系统存在的问题主要是体内射频场不均匀(外磁场增高, 质子进动频率增加, 所需激发射频的频率增加, 射频波长变短, 造成射频场不均匀)导致的MR图像信号丢失, 射频能量沉积造成的组织产热增加^[45], 以及在机体大分子结构、神经传导或血流等生理方面潜在的危险^[4]。附加绝缘垫的应用、高性能射频线圈的研制可在一定程度上弥补以上问题带来的影响^[46], 但有关高场强MR物理性质与相应机体生理机制的相互作用更深层的问题有待进一步探讨。从1.5 T MR仪近20年的临床普及应用, 以及3.0 T MR仪成像新技术在肝癌诊断治疗中初步表现出的优势中, 我们应该承认高场强MR的时代已经来临, 随着高场强MR仪软硬件的进一步开发, 相信他将对肝癌的诊断与治疗发挥更大的作用。

5 参考文献

- 1 Brown MA, Semelka RC. MRI: basic principles and applications. 3rd ed. John Wiley&Sons, Inc., 2003; 197-212
- 2 Helpert JA. The promise of high-field-strength MR imaging. *AJNR Am J Neuroradiol* 2003; 24: 1738-1739
- 3 Schick F. Whole-body MRI at high field: technical limits and clinical potential. *Eur Radiol* 2005; 15: 946-959
- 4 Takahashi M, Uematsu H, Hatabu H. MR imaging

- at high magnetic fields. *Eur J Radiol* 2003; 46: 45-52
- 5 Tanenbaum LN. 3-T MR imaging: ready for clinical practice. *AJNR Am J Neuroradiol* 2004; 25: 1626-1627; author reply 1629
- 6 de Bazelaire CM, Duhamel GD, Rofsky NM, Alsop DC. MR imaging relaxation times of abdominal and pelvic tissues measured in vivo at 3.0 T: preliminary results. *Radiology* 2004; 230: 652-659
- 7 Ethofer T, Mader I, Seeger U, Helms G, Erb M, Grodd W, Ludolph A, Klose U. Comparison of longitudinal metabolite relaxation times in different regions of the human brain at 1.5 and 3 Tesla. *Magn Reson Med* 2003; 50: 1296-1301
- 8 蒙秋华, 龙莉玲, 黄仲奎, 李文美. 原发性肝癌的MRI诊断价值. *实用放射学杂志* 2006; 22: 45-49
- 9 Taouli B, Losada M, Holland A, Krinsky G. Magnetic resonance imaging of hepatocellular carcinoma. *Gastroenterology* 2004; 127: S144-S152
- 10 Wang J, Zhang Y, Wolf RL, Roc AC, Alsop DC, Detre JA. Amplitude-modulated continuous arterial spin-labeling 3.0-T perfusion MR imaging with a single coil: feasibility study. *Radiology* 2005; 235: 218-228
- 11 Shimizu A, Ito K, Koike S, Fujita T, Shimizu K, Matsunaga N. Cirrhosis or chronic hepatitis: evaluation of small (≤ 2 -cm) early-enhancing hepatic lesions with serial contrast-enhanced dynamic MR imaging. *Radiology* 2003; 226: 550-555
- 12 Yoshioka H, Takahashi N, Yamaguchi M, Lou D, Saida Y, Itai Y. Double arterial phase dynamic MRI with sensitivity encoding (SENSE) for hypervascular hepatocellular carcinomas. *J Magn Reson Imaging* 2002; 16: 259-266
- 13 Wang B, Gao ZQ, Yan X. Correlative study of angiogenesis and dynamic contrast-enhanced magnetic resonance imaging features of hepatocellular carcinoma. *Acta Radiol* 2005; 46: 353-358
- 14 李晓娟, 刘志兰, 何冰峰. 磁共振扩散加权成像在肝脏占位性病变诊断中的应用. *实用放射学杂志* 2006; 22: 814-816
- 15 Kim T, Murakami T, Takahashi S, Hori M, Tsuda K, Nakamura H. Diffusion-weighted single-shot echoplanar MR imaging for liver disease. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 173: 393-398
- 16 Francis IR, Chenevert TL, Gubin B, Collomb L, Ensminger W, Walker-Andrews S, Glazer GM. Malignant hepatic tumors: P-31 MR spectroscopy with one-dimensional chemical shift imaging. *Radiology* 1991; 180: 341-344
- 17 刘强, 王滨, 武乐斌. ^{31}P MR波谱分析在肝细胞癌、肝硬化及正常肝组织中的临床应用价值. *实用放射学杂志* 2005; 21: 493-496
- 18 刘于宝, 梁长虹, 张忠林, 余元新, 谢淑飞, 林韩斌, 王秋实, 郑君惠. ^{31}P MR波谱成像在肝脏的初步临床应用研究. *实用放射学杂志* 2006; 22: 417-420
- 19 Bell JD, Bhakoo KK. Metabolic changes underlying ^{31}P MR spectral alterations in human hepatic tumours. *NMR Biomed* 1998; 11: 354-359
- 20 Kuo YT, Li CW, Chen CY, Jao J, Wu DK, Liu GC. In vivo proton magnetic resonance spectroscopy of large focal hepatic lesions and metabolite change of hepatocellular carcinoma before and after transcatheter arterial chemoembolization using 3.0-T MR scanner. *J Magn Reson Imaging* 2004; 19: 598-604
- 21 Laissy JP, Trillaud H, Douek P. MR angiography: noninvasive vascular imaging of the abdomen. *Abdom Imaging* 2002; 27: 488-506
- 22 Saddik D, Frazer C, Robins P, Reed W, Davis S. Gadolinium-enhanced three-dimensional MR portal venography. *AJR Am J Roentgenol* 1999; 172: 413-417
- 23 Okumura A, Watanabe Y, Dohke M, Ishimori T, Amoh Y, Oda K, Dodo Y. Contrast-enhanced three-dimensional MR portography. *Radiographics* 1999; 19: 973-987
- 24 林江, 周康荣, 王建华, 颜志平. 肝癌侵犯门脉的三维造影剂增强磁共振血管成像诊断. *中华医学杂志* 2005; 85: 308-312
- 25 陈立波, 杨炼, 王国斌. 三维动态增强磁共振血管造影诊断门静脉癌栓等肝癌血管并发症的价值. *中华肝胆外科杂志* 2003; 5: 10-13
- 26 Yan FH, Zhou KR, Cheng JM, Wang JH, Yan ZP, Da RR, Fan J, Ji Y. Role and limitation of FMPSGR dynamic contrast scanning in the follow-up of patients with hepatocellular carcinoma treated by TACE. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 658-662
- 27 刘嵘, 王建华, 周康荣, 严福华, 颜志平. 原发性肝癌TACE后CT和MRI随访的对照研究. *实用放射学杂志* 2003; 19: 902-905
- 28 刘嵘, 王建华, 周康荣, 严福华, 颜志平. 原发性肝癌碘油栓塞治疗后磁共振成像(MRI)随访研究. *中国临床医学* 2006; 13: 663-665
- 29 Chan JH, Tsui EY, Luk SH, Yuen MK, Cheung YK, Wong KP. Detection of hepatic tumor perfusion following transcatheter arterial chemoembolization with dynamic susceptibility contrast-enhanced echoplanar imaging. *Clin Imaging* 1999; 23: 190-194
- 30 Tsui EY, Chan JH, Cheung YK, Cheung CC, Tsui WC, Szeto ML, Lau KW, Yuen MK, Luk SH. Evaluation of therapeutic effectiveness of transarterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma: correlation of dynamic susceptibility contrast-enhanced echoplanar imaging and hepatic angiography. *Clin Imaging* 2000; 24: 210-216
- 31 Geschwind JF, Artemov D, Abraham S, Omdal D, Huncharek MS, McGee C, Arepally A, Lambert D, Venbrux AC, Lund GB. Chemoembolization of liver tumor in a rabbit model: assessment of tumor cell death with diffusion-weighted MR imaging and histologic analysis. *J Vasc Interv Radiol* 2000; 11: 1245-1255
- 32 Kamel IR, Bluemke DA, Ramsey D, Abusedera M, Torbenson M, Eng J, Szarf G, Geschwind JF. Role of diffusion-weighted imaging in estimating tumor necrosis after chemoembolization of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 708-710
- 33 尚全良, 肖恩华, 贺忠, 谭利华, 司徒卫军, 白未了, 袁术文, 杜万平. 肝癌经导管动脉灌注化疗栓塞术疗效的MR扩散加权成像动态研究. *中华放射学志* 2006; 40: 235-240
- 34 Soper R, Himmelreich U, Painter D, Somorjai RL, Lean CL, Dolenko B, Mountford CE, Russell P. Pathology of hepatocellular carcinoma and its precursors using proton magnetic resonance spectroscopy and a statistical classification strategy. *Pathology* 2002; 34: 417-422
- 35 陈大朝, 陈龙华, 金吴东, 许乙凯, 许鹏君. 三维适形放疗后放射性肝损伤的MRI表现. *南方医科大学学报* 2007; 27: 181-187
- 36 Onaya H, Itai Y, Ahmadi T, Yoshioka H, Okumura T, Akine Y, Tsuji H, Tsujii H. Recurrent hepatocellular carcinoma versus radiation-induced hepatic injury: differential diagnosis with MR imaging. *Magn Reson Imaging* 2001; 19: 41-46
- 37 Dromain C, de Baere T, Elias D, Kuoch V, Ducreux M, Boige V, Petrow P, Roche A, Sigal R. Hepatic tumors treated with percutaneous radio-frequency

同行评价
本文综述全面, 层次分明, 文笔流畅, 有一定的临床参考价值.

- ablation: CT and MR imaging follow-up. *Radiology* 2002; 223: 255-262
- 38 郭志, 邢文阁, 刘方, 于海鹏, 李保国, 郭秀英, 张晟, 付丽, 邢纪中, 张俊义, 王友聚, 龚彬. 氩氦冷冻在原发巨块型肝癌介入治疗中的临床应用. *中华放射学杂志* 2005; 39: 198-203
- 39 Moriarty JA, Chen JC, Purcell CM, Ang LC, Hinks RS, Peters RD, Henkelman RM, Plewes DB, Bronskill MJ, Kucharczyk W. MRI monitoring of interstitial microwave-induced heating and thermal lesions in rabbit brain in vivo. *J Magn Reson Imaging* 1998; 8: 128-135
- 40 Germain D, Chevallier P, Laurent A, Savart M, Wassef M, Saint-Jalmes H. MR monitoring of laser-induced lesions of the liver in vivo in a low-field open magnet: temperature mapping and lesion size prediction. *J Magn Reson Imaging* 2001; 13: 42-49
- 41 De Poorter J. Noninvasive MRI thermometry with the proton resonance frequency method: study of susceptibility effects. *Magn Reson Med* 1995; 34: 359-367
- 42 郑晓林, 徐辉雄, 吕明德, 谢晓燕, 徐作峰, 赖英荣. 肝脏扩散加权MRI在检测消融后肿瘤存活中的应用. *临床放射学杂志* 2006; 25: 153-157
- 43 郑晓林, 徐辉雄, 吕明德, 徐作峰, 谢晓燕, 赖英荣. MR扩散加权成像对经皮肝脏消融灶组织成分定性研究的初探. *中华放射学杂志* 2006; 40: 417-422
- 44 朱海云, 王莉, 钱国军, 田建明. 肝癌氩氦刀冷冻治疗后MRI表现. *临床放射学杂志* 2004; 23: 686-689
- 45 Hoult DI, Phil D. Sensitivity and power deposition in a high-field imaging experiment. *J Magn Reson Imaging* 2000; 12: 46-67
- 46 Vaughan JT, Adriany G, Snyder CJ, Tian J, Thiel T, Bolinger L, Liu H, DelaBarre L, Ugurbil K. Efficient high-frequency body coil for high-field MRI. *Magn Reson Med* 2004; 52: 851-859

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国学术期刊综合引证报告(2007)

本刊讯 根据《中国学术期刊综合评价数据库(CAJCED)》2006年从6500种统计源析出的290余万条中国期刊引文数据库及CNKI“中国期刊网”中心网站2006-01/12全文下载记录(2.1亿篇次)的大样本数据统计分析得到: 世界华人消化杂志[标准刊号: ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R; 类目名称: 医药科学\临床医学\呼吸及消化系统疾病(YK5.2.3)]总被引频次为2611, 影响因子为0.460, 5年影响因子为0.482, 即年指标为0.148, 他引总引比为0.80, 被引期刊数为585, 被引半衰期为4.6, 2006载文量为696, 基金论文比为0.44, Web即年下载率为17.7. [中国学术期刊(光盘版)电子杂志社; 中国科学文献计量评价研究中心].

调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠的疗效

时昭红, 张介眉, 郝建军, 冯云霞, 陈洲

时昭红, 张介眉, 郝建军, 冯云霞, 武汉市第一医院消化内科
湖北省武汉市 430022

陈洲, 湖北中医学院中医系 湖北省武汉市 430061

时昭红, 2006年湖北中医学院中医内科学博士, 主要从事消化系统疾病的诊治研究。

武汉市卫生局临床重点学科研究项目, 武卫No. [2003]228

作者贡献分布: 时昭红, 张介眉对此文贡献均等; 此课题由时昭红, 张介眉, 郝建军设计; 研究过程由郝建军, 冯云霞, 陈洲操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由郝建军提供; 数据分析由郝建军, 冯云霞, 陈洲完成; 本论文写作由冯云霞, 陈洲完成。

通讯作者: 时昭红, 430022, 湖北省武汉市中山大道215号, 武汉市第一医院消化内科。ycfyx2000@126.com

电话: 027-85855332

收稿日期: 2007-10-15 修回日期: 2008-02-02

Assessment on effects of Tiaozhong granule on experimental mixed reflux esophagitis in rats

Zhao-Hong Shi, Jie-Mei Zhang, Jian-Jun Hao, Yun-Xia Feng, Zhou Chen

Zhao-Hong Shi, Jie-Mei Zhang, Jian-Jun Hao, Yun-Xia Feng, Department of Gastroenterology, Wuhan First Municipal Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Zhou Chen, Hubei College of Traditional Chinese Medicine, Wuhan 430061, Hubei Province, China

Supported by: the Clinic Unode Investigation Project of Wuhan Health Administration, No. [2003]228

Correspondence to: Zhao-Hong Shi, Department of Gastroenterology, Wuhan First Municipal Hospital, Wuhan 430022, Hubei Province, China. ycfyx2000@126.com

Received: 2007-10-15 Revised: 2008-02-02

Abstract

AIM: To study the influence of Tiaozhong granule (TZG) on the vasoactive intestinal peptide (VIP), substance P (SP), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and glutathione peroxidase (GSH-PX) in rats with experimental mixed reflux esophagitis.

METHODS: The rats were randomly divided into five groups: the model group (E), the normal group (D), TZG group (A), Banxia Xiexin decoction group (C) and cisapride group (B). Then esophagoduodenal end-to-side anastomosis was used to make rat model of mixed reflux esophagitis. The histopathological examination (HE staining) was used to observe the changes of esophageal mucosa. The contents of SP and

VIP in esophageal tissues were detected 2 wk after drug administration by immunohistochemical technique, and spectrophotometric methods was used to detect the activity of SOD, MDA and GSH-PX.

RESULTS: In comparison with those in group E, the contents of VIP and SP were markedly increased in group A, B and C (VIP: 113.61 ± 11.36 , 118.74 ± 12.81 , 107.33 ± 15.95 vs 91.05 ± 10.66 , $P < 0.05$; SP: 132.24 ± 10.51 , 140.86 ± 11.63 , 133.54 ± 14.02 vs 113.73 ± 16.37 , $P < 0.05$), and the esophageal mucosa under light microscope were also repaired to some extent, with R values of 0.8532, 0.5521 and 0.7865, respectively; meanwhile, MDA content was decreased (4.11 ± 0.37 , 4.64 ± 0.60 , 4.29 ± 0.29 vs 5.77 ± 0.16 , $P < 0.05$), and SOD and GSH-PX activity were enhanced (SOD: 431.94 ± 21.87 , 402.98 ± 36.59 , 384.66 ± 46.02 vs 345.02 ± 24.11 , $P < 0.05$; GSH-PX: 135.83 ± 3.71 , 118.26 ± 6.34 , 122.78 ± 4.76 vs 112.77 ± 6.20 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: TZG can treat mixed reflux esophagitis through increasing the expression of VIP and SP, the activity of SOD and GSH-PX and the decrease of MDA.

Key Words: Reflux esophagitis; Tiaozhong granule; Oxygen free radical; Brain gut peptide

Shi ZH, Zhang JM, Hao JJ, Feng YX, Chen Z. Assessment on effects of Tiaozhong granule on experimental mixed reflux esophagitis in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 695-700

摘要

目的: 研究调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠食管黏膜血管活性肠肽(VIP)、P物质(SP)的水平及血浆中脂质过氧化物(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)活性的影响。

方法: 将大鼠随机分成5组, 调中颗粒组(A组)、西沙必利组(B组)、半夏泻心汤组(C组)、正常对照组(D组)、空白模型组(E组), 用食管十二指肠端侧吻合术法制备混合反流性

背景资料

反流性食管炎是消化系统的常见病, 调中颗粒临床运用20余年, 已通过省药监局院内制剂审批(批准文号: 鄂药制字2005第Z01-112号)的治疗反流性食管炎的经验方剂, 但机制不明。

同行评议者
刘铁夫, 教授, 哈尔滨医科大学附属四院消化病诊疗中心

研发前沿
反流性食管炎是临床上一种常见的消化道动力障碍性疾病,其并发症Barrett食管和食管腺癌的发病率越来越高,已受到广泛重视。因此有效防治反流性食管炎已成为当今国内外学者研究的热点。本课题紧紧围绕临床急需解决的关键技术进行研究,具有较高的研究价值和研究前景,尤其是对中药现代化研究,提高中药竞争力意义重大。

食管炎大鼠模型,于给药2 wk后处死大鼠,HE染色观察病理改变,免疫组织化学技术检测大鼠胃黏膜VIP和SP的水平,比色法检测血浆中SOD、MDA和GSH-PX的活性。

结果:与E组比较,A、B、C组光镜下食管黏膜组织有不同程度的修复,平均R值分别为0.8532、0.5521、0.7865,差异显著($P<0.05$),其VIP和SP表达明显增强(VIP: 113.61 ± 11.36 , 118.74 ± 12.81 , 107.33 ± 15.95 vs 91.05 ± 10.66 , $P<0.05$; SP: 132.24 ± 10.51 , 140.86 ± 11.63 , 133.54 ± 14.02 vs 113.73 ± 16.37 , $P<0.05$); MDA含量降低(4.11 ± 0.37 , 4.64 ± 0.60 , 4.29 ± 0.29 vs 5.77 ± 0.16 , $P<0.05$); SOD和GSH-PX的活性提高(SOD: 431.94 ± 21.87 , 402.98 ± 36.59 , 384.66 ± 46.02 vs 345.02 ± 24.11 , $P<0.05$; GSH-PX: 135.83 ± 3.71 , 118.26 ± 6.34 , 122.78 ± 4.76 vs 112.77 ± 6.20 , $P<0.05$)。

结论:调中颗粒可能通过SP和VIP表达增强来调节胃肠运动从而降低MDA的含量,提高SOD和GSH-PX的活性,抑制反流性食管炎的发展,促进黏膜的修复,从而起到抑制胃肠内容物的反流和反流性食管炎的发展的作用。

关键词:反流性食管炎;调中颗粒;氧自由基;脑肠肽

时昭红, 张介眉, 郝建军, 冯云霞, 陈洲. 调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠的疗效. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 695-700
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/695.asp>

0 引言

反流性食管炎是消化系统的常见病,是由多种原因造成胃或/和十二指肠内容物反流入食管而引起的食管黏膜损伤。调中颗粒是临床运用20余年,已通过省药监局院内制剂审批的治疗反流性食管炎的经验方剂,但机制尚不十分明确。本实验旨在通过测定混合反流性食管炎大鼠食管黏膜血管活性肠肽(VIP)和P物质(SP)的水平及血浆中的脂质过氧化物(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)和谷胱甘肽过氧化物酶(GSH-PX)的活性,探讨调中颗粒对混合反流性食管炎大鼠的作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 δ 健康SD大鼠56只,体质量 180 ± 20 g,由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供,调中颗粒(姜半夏10 g、黄连6 g、黄芩8 g、炮姜3 g、太子参15 g、甘草6 g、大枣10 g、杏仁10

g、厚朴10 g)由武汉市中西医结合医院制剂室提供,用蒸馏水稀释成浓度为2 g/mL、1 g/mL、0.5 g/mL的溶液。半夏泻心汤(半夏12 g、黄芩、干姜、党参、炙甘草各9 g、黄连3 g、大枣4枚)药物及制剂(制备成浓度为1.74 g/mL的汤剂)由武汉市中西医结合医院制剂室提供。西沙必利由西安杨森制药有限公司生产,每片5 mg,用蒸馏水稀释成20 g/L的溶液。BX-60型Olympus光学显微镜(日本奥林巴斯公司产品);HUMIAS-2000医学图文分析系统由武汉千屏影像技术有限责任公司提供;TU-1800S型紫外分光光度计(北京普析通用公司);SOD试剂盒(50T, 20061102)、MDA试剂盒(50T, 20060816)、GSH-PX试剂盒(50T, 20061008)均由南京建成生物工程研究所提供;VIP试剂盒、SP抗体及即用型SABC免疫组化染色试剂盒均由武汉博士德生物工程有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 分组及喂养:该动物模型复制过程中动物有一定的死亡率^[1],酌情调整各组大鼠数量。将58只大鼠随机分成5组:调中颗粒组、半夏泻心汤组、西沙必利组、空白模型组12只和正常对照组10只。造模成功24 h后开始给药,各组按2 mL/100 g给予调中颗粒组[10.03 g/(kg·d)]、半夏泻心汤组[8.71 g/(kg·d)]、西沙必利组[0.09 g/(kg·d)],正常对照组和空白模型组给予同体积的生理盐水ig, 2次/d,共给药2 wk。

1.2.2 造模:造模选用王雯 *et al*^[1]的食管十二指肠侧吻合术法。大鼠适应环境4-7 d后,用10 g/L戊巴比妥钠麻醉(30 mg/kg ip),将大鼠固定于手术台,取上腹部正中切口进腹。进腹后将食管下段分离出神经和血管,结扎贲门,切断食管;缝合贲门并荷包包埋入胃中,保留全胃。于距幽门约1 cm处纵行切开十二指肠壁约0.5 cm,与食管下端行食管十二指肠侧吻合术,关腹前腹腔内注入生理盐水1 mL及硫酸庆大霉素2万IU。术后禁食24 h,不禁水。观察大鼠饮食、粪便及活动情况。正常对照组行假手术,进腹后将食管下段分离出神经和血管后关腹。造模时间为4 wk。造模过程中间断出现动物不能耐受实验而死亡,造模结束时调中颗粒组、半夏泻心汤组、西沙必利组、空白模型组和正常对照组分别剩余10、9、8、9和10只。

1.2.3 实验步骤:给药结束后禁食不禁水12 h,心脏取血,置于5 mL的抗凝采血管中,3500 r/min, 10 min离心,取上清,血浆MDA、SOD和GSH-

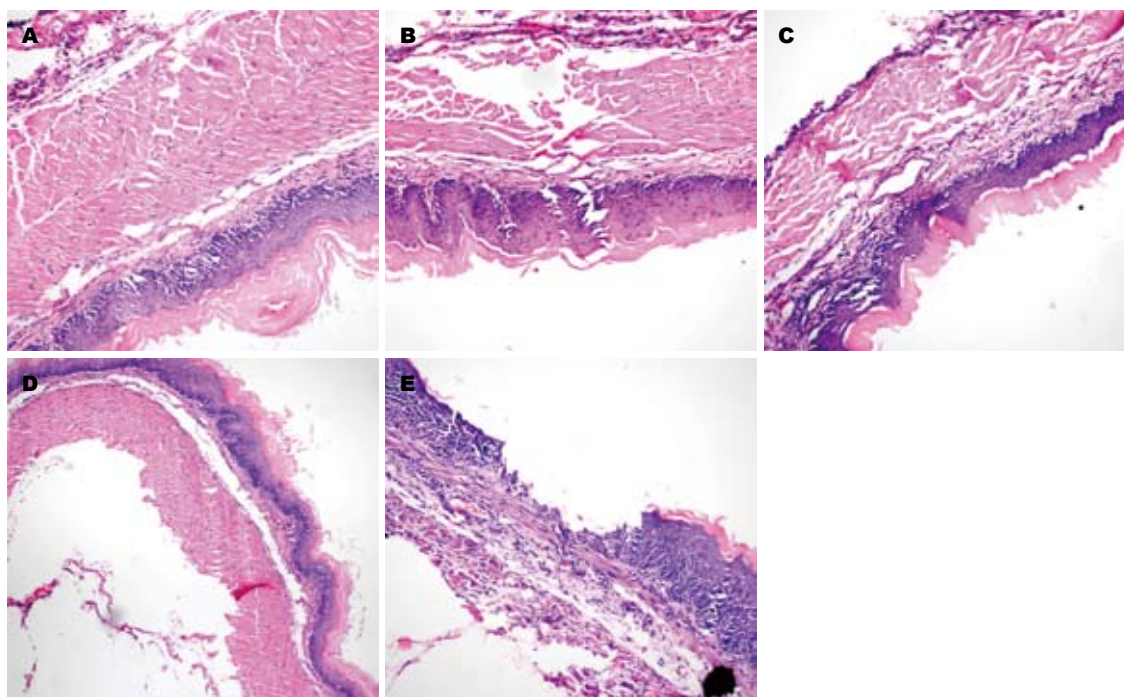


图 1 调中颗粒对大鼠食管黏膜组织的影响(HE × 400). A: 调中颗粒组; B: 西沙必利组; C: 半夏泻心汤组; D: 正常组; E: 模型组.

相关报道
沈水杰 *et al* 对目前中医药治疗反流性食管炎的研究进行了综述. 郑琴 *et al* 就氧自由基与反流性食管炎的关系进行了深入论述.

PX含量采用比色法测定, 具体操作步骤按试剂盒说明进行; 取食管下端的大小约为0.5 cm × 0.5 cm食管壁全层一块, 立刻置于4℃ 40 g/L的多聚甲醛中固定2 h, 备免疫组化用. 另将胃食管交界上1 cm处向咽喉部1 cm长食管一段, 固定于40 g/L甲醛中, HE染色后光镜观察病理改变.

1.2.4 观察指标: (1)病理变化参照1999-12中华医学会消化内镜学会颁布的标准^[2-3]: 鳞状上皮增生、黏膜固有层乳头延伸、炎细胞浸润为轻度, 出现黏膜糜烂为中度, 有溃疡形成或Barrett食管改变为重度. (2)免疫组化染色结果判定标准: SP及VIP阳性纤维呈深黄色或棕黄色者为强阳性, 黄色为阳性, 浅黄色为弱阳性, 与背景同色呈紫蓝色者为阴性.

SP、VIP和一氧化氮合酶(NOS)免疫阳性纤维平均灰度值^[4], 用HUMIAS-2000医学图文分析系统, 通过显微摄像系统放大400倍, 每张切片随机选取5个视野, 测定食管黏膜中SP、VIP和NOS阳性纤维的平均灰度值, 代表SP、VIP和NOS含量的多少, 灰度值越大, 表示SP、VIP和NOS含量越高. SOD、MDA和GSH-PX的活性以活力单位表示.

统计学处理 实验数据以mean ± SD表示, 计量资料结果用单因素方差分析, 组间用 q 检验, 等级资料的假设检验采用Ridit分析. 应用SPSS13.0统计软件分析数据.

表 1 6 wk后各组大鼠食管黏膜病理改变程度及平均R值(n)

分组	n	病理分级				平均R值
		无改变	轻度	中度	重度	
调中颗粒组	10	8	2	0	0	0.8532 ^a
半夏泻心汤组	9	6	2	1	0	0.7865 ^a
西沙必利组	8	5	1	2	0	0.5521 ^a
模型组	9	0	1	5	3	0.4321 ^b
正常组	10	10	0	0	0	0.9325

^a $P < 0.05$ vs 模型组; ^b $P < 0.01$ vs 正常组.

2 结果

2.1 病理学 6 wk后正常组食管黏膜上皮完整, 基底侧的结缔组织呈乳头状突向上皮; 调中颗粒组食管黏膜基本恢复正常; 西沙必利组食管黏膜固有层乳头延伸仍有炎细胞浸润, 多数属于轻度改变; 半夏泻心汤组食管黏膜基本修复细胞排列紊乱; 模型组鳞状上皮增生, 黏膜固有层乳头延伸, 出现炎细胞浸润, 黏膜糜烂, 有溃疡形成, 多数属于重度改变(图1). 经过Ridit分析, 模型组和正常组比较有统计学差异, 表明模型复制成功, 模型组和西沙必利组、半夏泻心汤组、调中颗粒组比较有统计学差异, 表明药物干预有效(表1).

2.2 血浆中SOD、MDA和GSH-PX的活性变化 模型组大鼠MDA的表达增加, SOD和GSH-PX的表达减少; 药物治疗均可使SOD和GSH-PX表达

创新盘点
本课题改传统汤剂为颗粒剂, 从与反流性食管炎病情发展密切相关的氧自由基入手探讨中药作用的机制及与发展预后的关系, 充分体现了中医药的特色和优势.

应用要点
调中颗粒是防治反流性食管炎的有效制剂, 对其在氧自由基方面的作用机制的研究有助于进一步明确其作用范围, 推广其在临床上的应用。

表 2 6 wk后各组大鼠血浆中SOD、MDA、GSH-PX的活性和大鼠食管黏膜中VIP、SP阳性纤维的平均灰度值(mean \pm SD)

分组	<i>n</i>	SOD/U	MDA/U	GSH-PX/U	VIP	SP
调中颗粒组	10	431.94 \pm 21.87 ^{bg}	4.11 \pm 0.37 ^{bd}	135.83 \pm 3.71 ^{bh}	113.61 \pm 11.36 ^{bd}	132.24 \pm 10.51 ^{bd}
半夏泻心汤组	9	384.66 \pm 46.02 ^a	4.29 \pm 0.29 ^b	122.78 \pm 4.76 ^b	107.33 \pm 15.95 ^b	133.54 \pm 14.02 ^b
西沙必利组	8	402.98 \pm 36.59 ^a	4.64 \pm 0.60 ^b	118.26 \pm 6.34 ^a	118.74 \pm 12.81 ^b	140.86 \pm 11.63 ^b
空白模型组	9	345.02 \pm 24.11 ^d	5.77 \pm 0.16 ^d	112.77 \pm 6.20 ^d	150.42 \pm 7.28 ^d	113.73 \pm 16.37 ^d
正常对照组	10	466.15 \pm 13.77	3.62 \pm 0.18	141.64 \pm 3.88	91.05 \pm 10.66	152.13 \pm 11.87

^a*P*<0.05, ^b*P*<0.01 vs 模型组; ^c*P*<0.01 vs 正常组; ^d*P*<0.05, ^e*P*<0.01 vs 西沙必利组; ^f*P*<0.05, ^g*P*<0.01 vs 半夏泻心汤组。

增加, 使MDA的表达减少。模型组与正常对照组比较, 差异显著(*P*<0.01); 各治疗组与模型组比较, 差异显著(*P*<0.01); SOD调中颗粒组和西沙必利组无显著差异(*P*>0.05), 与半夏泻心汤组差异显著(*P*<0.05); MDA调中颗粒组与西沙必利组差异显著(*P*<0.05), 与半夏泻心汤组无显著差异(*P*>0.05); GSH-PX调中颗粒组与西沙必利组、半夏泻心汤组差异非常显著(*P*<0.01)。

食管黏膜中SP和VIP阳性纤维的平均灰度值, 模型组大鼠VIP表达明显增强, 而SP表达减弱, 调中颗粒、半夏泻心汤、西沙必利均能使VIP的表达下调, SP的表达上调模型组与正常对照组比较差异显著(*P*<0.01); 各治疗组均可使VIP表达明显减弱, 而SP表达增强(*P*<0.01); 中药组与西药组比较无显著差异(*P*>0.05)。调中颗粒组和半夏泻心汤组比较无显著差异(*P*>0.05)(表2, 图2)。

3 讨论

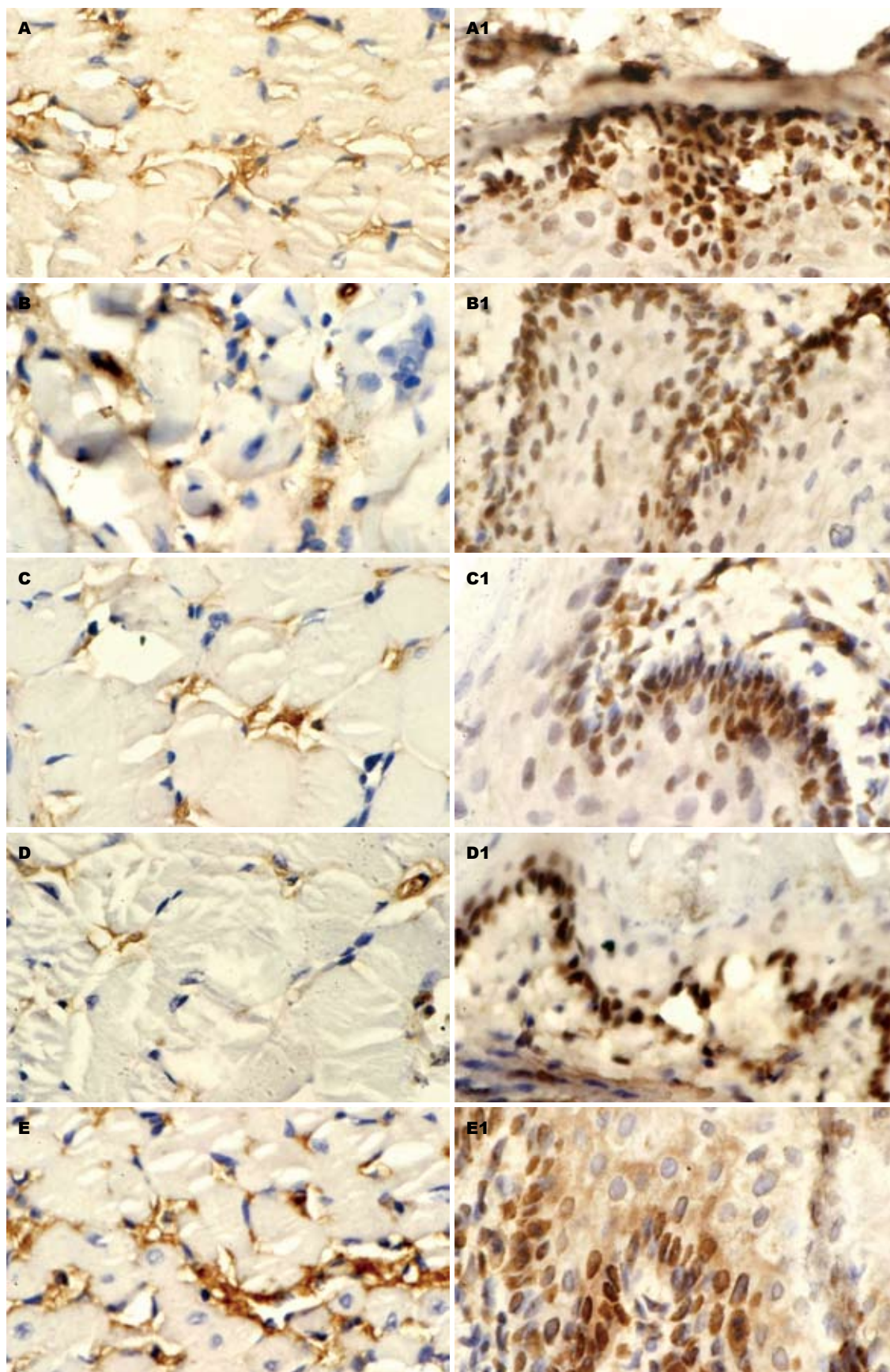
反流性食管炎是由多种原因造成胃或/和十二指肠内容物反流入食管而引起的食管黏膜损伤。其发病机制与食管下段括约肌(lower esophageal sphincter, LES)功能异常密切相关^[5-7]。包括频繁出现一过性下食管括约肌松弛和/或LES静息压降低、LES松弛率增高, 从而造成抗反流屏障功能低下, 使胃酸、胃蛋白酶和十二指肠内容物等反流至食管造成食管黏膜的损伤^[8-11]。我们采用公认的食管十二指肠端侧吻合术破坏LES的功能, 人为造成胃十二指肠内容物混合反流, 与人体内的反流情况十分相似, 而LES的功能状态受到胃肠激素和胃肠神经的双重调节, 二者作为调节递质在食管神经肌肉的调控中发挥重要的作用^[12-15], 故我们进一步采用药物进行治疗, 观察药物对胃肠激素和胃肠神经的影响, 从而改善反流状况。现已证实, 内源性VIP为肠神经系统中的主要抑制性肽能神经递质, 能引起LES

松弛^[16-18]。SP则为主要兴奋性肽能神经递质, 其胞体存在于食管神经丛内, 发出纤维到达食管壁各层, 其兴奋时可引起LES收缩^[19]。SP神经元减少或功能降低, VIP神经元增加或功能增强, 导致LES运动功能障碍^[20]。据报道, RE患者LES局部组织中和血浆中的VIP含量显著高于轻度RE患者和正常人, 而SP明显低于后者, 并且VIP的含量越高, SP的含量越低, LES就越低, 造成胃食管反流和食管黏膜损害就越严重, 二者介导了LES运动功能的调节并参与了RE的致病过程^[21-24]。

而胃十二指肠内容物反流引起的食管黏膜损伤则与局部生成了过多的氧自由基, 机体的氧化与抗氧化失衡, 出现氧化应激密切相关。氧自由基主要攻击生物膜中多聚不饱和脂肪酸, 激发连锁反应, 形成一系列脂质过氧化产物(LPO)及其降解产物丙二醛(MDA)等。故MDA含量反应炎症的严重程度。机体的抗氧化系统分为内源性酶类抗氧化剂和外源性营养抗氧化剂, 两者均具有中和与减轻活性氧毒性反应的功能。内源性酶类抗氧化剂主要有SOD、GSH-PX和过氧化氢酶等。因此SOD和GSH-PX活性高低反应了机体清除自由基能力的大小, 而提高局部自由基清除剂SOD和GSH-PX的活性可以有效地预防炎症的发生和发展^[25-26]。

实验结果显示模型组大鼠食管黏膜VIP水平明显升高, SP显著降低, 二者含量的异常及比例的失衡可能是导致胃、十二指肠内容物反流的主要原因, 而模型组大鼠MDA的表达增加, SOD和GSH-PX的表达减少则可能是食管动力障碍引起胃十二指肠内容物反流造成食管黏膜损伤的结果。

反流性食管炎属中医“吞酸”范畴, 胃气上逆是其基本病机, 酸水泛滥是其病理关键。本病病在食管, 属脾胃所主。脾宜升则健, 胃宜降则和。脾胃升降相因, 则气机调畅, 食管运动正



名词解释
 自由基: 指在外层电子轨道含有1个或多个不配对电子的原子、原子团或分子, 由氧分子衍生的自由基称为氧自由基. 过多的氧自由基可攻击脂肪酸、蛋白质和核酸, 导致组织损伤.

图 2 各组大鼠食管黏膜中VIP和SP阳性纤维分布情况. A - A1: 半夏泻心汤组; B - B1: 调中颗粒组; C - C1: 西沙比利组; D - D1: 正常组; E - E1: 模型组; A - E: VIP; A1 - E1: SP.

常. 若脾胃升降失常, 胃气上逆, 则必然会导致 酸水上泛至食管^[27]. 中医的升降理论和现代医学

同行评价

本文是对组方中药的研究,做了大量的工作,与同类文章相比是较好的,但没讲重要的熬制,没有对有效成分的分析,没有对副作用成分的讨论。

的兴奋和抑制调节作用非常相似,通过调理气机升降可以调节胃肠激素和脑肠肽的分泌及其平衡,进而调节食管和胃肠功能活动。调中颗粒在半夏泻心汤的基础上加減而成,在中医理论中都具有调节气机升降的作用,二者在本实验中均显示出明显的双向调节作用,使SP表达增强, VIP和表达减少,通过调节二者的比例,进而调节胃肠运动,降低食管黏膜中MDA的含量,提高SOD和GSH-PX的活性,抑制反流性食管炎的发展,促进黏膜的修复。因此,二者可能就是通过调节气机升降,进而调节胃肠运动,恢复食管功能,从而减轻以酸为主的十二指肠内容物反流对食管黏膜的损伤,保护食管黏膜的完整性。

其中调中颗粒对MDA作用优于西沙必利组($P<0.05$),对SOD作用优于半夏泻心汤($P<0.05$),对GSH-PX作用优于西沙必利、半夏泻心汤($P<0.01$),这可能与其组方有关,调中颗粒中加入杏仁、厚朴苦温下气,助肺气肃降以利胃气和降,这与西医的促动力药有相同功效。但西药促动力药主要功效为减少反流,而未能很好地解决LES松弛这一关键性问题。LES功能低下属中医“正虚”范畴,应责之中气不足,脾不升清,无力制约浊气上逆。现代药理学研究表明,人参、大枣、甘草等补益中气药物有调整胃肠功能,增强胃肠平滑肌张力及免疫功能的作用,对于提高LES张力,改善其功能有一定的作用^[13],调中颗粒中的太子参、炙甘草、大枣正好弥补了西医促动力药的缺陷。

因此,调中颗粒可能通过使SP表达增强, VIP表达减少调节胃肠运动从而降低MDA的含量,提高SOD和GSH-PX的活性,抑制反流性食管炎的发展,促进黏膜的修复。从而起到抑制胃肠内容物的反流和反流性食管炎的发展的作用。

4 参考文献

- 1 王雯,李兆申,许国铭,王烈,邹多武.不同方式建成3种反流性食管炎模型.解放军医学杂志 2000; 25: 171-173
- 2 李春婷,沈水杰,杜斌,滑永志,蒋凤荣,印勇.健脾疏肝方对反流性食管炎大鼠模型食管组织病理及PCNA的影响.世界华人消化杂志 2007; 15: 733-736
- 3 中华医学会消化内镜学会.反流性食管病(炎)诊断及治疗方案(试行).中华消化内镜杂志 2000; 17: 60
- 4 郭绮秋,刘慧雯,齐玲,姜学海,胡双九,崔秀芝,赵雁鸣.消化管括约肌部VIP免疫活性神经细胞分布.中国组织化学与细胞化学杂志 1995; 4: 278-282
- 5 许国铭.胃食管反流病的研究进展.基础医学与临床

2003; 23: 27-29

- 6 徐晓蓉,李兆申,许国铭,邹多武,尹宁,叶萍.十二指肠胃食管反流在胃食管反流病中的作用.中华内科杂志 2004; 43: 269-271
- 7 王虹,刘宾.下食管括约肌运动和功能与胃食管反流病.中华内科杂志 2004; 43: 750-752
- 8 Choi CW, Kim GH, Song CS, Wang SG, Lee BJ, I HS, Kang DH, Song GA. Is obesity associated with gastropharyngeal reflux disease? *World J Gastroenterol* 2008; 14: 265-271
- 9 Wu JC, Mui LM, Cheung CM, Chan Y, Sung JJ. Obesity is associated with increased transient lower esophageal sphincter relaxation. *Gastroenterology* 2007; 132: 883-889
- 10 Kim GH, Kang DH, Song GA, Kim TO, Heo J, Cho M, Kim JS, Lee BJ, Wang SG. Gastroesophageal flap valve is associated with gastroesophageal and gastropharyngeal reflux. *J Gastroenterol* 2006; 41: 654-661
- 11 孙晓红,柯美云.一过性下食管括约肌松弛与胃食管反流.中国实用内科杂志 2001; 21: 579-580
- 12 李军杰,郑勇.胃肠激素与反流性食管炎.世界华人消化杂志 2006; 14: 1493-1497
- 13 唐旭东,吴红梅,王志斌,邵燕,胡宇驰.通降颗粒对大鼠实验性反流性食管炎的作用机制的研究.中国中药杂志 2006; 31: 136-138
- 14 李兆申.中国胃食管反流病研究现状.解放军医学杂志 2000; 25: 313-315
- 15 张文俊,许国铭.胃肠神经系统神经递质对消化道括约肌的调节.国外医学内科学分册 1999; 26: 344-346, 353
- 16 韩勇,徐晖,李小飞,王云杰.胃酸灌注性食管炎发病机制中血管活性肠肽的作用.世界华人消化杂志 2005; 13: 1065-1068
- 17 朱靖宇,真岩波,崔莹.胃食管反流性疾病血管活性肠肽及食管长度的研究.实用医学杂志 2005; 21: 475-476
- 18 徐海燕.血管活性肠肽的免疫调节作用.国外医学免疫学分册 2002; 25: 73-76
- 19 夏金荣,张忠兵,汪毅,缪才良,沈琰,孔梅,汤永祥. NO、VIP和SP在反流性食管炎中的病理生理学作用.临床消化病杂志 2002; 14: 198-200
- 20 于凤海,王雯,李兆申,许国铭,邹多武,倪灿荣,屠振兴,龚燕芳.一氧化氮及血管活性肠肽在实验性反流性食管炎发病机制中的作用.第二军医大学学报 2001; 22: 219-221
- 21 徐伟,赵亚华,孔洁.血管活性肠肽研究进展.药物生物技术 2002; 9: 364-368
- 22 黎永军,马洪升.血管活性肠肽与消化道疾病研究新进展.华西医学 2005; 20: 616-617
- 23 谢勇,黄缘,王崇文,黄德强,祝金泉,张昆和,陈江.下食管括约肌压力与局部组织内一氧化氮和血管活性肠肽含量的关系.中华消化内镜杂志 1999; 16: 334-336
- 24 于凤海,李兆申,许国铭.一氧化氮、血管活性肠肽与反流性食管炎.中华消化杂志 2001; 21: 430-432
- 25 郑琴,朱生梁.氧自由基与反流性食管炎的研究进展.江西中医学院学报 2006; 18: 74-75
- 26 高艳青,刘晓霓,宋小莉,司银楚,牛欣.氧化应激在反流物所致食管黏膜损伤中的作用.中国病理生理杂志 2004; 20: 149, 153
- 27 陈璇,沈洪.中药治疗胃食管反流病机理研究进展.实用中医内科杂志 2006; 20: 16-17

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

沙棘与疏肝理气及清热利湿方配伍对脂肪肝大鼠的防治作用

吴振宇, 张云, 李永海, 吴广均, 张红梅, 温中平, 刘晓梅, 王荣梅

张云, 吴广均, 刘晓梅, 王荣梅, 吴振宇, 中国中医科学院广安门医院免疫研究室 北京市 100053
张红梅, 高原圣果沙棘制品有限公司 北京市 100038
温中平, 李永海, 水利部沙棘开发管理中心 北京市 100038
张云, 2006年中国中医科学院硕士, 实习研究员, 主要从事基础实验研究.

作者贡献分布: 吴振宇对此文贡献为主; 此课题由吴振宇、李永海设计; 研究过程由张云, 吴广均, 刘晓梅, 王荣梅操作完成; 药材及饲料由张红梅, 温中平提供; 数据分析由张云, 吴广均, 吴振宇完成; 本论文写作由吴振宇审定写作要点; 张云完成文字和图表整理.

通讯作者: 吴振宇, 100053, 北京市宣武区北线阁5号, 中国中医科学院广安门医院免疫研究室. zhenyuwww@126.com
电话: 010-88001436

收稿日期: 2007-08-18 修回日期: 2008-02-19

Preventative and curative function of *Hippophae rhamnoides* L combined with Shugan Liqi or Qingre Lishi drugs on mice with fatty liver diseases

Yun Zhang, Guang-Jun Wu, Hong-Mei Zhang, Zhong-Ping Wen, Xiao-Mei Liu, Rong-Mei Wang, Yong-Hai Li, Zhen-Yu Wu

Yun Zhang, Guang-Jun Wu, Xiao-Mei Liu, Rong-Mei Wang, Zhen-Yu Wu, Department of Immunology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100053, China
Hong-Mei Zhang, Conesco Seabuckthorn Company Ltd., Beijing 100038, China

Zhong-Ping Wen, Yong-Hai Li, Chinese Administration Center for Seabuckthorn Development, Ministry of Water Resources, Beijing 100038, China

Correspondence to: Zhen-Yu Wu, Department of Immunology, Guang'anmen Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, 5 Beixian Ge, Xuanwu District, Beijing 100053, China. zhenyuwww@126.com

Received: 2007-08-18 Revised: 2008-02-19

Abstract

AIM: To explore the preventative and curative function of *Hippophae rhamnoides* L in combination with Shugan Liqi drugs (Xiao Yao San) or Qingre Lishi drugs (Er Miao San) respectively on experimental mice with fatty liver diseases.

METHODS: Rats were randomly divided into

five groups: the normal group (N), the model (M), Dongbao Gantai (D), *Hippophae rhamnoides* L with Xiao Yao San (SA) or Er Miao San group (SB); in each group there were 10 rats. The rats in group N were fed with basic feed; the rats in the other groups were fed with food containing high fat for 8 wk, and then treated with the corresponding drugs while fed with high-fat diet and 250 mL/L alcohol 12 mL/kg per day for 1 mo. We observed the quantity of food intake, body weight, index of liver and spleen, and serum levels (mmol/L) of cholesterol (CHO), triglycerides (TG), low density lipoprotein (LDL), very low density lipoprotein (VLDL) and high density lipoprotein (HDL) as well as liver pathology before and after drug administration.

RESULTS: Two months after high-fat diet feeding and intervention of drugs, compared with those in group N, the body weights were increased in group M; the levels of serum CHO, TG, and VLD were obviously increased, and those of LDL and HDL were decreased dramatically. In comparison with those in group M, TG and VLDL levels were decreased in group SA and SB (TG: 3.9 ± 0.2 , 4.0 ± 0.1 vs 5.4 ± 0.3 ; VLDL: 2.4 ± 0.1 , 2.7 ± 0.1 vs 3.1 ± 0.2 , $P < 0.05$), and the quantity of food intake was also reduced; meanwhile, TG level was decreased in group D (3.3 ± 0.5 vs 5.4 ± 0.3 , $P < 0.05$). In group M, balloon-like liver cells were extensively observed, while in group SA and SB, the number and denaturalized severity of rat liver cells reduced.

CONCLUSION: *Hippophae rhamnoides* L combined with Xiao Yao San or Er Miao San can protect liver against the damages caused by alcohol and high fat, and the combination of *Hippophae rhamnoides* L with Xiao Yao San has a better preventative function.

Key Words: *Hippophae rhamnoides* L; High-fat food; Alcohol; Fatty liver disease

Wu ZY, Zhang Y, Li YH, Wu GJ, Zhang HM, Wen ZP, Liu XM, Wang RM. Preventative and curative function of *Hippophae rhamnoides* L combined with Shugan Liqi

背景资料

我国是世界上沙棘产量最大的国家. 近年来, 沙棘作为保健品开发利用较多, 但用于临床治疗疾病的研究不多. 为了更好地利用我国的优势资源, 根据沙棘的成分和功效, 本课题将其引用到对脂肪肝的防治研究中.

同行评议者
宣世英, 主任医师, 青岛市市立医院肝病内科

研发前沿
尽管沙棘成分多,功效多,但单味药作用有限,与有效组方配伍,将是今后研究的切入点。

or Qingre Lishi drugs on mice with fatty liver diseases. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2008; 16(7): 701-705

摘要

目的: 探讨沙棘分别与逍遥散及二妙散配伍对实验性脂肪肝大鼠的防治作用。

方法: 大鼠随机分为5组: 正常组(N)、模型组(M)、西药(东宝肝泰)组(D)、沙棘配逍遥丸组(SA)、沙棘配二妙散组(SB), 每组10只。正常组基础饲料喂养, 其余各组高脂饲料喂养8 wk后行药物干预, 并继续高脂每日加250 mL/L乙醇12 mL/kg, ig, 1 mo后观察进食量、体重、肝脾指数、用药前后血清总胆固醇(CHO, mmol/L)、三酰甘油(TG, mmol/L)、低密度脂蛋白(LDL, mmol/L)、极低密度脂蛋白(VLDL, mmol/L)、高密度脂蛋白(HDL, mmol/L)及肝脏病理改变。

结果: 高脂喂养2 mo和药物干预后, 与N组相比, M组大鼠体重增长加快, CHO, TG, LDL和VLD明显升高, HDL明显下降; 与M组相比, SA和SB组大鼠进食量减少、TG和VLDL下降(TG: 3.9 ± 0.2 , 4.0 ± 0.1 vs 5.4 ± 0.3 ; VLDL: 2.4 ± 0.1 , 2.7 ± 0.1 vs 3.1 ± 0.2 , $P < 0.05$), D组TG下降(3.3 ± 0.5 vs 5.4 ± 0.3 , $P < 0.05$)。肝脏病理方面, M组肝细胞呈广泛的气球样变, SA和SB组均能明显减少病变的肝细胞数和减轻病变程度。

结论: 沙棘与逍遥散及二妙散配伍对肝脏损伤有保护作用, 以沙棘与逍遥散配伍防治作用更好。

关键词: 沙棘; 高脂饲料; 酒精; 脂肪肝

吴振宇, 张云, 李永海, 吴广均, 张红梅, 温中平, 刘晓梅, 王荣梅. 沙棘与疏肝理气及清热利湿方配伍对脂肪肝大鼠的防治作用. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 701-705
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/701.asp>

0 引言

沙棘的药理作用有很多^[1], 大多研究都是针对沙棘单味药, 我们将沙棘和逍遥散及二妙散配伍使用, 研究两种组方的作用, 更加符合中医药临床实践。目前国内外脂肪肝的常用造模方法是: 单纯高脂饲料喂养3 mo^[2]、单纯乙醇喂养、高脂加酒精混合喂养以及高脂饲料喂养加四氯化碳^[3], 我们参照陆付耳 *et al*^[4]采用的造模方法, 在持续2 mo高脂饲料喂养的基础上加乙醇喂养造成脂肪肝动物模型, 观察沙棘与逍遥散及二妙散配伍对脂肪肝的防治作用。

1 材料和方法

1.1 材料 Wistar ♂ 大鼠50只, 体重 180 ± 20 g, 购自军事医学科学院动物中心。高脂饲料购自中国医学科学院动物中心, 250 mL/L乙醇(42度二锅头白酒配制), 沙棘果汁(北京高原圣果有限公司提供), 东宝肝泰(通化东宝药业股份有限公司生产), 逍遥散和二妙散由中国中医科学院广安门医院制剂中心提供。

1.2 方法 大鼠随机分为5组: 正常组(N)、模型组(M)、西药(东宝肝泰)组(D)、沙棘配逍遥丸组(SA)和沙棘配二妙散组(SB), 每组10只。正常组基础饲料喂养, 其余各组予高脂饲料喂养, 8 wk后行药物干预1 mo, 给药剂量是沙棘果汁8 mL/kg, 逍遥散3 g/kg, 二妙散3 g/kg, 正常组和模型组每天喂等体积的生理盐水。模型及各给药组继续高脂饲料喂养, 另加250 mL/L乙醇12 mL/kg ig。动物禁食禁水12 h后, 球后静脉丛取血, 全自动生化分析仪检测血脂。北医三院病理科石蜡切片, HE染色($\times 200$), Olympus IX70光学显微镜观察肝脏病理。

统计学处理 用SPSS13.0进行统计分析, 数据用mean \pm SD表示, 组间比较用单因素方差分析(F 检验), 检验水准 $P < 0.05$ 。

2 结果

2.1 进食量和体重 药物干预前, 进食量没有明显差异, 药物干预18 d, 各用药组进食量较模型组明显减少, 沙棘二种配方组减少更明显。给药29 d沙棘配方组进食量较模型组减少, 较用药初期有所增加, 东宝肝泰组进食量较模型组无差异(表1)。体重增长总趋势减少, d 1-31高脂饲料喂养各组体重增长与正常组比较无明显差异, d 32-59高脂饲料喂养各组体重增长较正常组明显加快($P < 0.05$), 给药29 d后, 各用药组体重增长较模型组明显减慢($P < 0.05$), 和正常组比较无显著性差异。模型及各给药组肝脾指数较正常组均增加($P < 0.01$), 脾指数均减少($P < 0.01$)。沙棘与逍遥散及二妙散配伍组较模型组肝、脾指数均无统计学差异, 有降低肝指数的趋势(表2)。

2.2 给药前后血脂比较 单纯高脂喂养2 mo, 和正常组比较, 模型组和各用药组血清总胆固醇(CHO), 三酰甘油(TG), 低密度脂蛋白(LDL), 极低密度脂蛋白(VLDL)明显升高($P < 0.01$), 高密度脂蛋白(HDL)明显下降($P < 0.01$)。加乙醇喂养并药物干预后, 和正常组比较, 模型组和各用药组CHO, TG, LDL和VLDL均明显升高($P < 0.05$)。

创新盘点
 本文将沙棘和逍遥散及二妙散配伍使用, 研究两种组方的作用, 更加符合中医药临床实践。

表 1 各组大鼠进食量比较(mean \pm SD, g, $n = 10$)

分组	高脂			用药	
	1-31 d	32-49 d	50-59 d	1-18 d	19-29 d
M	20.9 \pm 3.7	24.7 \pm 3.3	23.0 \pm 2.7	22.3 \pm 2.3	24.0 \pm 4.2
SA	20.5 \pm 5.1	23.6 \pm 2.5	20.2 \pm 5.4	16.9 \pm 3.4 ^a	21.2 \pm 9.9 ^a
SB	20.6 \pm 4.3	20.9 \pm 6.5	22.3 \pm 3.0	17.6 \pm 2.8 ^a	21.1 \pm 2.0 ^a
D	22.7 \pm 2.8	25.4 \pm 4.9	23.3 \pm 2.1	18.7 \pm 7.6 ^a	22.9 \pm 3.4

^a $P < 0.05$, $F = 3.19$ vs 模型组。表 2 各组大鼠体质量增长数(g)、肝指数和脾指数比较(mean \pm SD, $n = 10$)

分组	高脂1-31 d	高脂32-59 d	用药1-29 d	肝指数%	脾指数%
N	149.6 \pm 18.6	79.0 \pm 16.8 ^c	49.3 \pm 18.3 ^c	3.0 \pm 0.5 ^d	0.2 \pm 0.1 ^d
M	149.4 \pm 17.8	105 \pm 19.1 ^a	71.8 \pm 10.9 ^a	3.8 \pm 0.2 ^b	0.2 \pm 0 ^b
SA	140.2 \pm 41.3	108.3 \pm 19.1 ^a	50 \pm 13.4 ^c	3.6 \pm 0.4 ^b	0.1 \pm 0 ^b
SB	149.8 \pm 24.6	103.2 \pm 15.8 ^a	45.5 \pm 37.4 ^c	3.6 \pm 0.3 ^b	0.1 \pm 0 ^b
D	160.1 \pm 15.7	116.8 \pm 12.4 ^a	45.2 \pm 10.5 ^c	3.7 \pm 0.4 ^b	0.2 \pm 0 ^b

^a $P < 0.05$, $F = 3.59$, ^b $P < 0.01$, $F = 5.43$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$, $F = 3.26$, ^d $P < 0.01$, $F = 5.75$ vs 模型组。表 3 单纯高脂饲料喂养2 mo用药前血脂(mmol/L, mean \pm SD, $n = 10$)

分组	CHO	TG	HDL	LDL	VLDL
单纯高脂2 mo					
N	2.41 \pm 0.14 ^d	2.02 \pm 0.24 ^d	1.90 \pm 0.13 ^d	0.85 \pm 0.10 ^d	0.92 \pm 0.20 ^d
M	3.77 \pm 0.41 ^b	4.31 \pm 0.88 ^b	1.08 \pm 0.07 ^b	1.84 \pm 0.18 ^b	1.96 \pm 0.85 ^b
SA	3.66 \pm 0.50 ^b	3.61 \pm 0.50 ^b	1.16 \pm 0.08 ^b	1.88 \pm 0.39 ^b	1.64 \pm 0.23 ^b
SB	3.59 \pm 0.17 ^b	4.62 \pm 0.71 ^b	1.09 \pm 0.40 ^b	1.77 \pm 0.14 ^b	2.10 \pm 0.32 ^b
D	3.77 \pm 0.59 ^b	3.82 \pm 0.56 ^b	1.06 \pm 0.05 ^b	1.90 \pm 0.33 ^b	1.74 \pm 0.71 ^b
药物干预1 mo					
N	2.46 \pm 0.33 ^d	3.11 \pm 0.27 ^{de}	1.59 \pm 0.20 ^{oe}	0.95 \pm 0.13 ^d	1.41 \pm 0.31 ^{de}
M	6.25 \pm 0.20 ^{bf}	5.44 \pm 0.34 ^{be}	1.01 \pm 0.10 ^a	2.92 \pm 0.38 ^{bf}	3.11 \pm 0.15 ^{bf}
SA	5.85 \pm 0.68 ^{bf}	3.94 \pm 0.21 ^{bc}	1.04 \pm 0.19 ^a	2.61 \pm 0.26 ^{be}	2.44 \pm 0.09 ^{ace}
SB	5.92 \pm 0.33 ^{bf}	3.99 \pm 0.13 ^{bc}	1.06 \pm 0.15 ^a	2.62 \pm 0.19 ^{be}	2.65 \pm 0.06 ^{ace}
D	5.97 \pm 0.56 ^{bf}	3.26 \pm 0.49 ^{bc}	1.09 \pm 0.19 ^a	2.57 \pm 0.22 ^{be}	2.97 \pm 0.22 ^{ae}

^a $P < 0.05$, $F = 3.18$, ^b $P < 0.01$, $F = 5.47$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$, $F = 3.16$, ^d $P < 0.01$, $F = 6.28$ vs 模型组; ^e $P < 0.05$, $F = 3.61$, ^f $P < 0.01$, $F = 6.93$ vs 用药前。

或 $P < 0.01$), HDL明显下降($P < 0.05$). 和模型组比较, 沙棘与逍遥散及沙棘与二妙散配伍组TG和VLDL下降, 东宝肝泰组TG下降($P < 0.05$). 用药后与用药前自身配对比较, 正常组TG, VLDL升高, HDL下降($P < 0.05$), 模型组CHO, TG, LDL, VLDL升高($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 各给药组CHO, LDL, VLDL升高($P < 0.05$), TG, HDL无统计学差异(表3).

2.3 肝脏病理分析 整体观察正常组肝脏红润, 质

软, 模型组呈白色, 质硬. 沙棘配逍遥散组及沙棘配二妙散组较模型组改善明显, 呈红色, 质较软, 东宝肝泰组黄白色, 质硬(图1). 光镜下正常组门管区肝细胞呈窦状整齐排列, 细胞致密. 细胞核位于细胞中央, 多为双核, 核仁清楚, 模型组肝细胞呈广泛的气球样变, 细胞排列不规则, 细胞核多挤向细胞边缘, 核仁不清, 出现Mallory小体和凋亡小体, 门管区及其周围出现中度炎症, 可见中性粒细胞和多形核巨细胞浸润. 沙棘

应用要点

本课题发现沙棘与疏肝理气方逍遥散及清热利湿方二妙散配伍均能较好地控制脂肪肝大鼠的进食量和体质量增长,调节部分血脂紊乱,减轻肝脏病理损伤,沙棘与疏肝理气方配伍改善肝脏病理损伤效果更加显著。

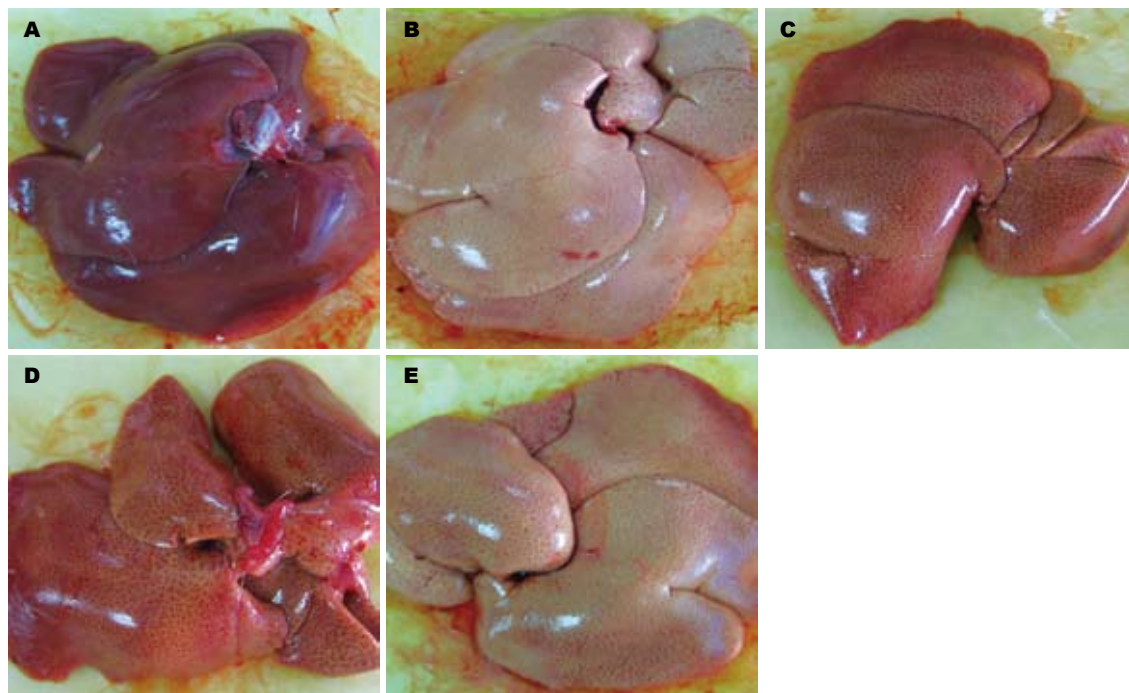


图1 大鼠肝脏整体观察. A: 正常组; B: 模型组; C: 沙棘配逍遥散组; D: 沙棘配二妙散组; E: 东宝肝泰组.

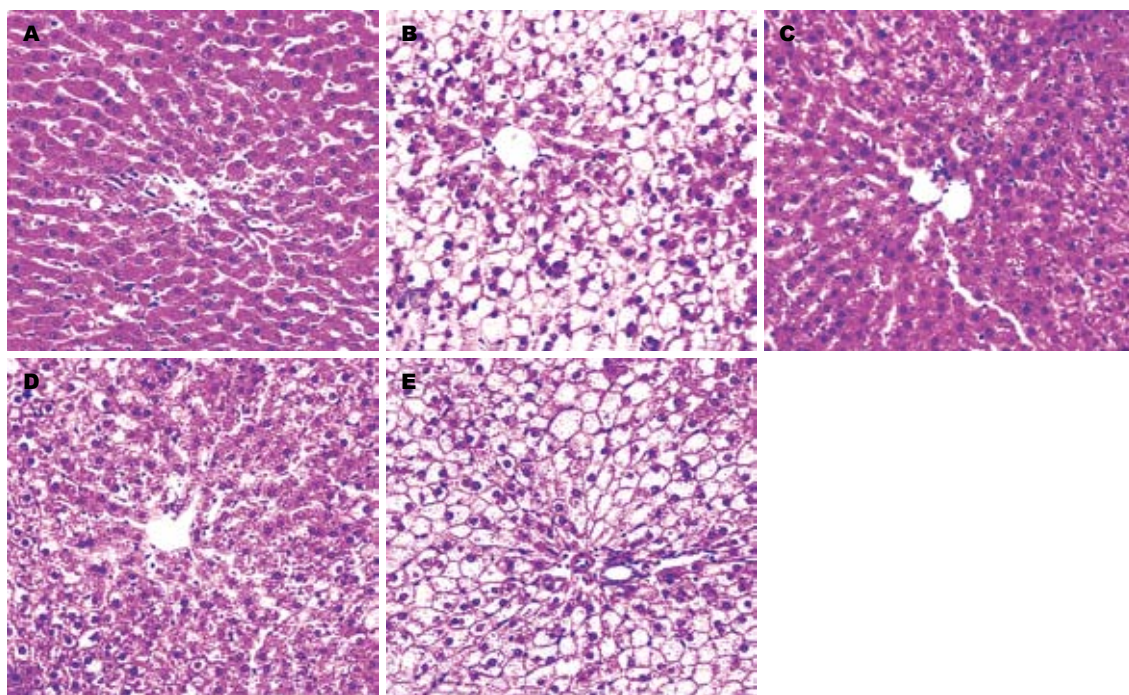


图2 大鼠肝脏病理学光镜下(H&E × 200). A: 正常组; B: 模型组; C: 沙棘配逍遥散组; D: 沙棘配二妙散组; E: 东宝肝泰组.

配逍遥散组及沙棘配二妙散组较模型组均有明显改善,以沙棘配逍遥散组效果更佳.东宝肝泰组较模型组无明显改善(图2).

3 讨论

单纯高脂喂养2 mo后,进食量和体质量增长明显加速,血脂代谢发生紊乱: HDL明显下降、TG,

CHO, LDL和VLDL升高.继续高脂加酒精喂养1 mo后,正常组血清TG, VLDL升高, HDL下降,可能是正常大鼠随着年龄增长自然产生的现象.模型组血脂代谢紊乱进一步加重, CHO, TG, LDL和VLDL继续升高,沙棘两种配方组对TG和VLDL有较强的下调作用,对CHO, LDL和HDL无明显调节作用,但有改善的趋势,东宝肝泰只

对TG有显著下调作用. 高脂喂养2 mo基础上, 高脂加乙醇喂养1 mo后, 模型组肝指数增加、脾指数减小, 肝脏质地变硬、颜色变白, 肝细胞呈广泛的气球样变, 细胞排列不规则, 细胞核多挤向细胞边缘, 核仁不清, 出现Mallory小体等重度脂肪肝病损, 说明本实验造模方法成功. 沙棘两种配方组均能使肝脏病理损伤减轻, 肝脏质地变软、颜色变红、细胞气球样变和脂肪变明显减轻, 东宝肝泰对肝脏病理损伤无明显保护作用.

沙棘果汁是从沙棘果实中提炼出的一类天然植物产品, 含有丰富的维生素C、糖类、氨基酸、脂肪酸以及多种微量元素、黄酮、甾体类化合物, 其性温、味酸涩, 入肝、胃、大肠、小肠经, 是蒙古族、藏族和维吾尔族民间传统草药, 具有活血化瘀通络、化痰宽胸、补脾健胃等功效^[5]. 沙棘能对抗脂质过氧化, 从而保护肝细胞膜, 同时能对抗肝受损后所致的肝丙二醛和谷丙转氨酶增高^[1]. 逍遥散主要由柴胡、白术、茯苓、当归、白芍、炙甘草等组成, 具疏肝、健脾、养血柔肝等功效; 二妙散主要由黄柏、苍术组成, 有清热利湿的功效. 张春光^[6]认

为脂肪肝主要由于嗜酒嗜食肥甘厚味, 脾被湿困, 痰湿内生, 阻滞气机, 痰阻血瘀, 结于胁下而为痞块. 其根本不离脾胃升降失调、肝木失其疏泄. 治疗方法有调理脾胃法、疏肝理气法、祛痰利湿法等. 我们发现沙棘与疏肝理气方逍遥散及清热利湿方二妙散配伍均能很好地控制脂肪肝大鼠的进食量和体质量增长, 调节部分血脂紊乱, 减轻肝脏病理损伤, 沙棘与疏肝理气方配伍改善肝脏病理损伤效果更加显著.

同行评价
本课题设计合理, 方法得当, 数据可靠, 具有很好的学术价值.

4 参考文献

- 1 田涛. 沙棘药理作用. 西南国防医药 2006; 16: 115-117
- 2 Dong H, Lu FE, Gao ZQ, Xu LJ, Wang KF, Zou X. Effects of emodin on treating murine nonalcoholic fatty liver induced by high caloric laboratory chow. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 1339-1344
- 3 孙要武, 何宝国, 吴嘉慧, 李省三. 大鼠脂肪肝实验模型的建立. 齐齐哈尔医学院学报 2005; 26: 361-363
- 4 陆付耳, 董慧, 高志强, 徐丽君, 魏世超, 王开富, 邹欣. 中药肝脂复煎剂对酒精和高脂饲养诱导的大鼠脂肪肝的影响. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1596-1599
- 5 葛志红, 梁毅, 伍耀衡. 沙棘汁对再生障碍性贫血小鼠骨髓红系祖细胞、粒单系祖细胞的影响. 新中医 2003; 35: 73-74
- 6 张春光. 脾升胃降、肝木疏泄论治脂肪肝. 浙江中医药大学学报 2007; 31: 358-359

编辑 程剑侠 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志在线办公系统

本刊讯 自2005-12-15起, 世界华人消化杂志正式开通了在线办公系统(<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>), 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、编者之间的信息反馈交流. 凡在在线办公系统注册的用户, 将可获得世界华人消化杂志最新出版消息.

ER β 重组质粒的构建及其在结肠癌细胞株Caco-2中的表达

翟荣林, 王国斌, 蔡开琳, 许飞, 田元

背景资料
大量流行病学和实验证据显示雌激素与结直肠癌发生密切相关, 应用雌激素替代疗法(ERT)可以显著降低绝经期妇女患结直肠癌的风险。

翟荣林, 王国斌, 蔡开琳, 许飞, 田元, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科 湖北省武汉市 430022
翟荣林, 华中科技大学同济医学院在读博士, 主要从事胃肠道肿瘤的表现遗传学发病机制研究。
国家自然科学基金资助课题资助项目, No. 30500488
作者贡献分布: 本课题翟荣林, 王国斌, 蔡开琳设计; 研究过程由翟荣林, 王国斌, 蔡开琳, 许飞及田元操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由许飞, 田元提供; 数据分析由翟荣林, 蔡开琳完成; 本论文写作由翟荣林, 王国斌及蔡开琳完成。
通讯作者: 蔡开琳, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院普外科。caikailin@yahoo.com.cn
电话: 027-85351619
收稿日期: 2007-11-16 修回日期: 2008-01-15

Recombination of ER β eukaryotic expression vector and its expression in Caco-2 cells

Rong-Lin Zhai, Guo-Bin Wang, Kai-Lin Cai, Fei Xu, Yuan Tian

Rong-Lin Zhai, Guo-Bin Wang, Kai-Lin Cai, Fei Xu, Yuan Tian, Department of General Surgery, 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. 30500488
Correspondence to: Kai-Lin Cai, Department of General Surgery, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022. Hubei Province, China. caikailin@yahoo.com.cn
Received: 2007-11-16 Revised: 2008-01-15

Abstract

AIM: To construct the recombinant plasmid pEGFP-C1-ER β with gene recombinant technique and detect its expression in Caco-2 cells.

METHODS: ER β gene in total RNA was isolated from human normal colon tissue of colorectal cancer patients and its segments were amplified by RT-PCR. The obtained cDNA was cloned into eukaryotic expression vector pEGFP-C1 to generate recombinant pEGFP-C1-ER β . Sequence of the inserted gene was identified and analyzed after restriction enzyme digestion. Liposome-mediated recombinant plasmid pEGFP-C1-ER β

was transfected into Caco-2 cells and identified by flow cytometry (FCM). RT-PCR and Western blot were used to detect expression of the ER β gene at molecular level before and after transfection.

RESULTS: Recombinant pEGFP-C1-ER β was confirmed by restriction enzyme digestion and sequence analysis. The expression of Caco-2 cells transfected with pEGFP-C1-ER β was higher than that of other controls.

CONCLUSION: Recombinant pEGFP-C1-ER β can be successfully constructed and expressed in Caco-2 cells, which lays a foundation for further study on ER β gene in carcinogenesis by regulating the expression of down stream target gene through estrogenic hormone receptor.

Key Words: Estrogenic hormone receptor β ; Gene recombination; Eukaryotic expression vector; Colon cancer

Zhai RL, Wang GB, Cai KL, Xu F, Tian Y. Recombination of ER β eukaryotic expression vector and its expression in Caco-2 cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 706-710

摘要

目的: 基因重组技术构建重组质粒pEGFP-C1-ER β 并检测其在结肠癌细胞株Caco-2中的表达。

方法: 应用RT-PCR从人结肠癌手术患者正常切缘组织中分离、扩增目的基因片段, 将所得cDNA定向克隆到真核表达载体pEGFP-C1中, 采用双酶切和测序分析鉴定插入基因的序列; 脂质体介导重组质粒pEGFP-C1-ER β 瞬时转染Caco-2并上流式细胞仪分选, 获得比较单一的转染细胞; 分别采用RT-PCR、Western blot检测转染前后ER β 基因不同分子水平表达。

结果: 酶切鉴定和测序分析表明重组表达质粒pEGFP-C1-ER β 构建无误; RT-PCR和Western blot分析均表明, 与转染空质粒pEGFP-C1组和空白对照组细胞相比, 转染重

同行评议者
姚登福, 教授, 南通大学附属医院

组表达质粒pEGFP-C1-ER β 组细胞ER β 基因表达水平明显提高。

结论: 成功构建重组质粒pEGFP-C1-ER β 并在Caco-2细胞株中表达, 为进一步研究ER β 如何通过雌激素受体通路调控下游靶基因表达和参与结肠癌表遗传学发生机制奠定了基础。

关键词: 雌激素受体 β ; 基因重组; 真核表达载体; 结肠癌

翟荣林, 王国斌, 蔡开琳, 许飞, 田元. ER β 重组质粒的构建及其在结肠癌细胞株Caco-2中的表达. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 706-710
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/706.asp>

0 引言

大量流行病学和实验证据显示雌激素与结直肠癌发生密切相关^[1-2]。Franceschi *et al*^[3]研究表明绝经后的妇女罹患结直肠癌的风险较绝经前妇女高。Nanda *et al*^[4]报道应用雌激素替代疗法可以降低绝经期妇女患结直肠癌的风险约30%-40%。雌激素属于甾体类激素, 发挥生物学活性需要结合靶器官中雌激素受体(estrogen receptor, ER)。ER分为 α 和 β 两个亚型, 在结肠黏膜组织中, 主要是ER β 表达, ER α 不表达或很少表达^[5]。与正常结肠黏膜组织相比, 结直肠癌组织中ER β 表达显著降低, 作为一种防护因素, ER β 表达失活与结直肠癌发生密切相关^[6]。本研究拟通过基因重组技术克隆构建ER β 真核表达载体并转染结肠癌细胞株Caco-2, 以期重新恢复ER β 的表达, 探讨ER β 如何通过雌激素受体通路调控下游靶基因表达和参与结肠癌表遗传学发生机制。

1 材料和方法

1.1 材料 空质粒pEGFP-C1购自上海吉凯公司, DMEM、胎牛血清、感受态细菌DH5a、LB培养基、限制性内切酶和T4 DNA连接酶均为Gibco公司产品, 脂质体Lipofectamine2000和DNA Ladder购自Invitrogen公司, 鼠抗人ER β mAb购自武汉晶美生物, 结肠癌细胞株Caco-2由本室保存。

1.2 方法

1.2.1 目的基因ER β 的扩增及纯化: 根据GenBank中人ER β 基因cDNA编码系列(Gene ID: BC024181), 设计2条PCR引物, 由上海生工生物工程技术有限公司合成, 并分别在上下游

引物中引入Xho I 和Sac II 限制性内切酶位点。上游引物: 5'-CCG CTCGA GCT ATG GAT ATA AAA AAC TCA CCA TC-3', 下游引物: 5'-TCC CCG CGG TCG CAT TTC CCC TCA TCC-3'。从人结肠癌手术患者正常切缘组织中提取总RNA, 并用上述引物通过RT-PCR法扩增得到目的基因cDNA片段, 使用琼脂糖凝胶回收试剂盒回收PCR产物。

1.2.2 重组质粒pEGFP-C1-ER β 的体外构建: 将PCR产物和空质粒pEGFP-C1用Xho I 和Sac II 进行双酶切, 分别回收并纯化972 bp和4.7 kb的片段; 用T4 DNA连接酶将972 bp的目的基因片段连入线性化的pEGFP-C1中, 转化感受态大肠杆菌DH5a, 挑选单个阳性菌落接种于含卡那霉素的液体LB培养基中, 37℃振荡过夜, 以碱裂解法大量提取质粒。用Xho I 和Sac II 双酶切鉴定, 获得的阳性克隆命名为pEGFP-C1-ER β , 取适量纯化的重组质粒样品送上海生工测序分析。

1.2.3 脂质体介导的pEGFP-C1-ER β 瞬时转染及流式分选: 结肠癌细胞株Caco-2体外常规培养并传代维持, 取状态良好的细胞以 2×10^5 /L接种于6孔板内。待细胞80%融合时, 采用Lipofectamine2000介导分别转染pEGFP-C1-ER β 、pEGFP-C1到Caco-2细胞中。实验共分三组, 转染重组质粒组(pEGFP-C1-ER β 组), 转染空质粒组(pEGFP-C1组), 同时设空白对照组, 只加入等量脂质体, 其余步骤同上, 每组设3复孔。转染24、48和72 h后, 荧光显微镜下观察细胞内绿色荧光蛋白表达情况, 评价转染效率。72 h后收集各组细胞行流式细胞仪分选转染和未转染的Caco-2细胞。

1.2.4 目的基因ER β 在Caco-2中的表达: 针对流式分选获得的各组Caco-2细胞, 每组取 10^5 个细胞, TRIzol一步法提取细胞总RNA, 并用先前设计的上下游引物, RT-PCR检测ER β mRNA的表达。PCR扩增的条件为: 94℃变性5 min后, 按下述参数循环30次: 94℃变性60 s, 55℃退火45 s, 72℃延伸60 s; 最后72℃延伸5 min, 4℃保存。15 g/L琼脂糖凝胶电泳分析各组PCR产物并拍照保存。另每组取 5×10^6 个细胞, 加100 μ L细胞裂解液和2 μ L蛋白酶抑制剂, 提取细胞总蛋白。取50 μ g细胞总蛋白, 10 g/L SDS-PAGE电泳, 转PVDF膜, 1:200稀释的鼠抗人ER β 单抗, 碱性磷酸酶标记的兔抗鼠二抗, DAB显色, Western blot检测核内ER β 蛋白表达水平。

研发前沿
ER β 基因作为结肠黏膜细胞中的优势受体, 其表达失活与结肠癌发生密切相关。最新的研究则提示, ER β 基因很可能是作为一个抑癌基因发挥重要作用。

相关报道
Klinge *et al*研究指出, 雌激素存在时, ER β 结合于靶基因启动子中的雌激素反应元件(ERE)上, 对基因的转录发挥反式调控作用, 但其作用结果与ER α 不同, 更倾向抑制细胞增殖, 促进分化。

创新盘点

本文采用基因重组技术体外构建ER β 真核表达质粒,并在脂质体的介导下转染进入结肠癌细胞株Caco-2,以期恢复ER β 基因在结肠癌细胞中的正常表达水平和功能。

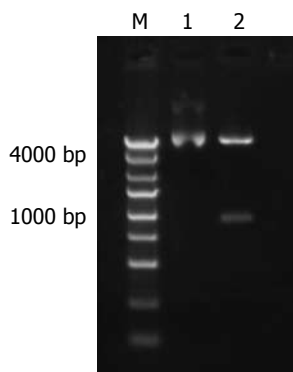


图1 重组质粒酶切鉴定。1: pEGFP-C1+*Xho*+*Sac*; 2: pEGFP-C1-ER β +*Xho*+*Sac*; M: marker.

2 结果

2.1 重组质粒pEGFP-C1-ER β 酶切鉴定及测序分析 对构建的重组质粒pEGFP-C1-ER β 以及空质粒分别采用限制性内切酶*Xho* I 和*Sac* II 双酶切,并行15 g/L琼脂糖凝胶电泳分析。空质粒酶切后电泳显示为单一的5600 bp左右的条带;而重组质粒双酶切后,则可同时获得972 bp和4700 bp左右的2条片段,其中前者为目的基因片段,后者为空质粒片段,说明空质粒pEGFP-C1中已插入ER β 基因片段,且插入方向无误(图1)。选取经酶切鉴定正确的重组质粒进行核苷酸序列测定,结果表明,测序序列与GenBank中人ER β 基因原始序列完全相同,重组质粒pEGFP-C1-ER β 构建成功(图2)。

2.2 RT-PCR检测目的基因在Caco-2中的表达 转染24 h后在荧光显微镜下观察可见,除空白对照组外, pEGFP-C1-ER β 组与pEGFP-C1组细胞都能发出特异性的绿色荧光, 48 h后荧光明显加强, 72 h后通过粗略计数可以发现转染效率在33%左右(图3), 经流式分选后则为比较单一的转染细胞。RT-PCR分析表明, 只有pEGFP-C1-ER β 组样本在约1.0 kb处有一特异性扩增条带, 而pEGFP-C1组和空白对照组均未见明显的特异性扩增条带(图4)。这表明, 结肠癌细胞株Caco-2在导入重组质粒pEGFP-C1-ER β 后, 目的基因ER β mRNA转录与其他组相比显著提高。

2.3 Western blot检测目的基因在Caco-2中的表达 将空质粒pEGFP-C1及重组表达质粒pEGFP-C1-ER β 分别导入结肠癌细胞株Caco-2, 流式分选后收集各组细胞, 提取总蛋白进行SDS-PAGE, 用ER β 抗体进行Western blot检测。结果表明, 转染重组表达质粒pEGFP-C1-ER β 组的Caco-2细胞表达了相对分子量约为63 000 kDa的ER β 蛋白, 与转染空质粒pEGFP-C1组以及空白对照组细胞

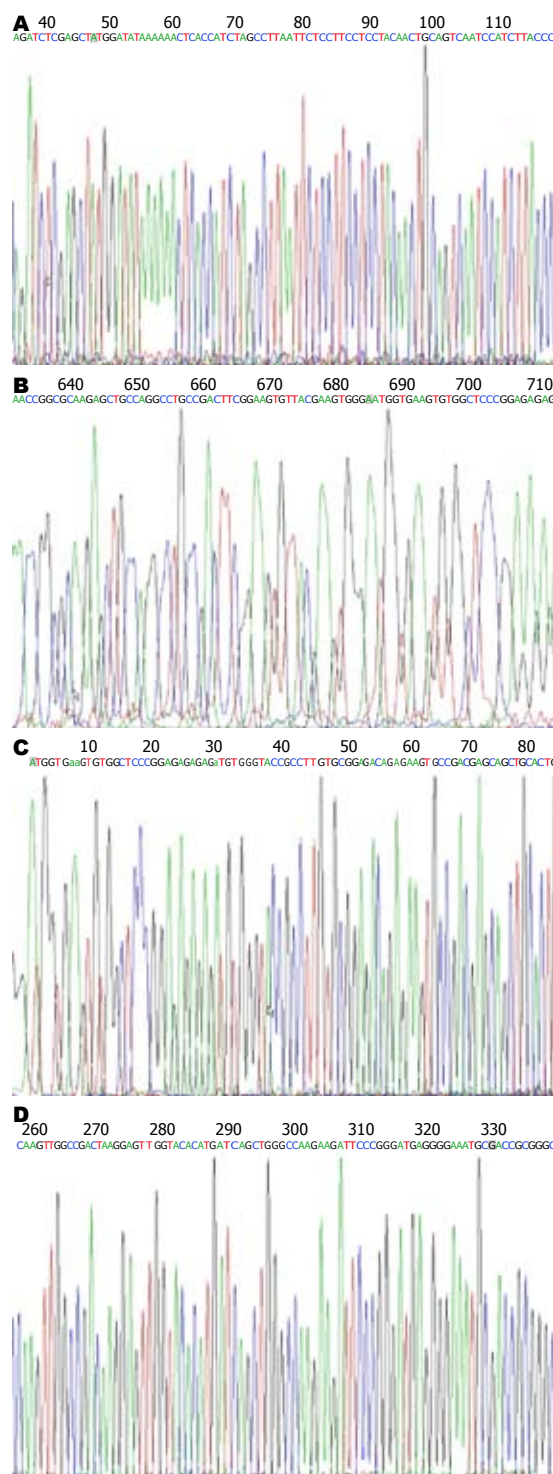


图2 重组质粒pEGFP-C1-ER β 测序结果。

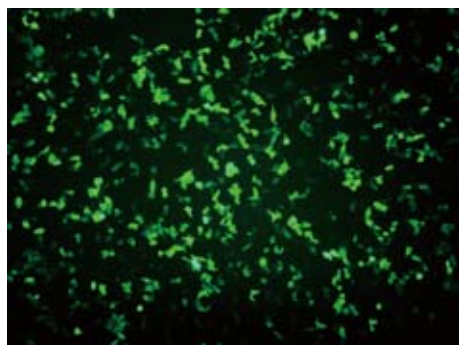
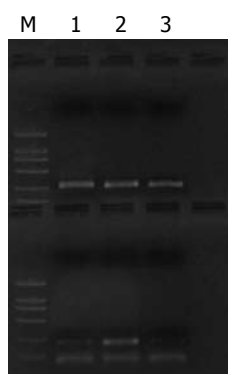
相比, ER β 蛋白表达水平明显提高(图5)。

3 讨论

Wada-Hiraike *et al*^[7-8]研究均表明, ER β 在维持正常结肠上皮细胞生长以及结肠隐窝构造方面发挥重要作用, ER β 基因敲除后, 大鼠处于增殖状态的细胞数目明显增多, 细胞凋亡明显减少, 细胞从结肠隐窝基底部向肠腔表面迁徙的速率明

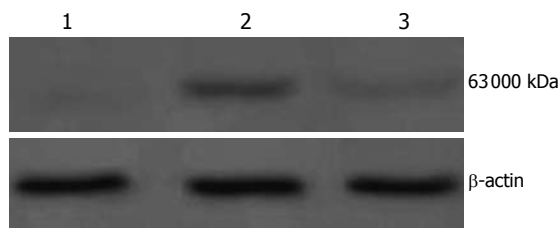
应用要点

本文为深入了解ER β 基因在结直肠癌发生中的作用以及ER β 基因对雌激素受体通路靶基因的调控方式奠定了基础。

图3 绿色荧光蛋白在Caco-2中的表达($\times 100$).图4 RT-PCR检测ER β 基因表达. 1: pEGFP-C1组; 2: pEGFP-C1-ER β 组; 3: 空白对照组; M: marker.

显增快, 上皮细胞标志物CK20、层黏连蛋白以及半桥粒蛋白的表达均显著降低. 结肠正常黏膜细胞中只有ER β 表达^[5], 因此, 雌激素替代治疗对降低绝经后的妇女患结肠癌的风险的效应, 应该是通过结肠黏膜中的唯一雌激素受体ER β 来介导的. 在雌激素存在时, 雌激素受体ER β 结合于靶基因启动子中的雌激素反应元件上, 对基因的转录发挥反式调控作用, 但其作用结果与ER α 不同, 更倾向抑制细胞增殖, 促进分化^[9], 这可解释雌激素促进乳腺等其他一些以ER α 为主的靶器官发生肿瘤, 而对结肠肿瘤发生的保护和抑制作用, 也与ER β 基因表达与结肠恶变进展的负相关现象相符合^[6].

女性结肠癌患者肿瘤组织与正常组织相比, ER β 表达水平明显降低, 与男性患者相比, ER β mRNA表达水平也显著降低^[10]. 这意味着ER β 对女性群体来说是一种保护因素, 一旦其表达降低, 保护作用消失, 罹患结肠癌的风险就明显增加. Xie *et al*^[11]和Foley *et al*^[12]的研究都发现, 结肠癌组织与相应的正常结肠组织相比, ER β 蛋白水平显著降低, 而在mRNA水平上两者的表达并没有显著的不同, ER β 表达失活促进结肠上皮细胞的恶性转化可能是基于某种转录后的机制. 前列腺癌和乳腺癌的研究也表明, ER β 在癌组织中的表达水平显著降低, 并且这种降低与肿瘤

图5 Western blot检测ER β 基因表达. 1: pEGFP-C1组; 2: pEGFP-C1-ER β 组; 3: 空白对照组.

同行评价
本文研究设计合理, 条理分明, 结论明确, 反映了我国胃肠病学基础研究水平.

细胞恶性程度呈明显的负相关^[13-14]. 越来越多的证据提示, ER β 基因可能是作为一个抑癌基因发挥重要作用^[15]. 目前, 通过外源导入ER β 来研究其相关功能的研究已有报道^[16], 不过因为ER β 基因发现较晚, 类似的报道并不多. 本研究特别把ER β 表达水平较低的Caco-2细胞株作为研究对象, 通过构建并转染ER β 真核表达载体, 来重新恢复ER β 在Caco-2中的正常表达. 结果表明, ER β 基因核酸序列插入正确, 重组载体导入Caco-2后ER β 基因表达水平明显增高, 为进一步研究ER β 基因通过雌激素受体通路如何调控下游靶基因的表达以及如何参与结直肠癌表遗传学发生机制奠定了基础.

4 参考文献

- 1 Grodstein F, Newcomb PA, Stampfer MJ. Postmenopausal hormone therapy and the risk of colorectal cancer: a review and meta-analysis. *Am J Med* 1999; 106: 574-582
- 2 Crandall CJ. Estrogen replacement therapy and colon cancer: a clinical review. *J Womens Health Genet Based Med* 1999; 8: 1155-1166
- 3 Franceschi S, Gallus S, Talamini R, Tavani A, Negri E, La Vecchia C. Menopause and colorectal cancer. *Br J Cancer* 2000; 82: 1860-1862
- 4 Nanda K, Bastian LA, Hasselblad V, Simel DL. Hormone replacement therapy and the risk of colorectal cancer: a meta-analysis. *Obstet Gynecol* 1999; 93: 880-888
- 5 Takeyama J, Suzuki T, Inoue S, Kaneko C, Nagura H, Harada N, Sasano H. Expression and cellular localization of estrogen receptors alpha and beta in the human fetus. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 2258-2262
- 6 Konstantinopoulos PA, Kominea A, Vondoros G, Sykiotis GP, Andricopoulos P, Varakis I, Sotiropoulou-Bonikou G, Papavassiliou AG. Oestrogen receptor beta (ERbeta) is abundantly expressed in normal colonic mucosa, but declines in colon adenocarcinoma paralleling the tumour's dedifferentiation. *Eur J Cancer* 2003; 39: 1251-1258
- 7 Wada-Hiraike O, Warner M, Gustafsson JA. New developments in oestrogen signalling in colonic epithelium. *Biochem Soc Trans* 2006; 34: 1114-1116
- 8 Wada-Hiraike O, Imamov O, Hiraike H, Hultenby K, Schwend T, Omoto Y, Warner M, Gustafsson JA. Role of estrogen receptor beta in colonic epithelium.

- 9 Klinge CM. Estrogen receptor interaction with estrogen response elements. *Nucleic Acids Res* 2001; 29: 2905-2919
- 10 Campbell-Thompson M, Lynch IJ, Bhardwaj B. Expression of estrogen receptor (ER) subtypes and ERbeta isoforms in colon cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 632-640
- 11 Xie LQ, Yu JP, Luo HS. Expression of estrogen receptor beta in human colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 214-217
- 12 Foley EF, Jazaeri AA, Shupnik MA, Jazaeri O, Rice LW. Selective loss of estrogen receptor beta in malignant human colon. *Cancer Res* 2000; 60: 245-248
- 13 Leav I, Lau KM, Adams JY, McNeal JE, Taplin ME, Wang J, Singh H, Ho SM. Comparative studies of the estrogen receptors beta and alpha and the androgen receptor in normal human prostate glands, dysplasia, and in primary and metastatic carcinoma. *Am J Pathol* 2001; 159: 79-92
- 14 Zhao C, Lam EW, Sunter A, Enmark E, De Bella MT, Coombes RC, Gustafsson JA, Dahlgren-Wright K. Expression of estrogen receptor beta isoforms in normal breast epithelial cells and breast cancer: regulation by methylation. *Oncogene* 2003; 22: 7600-7606
- 15 Bardin A, Boule N, Lazennec G, Vignon F, Pujol P. Loss of ERbeta expression as a common step in estrogen-dependent tumor progression. *Endocr Relat Cancer* 2004; 11: 537-551
- 16 朱建华, 叶棋浓, 江泽飞, 钟红君, 严景华, 吕秋军, 宋三泰, 黄翠芬. ERβ表达载体的构建及其在肿瘤细胞中的功能研究. *中华肿瘤杂志* 2003; 25: 340-343

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

《世界华人消化杂志》简介

《世界华人消化杂志》创刊于1993-01-15, 原刊名《新消化病学杂志》, 1999-03-25经国家科学技术部和新闻出版总署批准更名为《世界华人消化杂志》, 国科发财字[1999] 071号, 国内统一刊号CN 14-1260/R, 国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内外公开发行的综合性消化病学类学术期刊. 2002-11-14经国家工商行政管理总局商标局核定使用商品(第16类), 获得商标注册证第2001071号.

《世界华人消化杂志》为保证期刊的学术质量, 对所有来稿均进行同行评议, 是一份被中国科技论文统计源核心期刊和中文核心期刊要目总览收录的学术类期刊.

《世界华人消化杂志》发表的英文摘要被美国《化学文摘(Chemical Abstracts)》, 荷兰《医学文摘库/医学文摘(EMBASE/Excerpta Medica)》, 俄罗斯《文摘杂志(Abstracts Journals)》收录.

《世界华人消化杂志》综合介绍消化病学前沿基础与临床研究的发现, 覆盖消化病学领域中经临床实验证明的技术进展.

从1993-2007《世界华人消化杂志》发表的文章可以在线<http://www.wjgnet.com>免费阅读全文.

《世界华人消化杂志》综合介绍以下内容: 消化基础研究、消化临床研究、消化内科、消化内镜、消化外科、消化肿瘤、消化介入治疗、消化护理、消化医学影像、消化病理、消化预防医学、消化误诊误治、消化中西医结合、消化检验、消化新技术应用、消化病诊断、消化病治疗、消化新药应用、消化专家门诊.

《世界华人消化杂志》开通了<http://www.wjgnet.com/wcjd/ch/index.aspx>在线办公系统, 实现了在线投稿和审稿等功能.

结肠癌Lovo细胞*RUNX3*基因的表达与其增殖及凋亡的关系

倪志, 鲍缦夕, 刘南植, 赵秋, 覃华, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷

倪志, 鲍缦夕, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷, 武警海南总队医院消化内科 海南省海口市 570203

刘南植, 赵秋, 覃华, 华中科技大学同济医学院附属同济医院消化内科 湖北省武汉市 430030

倪志, 2003年华中科技大学同济医学院硕士, 主治医师, 主要从事消化系统疾病临床及基础研究。

作者贡献分布: 此课题由倪志、刘南植、赵秋及覃华共同设计; 研究过程由刘南植指导; 倪志、鲍缦夕、覃华及杨彦操作完成; 研究所用分析工具由刘南植、赵秋提供; 数据分析由倪志、邱艺坚和王婷婷完成; 本论文写作由倪志、鲍缦夕和刘南植完成。

通讯作者: 倪志, 570203, 海南省海口市文明东路49号, 武警海南总队医院消化内科。hknizhi@163.com

电话: 0898-65343033

收稿日期: 2007-07-05 修回日期: 2008-02-19

Relationship between tumor suppressor gene *RUNX3* expression and cell proliferation and apoptosis in colonic cancer cell line Lovo

Zhi Ni, Man-Xi Bao, Nan-Zhi Liu, Qiu Zhao, Hua Qin, Yan Yang, Yi-Jian Qiu, Ting-Ting Wang

Zhi Ni, Man-Xi Bao, Yan Yang, Yi-Jian Qiu, Ting-Ting Wang, Department of Gastroenterology, Hainan Corps Hospital, Chinese People Armed Police Army, Haikou 570203, Hainan Province, China

Nan-Zhi Liu, Qiu Zhao, Hua Qin, Department of Gastroenterology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Zhi Ni, Department of Gastroenterology, Hainan Corps Hospital, Chinese People Armed Police Army, 49 Wenming Eastern Road, Haikou 570203, Hainan Province, China. hknizhi@163.com

Received: 2007-07-05 Revised: 2008-02-19

Abstract

AIM: To investigate the expression and methylation status of tumor suppressor gene *RUNX3* in human colon cancer cell line Lovo and explore the effects of 5-aza-2'-deoxycytidine (5-Aza-CdR) on the proliferation and apoptosis of Lovo cells and the expression of *RUNX3* gene.

METHODS: Human colon cancer cell line Lovo was treated with 5-Aza-CdR, a specific methyltransferase inhibitor, at the concentrations of 0.4, 4 and 40 $\mu\text{mol/L}$ for 3 d, and then cultured in RPMI 1640 medium for 5 d. The activation of Lovo cells was respectively observed by Tetrazolium salt colorimetric (MTT) assay before and after 5-Aza-CdR treatment. The change in expression of *RUNX3* mRNA was observed by semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The apoptosis was analyzed by flow cytometry. The methylation status of gene promoter was determined by methylation-specific PCR (MSP).

razolium salt colorimetric (MTT) assay before and after 5-Aza-CdR treatment. The change in expression of *RUNX3* mRNA was observed by semi-quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). The apoptosis was analyzed by flow cytometry. The methylation status of gene promoter was determined by methylation-specific PCR (MSP).

RESULTS: Lovo cells treated with 5-Aza-CdR (0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$) displayed a slowed growth rates in different degrees in contrast with those in the control group and their growth rates decreased accordingly with the increase of 5-Aza-CdR concentration. There were significant increases in *RUNX3* mRNA expression (0.46 ± 0.06 , 0.71 ± 0.06 , 0.84 ± 0.07 vs 0, $P < 0.01$) and apoptotic rates of Lovo cells ($10.95\% \pm 2.09\%$, $17.61\% \pm 1.51\%$, $26.60\% \pm 1.89\%$ vs $2.92\% \pm 0.93\%$, $P < 0.01$) after 5-Aza-CdR treatment in comparison with those in the control group. The level of *RUNX3* mRNA expression and the apoptotic rates of Lovo cells were increased in correlation with 5-Aza-CdR concentration ($F = 168.4$, $F = 145.7$, $P < 0.01$). Methylation of *RUNX3* promoter region was confirmed in Lovo cells of control group and detected partly in 5-Aza-CdR-treated group.

CONCLUSION: 5-Aza-CdR is able to reverse the methylation status of *RUNX3* promoter region. The re-expression of *RUNX3* gene can inhibit Lovo cell growth and partly induce Lovo cell apoptosis.

Key Words: *RUNX3* gene; Methylation; 5-aza-2'-deoxycytidine; Tetrazolium salt colorimetric assay; Flow cytometry; Polymerase chain reaction

Ni Z, Bao MX, Liu NZ, Zhao Q, Qin H, Yang Y, Qiu YJ, Wang TT. Relationship between tumor suppressor gene *RUNX3* expression and cell proliferation and apoptosis in colonic cancer cell line Lovo. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 711-715

摘要

目的: 探讨5-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对结肠癌Lovo细胞增殖凋亡及抑癌基因*RUNX3*表达的影响。

背景资料

抑癌基因启动过甲基化现象普遍存在于恶性肿瘤中。*RUNX3*是一种新发现的抑癌基因, *RUNX3*与胃癌的发生关系密切, 其启动子区域CpG岛的过甲基化可能是其失活的主要方式。结肠癌与胃癌组织具有同源性, 因此推测*RUNX3*与结肠癌的发生有一定相关性。

同行评议者
沈琳, 副教授, 北京大学肿瘤医院消化内科

创新盘点
本文初步探讨了*RUNX3*在结肠癌细胞Lovo中的表达情况,发现其启动子区域过甲基化可能是导致其失活的机制。

方法: 用特异性甲基转移酶抑制剂5-Aza-CdR 0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$ 处理人结肠癌细胞株Lovo 3 d, 继续常规培养5 d后, 采用四唑盐法(MTT)比色法观察细胞经药物处理前后的生长活性, 以半定量RT-PCR检测细胞处理前后抑癌基因*RUNX3* mRNA的表达, 以甲基化特异性PCR(methylation-specific PCR, MSP)检测细胞处理前后*RUNX3*的甲基化状态, 应用流式细胞仪进行细胞凋亡率的检测。

结果: 与对照组相比, 0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$ 的5-Aza-CdR处理细胞后, 细胞*RUNX3* mRNA的相对表达量(0.46 ± 0.06 , 0.71 ± 0.06 , 0.84 ± 0.07 vs 0, $P < 0.01$)和细胞凋亡率均增高($10.95\% \pm 2.09\%$, $17.61\% \pm 1.51\%$, $26.60\% \pm 1.89\%$ vs $2.92\% \pm 0.93\%$, $P < 0.01$), 呈剂量依赖性($F = 168.4$, $F = 145.7$), 结肠癌Lovo细胞生长速率下降, *RUNX3* mRNA重新表达, 其基因启动子区域部分甲基化。

结论: 5-Aza-CdR可逆转*RUNX3*启动子高甲基化状态, 抑制细胞生长, 诱导部分细胞凋亡。

关键词: *RUNX3*基因; 甲基化; 5-氮-2'-脱氧胞苷; 四唑盐比色法; 流式细胞术; 聚合酶链反应

倪志, 鲍曼夕, 刘南植, 赵秋, 覃华, 杨彦, 邱艺坚, 王婷婷. 结肠癌Lovo细胞*RUNX3*基因的表达与其增殖及凋亡的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 711-715
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/711.asp>

0 引言

结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发生、发展与多种因素相关, 抑癌基因失活是关键因素之一。目前研究表明, 抑癌基因失活的主要方式有基因的缺失、突变和启动子区域的过甲基化等^[1-4]。*RUNX3*是一种新发现的抑癌基因, 研究证实在胃癌组织细胞其表达明显下调, 启动子区域CpG岛的过甲基化可能是其失活的方式^[4-5]。结肠癌中该基因的表达研究尚少。我们采用5-氮-2'-脱氧胞苷(5-Aza-CdR)对肠癌细胞株进行处理, 检测*RUNX3*基因表达及其甲基化状态, 并分析肿瘤细胞的生物学行为改变, 以探讨肠癌的发生机制并寻求新的治疗靶点。

1 材料和方法

1.1 材料 小牛血清, RPMI 1640培养基(Gibco公司), 5-Aza-CdR, MTT, DMSO, RNA酶A(RNase A)及碘化嘧啶(PI)(Sigma公司), RT-PCR试剂盒(大连宝生物公司), CpGenomeTM DNA修饰试剂

盒(Intergen公司), TRIzol(MRC公司)。目的基因*RUNX3*及内参照GAPDH的引物均由Primer5.0软件自行设计, 引物序列如下: *RUNX3*上游引物: 5'-CAGCCAAATCTTGCGACTC-3', 下游引物: 5'-ACCAGAAGGACTGCCTAACC-3', 产物片段长度852 bp; GAPDH上游引物: 5'-CCATGTTTCGT CATGGGTGTGAACCA-3', 下游引物: 5'-GCCA GTAGAGGCAGGGATGATGTTC-3', 产物片段长度251 bp; MSP引物序列参考文献[4], 均由上海生工公司合成, 人结肠癌细胞株Lovo为华中科技大学同济医学院附属协和医院惠赠。

1.2 方法 将细胞以适宜密度接种, 加入含5-Aza-CdR的RPMI 1640培养基, 使其药物终浓度分别为0.4, 4, 40 $\mu\text{mol/L}$, 每24 h更换为新鲜药液, 浓度同前, 连续作用3 d后弃去药液, 以含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养基继续培养5 d。以未经药物干预的Lovo细胞作为对照组。

1.2.1 药物作用前后Lovo细胞增殖活性: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞, 以每孔 3×10^3 个细胞接种于96孔板, 各组设5个复孔, 共接种6板。待细胞6 h贴壁后, 及其后每隔24 h取出1板, 每孔加入5 g/L的MTT 20 μL , 置培养箱内孵育4 h后, 小心吸去培养液, 加入DMSO 150 μL , 37 $^{\circ}\text{C}$ 恒温水平摇床振摇15 min, 待晶体充分溶解后, 置全自动酶标仪于570 nm波长处读取吸光度(A), 上述实验均重复3次。细胞增殖能力以平均吸光度(A)值分析, 以A值为纵坐标, 时间(d)为横坐标, 绘制生长曲线。

1.2.2 用药后*RUNX3* mRNA的表达: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞, 按TRIzol试剂说明书一步法提取总RNA。通过分光光度计检测RNA的260 nm与280 nm吸光度, 计算出RNA浓度。RNA 1 μg 加入逆转录反应体系, 以随机引物Random 9 mers为引物进行逆转录反应, 逆转录反应条件参照试剂盒说明。取逆转录反应产物2 μg , 按试剂盒说明书比例配成25 μL 的PCR反应体系。PCR反应条件: 94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性4 min, 1个循环; 94 $^{\circ}\text{C}$ 变性45 s, 57 $^{\circ}\text{C}$ 退火45 s, 72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸45 s, 共35个循环; 再以72 $^{\circ}\text{C}$ 延伸7 min。扩增产物于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统进行半定量分析, *RUNX3*的相对表达水平 = *RUNX3*基因的RT-PCR产物电泳条带的密度/GAPDH基因的RT-PCR产物电泳条带的密度。

1.2.3 MSP分析*RUNX3*甲基化状态: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞, 用酚-氯仿法提取细胞的DNA。以分光光度计测定DNA的浓度

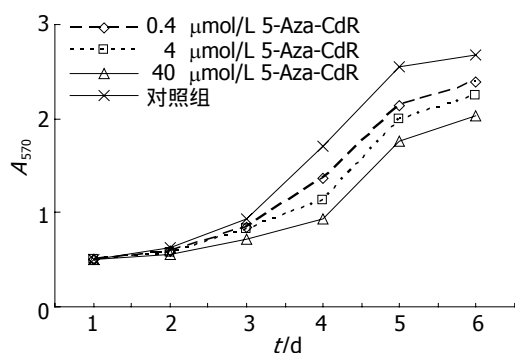


图1 Lovo细胞经5-Aza-CdR处理后的生长曲线。

(260 nm), 260/280 nm的光密度比值应在1.8以上。按CpGenome™ DNA修饰试剂盒说明书, 对DNA进行亚硫酸氢盐修饰处理。取2 μg经亚硫酸氢盐修饰的DNA, 分别加入甲基化及非甲基化特异性引物, 配成PCR反应体系25 μL。PCR反应条件: 95℃预变性3 min, 1个循环; 95℃变性30 s, 62℃退火30 s, 72℃延伸30 s, 共40个循环; 再以72℃延伸5 min。扩增产物于15 g/L琼脂糖凝胶电泳, 用凝胶成像系统观察结果。

1.2.4 细胞凋亡的检测: 上述经药物处理后的细胞及对照组细胞均以每孔 2×10^5 个接种于六孔板上, 以含100 mL/L小牛血清的RPMI 1640培养基培养4 d。按常规方法消化收集细胞, 以PBS洗涤2次, 以-20℃预冷的800 g/L乙醇固定, 充分振荡均匀, 置-20℃冰箱保存24 h以上。检测前离心(1500 r/min, 10 min), 弃乙醇, 以PBS洗涤2次, 以PBS调节细胞密度至 1×10^9 /L, 洗涤后加入由50 mmol/L磷酸钠和25 mmol/L枸橼酸按体积比9:1组成的PC缓冲液(pH7.8)50 μL, 室温放置15 min, 加PBS 0.5 mL, 100 mg/L PI 50 μL和5 mg/L RNaseA 10 μL于室温、暗处放置染色30 min, 以流式细胞仪(BD公司)进行细胞凋亡率检测。

统计学处理 实验数据用mean±SD表示, 多样本均数比较采用单因素方差分析, 两组均数比较采用*t*检验, 所有数据均由SPSS12.0统计软件进行处理, $P < 0.05$ 为统计学上差异有显著性。

2 结果

2.1 Lovo细胞形态及生长速度 光镜下观察结肠癌细胞Lovo, 于5-Aza-CdR处理前为多角形, 形态不规则; 药物处理3 d后, 可见细胞皱缩, 多角形形态趋于规则。继续培养5 d后, 可见细胞密度低, 部分细胞体积缩小, 死亡细胞数多。细胞经3种不同浓度5-Aza-CdR处理后, 细胞的生长速度受到不同程度的抑制, 随着药物浓度的增加抑

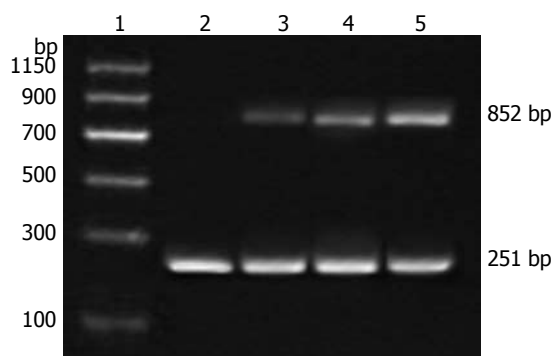


图2 5-Aza-CdR处理Lovo细胞后*RUNX3* mRNA的表达。1: marker; 2: 对照组; 3-5: 0.4, 4, 40 μmol/L 5-Aza-CdR。

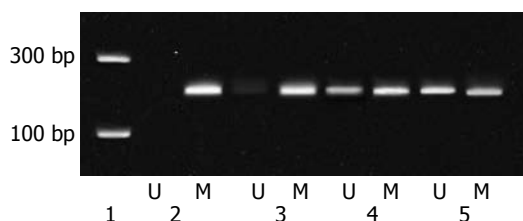


图3 5-Aza-CdR处理Lovo细胞前后*RUNX3*甲基化状态。1: marker; 2: 对照组; 3-5: 0.4, 4, 40 μmol/L 5-Aza-CdR; U: 未甲基化; M: 甲基化。

制作用增强(图1)。

2.2 Lovo细胞*RUNX3* mRNA的表达 RT-PCR检测对照组细胞未见*RUNX3*基因的mRNA表达, 5-Aza-CdR处理后的细胞*RUNX3*基因的mRNA重新表达(图2), 分别用浓度0.4, 4, 40 μmol/L的5-Aza-CdR处理细胞后, 细胞*RUNX3* mRNA的相对表达量分别为 0.46 ± 0.06 , 0.71 ± 0.06 和 0.84 ± 0.07 , 且具有剂量依赖关系($n = 3$, $F = 168.4$, $P < 0.01$)。

2.3 Lovo细胞*RUNX3*的甲基化状态 MSP检测对照组细胞*RUNX3*基因处于完全甲基化状态, 经5-Aza-CdR处理细胞后, *RUNX3*基因转化为部分甲基化(图3)。

2.4 5-Aza-CdR对Lovo细胞凋亡率的影响 经流式细胞仪检测分析, 对照组细胞凋亡率为 $2.92\% \pm 0.93\%$, 经5-Aza-CdR 0.4, 4, 40 μmol/L处理后在细胞周期G1峰前出现明显的凋亡峰, 细胞凋亡率逐渐增高, 凋亡率分别为 $10.95\% \pm 2.09\%$, $17.61\% \pm 1.51\%$ 和 $26.60\% \pm 1.89\%$, 均与对照组相比较有统计学意义($P < 0.01$), 细胞凋亡率与5-Aza-CdR浓度水平具有剂量依赖关系($n = 4$, $F = 145.7$, $P < 0.01$)。

3 讨论

结肠癌是我国发病率增长最快的恶性肿瘤之

应用要点
*RUNX3*可能成为一个结肠癌的生物标志和肿瘤基因治疗的靶点, 为结肠癌的诊断和治疗提供了一条新途径。

名词解释

RUNX3: 是一种新发现的定位于1p36.1的抑癌基因,他是**RUNT**基因家族成员之一,其编码蛋白是一种DNA结合转录因子,在细胞的生长、发育及凋亡过程中起着重要的作用。

一,严重地威胁着人们的健康^[6]。其发生和发展是一个多基因、多步骤的过程,癌基因的激活和/或抑癌基因的失活是其分子学基础。研究表明,DNA甲基化在基因表达调控、细胞增殖、分化、发育及基因组印迹等方面起着重要的作用,并与肿瘤的发生发展关系密切^[7-9]。DNA启动子过甲基化是引起抑癌基因失活的重要方式。DNA过甲基化并不是基因序列发生改变,而只是部分碱基对发生甲基化修饰,这种异常的甲基化模式是可以逆转的^[10-11]。**RUNX3**是一种新发现的定位于1p36.1的抑癌基因,广泛表达于消化道上皮细胞、间叶细胞、血液细胞及神经细胞等^[12-14]。**RUNX3**是**RUNT**基因家族的成员之一,**RUNT**基因家族是由**RUNX1**、**RUNX2**、**RUNX3**等3个成员组成,其编码蛋白是一组DNA结合转录因子,在细胞的生长、发育及凋亡过程中起着重要的作用^[15-18]。许多研究发现,**RUNX3**-/-的胃黏膜上皮细胞的过度增生和凋亡减少与细胞对TGF- β 诱导凋亡的敏感性降低有关,TGF- β 作为诱导抑制增生因子其诱导凋亡的作用在**RUNX3**-/-的胃黏膜上皮细胞中完全失活,结果提示,**RUNX3**可能是TGF- β 信号传导途径的关键作用靶点^[4,19]。**RUNX3**蛋白是TGF- β 信号通路下游的一个转录因子,TGF- β 信号通路对维持细胞正常生长发育起重要作用,并可能与肿瘤发生发展密切相关^[19]。进一步研究证实,在TGF- β 信号传导过程中,TGF- β 与被激活的Smad形成的复合物由胞质转入胞核内后需在**RUNX3**蛋白的指导下与核内特异性的靶点相结合,并增强其结合力,共同调节相关靶基因的转录。**RUNX3**表达沉默可导致TGF- β 信号途径紊乱,引起TGF- β 信号失活,进而引发细胞的凋亡障碍,导致肿瘤的发生^[19-22]。

我们发现,结肠癌细胞株Lovo的**RUNX3**基因启动子区域完全甲基化,不表达其mRNA,而经过5-Aza-CdR处理后的细胞**RUNX3**基因部分甲基化,并重新表达其mRNA,提示在结肠癌细胞中**RUNX3**表达失活可能是由于启动子区域的CpG岛过甲基化所致。Oshimo *et al*^[23]在对胃癌的研究中也有类似发现,进一步证实**RUNX3**启动子区域的CpG岛过甲基化与胃肠肿瘤的发生密切相关。

5-Aza-CdR是一种DNA甲基转移酶1(DNMT1)抑制剂,他是一种脱氧胞苷类似物,在DNA复制过程中与DNA分子相结合,并与DNMT1形成一共价复合物,抑制该酶的甲基转

移活性,生成低甲基化子链,从而实现去甲基化功能^[24-27]。我们发现,Lovo细胞经过5-Aza-CdR处理后,细胞的增殖受到抑制,细胞凋亡率明显提高。上述结果显示,5-Aza-CdR能使因甲基化失活的**RUNX3**基因去甲基化而重新表达,恢复其抑癌功能,从而导致抑制结肠癌细胞生长并诱导其凋亡的作用。**RUNX3** mRNA重新表达后,随着mRNA表达增强,结肠癌细胞生长明显减慢,提示**RUNX3**可能直接或间接参与调控细胞DNA的复制合成。

RUNX3作为一种新发现的抑癌基因,其表达可通过TGF- β 信号途径抑制细胞的过度增殖并诱导凋亡。**RUNX3**可能成为结肠癌的一个新的生物学标志和基因治疗的靶点,为结肠癌的诊断和治疗提供一条新的途径。我们仅考察了**RUNX3**在体外结肠癌细胞株中的表达情况,而**RUNX3**在体内结肠癌及癌旁组织中的表达情况有待进一步研究。

4 参考文献

- 1 Zöchbauer-Müller S, Fong KM, Virmani AK, Geradts J, Gazdar AF, Minna JD. Aberrant promoter methylation of multiple genes in non-small cell lung cancers. *Cancer Res* 2001; 61: 249-255
- 2 Attri J, Srinivasan R, Majumdar S, Radotra BD, Wig J. Alterations of tumor suppressor gene p16INK4a in pancreatic ductal carcinoma. *BMC Gastroenterol* 2005; 5: 22
- 3 Hustinx SR, Leoni LM, Yeo CJ, Brown PN, Goggins M, Kern SE, Hruban RH, Maitra A. Concordant loss of MTAP and p16/CDKN2A expression in pancreatic intraepithelial neoplasia: evidence of homozygous deletion in a noninvasive precursor lesion. *Mod Pathol* 2005; 18: 959-963
- 4 Li QL, Ito K, Sakakura C, Fukamachi H, Inoue K, Chi XZ, Lee KY, Nomura S, Lee CW, Han SB, Kim HM, Kim WJ, Yamamoto H, Yamashita N, Yano T, Ikeda T, Itohara S, Inazawa J, Abe T, Hagiwara A, Yamagishi H, Ooe A, Kaneda A, Sugimura T, Ushijima T, Bae SC, Ito Y. Causal relationship between the loss of RUNX3 expression and gastric cancer. *Cell* 2002; 109: 113-124
- 5 Waki T, Tamura G, Sato M, Terashima M, Nishizuka S, Motoyama T. Promoter methylation status of DAP-kinase and RUNX3 genes in neoplastic and non-neoplastic gastric epithelia. *Cancer Sci* 2003; 94: 360-364
- 6 Wang HD, Ren J, Zhang L. CDH1 germline mutation in hereditary gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 3088-3093
- 7 Ehrlich M. The controversial denouement of vertebrate DNA methylation research. *Biochemistry (Mosc)* 2005; 70: 568-575
- 8 Pufulete M, Al-Ghnam R, Rennie JA, Appleby P, Harris N, Gout S, Emery PW, Sanders TA. Influence of folate status on genomic DNA methylation in colonic mucosa of subjects without colorectal adenoma or cancer. *Br J Cancer* 2005; 92: 838-842
- 9 Kim TY, Jong HS, Jung Y, Kim TY, Kang GH,

- Bang YJ. DNA hypermethylation in gastric cancer. *Aliment Pharmacol Ther* 2004; 20 Suppl 1: 131-142
- 10 Bae SI, Lee HS, Kim SH, Kim WH. Inactivation of O6-methylguanine-DNA methyltransferase by promoter CpG island hypermethylation in gastric cancers. *Br J Cancer* 2002; 86: 1888-1892
 - 11 Esteller M, Corn PG, Baylin SB, Herman JG. A gene hypermethylation profile of human cancer. *Cancer Res* 2001; 61: 3225-3229
 - 12 Inoue K, Ozaki S, Shiga T, Ito K, Masuda T, Okado N, Iseda T, Kawaguchi S, Ogawa M, Bae SC, Yamashita N, Itohara S, Kudo N, Ito Y. Runx3 controls the axonal projection of proprioceptive dorsal root ganglion neurons. *Nat Neurosci* 2002; 5: 946-954
 - 13 Woolf E, Xiao C, Fainaru O, Lotem J, Rosen D, Negreanu V, Bernstein Y, Goldenberg D, Brenner O, Berke G, Levanon D, Groner Y. Runx3 and Runx1 are required for CD8 T cell development during thymopoiesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003; 100: 7731-7736
 - 14 Levanon D, Bettoun D, Harris-Cerruti C, Woolf E, Negreanu V, Eilam R, Bernstein Y, Goldenberg D, Xiao C, Fliegau M, Kremer E, Otto F, Brenner O, Lev-Tov A, Groner Y. The Runx3 transcription factor regulates development and survival of TrkC dorsal root ganglia neurons. *EMBO J* 2002; 21: 3454-3463
 - 15 Bangsow C, Rubins N, Glusman G, Bernstein Y, Negreanu V, Goldenberg D, Lotem J, Ben-Asher E, Lancet D, Levanon D, Groner Y. The RUNX3 gene--sequence, structure and regulated expression. *Gene* 2001; 279: 221-232
 - 16 Habtemariam B, Anisimov VM, MacKerell AD Jr. Cooperative binding of DNA and CBFbeta to the Runt domain of the CBFalpha studied via MD simulations. *Nucleic Acids Res* 2005; 33: 4212-4222
 - 17 Javed A, Barnes GL, Jasanya BO, Stein JL, Gerstenfeld L, Lian JB, Stein GS. runt homology domain transcription factors (Runx, Cbfa, and AML) mediate repression of the bone sialoprotein promoter: evidence for promoter context-dependent activity of Cbfa proteins. *Mol Cell Biol* 2001; 21: 2891-2905
 - 18 Telfer JC, Rothenberg EV. Expression and function of a stem cell promoter for the murine CBFalpha2 gene: distinct roles and regulation in natural killer and T cell development. *Dev Biol* 2001; 229: 363-382
 - 19 Fainaru O, Woolf E, Lotem J, Yarmus M, Brenner O, Goldenberg D, Negreanu V, Bernstein Y, Levanon D, Jung S, Groner Y. Runx3 regulates mouse TGF-beta-mediated dendritic cell function and its absence results in airway inflammation. *EMBO J* 2004; 23: 969-979
 - 20 Kano MR, Bae Y, Iwata C, Morishita Y, Yashiro M, Oka M, Fujii T, Komuro A, Kiyono K, Kaminishi M, Hirakawa K, Ouchi Y, Nishiyama N, Kataoka K, Miyazono K. Improvement of cancer-targeting therapy, using nanocarriers for intractable solid tumors by inhibition of TGF-beta signaling. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2007; 104: 3460-3465
 - 21 Gayther SA, Batley SJ, Linger L, Bannister A, Thorpe K, Chin SF, Daigo Y, Russell P, Wilson A, Sowter HM, Delhanty JD, Ponder BA, Kouzarides T, Caldas C. Mutations truncating the EP300 acetylase in human cancers. *Nat Genet* 2000; 24: 300-303
 - 22 Li J, Kleeff J, Guweidhi A, Esposito I, Berberat PO, Giese T, BUCHler MW, Friess H. RUNX3 expression in primary and metastatic pancreatic cancer. *J Clin Pathol* 2004; 57: 294-299
 - 23 Oshimo Y, Oue N, Mitani Y, Nakayama H, Kitadai Y, Yoshida K, Ito Y, Chayama K, Yasui W. Frequent loss of RUNX3 expression by promoter hypermethylation in gastric carcinoma. *Pathobiology* 2004; 71: 137-143
 - 24 Nakano T, Tani M, Nishioka M, Kohno T, Otsuka A, Ohwada S, Yokota J. Genetic and epigenetic alterations of the candidate tumor-suppressor gene MYO18B, on chromosome arm 22q, in colorectal cancer. *Genes Chromosomes Cancer* 2005; 43: 162-171
 - 25 Kim SH, Bae SI, Lee HS, Kim WH. Alteration of O6-methylguanine-DNA methyltransferase in colorectal neoplasms in sporadic and familial adenomatous polyposis patients. *Mol Carcinog* 2003; 37: 32-38
 - 26 Zhang S, Kong WJ, Wang YJ, Han YC, Zhang D. Inhibitory effect of 5-Aza-2'-deoxycytidine on human nasopharyngeal carcinoma xenograft in nude mice. *Ai Zheng* 2005; 24: 1201-1205
 - 27 Bender CM, Pao MM, Jones PA. Inhibition of DNA methylation by 5-aza-2'-deoxycytidine suppresses the growth of human tumor cell lines. *Cancer Res* 1998; 58: 95-101

同行评价
本文讨论RUNX3
基因的表达与结
肠癌的关系。该方
面的研究较少。此
论文有新意。

编辑 潘伯荣 电编 何基才

慢性乙型肝炎患者中医证型特点及分布差异

王凤云, 唐旭东, 刘燕玲, 卞立群, 张引强

背景资料
从中医药方面来研究开发治疗慢性乙型肝炎的有效方药, 前景十分广阔, 但在当前研究中尚存在不少问题。中医学理论的核心是辨证施治, 而确定证型又是论治的前提, 但由于慢性乙型肝炎在临床上因患者体质、地区、不同发病阶段等因素不同而有不同的临床表现。因此, 目前证型划分在临床上有多种, 这种过多的证型划分难以符合辨证规范化及客观化的原则。

王凤云, 中国中医科学院西苑医院实验中心 北京市 100091
唐旭东, 卞立群, 张引强, 中国中医科学院西苑医院消化科 北京市 100091
刘燕玲, 中国中医科学院西苑医院肝病科 北京市 100091
王凤云, 2007年中国中医科学院博士, 主治医师, 主要从事消化系统疾病的临床及消化药理研究。
国家自然科学基金资助项目, No. 30672688
作者贡献分布: 此课题由王凤云, 唐旭东, 刘燕玲设计; 研究过程由王凤云, 刘燕玲, 卞立群及张引强操作完成; 数据分析由王凤云, 卞立群完成; 本论文写作由王凤云, 唐旭东完成。
通讯作者: 唐旭东, 100091, 北京市, 中国中医科学院西苑医院消化科。txdly@sina.com
电话: 010-62882389 传真: 010-2866760
收稿日期: 2007-07-30 修回日期: 2008-02-20

Syndrome type characteristics and their distribution differences in patients with chronic hepatitis B

Feng-Yun Wang, Xu-Dong Tang, Yan-Ling Liu, Li-Qun Bian, Yin-Qiang Zhang

Feng-Yun Wang, Center of Laboratory, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Xu-Dong Tang, Li-Qun Bian, Yin-Qiang Zhang, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Yan-Ling Liu, Department of Hepatology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China

Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 30672688

Correspondence to: Dr. Xu-Dong Tang, Department of Gastroenterology, Xiyuan Hospital, China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100091, China. txdly@sina.com

Received: 2007-07-30 Revised: 2008-02-20

Abstract

AIM: To probe into the characteristics of syndrome types and their distribution differences in patients with chronic hepatitis B.

METHODS: In combination with literatures involving syndrome types of Chinese medicine of hepatitis B, a total of 126 patients with chronic hepatitis B from Xiyuan hospital were prospectively investigated on symptoms and signs, the characteristics of syndrome types and their distribution differences.

RESULTS: The proportions of syndrome types

in patients with chronic hepatitis B were: stagnation of liver with deficiency of the spleen > dampness-heat accumulation > hepatic and renal yin deficiency > obstruction of collaterals by blood stasis > splenonephro yang deficiency. The factors dampness-heat and qi yin deficiency were considered as main accompanied symptoms and signs in all the types. Dark red tongue, red tongue, and greasy tongue fur are major tongue demonstrations in chronic hepatitis B patients. The accumulated scores of syndromes and physical signs of patients such as flank pain, bitter taste of mouth, abdominal distension, low appetite, greasy tongue fur and so on were significantly different between different syndrome types ($P < 0.05$). Compared with those in other types, the levels of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) were higher in dampness-heat type (ALT: 75.81 ± 39.93 vs 48.13 ± 26.02 , 50.42 ± 31.69 , 59.09 ± 21.50 , $P < 0.05$; AST: 82.89 ± 38.37 vs 42.62 ± 21.43 , 51.88 ± 36.11 , 68.93 ± 24.57 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: The factor dampness-heat is considered as a main reason running through different clinical stages of chronic hepatitis B, and healthy energy deficiency is the internal foundation of dampness and heat invading human body.

Key Words: Chronic hepatitis B; Type of syndrome; Characteristic; Distributional difference

Wang FY, Tang XD, Liu YL, Bian LQ, Zhang YQ. Syndrome type characteristics and their distribution differences in patients with chronic hepatitis B. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 716-720

摘要

目的: 探讨慢性乙型肝炎患者中医证型特点及分布差异。

方法: 结合慢性乙型肝炎中医证型研究的文献, 对126例西苑医院的慢性乙型肝炎患者症状体征、中医证型分布差异及特点进行前瞻性调查。

结果: 慢性乙型肝炎患者中医证型分布规律

同行评议者
张声生, 教授, 首都医科大学附属北京中医医院消化中心

以肝郁脾虚型为主, 湿热型次之, 肝肾阴虚型又次之, 瘀血阻络型所占比例较肝肾阴虚型小, 脾肾阳虚型最为少见, 其中, 湿热与气阴亏虚为各证型的主要兼夹因素, 暗红舌、红舌和腻苔是慢性乙型肝炎患者的主要舌象. 患者的症状体征(胁痛、口苦、腹胀、食欲低下、舌苔腻等)积分在各证型中分布有显著性差异($P<0.05$). ALT、AST均以湿热中阻型为最高, 与其他证型相比, 差异有显著性(ALT: 75.81 ± 39.93 vs 48.13 ± 26.02 , 50.42 ± 31.69 , 59.09 ± 21.50 , $P<0.05$; AST: 82.89 ± 38.37 vs 42.62 ± 21.43 , 51.88 ± 36.11 , 68.93 ± 24.57 , $P<0.05$).

结论: 湿热因素贯穿于慢性乙肝患者的不同阶段, 是该病长期存在的基本矛盾, 而正气亏虚, 正是湿热毒邪侵扰的内在基础, 该病的病机为“邪侵而正虚, 正虚而邪恋”.

关键词: 慢性乙型肝炎; 中医证型; 特点; 分布差异

王凤云, 唐旭东, 刘燕玲, 卞立群, 张引强. 慢性乙型肝炎患者中医证型特点及分布差异. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 716-720
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/716.asp>

0 引言

慢性乙型肝炎是我国的常见病、多发病, 因此, 从中医药方面来研究开发治疗慢性乙型肝炎的有效方药, 前景十分广阔, 但在当前研究中尚存在不少问题. 中医学理论的核心是辨证施治, 而确定证型又是论治的前提, 但由于慢性乙型肝炎在临床上因患者体质、地区和不同发病阶段等因素不同而有不同的临床表现, 因此, 目前证型划分在临床上有多种^[1]. 这种过多的证型划分难以符合辨证规范化及客观化的原则. 本研究以慢性乙型肝炎患者为研究对象, 对我院慢性乙型肝炎患者进行现场调查, 了解我院慢乙肝患者的中医证型分布规律及其与客观指标之间的关系, 从而为临床辨证论治提供客观的依据.

1 材料和方法

1.1 材料 收集2005-09/2006-09月中国中医科学院西苑医院肝炎门诊及消化门诊慢性乙型肝炎、肝硬化代偿期患者126例. 其中无证可辨5例; 肝郁脾虚组45例, 男30例, 女15例, 年龄18-71(平均 47.62 ± 14.45)岁; 湿热中阻组37例, 男24例, 女13例, 年龄19-72(平均 47.16 ± 16.32)岁; 瘀血阻络组18例, 男11例, 女7例, 年龄24-68(平均 51.81 ± 13.98)岁; 肝肾阴虚组21

例, 男11例, 女10例, 年龄26-70(平均 47.11 ± 12.85)岁, 各证型中均伴有兼夹症. 126例患者病原学检测, 均有HBsAg(+), 其中HBeAg(+), 抗-HBe(+)散在分布于各证型中. 上述数据经统计学处理, 各组年龄、性别、病情、病程, 具有较好的可比性.

1.2 方法

1.2.1 诊断标准: 参照2005年(中华医学会肝病学会、中华医学会感染病学分会联合制订)的《慢性乙型肝炎防治指南》^[2]有关慢性乙型肝炎的诊断标准而制定. 有乙型肝炎或HBsAg阳性史超过6 mo, 现HBsAg和(或)HBV-DNA仍为阳性者, 可诊断为慢性HBV感染. 根据HBV感染者的血清学、病毒学、生化学试验及其他临床和辅助检查结果, 可将慢性HBV感染分为: (1)HBeAg阳性慢性乙型肝炎, 血清HBsAg、HBV-DNA和HBeAg阳性、抗-HBe阴性, 血清ALT持续或反复升高, 或肝组织学检查有肝炎病变. (2)HBeAg阴性慢性乙型肝炎, 血清HBsAg和HBV-DNA阳性, HBeAg持续阴性, 抗-HBe阳性或阴性, 血清ALT持续或反复异常, 或肝组织学检查有肝炎病变.

1.2.2 纳入标准: 符合慢性乙型肝炎的诊断标准, 目前有症状、体征及肝功能异常者. 发病日期不明或无肝炎病史, 但影像学、腹腔镜或肝活体组织病理检查符合慢性肝炎改变或根据症状、体征、化验综合分析作出相应诊断者.

1.2.3 排除标准: (1)同时或重迭感染; (2)经检查证实有药物中毒、乙醇中毒等因素导致的肝炎及自身免疫性肝炎, 伴有慢性乙型肝炎者; (3)合并肝癌, 肝性脑病, 以及严重的心脑血管、肺、肾、内分泌和造血系统严重原发性疾病, 精神病患者; (4)伴发失代偿性肝硬化者; (5)妊娠或准备妊娠妇女, 哺乳期妇女; (6)年龄在10岁以下, 或在75岁以上患者.

1.2.4 症状体征评分方法: 根据《中药新药临床研究指导原则》(试行)^[3]关于《中药新药治疗病毒性肝炎的临床指导原则》中症状分级量化, 按无、轻、中、重分4个等级记分, 分别记“-”(无)、“+”(轻)、“++”(中)、“+++”(重); 每个“+”记1分, “-”记0分. 积分方法如下, 胁肋疼痛: 无(-); 胁肋隐隐作痛, 不影响正常工作(+); 疼痛较重, 影响生活(++); 疼痛剧烈, 难以忍受(+++); 舌象: 舌暗不明显(-); 舌质淡暗(+); 舌质暗(++); 舌暗有瘀点或瘀斑(+++); 脘腹胀满: 无(-); 食后脘闷腹胀, 可自行缓解(+); 食后

创新盘点
本文对慢性乙型肝炎、肝硬化代偿期患者的证型特点及差异进行研究, 客观真实的反映临床上与文献研究中的差异, 从不同的角度说明湿热疫毒为该病的主要致病因素, 正气虚弱是其内因和转归.

应用要点
中医药在慢性乙型肝炎的临床诊疗中发挥着重要作用,客观准确地辨证分型是提高中医药疗效的关键所在。

表 1 各证型症状体征分布[n]

分组	胁痛	倦怠乏力	面色暗	脘闷腹胀	头晕目眩	双目干涩	大便溏	口苦	舌暗	苔黄/腻
肝郁脾虚型	17	24	15	8	3	2	20	2	15	16
湿热中阻型	12	21	16	21	6	8	19	18	18	24
肝肾阴虚型	11	15	17	2	16	10	5	16	8	14
瘀血内阻型	14	5	19	13	8	4	7	11	13	8

脘闷腹胀,有时可自行缓解(++);整日脘闷腹胀,影响休息,坐卧不安(+++);倦怠乏力:无(-);肢体稍倦,可坚持轻体力劳动(+);四肢乏力,勉强坚持日常活动(++);精神萎靡,偶语(+++);口苦:无(-);偶觉口干苦(+);晨起口干苦(++);整日觉口干苦(+++);大便(-);大便初硬后稍溏(+);大便不成形,每日2—3次,或稀便(++);溏便,每日3次以上(+++);舌质:淡(-);淡红/红(+);暗红(++);暗(+++).

2 结果

2.1 各证型症状体征分布 根据慢性乙型肝炎患者各种临床症状、体征,中医可分为肝郁脾虚型、湿热中阻型、肝肾阴虚型、瘀血内阻型.不同证型中症状、体征的分布特点见表1.

2.2 各证型兼夹因素 各证型中兼夹湿热因素与兼夹气虚、阴虚、血瘀等证型发生率比较均有显著差异($P<0.05-0.01$)(表2).

2.3 不同证型症状体征积分 从常见症状体征可以看出其以湿热征象为主,主要反映在舌象上(表3).

2.4 舌象与中医证型 舌质暗在肝郁脾虚型、湿热中阻型和瘀血阻络型3型发生率显著高于肝肾阴虚型;湿热中阻型出现舌红的发生率高于肝郁脾虚型;肝郁脾虚型、湿热中阻型中苔腻的发生率较肝肾阴虚型、瘀血阻络型有显著性差异($P<0.05-0.01$,表4).

2.5 各证型中血ALT、AST和TBIL水平情况 ALT、AST和TBIL的水平在不同证型中比较,湿热中阻型、瘀血阻络型、肝郁脾虚型上述指标均有统计学差异,依据平均秩次推断,上述指标水平顺序为湿热中阻型>瘀血阻络型>肝郁脾虚型和肝肾阴虚型(表5).

3 讨论

本研究结果显示,慢性乙型肝炎患者中医证型分布规律表现为肝郁脾虚型>湿热中阻型>肝肾阴虚型>瘀血阻络型>脾肾阳虚,其中湿热与气阴亏虚为主要的兼夹证.虽然相对于文献病例

表 2 各证型兼夹证分布情况[n(%)]

兼夹证	湿热 中阻型	肝郁 脾虚型	肝肾 阴虚型	瘀血 阻络型	合计
湿热	37(59.7)	9(14.5)	10(16.1)	5(8.1)	61
气虚	8(23.5)	11(32.4)	12(35.3)	3(8.8)	34
阴虚	4(10.3)	1(2.6)	21(53.8)	13(33.3)	39
血瘀	13(35.1)	2(5.4)	4(10.8)	18(48.6)	37

而言,所研究的慢性乙肝患者湿热中阻型者比例较低,但实际湿热证又为各型的主要兼夹证.湿热中阻证可存在于慢性肝炎早期,中期和晚期,故可见到较多重度ALT升高;肝肾阴虚证、瘀血阻络证多见于病程中晚期,可见到轻至中度转氨酶升高,这也反映了慢性乙型肝炎由浅入深的发展过程.

近年来,不少医家重视脾虚在慢性肝病中的作用,提高了疗效.但有些患者,缺乏脾气虚主证,如纳谷正常、腹不胀满、大便不溏等,而仅有胁胀、胁痛不适、情志抑郁、易于疲倦、多梦或有月经失调等症,均为肝经气所过的特有症状,故应属肝气虚证.肝气虚证则为虚证,以情志抑郁为主,兼有气虚表现,易伴有肝阴血不足证,以胁胀不适为多,日久可发展为肝阳虚证,病程长,舌质淡体偏胖常见,其脉多虚^[4].秦伯未先生在《论肝病》中将肝虚证分为肝阴、血、气、阳虚,并特别提出“在肝虚证上,只重视血虚不考虑气虚,显然是不全面的”,对今人启发颇多.

研究中还发现有5例患者无证可辨,与文献中提到的“隐证型^[5]”“邪伏络脉^[6]”型相似,指的是HBsAg持续存在6 mo以上而无相关症状和体征的HBV携带者.实际上,临床中这类患者占有相当的比例.通过研究我们认为,该类患者多与肝郁脾虚型相对应,对其尚有待于进一步深入研究确认.

中医理论认为舌苔乃脾胃阳气蒸腾水谷之气,上聚于舌面而成^[7]，“辨舌质可辨五脏之虚实,察舌苔可观六淫之深浅”.本研究共观察了

表 3 各型症状体征积分变化(mean ± SD)

症状体征	肝郁脾虚型	湿热中阻型	肝肾阴虚型	瘀血阻络型
胁肋疼痛	1.13 ± 0.94 ^{ab}	1.35 ± 0.98	0.81 ± 0.55	0.71 ± 0.17 ^b
舌质暗	1.07 ± 0.84	0.75 ± 0.45 ^e	0.71 ± 0.45 ^e	1.49 ± 0.60 ^a
双目干涩	0.63 ± 0.49 ^c	0.62 ± 0.44	0.90 ± 0.54	0.44 ± 0.32 ^c
舌苔腻	0.96 ± 0.53	1.19 ± 0.73	0.67 ± 0.46 ^a	0.67 ± 0.37
口干或口苦	0.62 ± 0.86 ^c	0.76 ± 0.86	1.24 ± 0.58	0.78 ± 0.48
食欲不振	0.67 ± 0.53	0.73 ± 0.93	0.53 ± 0.30	0.78 ± 0.34
倦怠乏力	1.02 ± 0.76	1.19 ± 1.13	0.95 ± 0.47	0.89 ± 0.46
面色晦暗	0.84 ± 0.55 ^c	0.59 ± 0.40	0.50 ± 0.38 ^e	0.94 ± 0.30
大便溏/稀	1.04 ± 0.68 ^c	1.00 ± 0.70	0.52 ± 0.35	0.78 ± 0.46
脘闷腹胀	1.16 ± 0.85	1.41 ± 0.51	0.81 ± 0.45 ^a	0.56 ± 0.31 ^b

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 湿热中阻型; ^c $P < 0.05$ vs 肝肾阴虚型; ^e $P < 0.05$ vs 瘀血阻络型。

表 4 舌象在各证型中分布情况

中医证型	n	舌质暗	舌质红	舌苔薄腻/腻/黄腻
肝郁脾虚型	45	15 ^a	6	26 ^{ab}
湿热中阻型	37	18 ^b	13 ^c	23 ^{ab}
肝肾阴虚型	21	8	11	9
瘀血阻络型	18	13 ^a	8	10

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 肝肾阴虚型; ^c $P < 0.05$ vs 肝郁脾虚型; ^d $P < 0.01$ vs 瘀血阻络型。

表 5 中医证型与ALT, AST和TBIL的关系(mean ± SD)

中医证型	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	TBIL(Umol/L)
肝郁脾虚型	45	48.13 ± 26.02 ^d	42.62 ± 21.43 ^d	15.97 ± 12.04
湿热中阻型	37	75.81 ± 39.93 ^{bc}	82.89 ± 38.37 ^{bc}	22.38 ± 14.23 ^{bc}
肝肾阴虚型	20	50.42 ± 31.69 ^c	51.88 ± 36.11 ^c	13.56 ± 11.10 ^d
瘀血阻络型	18	59.09 ± 21.50 ^a	68.93 ± 24.57	18.19 ± 17.79

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 肝郁脾虚型; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 瘀血阻络型。

126例患者的舌质和舌苔并进行记录统计。结果发现, 暗舌、暗红舌是慢性肝病舌象的主要表现, 反映了瘀血内结, 营阴暗伤的情况^[8]。肝调畅一身之气血。肝功能正常, 则气机调畅, 血脉流通, 血液当运则运, 归运有度, 不致瘀阻。足厥阴肝脉络于舌本, 肝脏疏泄气血的功能失常在舌上表现最为明显。慢性肝损伤早期, 湿热邪毒入侵, 影响肝脏疏泄功能, 气机郁滞, 甚至化火, 血脉扩张, 气血沸涌, 舌部血络充盈, 舌质由淡红变为红绛; 久病入络, 随肝损伤程度的加重, 气机郁滞更加明显, 火热邪毒进一步伤及营血, 耗伤津液, 灼伤脉络, 导致舌部血络充盈、扩张、渗出明显, 血行淤滞, 出现舌质紫暗, 甚至形成瘀点、瘀斑, 影响到肝藏血的功能, 肝血不足则气无以用, 肝调节分布血量功能失职, 血不归于肝脏而停于诸经为瘀, 使舌现紫暗^[9]。慢性乙型肝炎患者随着病情加重, 免疫功能的失调, 正常舌象越来越少, 出现相应的病理舌象, 常见的红舌、暗紫舌、黄腻苔、黄苔等异常舌象中, 无论舌象是单个还是混合出现, 常只提示免疫功能异常^[10]。人体是一个整体, 临床观察舌象, 应将舌象作为整体的一个部分来了解其变化的病理

意义。本实验结果提示, 不同证型舌苔厚薄的分布有显著性差别($P < 0.05$), 反映了舌苔变化与中医证型的相关性, 而且可以反映慢乙肝病情的轻重。从本研究初步结果看, 舌象与中医证型之间可能存在一定关系, 值得进一步深入研究。

由于时间、条件及样本量的关系, 有关各证型的研究在许多方面尚待进一步深入探讨: (1)对慢性乙型肝炎无证可辨问题的研究; (2)对舌诊的研究; 舌诊是进行辨证论治必不可缺的诊断方法, 如何使舌诊研究深入开展, 将其蕴藏的深在内涵揭示出来以用于临床是亟待解决的问题。 (3)中医证型的量化及标准化研究。目前慢性乙型肝炎的中医辨证仍然以传统的望闻问切四诊资料为主, 缺少客观依据及疗效评价体系, 在一定程度上阻碍了中医药治疗肝病的发展。因此迫切需要中医证型的标准化及量化指标, 为揭示中医证候的本质、临床疗效评定、中成药的研发等工作奠定基础。

4 参考文献

- 吕文良, 李樯, 姚乃礼, 唐旭东, 刘绍能. 慢性乙型肝炎中医辨证现状及辨证方法探讨. 中国中医基础医学杂志 2002; 8: 651-652
- 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会.

同行评价
本文探讨肝炎证候分布有一定意义, 但须对文中的内容作进一步修改。

- 慢性乙型肝炎防治指南. 中华传染病杂志 2005; 23: 421-431
- 3 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则(试行). 第2版. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 143-151
- 4 谭春雨, 徐列明. 浅谈肝气虚. 上海中医药大学学报 2004; 18: 5-8
- 5 张晓刚, 吕志平, 钟小兰, 谭秦湘, 贺松其. 129例隐证型慢性乙型肝炎患者肝组织病理及病毒学分析. 上海中医药杂志 2006; 40: 19-20
- 6 樊群, 吴其恺, 陈慈琴, 王敏, 聂广. 慢性乙型肝炎病毒感染者HBVDNA水平调查及与中医证型的关系. 中国中西医结合消化杂志 2002; 10: 265-266, 270
- 7 季绍良, 成肇智. 中医诊断学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 39-48
- 8 Wei HF, Ya BL, Zhao L, Ye CF, Zhang L, Li L. Evaluation of tongue manifestation of blood stasis syndrome and its relationship with blood rheological disorder in a rat model of transient brain ischemia. *Zhongxiyi Jiehe Xuebao* 2008; 6: 73-76
- 9 张琴, 王磊, 都广礼. 肝炎后肝硬化患者舌诊、脉诊信息在中医证候判识中的作用与意义. 中国中医基础医学杂志 2007; 13: 416-417
- 10 周晓燕, 钟汉林, 温惠贤, 杨福泰, 刘红健. 慢性乙型肝炎“大三阳”舌象与免疫功能关系的探讨. 广州中医药大学学报 2003; 20: 31-34

编辑 李军亮 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WCJD 和 WJG 2008 年对同行评议 开始实行公开策略

本刊讯 世界华人消化杂志(WCJD)和World Journal of Gastroenterology (WJG)为了确保刊出文章的质量,即将开始实行接受稿件的同行评议公开策略,将同行评议者姓名,职称,机构的名称与文章一同在脚注出版.如:同行评议者:房静远教授,上海交通大学医学院附属医院仁济医院,上海市消化疾病研究所;韩新巍教授,郑州大学第一附属医院放射科;匡安仁教授,四川大学华西医院核医学科.(总编辑:马连生 2008-02-08)

细胞角质素CK18和CK19在肝细胞癌组织中的表达

李蔚, 周慧聪, 李继昌, 段芳龄

李蔚, 李继昌, 郑州大学第一附属医院消化内科 河南省郑州市 450052

周慧聪, 河南职工医学院内科教研室 河南省郑州市 450000
段芳龄, 郑州大学第二附属医院消化内科 河南省郑州市 450000

李蔚, 2005级郑州大学第一附属医院消化内科博士, 讲师, 主要从事肝脏疾病的研究。

作者贡献分布: 此课题由李蔚及段芳龄设计; 研究过程由李蔚及段芳龄完成; 研究所用试剂及分析工具由李继昌, 周慧聪提供; 数据分析由李蔚完成; 本论文写作由李蔚, 周慧聪完成。

通讯作者: 李继昌, 450052, 河南省郑州市大学路40号, 郑州大学第一附属医院消化内科. moonlanders@tom.com

电话: 0371-68862182

收稿日期: 2007-09-20 修回日期: 2008-02-26

Expressions of cytokeratin 18 and cytokeratin 19 in hepatocellular carcinoma tissues

Wei Li, Hui-Cong Zhou, Ji-Chang Li, Fang-Ling Duan

Wei Li, Ji-Chang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, Henan Province, China

Hui-Cong Zhou, Department of Internal Medicine, Henan Medical College for Staff and Workers, Zhengzhou 450000, Henan Province, China

Fang-Ling Duan, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450006, Henan Province, China

Correspondence to: Ji-Chang Li, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Zhengzhou University, 40 Daxue Road, Zhengzhou 450052, Henan Province, China. moonlanders@tom.com

Received: 2007-09-20 Revised: 2008-02-26

Abstract

AIM: To observe the expressions of cytokeratin 18 (CK18) and cytokeratin 19 (CK19) in tissues of hepatocellular carcinoma, liver cirrhosis, and normal liver.

METHODS: Immunohistochemical streptavidin-peroxidase (SP) method was adopted to examine the expression of CK18 and CK19 in tissue samples of normal liver ($n = 8$), liver cirrhosis ($n = 27$), and hepatocellular carcinoma ($n = 43$).

RESULTS: The positive rates of CK18 expression in hepatic cirrhosis and normal liver tissues were no significant differences. However, CK18 expression was significantly different between

hepatocellular carcinoma and liver cirrhosis (65.1% vs 29.6%, $P < 0.01$). The positive rates of CK19 expression in cirrhosis of liver and normal liver were no significant differences. But the expression CK19 was markedly higher in hepatocellular carcinoma than that in hepatic cirrhosis (69.8% vs 25.9%, $P < 0.01$). Oval cells with strongly positive staining can be seen in the portal area of cirrhosis cases (20/27) and in the brink of carcinoma cases (35/43), and there were significant differences (CK18: 6.57 ± 1.69 vs 10.70 ± 2.31 ; CK19: 5.37 ± 1.17 vs 10.45 ± 2.15 , $P < 0.01$) in the numbers between cirrhosis of liver and hepatocellular carcinoma.

CONCLUSION: CK18 and CK19 are involved in hepatocarcinogenesis. Oval cells are strongly positive for CK18 and CK19 in cirrhosis of liver and hepatocellular carcinoma. Oval cells are associated with regeneration of liver, and are probably original cells of hepatocellular carcinoma.

Key Words: Cytokeratin; Hepatocellular carcinoma; Oval cell; Immunohistochemistry

Li W, Zhou HC, Li JC, Duan FL. Expressions of cytokeratin 18 and cytokeratin 19 in hepatocellular carcinoma tissues. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 721-725

摘要

目的: 观察和探讨细胞角质素CK18和CK19在不同肝组织中的表达及其意义。

方法: 采用免疫组化SP法观察正常肝组织8例, 肝硬化组织27例和肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)组织43例中CK18, CK19的表达。

结果: 肝CK18和CK19在肝硬化组与正常肝组织的表达率均无明显差异, 但两者在肝细胞癌组与肝硬化组之间差异有显著性(65.1% vs 29.6%, 69.8% vs 25.9%, $P < 0.01$)。在20/27例肝硬化组织和35/43例HCC组织中可见到CK18, CK19标记的卵圆细胞, 且在两种组织中卵圆细胞的数量有显著性差异(CK18: 6.57 ± 1.69 vs 10.70 ± 2.31 ; CK19: 5.37 ± 1.17 vs 10.45 ± 2.15 vs 10.45 ± 2.15, $P < 0.01$)。

背景资料

肝细胞癌(HCC)是严重危害人类健康的恶性肿瘤之一。不少学者对其进行了细胞学起源的探讨, 提出了肝细胞癌可能起源于肝内未分化的卵圆细胞的假说, 并从肝癌组织中发现了肝卵圆细胞的存在。

同行评议者
范学工, 教授, 中南大学湘雅医院感染科

相关报道

Fang *et al* 在大鼠肝癌模型中测得卵圆细胞贯穿于造模全过程, 其 *c-myc* 的表达量随肝癌的进展增高, 由此推测 *c-myc* 作为致癌基因可能对卵圆细胞恶性转化其重要作用.

2.15, $P < 0.01$).

结论: CK18和CK19参与了肝硬化到HCC的癌变过程; CK18和CK19在卵圆细胞中的强阳性表达, 支持HCC的卵圆细胞起源学说.

关键词: 角蛋白; 肝癌; 卵圆细胞; 免疫组织化学

李蔚, 周慧聪, 李继昌, 段芳龄. 细胞角质素CK18和CK19在肝细胞癌组织中的表达. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 721-725
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/721.asp>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)由肝内未分化的肝干细胞或卵圆细胞异常分化而来. 卵圆细胞被证实是肝脏干细胞(stem cell)的子代细胞^[1], 是肝干细胞的一种^[2-3], 并根据卵圆细胞的形态, 表型特征, 癌基因表达及体外转化等大量间接证据^[4-22], 认为HCC来源于卵圆细胞. 他具有独特的细胞形态和免疫表型, 既可表达肝细胞型细胞角质素CK8和CK18, 又可表达胆管细胞型角质素CK7和CK19. 我们通过免疫组化方法, 检测卵圆细胞标志物CK18和CK19在正常肝组织, 肝硬化组织和HCC组织中的表达, 并观察卵圆细胞在不同组织中的增生状况, 以期了解卵圆细胞在HCC发生中的作用.

1 材料和方法

1.1 材料 新乡医学院病理教研室, 郑州大学第一附属医院, 第二附属医院病理科, 河南省肿瘤医院HCC患者共43例, 肝硬化27例及肝囊肿8例, 血管瘤及肝硬化旁经病理证实为正常的蜡块或组织. 鼠抗人CK18, CK19购自福建迈新公司, SP试剂盒及DAB试剂盒购自北京中山公司.

1.2 方法 常规石蜡切片, HE染色. 免疫组化染色按试剂盒说明书进行: 二甲苯及梯度酒精脱蜡水化; 30 mg/L过氧化氢室温孵育10 min, 以消除内源性过氧化物酶的活性; 枸橼酸盐缓冲液抗原修复10 min; 正常山羊血清封闭, 室温孵育20 min; 倾去血清、勿洗、滴加一抗工作液, 4℃孵育过夜; 加二抗, 室温孵育20 min; SP室温孵育20 min; DAB镜下显色2-5 min; 苏木精复染, 酒精脱水, 二甲苯透明, 中性树胶封固. 设空白对照, 用PBS缓冲液代替一抗孵育已知阳性切片, 结果阴性. 根据阳性细胞所占的比例及显色程度, 将染色结果分为弱阳性(+), 阳性(++), 强阳性(+++)及阴性(-). 分别为25%-50%, 51%-70%, 70%以上及

小于25%的细胞着色(参照1997年全国免疫组化技术诊断标准化专题研讨会意见).

统计学处理 应用SPSS10.0统计软件进行, 计数资料采用 χ^2 检验, 计量资料采用配对 t 检验, $\alpha = 0.05$ 为有统计学意义.

2 结果

2.1 肝组织中CK18和CK19的表达 在正常肝组织中, CK18主要定位于小叶间胆管上皮细胞, 呈阳性染色, 靠近间质(汇管区)的肝细胞呈弱阳性染色, 其他部位肝细胞不着色, 主要为胞膜着色, 肝细胞质内亦有弱阳性着色, 从靠近间质汇管区向肝小叶中央区CK18着色呈逐渐衰减的趋势, 阳性率25%; 在肝硬化组织中, CK18在胆管细胞中呈阳性着色, 而在肝细胞中的着色亦有分布异质性, 从靠近间质汇管区向假小叶中央区亦呈逐渐衰减趋势, 偶见呈强阳性着色的小细胞, 在汇管区内可见呈强阳性染色的小细胞, 这些细胞具有独特的细胞形态, 细胞体积小, 约为正常肝细胞的1/4至1/2大小, 整个细胞大部分为卵圆形胞核所占据, 而胞质较少(图1A); 在HCC组织中, 癌细胞和间质内假胆管均呈强阳性着色, 在癌巢周边常可见到的成簇分布或散在分布的卵圆细胞(图1B). CK18在肝硬化组中的表达率与其在正常组中的表达率相比无显著差异, 而在HCC中的表达率与其在肝硬化组中的表达率相比有显著差异($P < 0.01$, 表1). CK19在正常肝组织中, 胆管上皮细胞阳性表达, 肝细胞呈阴性表达, 在肝硬化组织中, 间质中胆管、假胆管呈阳性着色, 间质中可见强阳性着色的卵圆细胞, 肝细胞不着色(图2A), 在正常肝组织中和肝硬化组之中的阳性表达率分别为0%和29.6%, 二者之间无明显差异($P > 0.05$). 在HCC中, 癌细胞, 间质中假胆管中呈阳性表达, 相对正常肝细胞呈阴性表达, 并见卵圆细胞的阳性表达(图2B), HCC的阳性表达率为69.8%, HCC和肝硬化组之间表达有显著差异($P < 0.01$, 表1).

2.2 卵圆细胞增生 在正常肝组织中未见到卵圆细胞, 在20/27例肝硬化组织中, 靠近肝小叶边缘汇管区周围可见到CK18及CK19染色较深的小细胞, 体积约为正常肝细胞的1/2-1/4, 胞核呈卵圆形, 胞质稀少, 即卵圆细胞. 在35/43例HCC组织中亦可见到卵圆细胞的增生, 他们位于癌巢周边, 成簇分布或散在分布. 他们在肝硬化组织和HCC组织中的数量之间有显著性差异, CK18

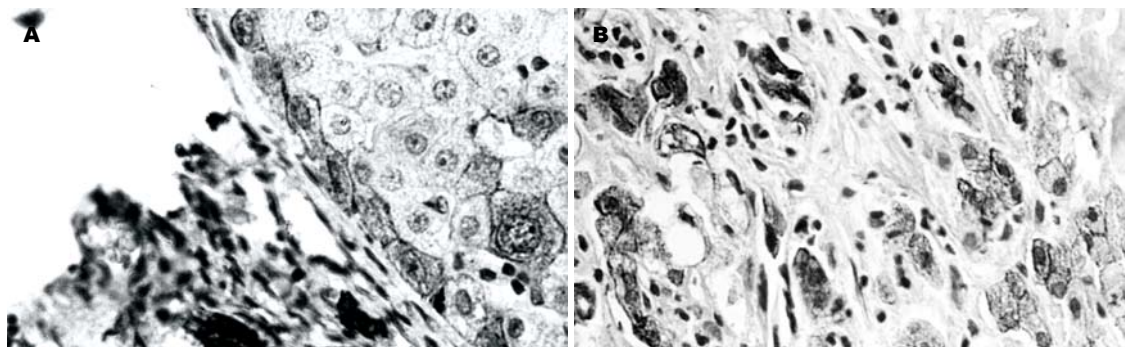


图 1 肝组织CK18的表达(SABC × 400). A: 肝硬化; B: 肝细胞癌.

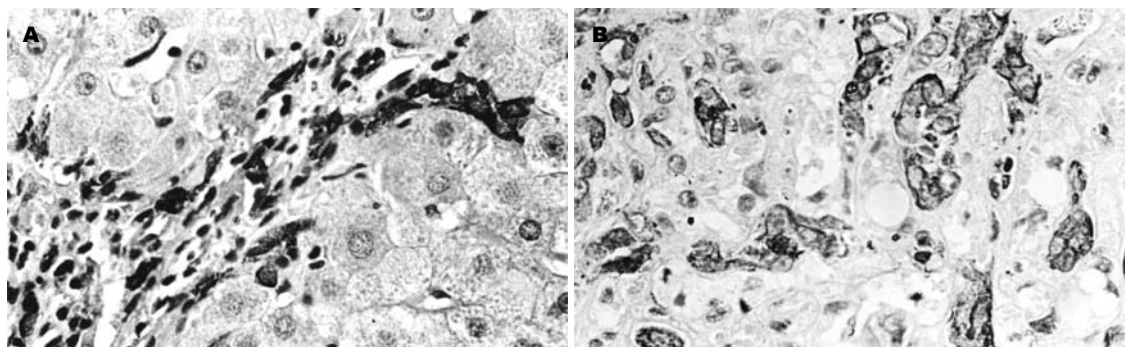


图 2 肝组织中CK19的表达(SABC × 400). A: 肝硬化; B: 肝细胞癌.

表 1 肝组织中CK18和CK19的阳性表达 $n(\%)$

组织	CK18	CK19
正常肝	2(25)	0(0)
肝硬化	8 ^b (29.6)	7 ^b (25.9)
肝细胞癌	28(65.1)	30(69.8)

^b $P < 0.01$ vs 正常肝组织, 肝细胞癌组织.

表 2 肝组织CK18和CK19标记的卵圆细胞数

组织	n	CK18	CK19
肝硬化	20	6.57 ± 1.69	5.37 ± 1.17
肝细胞癌	35	10.70 ± 2.31^b	10.45 ± 2.15^b

^b $P < 0.01$ vs 肝硬化.

及CK19标记的卵圆细胞在二者均有显著性差异 ($P < 0.01$, 表2).

3 讨论

CK18, CK19为两种不同的胆管上皮细胞角质素, CK18被认为是成熟肝细胞的标志, 属于肝细胞型细胞角质素; CK19属于胆管细胞型细胞角质素, 一般认为肝细胞不表达CK19^[23]. 卵圆细胞在分化过程中既可表达CK18, 又可表达CK19. Grisham *et al*^[24]提出了有关肝脏发育的流动肝(streaming liver)假说. 理由是肝板形态类似轨道, 新生肝细胞呈向心性从门静脉周围区移行至中央静脉区, 最终因凋亡死亡. 流动肝假说从细胞发育角度解释了门静脉周围区和中央静脉周围区肝细胞活力和功能的差异. 而CK18在正常肝组织和肝硬化组织肝细胞中从靠近间质汇管区向肝(假)小叶中央区的分布异质性也说明了这

一点. 目前认为, 肝再生通常通过处于增生静止期的分化肝细胞进入细胞周期完成, 如果这一途径出现缺陷, 胆管上皮细胞可以从门脉汇管区移出并分化成肝细胞, 这种胆管上皮细胞即卵圆细胞(oval cell). CK18属肝细胞型角质素, 即在肝实质细胞可有表达, 但从我们的实验结果来看, 并不是所有的肝细胞都可表达CK18. 因此, CK18在正常肝组织, 肝硬化组织和HCC组织中的表达状况, 体现了卵圆细胞在肝的发育, 再生, 癌变过程中担当着重要的角色. 在正常肝组织中, 胆管上皮细胞呈阳性着色, 而在肝细胞中则从靠近间质汇管区向肝小叶中央呈逐渐衰减趋势, 印证了流动肝学说, 在肝硬化组织中, 正常肝细胞再生功能缺损, 胆小管源性卵圆细胞从汇管区向外迁移分化形成肝细胞, 卵圆细胞来源于胆管上皮细胞, CK18呈强阳性着色, 间质内胆管, 假胆管亦呈阳性着色. 而肝细胞仍遵循

创新盘点
本文通过免疫组化方法, 检测卵圆细胞标志物CK18和CK19在正常肝组织, 肝硬化组织和HCC组织中的表达, 并观察卵圆细胞在不同组织中的增生状况, 以期了解卵圆细胞在HCC发生中的作用.

应用要点
本文以卵圆细胞作为种子细胞进行肝细胞移植, 应用于终末期肝衰竭的临床治疗.

同行评价
本文是一篇学术
水平一般的文章,
但结果有一定的
意义。

流动肝的轨道,亦呈现出类似正常肝细胞的异质性着色。仅从形态学上推测尚不能说明全部问题,CK18在正常肝组织和肝硬化组织中的异质性表达和流动肝假说的关系,还需进一步研究。

本实验结果提示CK19在正常肝组织中,胆管上皮细胞阳性着色,肝细胞无阳性着色;在肝硬化组织中,间质中胆管,假胆管呈阳性着色,间质中可见阳性着色的卵圆细胞,肝细胞不着色。而在HCC组织中,癌细胞和间质中假胆管呈阳性着色,并可见卵圆细胞强阳性着色。HCC癌细胞表达CK19,提示在肝细胞癌变过程中,细胞表型发生了改变,这也为探索HCC的细胞起源提供了线索。Sell *et al*^[25]从动物模型的研究成果推论无论是肝细胞癌还是胆管细胞管癌均起源于汇管周的肝脏干细胞,卵圆细胞是干细胞的子代细胞,并认为卵圆细胞可向Hering管分化,或形成胆管样结构,在致癌环境作用下,该干细胞可异常分化形成癌细胞。本实验中卵圆细胞及部分肝癌细胞表达CK19,表明卵圆细胞具有向上皮分化的潜能,当分化为正常肝细胞时,表达CK19的表型被抑制,而当细胞癌变时就表现干细胞的某些表型,如表达CK19。

CK18,CK19在肝硬化组与正常组中的表达率相比无明显差异,而在HCC组与肝硬化组中的表达率相比有明显差异,表明CK18,CK19主要参与了从肝硬化到肝细胞癌的癌变过程。结合他们在卵圆细胞中的强阳性表达,提示HCC可能起源于卵圆细胞。在正常生理情况下及在半肝切除时,肝脏干细胞并未激活及参与肝细胞的再生^[26]。据推测,仅在各种内源或外源性毒素等的刺激下,肝细胞自身的复制能力受到损害时,肝脏的干细胞才被激活^[27]。本实验中正常肝组织中未见到卵圆细胞,但在肝硬化组织中和HCC组织中却有卵圆细胞的存在,且其数量在两种组织中有显著性差异,而90%的HCC由肝硬化发展而来,肝硬化被认为是肝细胞癌的癌前病变,验证了卵圆细胞在肝脏损伤后再生和癌变中的作用,进一步支持HCC的卵圆细胞源学说。

4 参考文献

- 1 Thorgeirsson SS. Hepatic stem cells. *Am J Pathol* 1993; 142: 1331-1333
- 2 VVessey CJ, de la Hall PM. Hepatic stem cells: a review. *Pathology* 2001; 33: 130-141
- 3 PPetersen BE. Hepatic "stem" cells: coming full

- circle. *Blood Cells Mol Dis* 2001; 27: 590-600
- 4 SShupe T, Petersen BE. Evidence regarding a stem cell origin of hepatocellular carcinoma. *Stem Cell Rev* 2005; 1: 261-264
- 5 Alison MR. Liver stem cells: implications for hepatocarcinogenesis. *Stem Cell Rev* 2005; 1: 253-260
- 6 Wu XZ, Chen D. Origin of hepatocellular carcinoma: role of stem cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2006; 21: 1093-1098
- 7 Lee JS, Heo J, Libbrecht L, Chu IS, Kaposi-Novak P, Calvisi DF, Mikaelyan A, Roberts LR, Demetris AJ, Sun Z, Nevens F, Roskams T, Thorgeirsson SS. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med* 2006; 12: 410-416
- 8 Yamamoto T, Uenishi T, Ogawa M, Ichikawa T, Hai S, Sakabe K, Tanaka S, Kato H, Mikami S, Ikebe T, Tanaka H, Ito S, Kaneda K, Hirohashi K, Kubo S. Immunohistologic attempt to find carcinogenesis from hepatic progenitor cell in hepatocellular carcinoma. *Dig Surg* 2005; 22: 364-370
- 9 Alison MR, Lovell MJ. Liver cancer: the role of stem cells. *Cell Prolif* 2005; 38: 407-421
- 10 Matthews VB, Yeoh GC. Liver stem cells. *IUBMB Life* 2005; 57: 549-553
- 11 Fang CH, Zhang GQ, Zhu XY, Gong JQ. Distribution of oval cells and c-myc mRNA expression in mouse hepatocarcinogenesis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2004; 3: 433-439
- 12 FFang CH, Gong JQ, Zhang W. Function of oval cells in hepatocellular carcinoma in rats. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2482-2487
- 13 Fang CH, Zhang W, Zhu XY, Gong JQ, Zhang GQ. The expression of c-kit and proliferating cell nuclear antigen in oval cells of rats with hepatocellular carcinoma. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2003; 2: 537-544
- 14 Dumble ML, Croager EJ, Yeoh GC, Quail EA. Generation and characterization of p53 null transformed hepatic progenitor cells: oval cells give rise to hepatocellular carcinoma. *Carcinogenesis* 2002; 23: 435-445
- 15 龚加庆,方驰华.大鼠肝癌发生发展过程中肝组织增殖细胞核抗原动态演变规律.中国普外基础与临床杂志 2007; 14: 11-14
- 16 朱言亮,陈孝平,张万广,裘法祖.大鼠实验性肝癌发生中卵圆细胞的变化.世界华人消化杂志 2006; 14: 2830-2833
- 17 索金友,顾红光,王阁.原发性肝癌中CK7的表达及其意义.消化外科 2005; 4: 128-131
- 18 龚加庆,方驰华,李雅.肝卵圆细胞在进行性肝损伤过程中分布及迁移的实验研究.中国普外基础与临床杂志 2004; 11: 389-392
- 19 陈煜,段钟平,王宝恩,贾继东,陈光勇,李忆梅.过渡型CK19阳性表达细胞的研究.中华肝病杂志 2004; 12: 38-39
- 20 肖家诚,金晓龙,曾晓颖, Ruck P, Adam A, Kaiserling E. 肝细胞肝癌和肝硬化组织中的卵圆细胞: 电镜与免疫电镜研究. 检验医学 2004; 19: 47-50
- 21 薛玲,赵国强,吴惠茜,董郡.卵圆细胞在实验性肝癌发生中的作用.中山医科大学学报 1999; 20: 36-38
- 22 龚加庆,方驰华.大鼠卵圆细胞与原发性肝细胞癌发生的关系.世界华人消化杂志 2002; 10: 1133-1139
- 23 Hsia CC, Evarts RP, Nakatsukasa H, Marsden ER, Thorgeirsson SS. Occurrence of oval-type cells in hepatitis B virus-associated human hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 1992; 16:

- 1327-1333
- 24 Grisham JW. Migration of hepatocytes along hepatic plates and stem cell-fed hepatocyte lineages. *Am J Pathol* 1994; 144: 849-854
- 25 Sell S, Dunsford HA. Evidence for the stem cell origin of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Am J Pathol* 1989; 134: 1347-1363
- 26 Sell S. Comparison of liver progenitor cells in human atypical ductular reactions with those seen in experimental models of liver injury. *Hepatology* 1998; 27: 317-331
- 27 Bralet MP, Branchereau S, Brechot C, Ferry N. Cell lineage study in the liver using retroviral mediated gene transfer. Evidence against the streaming of hepatocytes in normal liver. *Am J Pathol* 1994; 144: 896-905

编辑 程剑侠 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志个性化服务订购活动

本刊讯 为了满足读者的多样化需求,解决一些作者因为资金不足而导致订阅印刷版的困难,自2007年开始,世界华人消化杂志(*WCJD*),推出以下个性化服务策略来为广大读者服务.

1 精彩专家述评专辑印刷版杂志

*WCJD*旬刊的服务方式: (1)每月8, 18, 28日通过E-mail发送精彩专家述评PDF; (2)2007年底将精彩专家述评专辑一本挂号邮寄用户收. 定价: 50元/年.

2 *WCJD*电子杂志

*WCJD*旬刊的服务方式: (1)每月8, 18, 28日通过E-mail提醒PDF电子杂志(1-36期). 定价: 180元/年.

3 *WCJD*网络版杂志

*WCJD*旬刊的服务方式: (1)每月8, 18, 28日通过E-mail提醒网络版杂志(1-36期). 定价: 160元/年.

4 *WCJD*印刷版杂志

*WCJD*印刷版1-36期. 定价: 864元/年.

5 订购信息

邮政编码, 姓名, 地址, 部门, 机构名称, E-mail, 手机号.

6 汇款的方式

邮局汇款: 世界胃肠病学杂志社收, 100023, 北京市2345信箱. 附言注明订购的内容.

银行汇款: 户名: 北京百世登生物医学科技有限公司; 开户银行: 中国工商银行北京商务中心区支行国贸大厦分理处; 账号: 0200041609020180741. 附言注明: 订购的内容和发票的抬头.

总之, *WCJD*将尽自己的最大努力, 满足广大读者的需求, 同时欢迎更多个性化服务的意见和建议E-mail发至: h.n.zhang@wjgnet.com. 谢谢! (世界胃肠病学杂志社 2008-03-08).

定量术前评价胰腺癌血管侵犯多排CT技术

李震, 褚倩, 肖明, 沈亚琪, 宋金梅, 张进华, 胡道予

背景资料
胰腺癌是临床上常见疾病, 由于其位置较深, 解剖关系复杂, 常常在开腹后才发现不能手术切除。胰腺癌周围血管侵犯是评价肿瘤可切除性最重要的指标之一, 有无血管侵犯及对手术的影响已有报道, 但都是定性研究。多排螺旋CT(MDCT)三维重建技术及3D等后处理功能的技术使得血管侵犯的定量分析成为可能, 可精确测量各血管侵犯的长度和重要结构间距离。本研究通过定量分析周围血管侵犯状况, 探讨MDCT价值及对临床指导作用。

李震, 肖明, 沈亚琪, 宋金梅, 张进华, 胡道予, 华中科技大学同济医学院附属同济医院放射科 湖北武汉市 430030
褚倩, 华中科技大学同济医学院附属同济医院肿瘤科 湖北省武汉市 430030
李震, 2006年华中科技大学同济医学院博士, 主治医师, 主要从事腹部影像学工作及研究。
湖北省自然科学基金资助项目, No. 2002AB130
作者贡献分布: 此课题由李震, 褚倩及胡道予设计; 研究过程由李震, 褚倩, 肖明, 张进华及宋金梅操作完成; 研究所用材料及分析工具由李震和胡道予提供; 数据分析由李震, 褚倩及沈亚琪完成; 本论文写作由李震和褚倩完成。
通讯作者: 李震, 430030, 湖北省武汉市解放大道1095号, 华中科技大学同济医学院附属同济医院放射科。
doclizhen@yahoo.com.cn
电话: 027-83662348 传真: 027-83643059
收稿日期: 2007-08-22 修回日期: 2008-02-04

Quantitative preoperative assessment of vascular involvement in pancreatic carcinoma by multi-detector row computer tomography

Zhen Li, Qian Chu, Ming Xiao, Ya-Qi Shen, Jin-Mei Song, Jin-Hua Zhang, Dao-Yu Hu

Zhen Li, Ming Xiao, Ya-Qi Shen, Jin-Mei Song, Jin-Hua Zhang, Dao-Yu Hu, Department of Radiology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China

Qian Chu, Department of Oncology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, Hubei Province, China
Supported by: the Natural Science Foundation of Hubei Province, No. 2002AB130

Correspondence to: Dr. Zhen Li, Department of Radiology, Tongji Hospital of Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, 1095 Jiefang Road, Wuhan 430030, Hubei Province, China. doclizhen@yahoo.com.cn
Received: 2007-08-22 Revised: 2008-02-04

Abstract

AIM: To evaluate the clinical efficacy of multi-detector row computer tomography (MDCT) in the preoperative quantitative assessment of vascular involvement of pancreatic carcinoma.

METHODS: MDCT was performed on 42 pancreatic carcinoma patients; the celiac trunk and portal vein were reconstructed and their branches to three-dimension vessel were analyzed by volume rendering (VR) technique,

multiplanar volume reconstruction (MPVR) and maximum intensity projection (MIP) technique. Combining the source images, the scope and extend of the vessel invaded in the portal vein celiac trunk, and inferior vena cava and their branches were evaluated and measured. Compared the CT scans results with operations and pathological sections, the diagnosis value of MDCT for pancreatic carcinoma was evaluated.

RESULTS: In the 42 pancreatic carcinoma patients with operation, 252 vessels were evaluated, 77 of which were invaded by carcinoma. Celiac trunks were invaded in 12 patients, and the sensitivity and specificity were 84.6% and 96.6%, respectively. Superior mesenteric arteries were invaded in 13 patients, and the sensitivity and specificity were 100% and 96.7%, respectively. Hepatic arteries were invaded in 9 patients, and the sensitivity and specificity were 81.2% and 100%, respectively. Portal veins were invaded in 16 patients, and the sensitivity and specificity were 93.3% and 92.6%, respectively. Inferior vena cava was invaded in 6 patients, and the sensitivity and specificity were 93.3% and 92.6%, respectively. Superior mesenteric veins were invaded in 21 patients, and the sensitivity and specificity were 90% and 86.7%, respectively. In the aspect of thrombosis, MDCT scan results were consistent with the surgical findings. Only one vessel of superior mesenteric artery and vein was not correctly measured in length by MDCT. When the length between invaded vessel and vessel branches were measured, only one patient's MDCT result was consistent with the surgical result on superior mesenteric artery.

CONCLUSION: MDCT can delineate the vascular involvement of pancreatic carcinoma with high accuracy, measure the invaded vessel correctly and provided valuable information in the preoperative assessment of pancreatic carcinoma.

Key Words: Multi-detector row spiral CT; X-ray Computed Tomography; Pancreatic Carcinoma; Double-phase scans; Three-dimension reconstruction

同行评议者
沈柏用, 副教授,
上海瑞金医院肝胆胰外科中心

Li Z, Chu Q, Xiao M, Shen YQ, Song JM, Zhang JH, Hu DY. Quantitative preoperative assessment of vascular involvement in pancreatic carcinoma by multi-detector row computer tomography. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 726-731

摘要

目的: 前瞻性研究多排螺旋CT(MDCT)定量评价胰腺癌血管侵犯和可切除性的价值。

方法: 胰腺癌42例术前进行MDCT检查, 采用表面容积重建法(VR)和多层面容积重建法(MPV)对下腔静脉、腹腔干、门静脉及其分支进行三维血管重建分析, 结合原始图片评价胰腺癌及其胰腺周围血管, 并进行量化测量, 根据胰腺癌对周围血管的侵犯情况做出能否切除的术前评价, 以手术结果作为金标准进行对照和分析。

结果: 探查胰腺癌手术治疗患者42例的252支血管, 其中77支血管不同程度受侵犯, 其中腹腔干受侵12例, 敏感性84.6%, 特异性96.6%; 肠系膜上动脉受侵13例, 敏感性100%, 特异性96.7%; 肝动脉受侵9例, 敏感性81.2%, 特异性100%; 门静脉主干受侵16例, 敏感性93.3%, 特异性92.6%; 下腔静脉受侵犯6例, 敏感性100%, 特异性97.3%; 肠系膜上静脉受侵21例, 敏感性90%, 特异性86.7%。MDCT发现在栓子形成与手术结果完全相吻合。在侵犯长度方面, 仅肠系膜上动静脉各有1例欠准确。在受侵段与血管分支部位的距离测量方面, 仅肠系膜上动脉1例不准确。

结论: 胰腺癌术前MDCT血管三维重建能准确量化血管侵犯的范围和程度, 对可切除性评估具有重要的临床参考价值。

关键词: 多排螺旋CT; 计算机X线成像; 胰腺癌; 双期扫描; 三维重建

李震, 褚倩, 肖明, 沈亚琪, 宋金梅, 张进华, 胡道予. 定量术前评价胰腺癌血管侵犯多排CT技术. *世界华人消化杂志* 2008; 16(7): 726-731
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/726.asp>

0 引言

胰腺癌周围血管侵犯状况是评价肿瘤可切除性最重要的指标之一。对于有无血管侵犯, 及其对手术的影响前人已经进行了一些研究^[1-2], 主要的研究范围集中在有无局部血管侵犯的定性的方面。但是, 随着外科手术技术的进步, 以往不能够切除的部分发生血管侵犯的肿瘤可以采

用血管移植, 动静脉吻合等方法进行切除, 并不是只要有血管侵犯就一定不能手术。手术是否成功以及术式选择取决于血管侵犯的范围和程度^[3]。而目前对于血管侵犯的定量研究目前尚未见报道。多排螺旋CT(MDCT)三维重建技术及其实时3D等多种强大的后处理功能的放射学新技术使得血管侵犯的定量分析成为可能^[4-5], 可以清楚的显现动脉系统及其各分支血管的形态、走向, 精确测量各血管侵犯的长度和重要结构间距离, 并可了解是否存在动脉系统各分支的其他的病理情况^[6-7]。利用MDCT对胰腺癌患者周围血管侵犯状况评价进行定量研究, 旨在探讨MDCT在这方面的价值及其对临床治疗的指导作用。

1 材料和方法

1.1 材料 回顾性分析2003-05/2005-05接受MDCT检查的胰腺癌患者61例, 男47例, 女14例, 年龄34-75(平均53)岁。其中42例进行手术探查, 胰头部29例, 体尾部7例, 胰尾部6例。9例行简单的根治性切除术, 11例行肿瘤切除术加部分血管切除术或人工代血管术, 22例行姑息手术或剖腹探查术。检查前30 min, 受检者口服清水1000 mL以充盈胃及小肠, 采用美国GE公司Lightspeed 16层螺旋CT扫描。

1.2 方法 平扫电压120 kV, 电流250 mA, 层厚10 mm, 螺距1.375:1, 矩阵512×512^[8-9], 随后进行双期增强扫描, 62.3 g/L的Ultravist 300, 总量80 mL, 3 mL/s流率利用高压注射器进行肘静脉团注, 开始注射后30和60 s后分别进行动脉期、静脉期双期扫描^[10]。增强扫描参数: 120 kV, 250 mA, 层厚10 mm, 螺距1.375:1, 矩阵512×512。重建: 将10 mm层厚的增强图像薄层重建为1.25 mm层厚, 然后在工作站上采用ADW 4.0软件的进行重建。利用表面容积重建法(VR), 多层面容积重建法(MVPR)和CT仿真内镜(CTVG)技术重建胰腺周围血管及其与肿瘤的三维图像^[11-13], 包括腹腔动脉干、肠系膜上动脉、肝动脉、门静脉、下腔静脉和肠系膜上静脉, 以获得三维图像。由2位放射科主治医师和2位教授采取两级读片形式进行报告, 并依照Loyer *et al*的标准对胰腺癌与血管的关系判断血管侵犯的范围和程度, 并将血管侵犯状况进行量化测量。Loyer *et al*^[14]将胰腺癌与血管的关系分为6型: A型, 肿瘤和/或正常胰腺与邻近血管之间有脂肪分隔; B型, 低密度肿瘤与血管之间有正常胰腺组织; C型, 低密度肿瘤与血管为凸面点状接触; D型, 低密度肿瘤与血管为凹面接触, 或部分包绕血

研发前沿
胰腺癌可切除性研究一直是胰腺癌治疗中的难点和热点问题。血管侵犯是可切除性研究的核心问题, 手术技术的进步使得原来不可切除的肿瘤可以切除, 但这必须要对血管侵犯准确的进行定量, 定量研究成为新的研究热点。

相关报道

Zamboni *et al* 提出MDCT可以使对于有无血管侵犯的准确度从72%提高到94%，大大减少了失败的切除术的发生。Vullierme *et al* 对46例胰腺恶性肿瘤内乳头黏液瘤CT与手术结果进行比较分析，认为CT对于可切除性的研究具有相当的价值。

管; E型, 低密度肿瘤包绕邻近血管, 两者之间脂肪间隔模糊或消失; F型, 肿瘤阻塞血管. 将发生肿瘤侵犯的血管在MPR三维重建图像上结合原始轴位图像进行测量, 测量受侵犯段的长度, 距离上级血管分支处的长度和下一级血管分枝处的长度. 其中42例患者手术中探查, 术中均由术者探查胰周主要6支血管的状况, 包括腹腔动脉干、肠系膜上动脉、肝动脉、门静脉主干、下腔静脉和肠系膜上静脉. 以手术结果作为金标准进行对照和分析.

统计学处理 采用Kappa检验, 评价MDCT在胰腺癌术前可切除性评估的临床应用价值.

2 结果

2.1 血管侵犯 共计探查42例患者中的252支血管. 其中175支血管未受侵犯, 其余77支血管不同程度的侵犯. 12例患者腹腔动脉干受侵犯, MDCT估计过高2例, 估计过低1例; 13例患者肠系膜上动脉受侵犯, MDCT估计过高0例, 估计过低1例; 9例患者肝动脉受侵犯, MDCT估计过高2例, 估计过低0例; 16例患者门静脉主干受侵犯, MDCT估计过高1例, 估计过低2例; 6例患者下腔静脉受侵犯, MDCT估计过高0例, 估计过低1例; 21例患者肠系膜上静脉受侵犯, MDCT估计过高2例, 估计过低3例(表1).

2.2 血管侵犯的程度 分别测量77支受侵血管的长度, 范围与程度, 与上一级和下一级血管分支部位的距离, 有无血栓形成, 血栓的长度等, 并与手术中的结果相对照(表2).

2.3 CT常规扫描 CT平扫见胰头钩突部等密度影, 十二指肠推压; CT动脉期增强见肠系膜上动脉周围脂肪间隙存在, 未见侵犯; CT门静脉期增强见肠系膜上静脉脂肪间隙部分消失, 肿瘤部分包绕血管侵犯, 其内可见小血栓形成(图1).

2.4 CT的最大密度投影(MIP)和VR重建 CT重建, 可见肠系膜上动脉和腹腔干及其主要分支结构清晰, 未见血管侵犯, VR期重建图像更加直观, 更有整体感觉(图2).

2.5 CT的MIP测量 肠系膜上静脉脂肪间隙消失, 肿瘤部分包绕血管, 可见小血栓形成, 肿瘤侵犯血管段的长度为18.1 mm, 侵犯血管段上端距离门静脉主干下端26.9 mm(图3).

2.6 术中所见及手术过程 肠系膜上静脉血管侵犯范围小于2 cm, 距离肠系膜上静脉汇入门静脉处距离约为2.5 cm, 与MDCT的测量结果相同, 止血钳所指的为肠系膜上静脉. 术中切除受侵

表 1 胰腺癌MDCT双期扫描血管侵犯的敏感性与特异性(%)

血管	敏感性	特异性
腹腔动脉干	84.6	96.6
肠系膜上动脉	100.0	96.7
肝动脉	81.2	100.0
门静脉主干	93.3	92.6
下腔静脉	100.0	97.3
肠系膜上静脉	90.0	86.7

表 2 MDCT测量胰腺癌血管侵犯结果与手术对照(%)

血管	侵犯长度>2cm MDCT/手术	距血管分叉<1cm MDCT/手术	有血栓 MDCT/手术	总计
腹腔动脉干	0/0	13/13	0/0	13
肠系膜上动脉	5/6	4/4	2/2	12
肝动脉	1/1	2/2	1/1	9
门静脉主干	5/5	6/6	7/7	16
下腔静脉	2/2	0/0	0/0	6
肠系膜上静脉	7/6	5/5	6/6	21

段静脉, 采用血管吻合, 顺利切除肿瘤(图4).

3 讨论

胰腺癌血管侵犯状况MDCT评价技术的研究范围集中在有无局部血管侵犯的定性的方面^[15-17]. 但是, 随着外科手术技术的进步, 并不是只要有血管侵犯就一定不能手术. 手术是否成功取决于血管侵犯的范围和程度. 因此, 有无局部血管侵犯的定性研究是不够的, 只有量化的分析肿瘤血管侵犯的范围和程度, 才能为临床手术方案的选择提供更为确实的依据. MDCT对胰腺癌的术前分期及可切除性评判的意义胰腺癌不可切除的因素包括胰周侵犯、血管受累、腹腔种植、淋巴结和转移^[18-19]. 在没有远处转移的情况下胰周血管(脾、动静脉除外)受累与否和受侵犯程度是决定可切除性的重要因素^[20]. 与普通螺旋CT相比, MDCT成像更快, 精度更高, 并有多种成像方法^[21-22]. 本研究结果显示, 42例患者的252支血管中, 175支血管未受侵犯, 其余77支血管不同程度的侵犯. 胰腺癌肿瘤血管侵犯MDCT对腹腔动脉干、肠系膜上动脉、肝动脉、门静脉、下腔静脉和肠系膜上静脉的灵敏度和特异度都较高, 能够较好的反应肿瘤血管侵犯状况.

创新盘点

本研究利用多排螺旋CT技术对胰腺癌的肿瘤血管侵犯实现了精确的定量研究, 对病变的范围和程度首先实现了量化分析, 契合了最新的胰腺手术学的进展, 打破了过去只要有了较严重的局部血管侵犯就不能切除的禁忌, 同时避免了手术中才发现原以为可能分离的较轻的病变实际范围过大, 导致不可切除的问题.

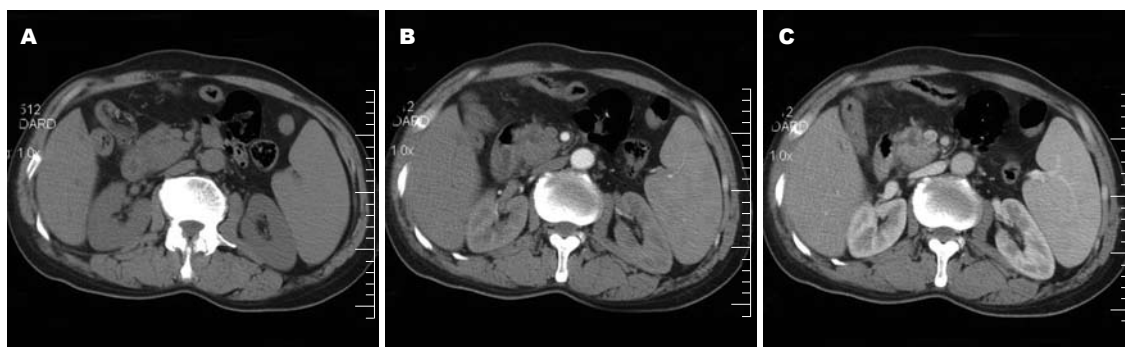


图 1 CT常规扫描结果. A: CT平扫见胰头钩突部等密度肿块影, 十二指肠推压; B: CT动脉期增强扫描见肠系膜上动脉周围脂肪间隙存在, 未见侵犯; C: CT门静脉期增强扫描见肠系膜上静脉脂肪间隙部分消失, 肿瘤部分包绕血管侵犯, 其内可见小血栓形成.

应用要点
本研究准确量化的反应胰腺癌血管侵犯的范围和程度, 对于胰腺癌术前可切除性评估具有重要的临床参考价值, 大大减少不必要的剖腹探查的发生, 提高手术的成功率.

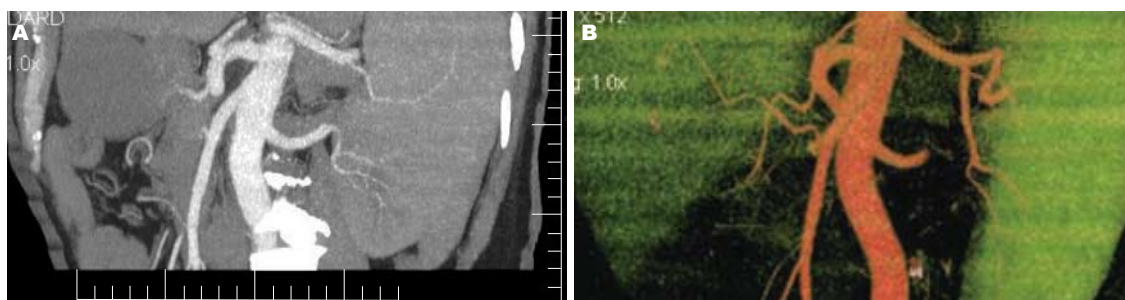


图 2 MIP动脉期重建. A: 肠系膜上动脉和腹腔干及其主要分支, 未见血管侵犯; B: VR动脉期重建

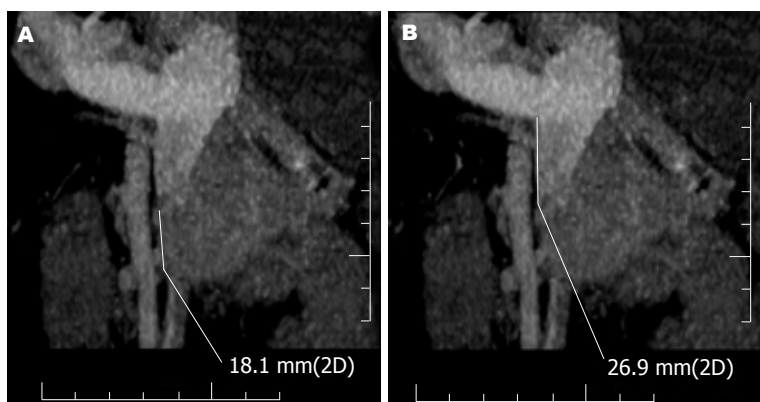


图 3 MIP三维静脉重建测量图片, 见肠系膜上静脉脂肪间隙消失, 肿瘤部分包绕血管, 小血栓形成. A: 测量肿瘤侵犯血管段的长度为18.1 mm; B: 测量肿瘤侵犯段上端距离门静脉主干下端的长度为26.9 mm.

其中, 12例患者腹腔动脉干受侵犯, MDCT估计过高2例, 估计过低1例; 13例患者肠系膜上动脉受侵犯, MDCT估计过高0例, 估计过低1例; 9例患者肝动脉受侵犯, MDCT估计过高2例, 估计过低0例; 16例患者门静脉主干受侵犯, MDCT估计过高1例, 估计过低2例; 6例患者下腔静脉受侵犯, MDCT估计过高0例, 估计过低1例; 21例患者肠系膜上静脉受侵犯, MDCT估计过高2例, 估计过低3例. 这以往的研究相符^[3,23-24], 稍高于普通螺旋CT. 说明MDCT能够对胰腺癌的肿瘤分期以及手术切除性做出较准确的评价.

MVPR和MIP可以多层面多角度的放大显示血管的浸润程度和范围, 结合原始图片, 达

到正确判断目的, 并能为手术提供很好的依据^[25-26]. 原始图像由于层面和方位的限制, 展现的结构不够直观. 是以病变为中心进行三维重建, 对于病变结构以及和周围组织的关系显示的较为清楚, 斜矢状位重建对于病变范围的显示更加直观, MPVR和MIP技术对于肿瘤的浸润范围的估计有着较高的价值, 三维重建对于诊断方面一定要结合原始像, 综合考虑, 防止假阳性的发生^[26-27]. VR图像可以较好的全面显示病变的全貌, 但是对于血管的侵犯帮助不大. MPVR和MIP所重建的图像均能显示主要胰腺周围血管, MIP图像对血管结构和肿瘤的全貌显示优于MPVR, 缺点是无法区分前后重叠的

名词解释

多排螺旋CT (MDCT): 是目前临床上最先进和高效的CT, 因其具有多个高速探测器而得名。目前的MDCT可以达到1 s单器官扫描, 空间分辨率可达0.125-0.625 mm, 同时可以进行多方位多角度重建和三维重建, 实现实时测量。



图4 胰腺癌切除术。

血管, 难以精确地反映胰腺癌与血管的关系^[28]。MPVR虽不能完整显示肿瘤和血管的形态, 但能较精细地显示胰腺癌与局部相邻血管的关系, 结合多角度旋转和多层次重建, 有利于清晰显示肿瘤累及胰周血管的部位、范围及程度^[29]。我们发现在有无血栓形成方面, MDCT与手术结果完全相吻合。在侵犯长度方面, 仅肠系膜上动静脉各有1例欠准确。在血管分支部位的距离测量方面, 仅肠系膜上动脉1例不准。动脉测量不准可能与受侵的动脉较为曲折有关, 较曲折的血管误差一般较大。但总的说来, MDCT能够准确量化的反应肿瘤血管侵犯的范围和程度。

随着外科技术的提高, 发生部分明显侵犯血管可以采用血管吻合或人工血管来解决肿瘤血管侵犯导致的不能切除的问题, 肠系膜上静脉侵犯时尤为突出^[30]。例如, 肠系膜上静脉血管侵犯范围小于2 cm, 距离肠系膜上静脉汇入门静脉处距离大于1 cm时, 可以切除受侵段静脉, 采用血管吻合。侵犯范围大于2 cm并无肠系膜上静脉分支侵犯时, 可以采用人工血管代替受侵犯的血管。

总之, 16层螺旋CT血管三维重建术前评价胰腺癌及其周围血管侵犯程度具有相当高的正确性, 能够准确量化的反应血管侵犯的范围和程度, 对于胰腺癌术前可切除性评估具有重要的临床参考价值, 是一种值得推广的方法。

4 参考文献

- Li H, Zeng MS, Zhou KR, Jin DY, Lou WH. Pancreatic adenocarcinoma: the different CT criteria for peripancreatic major arterial and venous invasion. *J Comput Assist Tomogr* 2005; 29: 170-175
- Zamboni GA, Kruskal JB, Vollmer CM, Baptista J, Callery MP, Raptopoulos VD. Pancreatic adenocarcinoma: value of multidetector CT angiography in preoperative evaluation. *Radiology* 2007; 245: 770-778
- Li H, Zeng MS, Zhou KR, Jin DY, Lou WH. Pancreatic adenocarcinoma: signs of vascular invasion determined by multi-detector row CT. *Br J*

Radiol 2006; 79: 880-887

- Smith SL, Basu A, Rae DM, Sinclair M. Preoperative staging accuracy of multidetector computed tomography in pancreatic head adenocarcinoma. *Pancreas* 2007; 34: 180-184
- Takeshita K, Kutomi K, Takada K, Kohtake H, Furui S. 3D pancreatic arteriography with MDCT during intraarterial infusion of contrast material in the detection and localization of insulinomas. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184: 852-854
- Takeshita K, Kutomi K, Takada K, Kohtake H, Furui S, Takada T, Fukushima J. Unusual imaging appearances of pancreatic serous cystadenoma: correlation with surgery and pathologic analysis. *Abdom Imaging* 2005; 30: 610-615
- Pelaez-Luna M, Takahashi N, Fletcher JG, Chari ST. Resectability of presymptomatic pancreatic cancer and its relationship to onset of diabetes: a retrospective review of CT scans and fasting glucose values prior to diagnosis. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 2157-2163
- Chu Q, Li Z, Zhang SM, Hu DY, Xiao M. Relationship between encephalopathy and portal vein-vena cava shunt: value of computed tomography during arterial portography. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1939-1942
- Li Z, Hu DY, Chu Q, Wu JH, Gao C, Zhang YQ, Huang YR. Cell apoptosis and regeneration of hepatocellular carcinoma after transarterial chemoembolization. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1876-1880
- Satoi S, Yamamoto H, Takai S, Tanigawa N, Komemushi A, Yanagimoto H, Toyokawa H, Matsui Y, Mergental H, Kamiyama Y. Clinical impact of multidetector row computed tomography on patients with pancreatic cancer. *Pancreas* 2007; 34: 175-179
- Gong JS, Xu JM. Role of curved planar reformations using multidetector spiral CT in diagnosis of pancreatic and peripancreatic diseases. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1943-1947
- Vullierme MP, Giraud-Cohen M, Hammel P, Sauvanet A, Couvelard A, O'Toole D, Levy P, Ruzsiewicz P, Vilgrain V. Malignant intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas: in situ versus invasive carcinoma surgical resectability. *Radiology* 2007; 245: 483-490
- Tamm EP, Loyer EM, Faria SC, Evans DB, Wolff RA, Charnsangavej C. Retrospective analysis of dual-phase MDCT and follow-up EUS/EUS-FNA in the diagnosis of pancreatic cancer. *Abdom Imaging* 2007; 32: 660-667
- Loyer EM, David CL, Dubrow RA, Evans DB, Charnsangavej C. Vascular involvement in pancreatic adenocarcinoma: reassessment by thin-section CT. *Abdom Imaging* 1996; 21: 202-206
- Ichikawa T, Erturk SM, Sou H, Nakajima H, Tsukamoto T, Motosugi U, Araki T. MDCT of pancreatic adenocarcinoma: optimal imaging phases and multiplanar reformatted imaging. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 187: 1513-1520
- Song SJ, Lee JM, Kim YJ, Kim SH, Lee JY, Han JK, Choi BI. Differentiation of intraductal papillary mucinous neoplasms from other pancreatic cystic masses: comparison of multirow-detector CT and MR imaging using ROC analysis. *J Magn Reson Imaging* 2007; 26: 86-93
- Buchs NC, Frossard JL, Rosset A, Chilcott M,

- Koutny-Fong P, Chassot G, Fasel JH, Poletti PA, Becker CD, Mentha G, Behler L, Morel P. Vascular invasion in pancreatic cancer: evaluation of endoscopic ultrasonography, computed tomography, ultrasonography, and angiography. *Swiss Med Wkly* 2007; 137: 286-891
- 18 Klapdor R, Bahlo M, Babinsky A, Brenzinger ML. Reflections on treatment strategies for palliative chemotherapy of pancreatic cancer. *Anticancer Res* 2007; 27: 1789-1794
- 19 Chang ST, Goodman KA, Yang GP, Koong AC. Stereotactic body radiotherapy for unresectable pancreatic cancer. *Front Radiat Ther Oncol* 2007; 40: 386-394
- 20 Rappeport ED, Hansen CP, Kjaer A, Knigge U. Multidetector computed tomography and neuroendocrine pancreaticoduodenal tumors. *Acta Radiol* 2006; 47: 248-256
- 21 Yovino S, Darwin P, Daly B, Garofalo M, Moesinger R. Predicting unresectability in pancreatic cancer patients: the additive effects of CT and endoscopic ultrasound. *J Gastrointest Surg* 2007; 11: 36-42
- 22 Kakihara D, Yoshimitsu K, Irie H, Tajima T, Asayama Y, Hirakawa M, Ishigami K, Yamaguchi K, Taketomi A, Nishihara Y, Honda H. Usefulness of the long-axis and short-axis reformatted images of multidetector-row CT in evaluating T-factor of the surgically resected pancreaticobiliary malignancies. *Eur J Radiol* 2007; 63: 96-104
- 23 Imbriaco M, Smeraldo D, Liuzzi R, Carrillo F, Cacace G, Vecchione D, Diglio A, Salvatore M. Multislice CT with single-phase technique in patients with suspected pancreatic cancer. *Radiol Med (Torino)* 2006; 111: 159-166
- 24 Kala Z, Valek V, Hlavsa J, Hana K, Vanova A. The role of CT and endoscopic ultrasound in preoperative staging of pancreatic cancer. *Eur J Radiol* 2007; 62: 166-169
- 25 Schima W, Ba-Ssalamah A, Kolblinger C, Kulinna-Cosentini C, Puespoek A, Gotzinger P. Pancreatic adenocarcinoma. *Eur Radiol* 2007; 17: 638-649
- 26 Mehmet Erturk S, Ichikawa T, Sou H, Saitou R, Tsukamoto T, Motosugi U, Araki T. Pancreatic adenocarcinoma: MDCT versus MRI in the detection and assessment of locoregional extension. *J Comput Assist Tomogr* 2006; 30: 583-590
- 27 Kawamoto S, Lawler LP, Horton KM, Eng J, Hruban RH, Fishman EK. MDCT of intraductal papillary mucinous neoplasm of the pancreas: evaluation of features predictive of invasive carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2006; 186: 687-695
- 28 Tamm EP, Loyer EM, Faria S, Raut CP, Evans DB, Wolff RA, Crane CH, Dubrow RA, Charnsangavej C. Staging of pancreatic cancer with multidetector CT in the setting of preoperative chemoradiation therapy. *Abdom Imaging* 2006; 31: 568-574
- 29 Tamm EP, Loyer EM, Faria SC, Evans DB, Wolff RA, Charnsangavej C. Retrospective analysis of dual-phase MDCT and follow-up EUS/EUS-FNA in the diagnosis of pancreatic cancer. *Abdom Imaging* 2007; 32: 660-667
- 30 Imbriaco M, Megibow AJ, Ragozzino A, Liuzzi R, Mainenti P, Bortone S, Camera L, Salvatore M. Value of the single-phase technique in MDCT assessment of pancreatic tumors. *AJR Am J Roentgenol* 2005; 184: 1111-1117

同行评价
本文选题符合该领域的研究热点, 统计学处理符合统计学方法, 结论可靠, 但讨论不够深入, 全面。

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WCJD 和 WJG 开始实行网络版文章 与该文章发表前纪录的链接

本刊讯 WCJD和WJG即将开始实行网络版的每篇文章上都有该文发表前纪录的链接, 包括首次提交的稿件, 同行评议人报告, 作者给审稿人回信和作者修回稿, 以PDF格式上传. 读者可以针对论文、审稿意见和作者的修改情况发表意见, 指出问题与不足; 作者也可以随时修改完善自己发表的论文. 使文章的发表成为一个编者、同行评议者、读者、作者互动的动态过程. (总编辑: 马连生 2008-03-08)

结肠癌组织中整合素 $\alpha 3$ 的表达与侵袭转移性的关系

姚立彬, 赵金鹏, 陈一尘, 杨松林, 苑海刚

背景资料
整合素指存在于细胞膜上的一类跨膜糖蛋白, 属于细胞黏附分子, 研究表明, 他与多种肿瘤的发生、发展和预后密切相关, 整合素在肿瘤中的表达及其与肿瘤临床生物学行为和预后的关系正受到人们密切的关注。

姚立彬, 陈一尘, 徐州医学院附属淮安市二院普外科 江苏省淮安市 223002

赵金鹏, 苑海刚, 哈尔滨医科大学附属第四医院普外科 黑龙江省哈尔滨市 150001

杨松林, 哈尔滨医科大学附属第一医院ICU 黑龙江省哈尔滨市 150000

姚立彬, 2004年哈尔滨医科大学硕士, 主要从事结直肠癌诊断和治疗的研究。

作者贡献分布: 姚立彬与赵金鹏对此文所作贡献均等; 此课题由姚立彬, 赵金鹏及苑海刚设计; 研究过程由姚立彬操作完成; 研究所用试剂及分析工具由杨松林提供; 数据分析由姚立彬, 赵金鹏, 陈一尘及杨松林完成; 本论文写作由姚立彬, 赵金鹏及陈一尘完成。

通讯作者: 赵金鹏, 150001, 黑龙江省哈尔滨市颐园街37号, 哈尔滨医科大学附属第四医院普外科. yaolibin_123@126.com
电话: 0451-86853623

收稿日期: 2007-09-07 修回日期: 2008-02-05

Expression of integrin $\alpha 3$ in colon cancer and its relationship with invasion and metastasis

Li-Bin Yao, Jin-Peng Zhao, Yi-Chen Chen,
Song-Lin Yang, Hai-Gang Yuan

Li-Bin Yao, Yi-Chen Chen, Department of General Surgery, Huaian Hospital Affiliated to Xuzhou Medical College (the Second People Hospital of Huaian), Huaian 223002, Jiangsu Province, China

Jin-Peng Zhao, Hai-Gang Yuan, Department of General Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China

Song-Lin Yang, Intensive Care Unit, the First Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150000, Heilongjiang Province, China

Correspondence to: Jin-Peng Zhao, Department of General Surgery, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, 37 Yiyuan Street, Harbin 150001, Heilongjiang Province, China. yaolibin_123@126.com

Received: 2007-09-07 Revised: 2008-02-05

Abstract

AIM: To investigate the expression of integrin $\alpha 3$ in colon cancer and its biological significance.

METHODS: Eighty specimens (male: 47 cases; female: 33 cases) of excised colon cancer, 60 lymph nodes, 40 lymph node metastasis tissues (40 cases) and 20 non-metastatic lymph nodes (20 cases) were selected. All specimens were examined through pathological method. Twelve non-tumorous colon mucosal tissues were chose as controls. Immunohistochemical assay was used

to determine the expression of integrin $\alpha 3$.

RESULTS: The positive rates of integrin $\alpha 3$ expression in the primary lesions of colon cancer and lymph node metastasis tissues were obviously lower than those in the non-tumorous colon mucosa and non-metastatic lymph nodes (52/80 *vs* 12/12; 24/40 *vs* 18/20, $P < 0.05$). The expression of integrin $\alpha 3$ in colon cancer had no correlation with the sex and age of patients, but it was weakened gradually as the increasing of Dukes staging and decrease of tumor differentiation ($P < 0.05$). In addition, integrin $\alpha 3$ expression in the primary cases with the metastases of lymph node or liver was significantly weaker than that without metastases (25/49 *vs* 27/31; 1/16 *vs* 51/64, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The expression of integrin $\alpha 3$ is correlated with the biological behavior of colon cancer.

Key Words: Integrin $\alpha 3$; Colon cancer; Integrin; Immunohistochemistry

Yao LB, Zhao JP, ChenYC, Yang SL, Yuan HG. Expression of integrin $\alpha 3$ in colon cancer and its relationship with invasion and metastasis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 732-736

摘要

目的: 探讨整合素 $\alpha 3$ 在结肠癌组织中表达的临床病理学意义。

方法: 手术切除病理学诊断的结肠癌标本80例(男47例, 女33例)及淋巴结60枚, 淋巴结转移灶40枚和未转移淋巴结20枚。非肿瘤结肠黏膜组织12例作对照, 采用免疫组化方法检测整合素 $\alpha 3$ 的表达情况。

结果: 结肠癌原发灶及淋巴结转移灶中 $\alpha 3$ 亚单位整合素的染色特征发生明显改变, 表达程度明显弱于邻近非肿瘤结肠黏膜组和未转移淋巴结(52/80 *vs* 12/12, 24/40 *vs* 18/20, $P < 0.05$)。其表达与患者性别和年龄无关, 但随肿瘤Dukes分期增加及癌组织分化程度降低其表达逐渐减弱。此外, 在发现有淋巴结转

同行评议者
王健生, 副教授, 西安交通大学医学院第一附属医院肿瘤外科

移与肝转移病例中, 其原发灶整合素 $\alpha 3$ 表达弱于无淋巴结转移与无肝转移病例(25/49 vs 27/31, 1/16 vs 51/64, $P < 0.05$).

结论: 整合素 $\alpha 3$ 与结肠癌淋巴结转移程度和病期等生物学行为密切相关.

关键词: 整合素 $\alpha 3$; 结肠癌; 整合素; 免疫组织化学

姚立彬, 赵金鹏, 陈一尘, 杨松林, 苑海刚. 结肠癌组织中整合素 $\alpha 3$ 的表达与侵袭转移性的关系. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 732-736
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/732.asp>

0 引言

结肠癌浸润、转移等恶性表型是目前结肠癌治疗的最大障碍, 绝大多数结肠癌患者虽然经积极的常规治疗和手术切除, 但最终仍难免死于肿瘤复发和转移^[1]. 近年国外学者通过对胃癌和乳腺癌及脑胶质瘤等肿瘤恶性演进的分子细胞学、分子生物学机制研究发现, 肿瘤细胞表面的 $\alpha 3\beta 1$ 和 $\alpha 5\beta 1$ 等整合素(integrins)细胞黏附受体(cell adhesion receptors)与细胞外基质(extracellular matrix, ECM)成分黏附所导致的肿瘤细胞游离出基底膜过程, 是肿瘤浸润性生长和远处转移的始动步骤^[2-3]. 整合素在肿瘤中的表达及其与肿瘤临床生物学行为、诊断和预后的关系正受到人们日益密切的关注^[4-10]. 有关结肠癌与整合素关系的研究很少. 我们应用免疫组化方法研究了结肠癌患者原发灶80例、转移或非转移性淋巴结及邻近非肿瘤结肠黏膜等不同组织的整合素 $\alpha 3$ 亚单位表达情况, 旨在探讨整合素 $\alpha 3$ 亚单位的表达与结肠癌侵袭性的关系.

1 材料和方法

1.1 材料 手术切除病理学诊断的结肠癌原发灶标本80例及60例淋巴结取自2004-07/2006-12哈尔滨医科大学, 男47例, 女33例. 年龄28-81(平均54.5)岁. 全部标本均经证实. Dukes A期6例, B期23例, C期32例, D期19例. 高分化腺癌13例, 中分化腺癌52例, 低分化腺癌15例; 伴淋巴结转移49例, 肝转移16例. 距肿瘤边缘5 cm以上的邻近正常结肠黏膜组织12例作为对照. 癌转移的局部淋巴结40枚及未转移淋巴结20枚. 以40 g/L多聚甲醛固定后常规石蜡包埋. 兔抗人整合素 $\alpha 3$ mAb、APES防脱片剂及SABC试剂盒均购于武汉博士德生物工程有限公司, DAB显色试剂盒购于北京中山生物技术有限公司.

1.2 方法 石蜡切片厚4 μm , 丙酮固定后进行免疫组化SABC法染色: 抗原微波修复后加一抗置4℃冰箱过夜, 滴加生物素化II抗(羊抗兔), 室温反应45 min, PBS冲洗后滴加试剂SABC 20℃-30℃ 20 min DAB试剂盒显色, 脱水、透明、封片、镜检. 整合素 $\alpha 3$ 免疫组化DAB显色为棕黄色颗粒, 分布于肿瘤细胞膜及细胞质, 结果判定: (-)示阳性着色细胞低于或等于4%, (+)示着色淡或着色细胞在4%-25%者, (++)示着色适中或着色细胞占25%-50%者, (+++)示着色深或着色细胞大于50%者, 凡(+)或(+)以上者均视为阳性表达.

统计学处理 所获半定量数据进行 χ^2 检验和Wilcoxon秩和检验.

2 结果

整合素 $\alpha 3$ 在正常结肠黏膜中的表达(12/12)明显强于癌组织(52/80, $P < 0.05$), 其表达与患者性别和年龄无关, 但随肿瘤Dukes分期增加及癌组织分化程度降低其表达逐渐减弱, 此外, 在发现有淋巴结转移与肝转病例其原发灶整合素 $\alpha 3$ 表达(25/49, 1/16)弱于无淋巴结转移(27/31)与无肝转移(51/64)的病例(表1). 实验结果表明: 整合素 $\alpha 3$ 表达的减弱提示结肠癌细胞向远处转移侵袭能力增强. 而其表达与患者性别和年龄无统计学差异.

3 讨论

整合素系指存在于细胞膜上的一类跨膜糖蛋白, 属于细胞黏附分子, 他是由一个 α 链和一个 β 链非共价连接而成的异二聚体^[11], 他主要介导细胞之间及细胞与细胞外基质与ECM之间的黏附反应. 其配体分别是I型和IV型胶原、层黏连蛋白(laminin, LN)、纤维黏连蛋白(fibronectin, FN)、玻璃体结合蛋白(vitronectin, VN)、纤维蛋白原(fibrinogen, FG)等^[12]. 迄今为止已发现有18种不同的 α 链和8种不同的 β 链组成至少20多种不同的整合素分子, 决定了配体的特异性, 这些分子在肿瘤生长、侵袭和转移中的作用已成为当今热点研究课题^[13-18]. 整合素表达的变化与人类原发肿瘤及其转移灶的预后及生物学行为关系密切, 同一种整合素在不同肿瘤中的表达不同: 整合素 $\beta 4$ 在乳腺癌中表达减少, 在乳头状甲状腺癌中的表达却异常升高. 本研究结果显示整合素 $\alpha 3$ 在正常结肠黏膜中的表达明显强于癌组织. 人黑色素瘤细胞注入裸鼠体内的实验中整合素 $\alpha_v\beta_3$ 与肿瘤的侵袭有关, $\alpha_v\beta_3$ 与转移有

研发前沿 整合素 $\alpha 3$ 作为整合素家族中一个亚单位在胃癌、肺癌及脑胶质瘤等中的表达均有较透彻的研究, 通过其在不同肿瘤中表达情况来阐述其与各种肿瘤的生物学行为关系, 而他在结肠癌中的表达情况及与浸润转移、预后的关系报道较少. 此外整合素各亚单位之间的相互作用及其在肿瘤发生、发展过程中的作用机制还有待于进一步研究.

相关报道

Van Waes的一项研究证实, 整合素分子在止血、血管形成、肿瘤、瘢痕、骨形成及受精、着床中也都起重要作用, 并且可像座桥梁双向转导细胞内外的信号, 广泛影响细胞的生存、生长、增殖、分化、侵袭和转移等生物学行为。

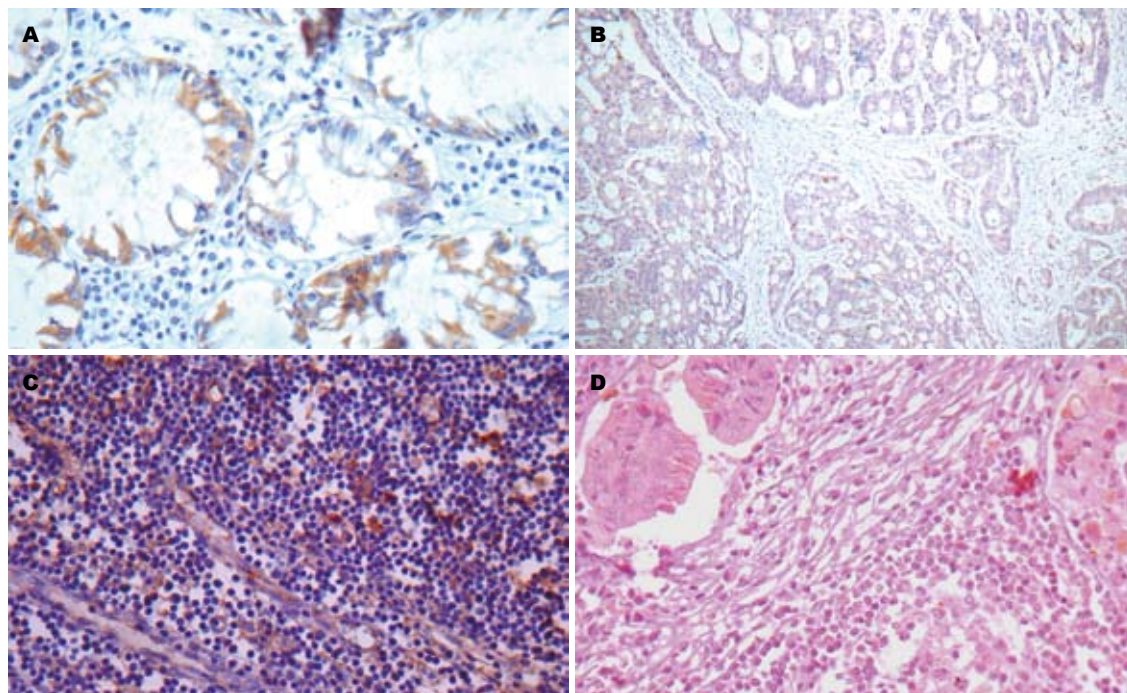


图1 整合素 $\alpha 3$ 在不同组织中的表达. A: 正常结肠黏膜; B: 结肠癌组织; C: 未转移淋巴结; D: 转移淋巴结.

关^[19]. Schirner *et al*^[20]报道用整合素 $\alpha_5\beta_1$ 的cDNA转染结肠癌HT-29细胞, 高表达的 $\alpha_5\beta_1$ 可抑制HT-29细胞的肺转移, 提示这种细胞表面的 $\alpha_5\beta_1$ 的表达可能不利于其增殖、转移. 此外Van Waes^[21]研究证实, 整合素分子在止血、血管形成、肿瘤、瘢痕、骨形成及受精、着床中也都起重要作用. 并且可像座桥梁双向转导细胞内外的信号, 广泛影响细胞的生存、生长、增殖、分化、侵袭和转移等生物学行为^[22-23]. 目前多种研究方法、检测手段和染色法已被用于对整合素的研究, 如动物实验、成功的腹膜模型、免疫组化、免疫细胞化学、流式细胞仪、扫描电子显微镜及HE染色法、结晶紫染色法、荧光染色法^[24]等分子生物学理论和技术的进步, 对整合素结构、功能、表达等进一步深入研究提供了可靠保证.

结肠癌是一种常见的恶性肿瘤, 近年来其发病率有逐年上升的趋势. 随着肿瘤分子生物学的进展, 对结肠癌分子水平的认识逐步深入. 最近, 细胞内信号转导已成为普遍关注的生物学问题, 他调节着多细胞生物的生长、发育、分裂及死亡等生物学行为, 并且与结肠癌等恶性肿瘤的发生发展密切相关. 近年来的研究表明, 整合素还可作为介导信号传递的膜分子, 通过独特的途径转导信号, 参与细胞多种生理功能和病理变化, 如细胞分化、增殖、伸展和迁移, 以及肿瘤的侵袭和转移等. 结肠癌治疗的最

表1 结肠癌组织整合素 $\alpha 3$ 亚单位表达与临床病理的关系

临床病理	<i>n</i>	整合素 $\alpha 3$ 亚单位表达		
		+++	++~+	-
年龄	60	37	5	19
	<60	43	5	23
性别	男	47	6	25
	女	33	4	17
Dukes分期	A-B	29	7	20
	C-D	51	3	22
分化		13	7	5
		52	3	35
		15	0	2
淋巴结转移	有	49	3	22
	无	31	7	20
肝转移	有	16	0	1
	无	64	10	41

^a $P < 0.05$.

大障碍是结肠癌的浸润、转移, 绝大多数结肠癌患者虽然经积极的常规治疗和手术切除, 但最终仍难免死于肿瘤复发和转移. 肿瘤的转移是一个多阶段的复杂过程, 其中细胞间的黏附是一个重要的前提条件^[25], 在肿瘤播散的过程中肿瘤细胞的黏附性质发生了改变, 原发肿瘤细胞内的黏附作用减弱可能起到重要的作用, 整合素 $\alpha 3$ 是一类重要的肠黏膜细胞表面受体, 主要分布于肠黏膜绒毛底部^[26]. 作为一种细胞黏附

创新盘点

本研究通过整合素 $\alpha 3$ 在癌和正常组织及已转移和未转移的淋巴结中的表达并对已经有肝转移和淋巴结转移的病例原发病灶进行分类, 更系统的研究了整合素 $\alpha 3$ 与结肠癌侵袭转移的关系.

分子他能够调节细胞与基质和细胞与细胞之间的相互作用^[27], 在肿瘤转移过程中起着重要作用, 其表达减弱使癌细胞间黏附力降低, 利于癌细胞从原发灶脱落、转移, 这可能是促使肿瘤转移的原因之一. 本实验结果亦提示整合素 $\alpha 3$ 表达的减少或缺失与结肠癌的侵袭转移能力呈正相关, 众多报导揭示了无论在体内或体外整合素 $\alpha 3$ 的表达都与肿瘤的恶性行为相关, 如在高侵袭和转移前列腺癌细胞中整合素 $\alpha 3$ 的表达减弱^[28], 此外整合素 $\alpha 3$ 在肺腺癌中的阴性表达是一个预后不良的重要因素^[29]. 这些发现均提示了整合素 $\alpha 3$ 的表达下降妨碍组织的完整性使细胞更容易扩散.

目前结肠癌的治疗仍遵循以手术为主的综合治疗, 除手术外我们比较常用的措施为术前或术后辅助化疗, 许多随机临床试验已经证实对于一些结肠癌患者辅助性化疗能够提高他们的生存率^[30]. 但是对于具有哪些临床特征的患者决定行辅助性化疗有意义还不是很清楚. 本研究发现结肠癌组织中整合素 $\alpha 3$ 的表达除明显弱于邻近非肿瘤结肠黏膜外, 还与多种临床病理因素有关, 即随Dukes分期增加、癌组织分化程度降低以及伴淋巴结或肝脏转移的癌灶组织所表达的整合素 $\alpha 3$ 分别明显弱于邻近非肿瘤结肠黏膜、不伴淋巴结或肝脏转移者. 这提示整合素 $\alpha 3$ 亚单位的低表达与结肠癌细胞的浸润性、低分化趋向和转移潜能密切相关. 通过本实验结果我们认为对于癌组织中整合素 $\alpha 3$ 表达阴性的结肠癌患者, 即使肿瘤局限在肠壁内, 可能也具有很强的远处转移侵袭趋向, 因此术后辅助性化疗可否在身体条件允许情况下延长化疗周期、增加化疗疗程以达到良好的治疗效果, 其可行性有待于探讨. 对整合素 $\alpha 3$ 表达阳性的病例, 我们可考虑适当缩短化疗周期, 在达到良好治疗效果同时尽量减轻化疗药物对患者所造成的全身副反应, 虽然整合素 $\alpha 3$ 在实体瘤中的具体作用机制尚有待于进一步阐明, 但本实验结果提示整合素 $\alpha 3$ 表达的减少或缺失与结肠癌的转移密切相关, 是其恶性表型的一个重要特征, 他可能作为判定结肠癌预后的一个有价值的标记. 因此, 对于结肠癌患者, 术前经肠镜检查取病理或手术切除的标本做病理行免疫组化检查整合素 $\alpha 3$ 对指导术前及术后辅助性治疗可能有着重要意义.

4 参考文献

- 1 Hashida H, Takabayashi A, Tokuhara T, Taki T, Kondo K, Kohno N, Yamaoka Y, Miyake M. Integrin $\alpha 3$ expression as a prognostic factor in colon cancer: association with MRP-1/CD9 and KAI1/CD82. *Int J Cancer* 2002; 97: 518-525
- 2 Pouliot N, Connolly LM, Moritz RL, Simpson RJ, Burgess AW. Colon cancer cells adhesion and spreading on autocrine laminin-10 is mediated by multiple integrin receptors and modulated by EGF receptor stimulation. *Exp Cell Res* 2000; 261: 360-371
- 3 黄涛, 秦仁义, 袁法祖. 整合素和胰腺癌侵袭转移. 实用肿瘤杂志 2005; 20: 267-269
- 4 陈中, 张雨温, 张素欣. 整合素 $\alpha 3$ 基因在口腔鳞状细胞癌组织中定量表达及其临床意义. 现代口腔医学杂志 2007; 21: 58-59
- 5 郑伟, 武正炎, 甄林林, 王汉晋, 朱旬. 整合素 $\alpha_v\beta_3$ 对乳腺癌骨髓微转移的作用. 中华普通外科杂志 2006; 21: 296-298
- 6 唐萌. 整合素受体示踪剂进行肿瘤靶向显像进展. 中国临床医学影像杂志 2007; 18: 599-601
- 7 Suzuki N, Higashiguchi A, Hasegawa Y, Matsumoto H, Oie S, Orikawa K, Ezawa S, Susumu N, Miyashita K, Aoki D. Loss of integrin $\alpha 3$ expression associated with acquisition of invasive potential by ovarian clear cell adenocarcinoma cells. *Hum Cell* 2005; 18: 147-155
- 8 de Nigris F, Botti C, Rossiello R, Crimi E, Sica V, Napoli C. Cooperation between Myc and YY1 provides novel silencing transcriptional targets of $\alpha 3\beta 1$ -integrin in tumour cells. *Oncogene* 2007; 26: 382-394
- 9 Katabami K, Mizuno H, Sano R, Saito Y, Ogura M, Itoh S, Tsuji T. Transforming growth factor- $\beta 1$ upregulates transcription of $\alpha 3$ integrin gene in hepatocellular carcinoma cells via Ets-transcription factor-binding motif in the promoter region. *Clin Exp Metastasis* 2005; 22: 539-548
- 10 Ahmed N, Riley C, Rice G, Quinn M. Role of integrin receptors for fibronectin, collagen and laminin in the regulation of ovarian carcinoma functions in response to a matrix microenvironment. *Clin Exp Metastasis* 2005; 22: 391-402
- 11 Ruoslahti E. Integrins. *J Clin Invest* 1991; 87: 1-5
- 12 Jessup JM, Gallick GE. The biology of colorectal carcinoma. *Curr Probl Cancer* 1992; 16: 261-328
- 13 Ivaska J, Heino J. Adhesion receptors and cell invasion: mechanisms of integrin-guided degradation of extracellular matrix. *Cell Mol Life Sci* 2000; 57: 16-24
- 14 Hynes RO. Integrins: versatility, modulation, and signaling in cell adhesion. *Cell* 1992; 69: 11-25
- 15 Koukoulis GK, Patriarca C, Gould VE. Adhesion molecules and tumor metastasis. *Hum Pathol* 1998; 29: 889-892
- 16 Adachi M, Taki T, Higashiyama M, Kohno N, Inufusa H, Miyake M. Significance of integrin $\alpha 5$ gene expression as a prognostic factor in node-negative non-small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* 2000; 6: 96-101
- 17 Shimizu H, Koyama N, Asada M, Yoshimatsu K. Aberrant expression of integrin and erbB subunits in breast cancer cell lines. *Int J Oncol* 2002; 21: 1073-1079
- 18 Kitajiri S, Hosaka N, Hiraumi H, Hirose T, Ikehara S. Increased expression of integrin $\beta 4$ in papillary thyroid carcinoma with gross lymph node metastasis. *Pathol Int* 2002; 52: 438-441
- 19 Johnson JP. Cell adhesion molecules in the development and progression of malignant

应用要点
本研究显示整合素 $\alpha 3$ 表达的减少或缺失与结肠癌的转移密切相关, 是其恶性表型的一个重要特征, 他可能作为判定结肠癌预后的一个有价值的标志.

同行评价
本文对整合素 α_3 的表达与结肠癌生物学行为之间的相关性进行了初步研究,结果显示具有一定的临床价值.

- 20 melanoma. *Cancer Metastasis Rev* 1999; 18: 345-357
- 21 Schirner M, Herzberg F, Schmidt R, Streit M, Schoning M, Hummel M, Kaufmann C, Thiel E, Kreuser ED. Integrin $\alpha_5\beta_1$: a potent inhibitor of experimental lung metastasis. *Clin Exp Metastasis* 1998; 16: 427-435
- 22 Van Waes C. Cell adhesion and regulatory molecules involved in tumor formation, hemostasis, and wound healing. *Head Neck* 1995; 17: 140-147
- 23 Hood JD, Cheresh DA. Role of integrins in cell invasion and migration. *Nat Rev Cancer* 2002; 2: 91-100
- 24 Green LJ, Mould AP, Humphries MJ. The integrin beta subunit. *Int J Biochem Cell Biol* 1998; 30: 179-184
- 25 方新初, 苏剑敏, 周国飞, 王丽影, 陈伉丽, 查锡良. 整合蛋白 $\alpha_5\beta_1$ 亚基的过表达对肝癌细胞粘附和迁移的影响. *中国癌症杂志* 2001; 11: 1-4
- 26 Kohn EC, Liotta LA. Molecular insights into cancer invasion: strategies for prevention and intervention. *Cancer Res* 1995; 55: 1856-1862
- 27 陈前, 秦环龙. 缺血缺氧损伤对肠上皮细胞整合素极性及其细胞凋亡的影响. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 456-459
- 28 Benhattar J, Losi L, Chaubert P, Givel JC, Costa J. Prognostic significance of K-ras mutations in colorectal carcinoma. *Gastroenterology* 1993; 104: 1044-1048
- 29 Dedhar S, Saulnier R, Nagle R, Overall CM. Specific alterations in the expression of $\alpha_3\beta_1$ and $\alpha_6\beta_4$ integrins in highly invasive and metastatic variants of human prostate carcinoma cells selected by in vitro invasion through reconstituted basement membrane. *Clin Exp Metastasis* 1993; 11: 391-400
- 30 Adachi M, Taki T, Huang C, Higashiyama M, Doi O, Tsuji T, Miyake M. Reduced integrin α_3 expression as a factor of poor prognosis of patients with adenocarcinoma of the lung. *J Clin Oncol* 1998; 16: 1060-1067
- 31 Moertel CG, Fleming TR, Macdonald JS, Haller DG, Laurie JA, Goodman PJ, Ungerleider JS, Emerson WA, Tormey DC, Glick JH. Levamisole and fluorouracil for adjuvant therapy of resected colon carcinoma. *N Engl J Med* 1990; 322: 352-358

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

WCJD 和 WJG 2008 年对作者贡献分布 开始实行公开策略

本刊讯 WCJD和WJG即将开始实行在每篇文章的脚注内注明每个作者对文章的贡献率,如:作者贡献分布:陈湘川与庞丽娟对此文所作贡献均等;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。(总编辑:马连生 2008-03-08)

促动力药物在胃食管反流病治疗中的研究进展

朱琦, 刘文忠

朱琦, 刘文忠, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科 上海市消化疾病研究所 上海市 200001
作者贡献分布: 陈
通讯作者: 刘文忠, 200001, 上海交通大学医学院附属仁济医院消化科. liuwzmd@163.com
电话: 021-68383112
收稿日期: 2007-10-23 修回日期: 2008-01-27

Advance in roles of prokinetic agents in the treatment of gastroesophageal reflux disease

Qi Zhu, Wen-Zhong Liu

Qi Zhu, Wen-Zhong Liu, Department of Gastroenterology, Renji Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai Institute of Digestive Disease, Shanghai 200001, China
Correspondence to: Wen-Zhong Liu, Department of Gastroenterology, Renji Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200001, China. liuwzmd@163.com
Received: 2007-10-23 Revised: 2008-01-27

Abstract

Gastroesophageal reflux disease (GERD) is characterized by the reflux of gastric content into esophagus with or without histological changes. Pathogenesis of GERD are lower esophageal sphincter (LES) dysfunction, abnormal clearing capacity of refluxed materials, delayed gastric emptying and abnormal resistance of esophageal mucosa to gastric acid, but the primary upper gastrointestinal motility dysfunction is regarded as the most important factor in general. Therefore, prokinetic agents those can restore gastric motility with increasing of LES and esophageal motility have been developed and used frequently in the treatment of GERD. There are several prokinetic agents such as metoclopramide, domperidone, cisapride and mosapride that facilitate acetylcholine release from the enteric cholinergic neurons through a selective 5-HT₄ receptor agonistic action. It is considered that prokinetic agents have the same effect as H₂ blocker in the treatment of patients with mild GERD. Additionally, it was reported that a combination therapy with prokinetic

agents and proton pump inhibitors (PPI) or H₂ receptor antagonists (H₂RAs) was more effective than monotherapy in patients with severe GERD. This article reviews recent advances of study on the role of prokinetic agents in the treatment of gastroesophageal reflux disease.

Key Words: Prokinetic agents; Gastroesophageal reflux disease; Treatment; Mosapride

Zhu Q, Liu WZ. Advance in roles of prokinetic agents in the treatment of gastroesophageal reflux disease. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2008; 16(7): 737-745

摘要

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是由胃内容物反流引起不适症状和(或)并发症的一种疾病. GERD的发病机制包括食管下括约肌(lower esophageal sphincter, LES)功能失调, 食管对反流物廓清能力下降, 胃排空延迟以及食管黏膜对胃酸的抵抗力异常. 因此, 恢复胃动力、增强LES收缩以及食管运动的促动力药物常被用于治疗GERD, 包括甲氧氯普胺、多潘立酮、西沙必利及莫沙必利等药物. 目前认为, 对于治疗轻度GERD促动力药物与H₂受体阻滞剂具有相同的疗效, 而在治疗重症GERD时促动力药物和抑酸药物联合治疗比单药治疗更有效. 本文就将促动力药物在GERD治疗方案中作用和地位的研究进展作一综述.

关键词: 促动力药物; 胃食管反流病; 治疗; 莫沙必利

朱琦, 刘文忠. 促动力药物在胃食管反流病治疗中的研究进展. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 737-745
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/737.asp>

0 引言

胃食管反流病(gastroesophageal reflux disease, GERD)是由胃内容物反流引起不适症状和(或)并发症的一种疾病^[1]. 其主要症状为反流和烧心, 可伴食管黏膜和/或食管外组织损害. GERD是一种常见病, 在世界各地的发病率不同, 在西欧及

背景资料
目前抑酸治疗被公认是治疗GERD的主要方法, 但是关于促动力药物在胃食管反流病(GERD)治疗中的作用尚有争议. 较一致的观点认为, 对于治疗轻度GERD促动力药物与H₂受体阻滞剂具有相同的疗效, 而在治疗重症GERD时促动力药物和抑酸药物联合治疗比单药治疗更有效.

同行评议者
张军, 教授, 西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

研发前沿
GERD最理想的治疗是纠正引起反流的病理生理障碍。纠正胃食管反流的病理生理异常和改善抗反流防御屏障功能的研究,将为更合理的GERD治疗开拓新的思路。

北美, GERD的发病率为10%-20%, 在南美约为10%^[2]; 在我国的发病率约为7%-8%^[3]。目前认为GERD是由多种因素所致的上消化系动力障碍性疾病, 主要为食管及胃肠动力障碍所致, 其发生机制主要是食管对胃、十二指肠内容物反流的防御机制下降和酸性反流物对食管黏膜的侵袭作用增强的结果^[2]; 其中前者包括下食管括约肌(lower esophageal sphincter, LES)压力下降, 食管酸廓清功能障碍, 食管黏膜抗反流屏障功能障碍以及胃排空延迟。因此, 促进食管运动、增强LES收缩压力以及恢复胃动力的促动力药物常常被用于治疗GERD^[4]。本文将就促动力药物在GERD治疗方案中作用和地位的研究进展作一综述。

1 GERD的药物治疗

随着GERD研究的进展, 人们逐渐认识到抗反流防御机制的各个环节在发病中的作用。在诸多的攻击因子中, 胃酸最为重要, 食管黏膜的过度酸暴露被认为是GERD发病的主要机制。许多研究已证明: 抑制胃酸分泌的治疗确实对过度的食管黏膜酸暴露及其产生的症状和黏膜损害有效^[5], GERD症状的缓解和损伤黏膜的愈合均高度依赖于胃酸控制程度^[5-7]。临床研究表明, GERD的药物治疗基础主要是抑酸, 因而抑酸治疗被公认是治疗GERD的主要方法^[7-8]。抑制胃酸的药物包括H₂受体拮抗剂(H₂ receptor antagonist, H₂RA)和质子泵抑制剂(proton pump inhibitor, PPI)等, 其中以PPI的疗效最佳。PPI能迅速、有效地抑制基础和餐后胃酸分泌。研究发现, PPI治疗GERD安全、有效, 能迅速缓解症状, 加快食管炎症愈合, 其疗效明显, 并对多数患者有效; 但对部分中、重度反流性食管炎患者单用PPI不能达到内镜下食管炎愈合的疗效^[7-9]。考虑单纯抑酸不能改善食管与胃的动力, 不能从根本上阻止反流; 同时强力制酸又可延缓胃排空, 导致食管与胃酸的长间接接触; 因此对中、重度GERD患者在进行抑酸治疗的同时, 加强促动力治疗是必要的^[2,4,6-9]。

2 促动力药物

临床研究认为, GERD虽与胃酸刺激有关, 但仅有5%-28%的患者伴胃酸增多^[5-6], GERD的临床表现除与患者对酸反流物刺激的反应性或敏感度有关, 也与反流频度、数量以及持续时间有关, 而后者发生与患者存在明显的食管、胃运动功能异常密切相关^[6-9]。近年来研究发现,

2/3的胃食管反流是由于近端胃扩张诱发下食管括约肌一过性松弛(transient lower oesophageal sphincter relaxations, TLESR), 导致LES压力一过性下降所致。GERD是由于LES无力或者由于胃、十二指肠内容物反流入食管所致的动力异常性疾病, 因此其愈合与对24 h胃内反流的良好控制有直接关系^[6,9-10]。促动力药可增强胃肠动力, 增强了抗反流作用, 可有效控制胃食管反流。促动力药对无食管黏膜组织学损害而仅有症状的轻度食管炎患者有显著疗效^[10-13]; 对中、重度GERD患者而言, 在进行抑酸治疗的同时, 加强促动力治疗是必要的^[11, 13-14]。

理论上说促动力药物应为GERD的“对因”治疗, 其治疗首先应改善动力, 增加LES张力, 改善食管清除酸能力, 增加胃排空, 才可从根本上阻止胃食管反流的发生^[6,9,11], 但是目前单独使用促动力剂治疗轻度GERD的疗效仅仅与H₂RA相似, 仅对伴随腹胀、嗝气等动力障碍症状效果明显优于抑酸剂, 而对中、重度GERD疗效较差^[14-16]。

多项研究证实, 促动力药物对轻度GERD有一定效果, 疗效和H₂RA近似^[15-16], 尤其适用于夜间反酸伴有胆汁反流者。2005年美国GERD诊治指南中^[17], 无论是对GERD的诊断或治疗均强调了抑酸, 尤其是PPI的作用, 没有明确促动力药物在GERD治疗中的作用和地位; 而2006年我国关于GERD共识中专家一致认为促动力药可作为抑酸药物治疗的辅助用药^[3], 没有推荐作为维持治疗的药物。

目前临床上治疗GERD的促动力药, 主要选用可增强上部胃肠动力、加速胃排空、促进与协调胃与十二指肠运动功能、增高食管下括约肌张力、促进食管蠕动的药物^[9-12,15,18], 包括甲氧氯普胺(metoclopramide)、多潘立酮(domperidone)、西沙必利(cisapride)、莫沙必利(mosapride)、伊托必利(itopride)以及替加色罗(tegaserod)等。

2.1 多巴胺受体拮抗剂 此类药物作用于多巴胺D₂(dopamine-2, D₂)受体以阻断多巴胺对消化系平滑肌的抑制作用, D₂受体的兴奋与乙酰胆碱递质释放呈负反馈调节, 这类药物除拮抗D₂受体兴奋引起的抑制作用外, 也相对增强乙酰胆碱的兴奋平滑肌作用。增加食管动力, 食管黏液分泌增加, 促进胃的排空, 同时通过作用于中枢化学感受器触发区而具有较强的抗呕吐作用。主要包括甲氧氯普胺(胃复安)和多潘立酮(吗丁

嗽), 临床上这些药物广泛用于治疗功能性消化不良、胃轻瘫、功能性胃肠病所致呕吐等。

甲氧氯普胺为多巴胺受体拮抗剂, 可以使LES压力升高, 促进胃排空, 防止胃、十二指肠液反流。由于甲氧氯普胺还能兴奋5-羟色胺₄受体, 有更明显的胃排空效应。但是其可进入血脑屏障, 引起中枢神经系统副作用, 特别是锥体外系反应, 如失眠、震颤、运动障碍, 不宜长期服用。目前临床上主要用于止吐治疗, 未见用于治疗GERD的临床报道。

多潘立酮是一种外周性多巴胺受体拮抗剂, 他通过特异性拮抗胃肠道平滑肌的D₂受体发挥其促动力作用, 他能降低发生蠕动反射的压力阈值, 增加纵行平滑肌的收缩频率和振幅, 增强胃的紧张性收缩和蠕动。加快固体和液体的排空, 尤以固体为明显, 对恶心、呕吐症状尤其有效。可使LES升高, 促进食管运动, 多潘立酮还可协调胃窦、十二指肠的运动, 这种协调运动对于维持正常的胃排空和防止胃十二指肠反流具有重要作用。目前研究认为, 多潘立酮和抑酸药物联合治疗GERD可增加疗效, 而单药治疗GERD的报道较少见。

多潘立酮是一种比较安全的药物, 极少通过血脑屏障, 不影响中枢神经系统的多巴胺受体, 因此服用后不引起锥体外系不良反应。应用常规剂量时不良反应的发生率不到7%, 副作用可偶见瞬时性、轻度腹部痉挛, 可引起高泌乳素血症, 如溢乳、乳房增大等, 停药后可恢复正常。多潘立酮的吸收要求胃内达到一定的酸度, 如同时应用大剂量中和胃酸的药物或较强的抑制胃酸分泌的药物会影响其吸收, 由于肠壁的代谢和肝脏的首过效应, 多潘立酮的口服生物利用度很低, 仅为13%-17%。

2.2 5-羟色胺₄(5-HT₄)受体激动剂 5-HT₄受体激动药分为苯甲酰胺类、苯丙咪唑类和吡啶烷基胺类3种^[19-20]。目前临床上常用的苯甲酰胺类衍生物有西沙必利和莫沙必利, 这类药物具有下列特点: (1)直接作用于肠肌间神经丛, 激动的5-HT₄受体, 间接增加乙酰胆碱的释放, 无多巴胺受体阻断作用, 不抑制乙酰胆碱酯酶活性, 也不影响催乳素的血浓度, 因此不会出现与抗多巴胺药物有关的泌乳、月经紊乱或锥体外系等副作用; (2)是一种全消化系促动力药、作用范围大; (3)生物利用度提高; (4)临床应用范围更趋广泛, 可用于治疗功能性消化不良、GERD、胃轻瘫、功能性便秘、假性肠梗阻等。

5-HT₄受体激动剂可通过兴奋胃肠道胆碱能中间神经元及肌间神经丛的5-HT₄受体, 促进乙酰胆碱的释放, 增强胃肠道平滑肌的蠕动和收缩^[21-22]。这类药物可使食管括约肌压力增高、改善食管蠕动, 有加快胃排空的作用, 从理论上讲可有效治疗反流性食管炎, 但临床疗效不够理想, 有待于进一步探讨。

2.2.1 西沙必利: 西沙必利是苯甲酰胺衍生物, 不具有抗多巴胺作用, 而是通过对5-HT不同受体的多重作用来实现其促动力作用。西沙必利除与5-HT₄受体有很强的亲和力外, 还与5-HT₂受体、 α 1受体均有亲和力。西沙必利作为非选择性5-HT₄受体激动剂, 促胃肠动力作用极强, 使LES压力升高, 食管蠕动加强, 胃排空加快, 改善胃窦和十二指肠协调性^[22-23]。Pehlivanov *et al*^[24]研究发现, 与安慰剂比较西沙必利可明显减少GERD患者夜间TLESR发作次数, 降低食管酸暴露时间百分比, 并在不影响胃排空的情况下增加食管下端括约肌压力。国外多个研究显示西沙必利与法莫替丁疗效相似^[15-16], 对轻度反流性食管炎有效, 而对重度反流性食管炎疗效甚微。Agorastos和Archimandritis的临床研究证实, 西沙必利可减轻患者的反流症状并能产生疗效, 其效果优于安慰剂, 与雷尼替丁相当。国外报道^[25], 在治疗反流性食管炎方面, 尤其是对中、重度患者的治疗, 单用奥美拉唑和奥美拉唑与西沙必利联合用药相比, 短期治疗<8 wk的治愈率相差不大, 但是延长治疗期(至12 wk), 联合用药组的治愈率有显著提高(70.9% vs 81.1%), 复发率较维持治疗组(15 mg/d)明显下降。结果提示对中度以上反流性食管炎, 西沙必利与H₂RA合用有疗效。此外, Gardner *et al*^[26]研究提示西沙必利可抑制GERD患者进食所刺激的酸分泌并降低食管和胃内酸度, 表明西沙必利通过多种途径发挥治疗GERD的作用。

西沙必利曾一度是GERD中使用最广泛的促动力药物, 但是由于其还有轻度拮抗5-HT₃和抗D₂受体作用, 可引起心脏不良反应, 发生Q-T间期延长, 在某些心脏病患者可以引起致命性室性心律失常, 且不能和多种抗生素合用, 已经限制了其临床应用。西沙必利的不良反应常见有胃或食管及腹部痉挛、肠鸣、腹泻、腹痛; 偶见头晕、头痛、ALT、AST上升、搔痒感、皮疹等过敏反应。也有报道引起惊厥性癫痫及锥体外系反应和尿频、冷汗等。由于西沙必利致严重心血管不良事件的发生, 因此从美国、

相关报道

GERD是一种常见病, 在世界各地的发病率不同, 在西欧及北美, GERD的发病率为10%-20%, 在南美约为10%; 在我国我国的发病率约为7%-8%。

创新盘点
本文就促动力药物在GERD治疗方案中作用和地位的研究进展作一综述,并对不同种类的促动力药物——作详细的介绍。

英国、加拿大和欧洲等国家相继撤出。

2.2.2 莫沙必利:莫沙必利是第一个没有多巴胺D2受体拮抗作用的高选择性5-HT₄受体激动剂,可加强并协调胃肠运动,防止食物滞留与反流,他选择性地作用于上消化系,对小肠和结肠基本无作用^[27-28]。莫沙必利是一种新型的胃肠促动力药物,他是强效选择性胃肠5-HT₄受体激动剂,他通过兴奋胃肠道胆碱能中间神经元及肌间神经丛的5-HT₄受体,促进乙酰胆碱的释放,从而增强胃肠道运动,但不影响胃酸的分泌。莫沙必利起效迅速,可增强食管蠕动和下食管括约肌张力从而防止胃内容物反流入食管,增强食管的清除作用^[28]。另外,莫沙必利还可以增加胃和十二指肠收缩以及胃和十二指肠的协调运动,减少十二指肠胃反流,促进胃和十二指肠的排空,能有效防止胃酸、胃蛋白酶及胆汁反流,从而达到减少酸性胃内容物食管反流及减少其在食管的暴露时间,加强食管抗反流屏障作用;还可以降低食管对腔内机械刺激的敏感性,有效改善症状,并促进损伤黏膜愈合。所以该药对反流性食管炎具有一定的治疗作用^[29-30]。莫沙必利最近在日本得到授权用于治疗上部胃肠道紊乱症,如GERD。

国外文献报道关于莫沙必利单独治疗GERD的对照临床研究较少。一项小规模临床研究中, Ruth *et al*^[29]应用莫沙必利治疗21例胃食管反流患者, *po* 40 mg/d, 1次/d, 与安慰剂比较, 结果显示莫沙必利对胃酸反流能得到良好地控制, 反流次数和总胃酸清除时间均优于安慰剂; 在随机、双盲、交叉安慰剂对照实验中, 具有胃食管反流症状和食管pH大于4的时间超过5%的患者, 服用莫沙必利40 mg/d后, 发生胃酸反流的总次数、胃酸反流超过5 min的次数和胃酸反流的总时间等方面, 均显著优于安慰剂。在另一治疗胃酸反流的临床试验中, 患者症状改善率在80%以上^[30]。王泽衍 *et al*^[31]对照研究了莫沙必利和法莫替丁治疗轻度反流性食管炎, 研究显示两组患者的症状改善以及胃镜复查结果, 差异无显著性意义。目前认为莫沙必利作用与西沙必利类似, 可以有效减少GERD患者反流次数和时间, 可用于轻度反流性食管炎的治疗, 其疗效与H₂RA基本相似^[29-30]。

一些研究认为莫沙必利治疗轻度反流性食管炎的疗效与PPI基本相似。国内王海勇 *et al*^[32]分别应用莫沙必利(新洛纳, 大西南制药厂)5 mg 4次/d和奥美拉唑20 mg 2次/d治疗GERD 8 wk,

疗效无差异。刘明东 *et al*^[33]对莫沙必利和奥美拉唑分别治疗反流性食管炎的疗效进行了临床研究, 结果表明莫沙必利对轻度反流性食管炎烧心和反酸临床症状的有效率为73.3%, 对内镜下表现的有效率为72.2%, 奥美拉唑对照组分别为86.7%和84.2%, 虽然莫沙必利对轻度反流性食管炎临床症状和内镜表现的有效率低于奥美拉唑, 但并无统计学差异; 莫沙必利安全性良好, 无延长Q-T间期作用。不良反应表现为轻度腹泻和倦怠, 不良反应症状轻微, 不影响患者继续用药。我们认为莫沙必利是治疗轻度反流性食管炎安全有效的药物, 可以在临床治疗GERD中作为选用的药物^[33]。

近年来有研究证实, 胆盐、胰酶等在胃食管反流病的发病机制中也起重要作用, 单纯应用抑酸剂或单用促动力药治疗难以取得满意的疗效而往往需要联合治疗^[34]。H₂RA或PPI与促动力剂联合应用时, 食管炎的治愈率、症状缓解率高于单用H₂RA或PPI^[11-15]。Madan *et al*^[35]在一项前瞻性随机对照研究中比较了单独应用潘妥拉唑和潘妥拉唑联合莫沙必利治疗GERD的疗效, 研究显示对于非糜烂性GERD两种方案的疗效无差别; 对于糜烂性GERD而言, 联合治疗的症状缓解率高于单独治疗。

周慧芬^[36]采用随机对照的方法比较使用雷贝拉唑、莫沙必利联合用药、单纯莫沙必利以及单纯雷贝拉唑治疗反流性食管炎的效果。研究发现, 两者联合治疗反流性食管炎其烧心和反酸临床症状的显效率为92.6%, 对内镜下表现的有效率为88.9%; 而单纯用枸橼酸莫沙必利的对照组分别为33.3%和44.4%; 单纯用雷贝拉唑得对照组分别为40.3%和50.8%; 两组之间有显著性差异。证明抑酸剂联合胃动力药治疗反流性食管炎有迅速缓解症状且食管炎症愈合率高的优点, 具有明显的疗效。

袁晓英 *et al*^[37]采用随机、对照、单盲的临床试验观察奥美拉唑与莫沙必利联合治疗中、重度反流性食管炎疗效。研究显示联合应用奥美拉唑与莫沙必利治疗中、重度反流性食管炎的症状控制有效率和内镜有效率分别为92.6%和86.4%, 与单纯应用奥美拉唑相比差异有显著性差异($P < 0.05$)。说明在使用抑酸剂的同时合用胃肠动力药莫沙必利可以显著改善其治疗反流性食管炎的效果。

Ruth *et al*^[30]的研究提示: 莫沙必利30 mg 1日3次可明显改善反流发作的持续时间、反流

率和食管廓清能力, 而莫沙必利60 mg 2次/d, 没有明显提高疗效, 提示莫沙必利与5-HT₄受体结合发挥作用并不呈现剂量依赖性效应。但是由于GERD的发病机制较复杂, 莫沙必利对食管下括约肌的作用尚不能完全解释其治疗效果, 因此有关病理生理、药物治疗和临床表现的联系尚待进一步研究。

莫沙必利为选择性胃肠道5-HT₄受体激动药, 没有D2受体的拮抗作用, 不会引起Q-T间期延长, 没有与西沙必利相似的导致尖端扭转型室性心动过速的电生理特性, 具有更好的安全性^[28]。莫沙必利在肝脏中由细胞色素P-450中的CYP3A4酶代谢。其主要代谢产物为脱-4-氟苄基莫沙必利, 对5-HT₃有高度亲和力, 是5-HT₃有效的阻断剂。他与大脑突触膜上的多巴胺D2、5-HT₁、5-HT₂受体无亲和力, 因而没有这些受体阻滞所引起的锥体外系的不良反应。其不良反应较少, 主要有轻度倦怠、头晕、稀便、轻微腹痛等, 发生率约5%。

2.3 新型促胃肠动力药

2.3.1 伊托必利: 伊托必利是一种具有与现有药物作用机制不完全相同的促胃肠动力药, 具有独特的双重作用机制, 他通过阻断多巴胺-D2受体和抑制乙酰胆碱酯酶活性发挥协同作用, 不仅能刺激乙酰胆碱的释放, 还能抑制其降解, 使乙酰胆碱浓度增高, 引起胃肠平滑肌收缩, 从而发挥促胃肠动力作用, 其对上消化系促动力作用选择性较高^[38-39]。

伊托必利可拮抗多巴胺对胃十二指肠运动的抑制, 以致于有时比正常收缩更为明显。在消化间期, 伊托必利与乙酰胆碱比较, 对胃肠道的收缩并不产生影响。而吗丁啉在消化期和消化间期均有拮抗多巴胺作用, 即在消化期和消化间期均可刺激胃十二指肠的收缩。伊托必利不但可以增强胃动力和抗呕吐, 而且对回肠收缩反应也有影响^[38]。临床试验发现, 伊托必利可明显提高慢性胃炎患者胃排空能力, 而不影响血液胃泌素水平^[40-41]。动物试验发现, 本品还具有一定的抗呕吐作用, 但其抗呕吐作用相对较弱, 就最小有效剂量而言, 其效能大约为多潘立酮的1/300和氧氯普胺的1/30。目前关于伊托必利治疗GERD的大规模临床研究报道较少。Kim *et al*^[42]对26例GERD患者进行了一项随机开放标记实验, 给予这些患者伊托必利150 mg/d或300 mg/d、3次/d, 30 d后进行24 h的食管pH监测以及症状评估。结果发现: 在150 mg/d或300 mg/d

治疗组中, 治疗后总症状评分均显著降低; 与治疗前比较, 伊托必利300 mg/d可显著降低食管pH值<4的时间百分比、pH值为<4的总时间以及DeMeester评分, 其效率大大高于150 mg/d。研究中的两组患者均未观察到锥体外系症状等严重不良反应。由此我们认为, 伊托必利100mg 3次/d能有效降低胃食管反流病患者的病理反流, 他对于有效治疗GERD有潜在作用。Walwaikar *et al*^[43-44]的一项大规模临床研究(ENGIP- I / II)显示伊托必利明显降低GERD患者烧心频率、烧心强度以及反流频率, 认为患者对伊托必利耐受性良好, 伊托必利可作为GERD的治疗药物。

伊托必利发挥促胃肠动力作用时的效应剂量对中枢神经系统, 自主神经系统和平滑肌无影响。伊托必利具有高极性, 较少进入脑内, 他对中枢神经系统多巴胺D2受体阻断作用弱, 锥体外系反应、溢乳或男性乳房发育等不良反应发生率较低, 不引起可导致猝死的Q-T间期延长或室性心律失常, 亦未观察到致畸作用。其不良反应发生率为2.4%, 主要为腹泻、头痛、腹痛、呃逆、口干等。本品因不依赖于细胞色素P450代谢, 故与其他药物合用时, 不会发生药物代谢方面的相互作用。在老年患者中亦有良好的症状改善率, 不良反应少而轻微。

伊托必利是一种具有与现有药物作用机制不完全相同的胃肠促动力药, 为GERD的治疗提供了一种新的选择。

2.3.2 替加色罗: 替加色罗是一种氨胍吡啶类化合物, 属于新一代的5-HT₄受体部分激动药, 具有高选择性和特异性, 作用靶器官是胃肠道。该药可强有力刺激胃肠道神经元、平滑肌细胞的5-HT₄受体, 通过作用于胃肠道中与降钙素基因相关肽神经元上的5-HT₄受体, 而增加血管活性肠肽、P物质及乙酰胆碱的释放, 引起胃肠道运动, 发生蠕动反射; 另外, 替加色罗还具有部分增加LES的压力、促进胃排空以及增加胃的顺应性, 明显的改善GERD患者的过早饱胀感和餐后充盈感^[45-46]。作为高选择性的5-HT₄受体部分激动剂, 与西沙必利相比, 其对胃肠道的促动力作用更强。Tack *et al*^[48]的研究发现, 替加色罗改善功能性消化不良患者进餐诱导的胃容积增加的作用优于安慰剂, 也支持替加色罗可改善胃顺应性的观点。自问世以来主要应用于治疗女性便秘型肠易激综合征(C-IBS)和慢性便秘, 并在临床应用中取得良好疗效。

替加色罗的作用不仅仅在于治疗便秘, 还

应用要点
抑酸剂和促动力药物等联合应用以及合理的选择按需治疗和降阶疗法是缓解GERD症状, 提高生活质量的有力保证。

名词解释

一过性下食管括约肌松弛(TLESR):与正常吞咽不相关的食管下端括约肌松弛,持续时间8-10 s。食管下端括约肌区压力下降至与胃内压力平衡时,就失去抗胃内容物反流的作用。多由于异常吞咽(不随正常食管蠕动波的吞咽动作)和胃扩张(多发生在餐后)引起。正常人和GERD患者餐后均见发生,但正常人持续时间较短。TLESR是大多数GERD患者的主要发病机制。

可改善上消化系运动功能障碍。对健康志愿者进行的口服替加色罗研究发现,口服替加色罗(6 mg, 2次/d)不会影响食管下端括约肌的功能^[46],但具有促进食管运动和改善食管对酸性食糜的廓清作用。我们认为,替加色罗可能治疗食管运动功能障碍和GERD有效。

关于替加色罗治疗GERD的研究目前报道较少。Armstrong *et al*^[49]通过动物实验发现,替加色罗能增加活体大鼠食管纵形平滑肌的长度,为替加色罗促进食管动力提供了依据。Kahrilas *et al*^[47]的研究发现,替加色罗对餐后LES压力无显著影响,但是1 mg/d替加色罗与安慰剂比较可以降低餐后胃食管反流,减少餐后的pH<4的时间百分比,明显减少了餐后食管酸暴露,这种作用可能是通过增强食管酸廓清、加快胃排空以及减少食管下括约肌的一过性松弛来实现。Rodriguez-Stanley *et al*^[50]研究替加色罗对功能性胸痛的影响,结果显示替加色罗可以显著增加疼痛阈值和食管壁的平均、最大张力;对酸灌注的疼痛阈值无影响,显著减少胸痛和食管反流的症状,以及与反流相关的心理应激。该研究暗示替加色罗能改变食管机械扩张的敏感性,但并不能改变食管的酸敏感性。同时Tougas *et al*^[51]的研究证实,替加色罗能有效治疗由于应用PPI治疗GERD所引起的胃排空延迟。根据已有的研究,单独使用替加色罗或与抑酸药联合应用可以用于治疗GERD。但是目前尚缺乏替加色罗对GERD治疗的进一步临床以及基础研究,需要评估替加色罗能否用来治疗抑酸无效的GERD患者或能否与PPI合用增加疗效。

由于替加色罗是5-HT₄受体部分激动药,其活性只有完全激动药21%,因此,替加色罗很少产生受体脱敏导致的快速抗药反应或耐药性。替加色罗的高选择性使其和5-HT₃受体、多巴胺受体和毒蕈碱样受体没有亲和力,对心脏复极化没有影响,不引起Q-T间期延长;血脑屏障穿透力弱,和华法林、地高辛、茶碱等药物联合用药时无相互作用,故认为替加色罗具有良好的耐受性和安全性。但是,2007-02/2007-03,最新的29项关于替加色罗用于治疗肠胃疾病的临床研究结果,综合评估了替加色罗对心脏和血管的不良反应。29项研究中共有11 614名患者服用了替加色罗,7031名患者服用了安慰剂,患者平均年龄为43年,大部分(88%)为女性患者。在研究中出现心脏病发作、心肌梗死或严重心前区疼痛的患者较少。但是服用替加色罗的患者与

服用安慰剂的患者相比,前者出现这些严重致命的不良反应的危险更大。共有13名服用替加色罗的患者(占0.1%)出现了严重致命的心血管不良反应。其中4名患者出现心脏病发作(1名死亡),6名出现严重的心前区疼痛并很快导致心脏病发作,3名发生中风。而在服用安慰剂的患者中,仅1名患者(占0.01%)出现心肌梗死的初期症状,但随后消失,并未出现并发症。故FDA建议暂停销售和使用替加色罗。

2.4 其他促动力药

2.4.1 胃动素受体激动剂:胃动素(motilin)存在于胃、十二指肠,而不存在于结肠,故仅选择性作用于胃和十二指肠。胃动素受体激动剂包括红霉素及其衍生物,可改善手术或糖尿病引起的胃轻瘫。糖尿病胃轻瘫患者予静脉滴注200 mg红霉素,可使胃排空液体和固体食物的时间显著缩短。红霉素已经证实为高效的胃动素激动剂,可以结合神经或平滑肌上的胃动素受体从而产生强有力的窦性收缩力,刺激胃窦部收缩而促进胃排空,可以增加LES压力^[52],对食管运动无影响,但由于其不良反应大并没有得到广泛应用。我国学者应用红霉素治疗新生儿胃食管反流,取得较好疗效。红霉素可增强下LES张力,并具有胃肠动力学作用,能有效减少胃内容物反流,对于食管炎患者,也能取得较好疗效,可能与红霉素的抗炎作用有关^[33]。由于大环内酯类同时也可以增强小肠的收缩从而可能引发腹痉挛和腹泻,口服红霉素有较明显的胃肠道不良反应,限制了其临床应用。目前一般推荐红霉素静脉用药治疗胃食管反流和胃轻瘫^[53],但其临床疗效尚待大规模病例的临床试验验证。红霉素衍生物为非肽类胃动素受体激动剂,能增强胃窦的动力,但摒弃抗生素活性从而得到进一步的发展。研究开发的红霉素衍生物有ABT-229、EM 574和EN523等,有很强的促胃肠动力作用,抗菌活性少或无^[52]。ABT-229是不具有抗生素活性的胃动素受体激动剂,可增加猫的LES压力、促进人类胃排空。目前关于ABT-229治疗GERD的研究结果似乎不一致。Van Herwaarden *et al*^[54]对24例GERD患者进行了随机、双盲、安慰剂对照、交叉研究,结果显示ABT-229未能减少食管酸暴露,不影响食管动力、LES压力以及一过性LES松弛,但ABT-229 10 mg bid可减轻日间烧心症状,认为ABT-229对GERD的治疗价值有限。Chen *et al*^[55]的研究结果亦证实了这一观点。而Netzer *et al*^[56]的研究结果

与之相反, 与安慰剂相比ABT-229 5 mg 2次/d和10 mg 2次/d均明显降低食管内pH<4的反流时间百分比, 提示ABT-229能够减少GERD的酸反流。红霉素衍生物EM-574能增强胃窦的动力, 加快正常状态下狗的胃排空, 改善手术引起的胃轻瘫, 该药可作用于胆碱能神经通路发挥促动力作用。但是红霉素类促胃肠动力药也能延长心脏的Q-T间期, 与其他大环内酯类药物合用时(如克拉霉素)对CYP3A4同工酶有抑制作用。

2.4.2 γ -氨基丁酸受体激动剂: γ -氨基丁酸(gamma aminobutyric acid, GABA) B型受体激动剂巴氯芬(baclofen)通过抑制TLESR可使健康人群和GERD患者的胃食管发作反流次数显著减少^[57]。van Herwaarden *et al*^[58]对37例GERD患者进行了一项双盲、安慰剂对照、交叉临床研究, 发现巴氯芬明显减少酸反流时间和胃食管反流发作次数, 一过性LES松弛也明显减少; 但是其不影响LES压力及一过性食管下端括约肌松弛相关反流的发生率; 因此认为巴氯芬可通过抑制TLESR的发生明显减少GERD患者餐后酸反流。Zhang *et al*^[59]的研究结果也表明巴氯芬是治疗GERD的有效药物。

3 综合治疗GERD

由于GERD的发病机制错综复杂, 决定了GERD的治疗需要长期的综合和整体治疗^[2-3]。GERD治疗的目的是缓解症状、治愈RE、预防并发症、防止复发以及改善生活质量^[2-3,17]。GERD最理想的治疗是恢复引起反流的病理生理。然而, 目前还没有一种方法能完全符合这样的要求。抑酸治疗是从攻击因子角度进行治疗, 但抑酸治疗并不能改变引起反流的低张力LES功能, 不能减少频繁发生的TLESR, 不能加快胃排空, 也不能缩短反流物暴露食管的时间等诸多动力因素^[4,7,9,13]。停止抑酸治疗后, 多数病例病情复发。尚不清楚如早期干预治疗反流性食管炎, 能否使其低下的动力功能有所恢复。在抑酸治后即便RE愈合, 但食管动力障碍不能恢复, 多数患者仍需维持治疗^[8,10,12,60-61]。维持治疗时间需要多长, 长期抑酸是否有利于胃肠生理环境, 这些思考需要得到临床研究证实和时间的考验^[13]。此外, 还有其他攻击因子如胆汁损害作用, 因此GERD的治疗需要综合和整体治疗^[62-63,65]。

总之, 在众多的GERD治疗药物中, 我们应根据病情严重程度、可能的病因选择适宜的药物^[62-66]。对于轻度和偶尔出现反流的GERD患者

可服用抗酸剂、促动力药物和黏膜保护药物或应用价格低廉的H2RA治疗^[62]; 中、重度GERD患者则应用PPI治疗为主, 辅以促动力药物^[62-63]。抑酸剂和促动力药物等联合应用以及合理的选择降阶疗法和按需治疗是缓解GERD症状^[63], 提高生活质量的有力保证。GERD的病因及发病机制较复杂, 治疗难度也较大, 因此, 科学合理地选择药物种类和剂量, 制定适宜的治疗策略和方案十分重要。对其治疗不仅要使用强抑酸剂及促动力药物, 而且要重视改变生活方式和饮食习惯^[61]。对GERD发病机制研究的深入, 尤其是针对胃食管反流动力障碍的研究, 开拓基于纠正其病理生理异常的治疗方法, 将为GERD治疗带来新的希望。

4 参考文献

- 1 Vakil N, van Zanten SV, Kahrilas P, Dent J, Jones R. The Montreal definition and classification of gastroesophageal reflux disease: a global evidence-based consensus. *Am J Gastroenterol* 2006; 101: 1900-1920; quiz 1943
- 2 Ferguson DD, DeVault KR. Medical management of gastroesophageal reflux disease. *Expert Opin Pharmacother* 2007; 8: 39-47
- 3 林三仁, 许国铭, 胡品津, 周丽雅, 陈旻湖, 柯美云, 袁耀宗, 房殿春, 萧树东. 中国胃食道反流病共识意见. *胃肠病学* 2007; 12: 233-239
- 4 Achem SR, Robinson M. A prokinetic approach to treatment of gastroesophageal reflux disease. *Dig Dis* 1998; 16: 38-46
- 5 Koek GH, Tack J, Sifrim D, Lerut T, Janssens J. The role of acid and duodenal gastroesophageal reflux in symptomatic GERD. *Am J Gastroenterol* 2001; 96: 2033-2040
- 6 Quigley EM. New developments in the pathophysiology of gastro-oesophageal reflux disease (GERD): implications for patient management. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17 Suppl 2: 43-51
- 7 Coron E, Hatlebakk JG, Galmiche JP. Medical therapy of gastroesophageal reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2007; 23: 434-439
- 8 De Giorgi F, Savarese MF, Atteo E, Leone CA, Cuomo R. Medical treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Acta Otorhinolaryngol Ital* 2006; 26: 276-280
- 9 Tack J. Recent developments in the pathophysiology and therapy of gastroesophageal reflux disease and nonerosive reflux disease. *Curr Opin Gastroenterol* 2005; 21: 454-460
- 10 Armstrong D. Gastroesophageal reflux disease. *Curr Opin Pharmacol* 2005; 5: 589-595
- 11 de Caestecker J. Prokinetics and reflux: a promise unfulfilled. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 5-7
- 12 Pettit M. Treatment of gastroesophageal reflux disease. *Pharm World Sci* 2005; 27: 432-435
- 13 Fass R, Ofman JJ. Gastroesophageal reflux disease--should we adopt a new conceptual framework? *Am J Gastroenterol* 2002; 97: 1901-1909
- 14 Miyamoto M, Haruma K, Takeuchi K, Kuwabara M. Frequency scale for symptoms of gastroesophageal

同行评价
本文就促动力药物在GERD治疗方案中作用和地位的研究进展作了综述, 有助于临床医师对GERD的治疗药物有更全面的认识。

- reflux disease predicts the need for addition of prokinetics to proton pump inhibitor therapy. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; :
- 15 Khan M, Santana J, Donnellan C, Preston C, Moayyedi P. Medical treatments in the short term management of reflux oesophagitis. *Cochrane Database Syst Rev* 2007; : CD003244
- 16 van Pinxteren B, Numans ME, Bonis PA, Lau J. Short-term treatment with proton pump inhibitors, H₂-receptor antagonists and prokinetics for gastro-oesophageal reflux disease-like symptoms and endoscopy negative reflux disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006; 3: CD002095
- 17 DeVault KR, Castell DO. Updated guidelines for the diagnosis and treatment of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 190-200
- 18 Smout AJ. Advantages and disadvantages of lumping together gastroesophageal reflux disease and dyspepsia. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 412-416
- 19 Tonini M, De Giorgio R, De Ponti F. Progress with novel pharmacological strategies for gastro-oesophageal reflux disease. *Drugs* 2004; 64: 347-361
- 20 Piche T, Galmiche JP. Pharmacological targets in gastro-oesophageal reflux disease. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97: 333-341
- 21 Lowe RC, Wolfe MM. The pharmacological management of gastroesophageal reflux disease. *Minerva Gastroenterol Dietol* 2004; 50: 227-237
- 22 Mizuta Y, Shikuwa S, Isomoto H, Mishima R, Akazawa Y, Masuda J, Omagari K, Takeshima F, Kohno S. Recent insights into digestive motility in functional dyspepsia. *J Gastroenterol* 2006; 41: 1025-1040
- 23 Finizia C, Lundell L, Cange L, Ruth M. The effect of cisapride on oesophageal motility and lower sphincter function in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2002; 14: 9-14
- 24 Pehlivanov N, Sarosiek I, Whitman R, Olyae M, McCallum R. Effect of cisapride on nocturnal transient lower oesophageal sphincter relaxations and nocturnal gastro-oesophageal reflux in patients with oesophagitis: a double-blind, placebo-controlled study. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 743-747
- 25 Galmiche JP, Barthelemy P, Hamelin B. Treating the symptoms of gastro-oesophageal reflux disease: a double-blind comparison of omeprazole and cisapride. *Aliment Pharmacol Ther* 1997; 11: 765-773
- 26 Gardner JD, Rodriguez-Stanley S, Robinson M, Miner PB Jr. Cisapride inhibits meal-stimulated gastric acid secretion and post-prandial gastric acidity in subjects with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1819-1829
- 27 Cho YK, Choi MG, Han HW, Park JM, Oh JH, Jeong JJ, Cho YS, Lee IS, Kim SW, Choi KY, Chung IS. The effect of mosapride on esophageal motility and bolus transit in asymptomatic volunteers. *J Clin Gastroenterol* 2006; 40: 286-292
- 28 Yoshida N. Pharmacological effects of the gastroprokinetic agent mosapride citrate. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1999; 113: 299-307
- 29 Ruth M, Hamelin B, Rohss K, Lundell L. The effect of mosapride, a novel prokinetic, on acid reflux variables in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 1998; 12: 35-40
- 30 Ruth M, Finizia C, Cange L, Lundell L. The effect of mosapride on oesophageal motor function and acid reflux in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2003; 15: 1115-1121
- 31 王泽衍, 柏乃运. 枸橼酸莫沙比利片治疗反流性食道炎疗效观察. *现代医药卫生* 2006; 22: 1529-1530
- 32 王海勇, 俞杏萍, 郁敏敏, 邢国平. 莫沙必利治疗反流性食道炎的近期疗效. *中国新药与临床杂志* 2002; 21: 604-606
- 33 刘明东, 徐肇敏, 陈隆典. 枸橼酸莫沙比利治疗反流性食道炎的疗效. *中华消化内镜杂志* 2003; 20: 415-416
- 34 李兆申, 王雯, 许国铭, 于凤海, 邹多武, 孙振兴. 反流性食道炎1827例临床分析. *中华内科杂志* 2001; 40: 9-12
- 35 Madan K, Ahuja V, Kashyap PC, Sharma MP. Comparison of efficacy of pantoprazole alone versus pantoprazole plus mosapride in therapy of gastroesophageal reflux disease: a randomized trial. *Dis Esophagus* 2004; 17: 274-278
- 36 周慧芬. 雷贝拉唑、枸橼酸莫沙比利联用治疗反流性食道炎的疗效观察. *江西医学* 2006; 41: 673-674
- 37 袁晓英, 王丹, 向明确, 贾丽萍. 奥美拉唑与莫沙比利联合治疗中、重度反流性食道炎疗效观察. *第三军医大学学报* 2006; 28: 461-464
- 38 Holtmann G, Talley NJ, Liebrechts T, Adam B, Parow C. A placebo-controlled trial of itopride in functional dyspepsia. *N Engl J Med* 2006; 354: 832-840
- 39 Choung RS, Talley NJ, Peterson J, Camilleri M, Burton D, Harmsen WS, Zinsmeister AR. A double-blind, randomized, placebo-controlled trial of itopride (100 and 200 mg three times daily) on gastric motor and sensory function in healthy volunteers. *Neurogastroenterol Motil* 2007; 19: 180-187
- 40 Chiba T, Tokunaga Y, Ikeda K, Takagi R, Chishima R, Terui T, Kudara N, Endo M, Inomata M, Orii S, Suzuki K. Effects of itopride hydrochloride and ranitidine in patients with functional dyspepsia: comparison between prokinetic and acid suppression therapies. *Hepatogastroenterology* 2007; 54: 1878-1881
- 41 Amarapurkar DN, Rane P. Randomised, double-blind, comparative study to evaluate the efficacy and safety of ganaton (itopride hydrochloride) and mosapride citrate in the management of functional dyspepsia. *J Indian Med Assoc* 2004; 102: 735-737, 760
- 42 Kim YS, Kim TH, Choi CS, Shon YW, Kim SW, Seo GS, Nah YH, Choi MG, Choi SC. Effect of itopride, a new prokinetic, in patients with mild GERD: a pilot study. *World J Gastroenterol* 2005; 11: 4210-4214
- 43 Walwaikar PP, Kulkarni SS, Bargaje RS. Evaluation of new gastro-intestinal prokinetic (ENGIP-I) study. *J Indian Med Assoc* 2005; 103: 559-560
- 44 Walwaikar PP, Kulkarni SS, Bargaje RS. Evaluation of new gastro-intestinal prokinetic (ENGIP-II) study. *J Indian Med Assoc* 2005; 103: 708-709
- 45 Tutuian R, Mainie I, Allan R, Hargreaves K, Agrawal A, Freeman J, Gale J, Castell DO. Effects of a 5-HT₄ receptor agonist on oesophageal function and gastro-oesophageal reflux: studies using combined impedance-manometry and combined impedance-pH. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 155-162
- 46 Fox M, Menne D, Stutz B, Fried M, Schwizer W. The effects of tegaserod on oesophageal function and bolus transport in healthy volunteers: studies

- using concurrent high-resolution manometry and videofluoroscopy. *Aliment Pharmacol Ther* 2006; 24: 1017-1027
- 47 Kahrilas PJ, Quigley EM, Castell DO, Spechler SJ. The effects of tegaserod (HTF 919) on oesophageal acid exposure in gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 1503-1509
- 48 Tack J, Vos R, Janssens J, Salter J, Jauffret S, Vandeplasse G. Influence of tegaserod on proximal gastric tone and on the perception of gastric distension. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 18: 1031-1037
- 49 Armstrong SR, McCullough JL, Beattie DT. Measurement of 5-HT₄ receptor-mediated esophageal responses by digital sonomicrometry in the anesthetized rat. *J Pharmacol Toxicol Methods* 2006; 53: 198-205
- 50 Rodriguez-Stanley S, Zubaidi S, Proskin HM, Kralstein JR, Shetzline MA, Miner PB Jr. Effect of tegaserod on esophageal pain threshold, regurgitation, and symptom relief in patients with functional heartburn and mechanical sensitivity. *Clin Gastroenterol Hepatol* 2006; 4: 442-450
- 51 Tougas G, Earnest DL, Chen Y, Vanderkoy C, Rojavin M. Omeprazole delays gastric emptying in healthy volunteers: an effect prevented by tegaserod. *Aliment Pharmacol Ther* 2005; 22: 59-65
- 52 Keady S. Update on drugs for gastro-oesophageal reflux disease. *Arch Dis Child Educ Pract Ed* 2007; 92: ep114-ep118
- 53 Hammer D. Gastroesophageal reflux and prokinetic agents. *Neonatal Netw* 2005; 24: 51-8; quiz 59-62
- 54 Van Herwaarden MA, Samsom M, Van Nispen CH, Verlinden M, Smout AJ. The effect of motilin agonist ABT-229 on gastro-oesophageal reflux, oesophageal motility and lower oesophageal sphincter characteristics in GERD patients. *Aliment Pharmacol Ther* 2000; 14: 453-462
- 55 Chen CL, Orr WC, Verlinden MH, Dettmer A, Brinkhoff H, Riff D, Schwartz S, Soloway RD, Krause R, Lanza F, Mack RJ. Efficacy of a motilin receptor agonist (ABT-229) for the treatment of gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 749-757
- 56 Netzer P, Schmitt B, Inauen W. Effects of ABT-229, a motilin agonist, on acid reflux, oesophageal motility and gastric emptying in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1481-1490
- 57 Koek GH, Sifrim D, Lerut T, Janssens J, Tack J. Effect of the GABA(B) agonist baclofen in patients with symptoms and duodeno-gastro-oesophageal reflux refractory to proton pump inhibitors. *Gut* 2003; 52: 1397-1402
- 58 van Herwaarden MA, Samsom M, Rydholm H, Smout AJ. The effect of baclofen on gastro-oesophageal reflux, lower oesophageal sphincter function and reflux symptoms in patients with reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2002; 16: 1655-1662
- 59 Zhang Q, Lehmann A, Rigda R, Dent J, Holloway RH. Control of transient lower oesophageal sphincter relaxations and reflux by the GABA(B) agonist baclofen in patients with gastro-oesophageal reflux disease. *Gut* 2002; 50: 19-24
- 60 许军英, 谢小平, 侯晓华. 食道运动功能在重度反流性食道炎中的地位. *中华内科杂志* 2005; 44: 353-355
- 61 孙晓红, 柯美云, 王智凤, 方秀才, 刘晓红. 胃食道反流病维持治疗方式的影响因素分析. *中国实用内科杂志* 2004; 24: 476-478
- 62 Tytgat GN. Review article: management of mild and severe gastro-oesophageal reflux disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2003; 17 Suppl 2: 52-56
- 63 Inadomi JM, Jamal R, Murata GH, Hoffman RM, Lavezo LA, Vigil JM, Swanson KM, Sonnenberg A. Step-down management of gastroesophageal reflux disease. *Gastroenterology* 2001; 121: 1095-1100
- 64 Meining A, Driesnack U, Classen M, Rösch T. Management of gastroesophageal reflux disease in primary care: results of a survey in 2 areas in Germany. *Z Gastroenterol* 2002; 40: 15-20
- 65 Miyamoto M, Haruma K, Kuwabara M, Nagano M, Okamoto T, Tanaka M. Long-term gastroesophageal reflux disease therapy improves reflux symptoms in elderly patients: five-year prospective study in community medicine. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 639-644
- 66 Chandra KM, Harding SM. Therapy Insight: treatment of gastroesophageal reflux in adults with chronic cough. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2007; 4: 604-613

编辑 程剑侠 电编 吴鹏朕

Budd-Chiari综合征影像诊断的进展

王丹, 张在人, 李艳英, 闫文颖, 赵德利, 万勇

背景资料
布加综合征(BCS)在临床上表现缺乏特异性, 易误诊。以往主要依赖X线造影诊断, 下肢静脉造影术给患者带来痛苦与创伤, 且操作技术复杂。影像学诊断方法的进步, 使得BCS的检查方法简单化、多样化, 检出率提高。

王丹, 张在人, 李艳英, 闫文颖, 赵德利, 万勇, 哈尔滨医科大学附属第二医院CT室 黑龙江省哈尔滨市 150086
作者贡献分布: 王丹与张在人对此文所作贡献均等; 与此综述相关课题由王丹, 张在人, 李艳英, 闫文颖, 赵德利, 万勇设计; 文章思路及写作王丹完成; 文献采集归纳由王丹, 李艳英, 闫文颖, 赵德利, 万勇完成; 修改和审校由张在人完成。
通讯作者: 张在人, 150086, 黑龙江省哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第二医院CT室. joshuastone@163.com
电话: 0451-86605576
收稿日期: 2007-10-15 修回日期: 2008-02-19

Advance in imaging diagnosis of Budd-Chiari syndrome

Dan Wang, Zai-Ren Zhang, Yan-Ying Li, Wen-Ying Yan, De-Li Zhao, Yong Wan

Dan Wang, Zai-Ren Zhang, Yan-Ying Li, Wen-Ying Yan, De-Li Zhao, Yong Wan, Department of Computed Tomography, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China
Correspondence to: Zai-Ren Zhang, Department of Computed Tomography, the Second Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150086, Heilongjiang Province, China. joshuastone@163.com
Received: 2007-10-15 Revised: 2008-02-19

Abstract

Budd-Chiari syndrome (BCS) is very easy to be misdiagnosed due to the lack of specificity in clinical manifestation. With the improvement of multiple imaging diagnostic devices and method, the detection rate of BCS is raised. The noninvasive imaging examination methods, such as ultrasound, multi-slice computed tomography (MSCT), magnetic resonance imaging (MRI), are able to clearly display hepatic vein (HV), inferior vena cava (IVC), and the location and type of stenosis. Therefore, they are useful for the clinical treatment and result observation.

Key Words: Budd-Chiari syndrome; Ultrasound; Multi-slice computed tomography; Magnetic resonance imaging

Wang D, Zhang ZR, Li YY, Yan WY, Zhao DL, Wan Y. Advance in imaging diagnosis of Budd-Chiari syndrome. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 746-750

摘要

布加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)临

床表现缺乏特异性, 易误诊。随着多种影像诊断设备的进步和影像学检查方法的改进, 使得BCS的检出率提高。超声、多层螺旋CT (multi-slice computed tomography, MSCT), 磁共振(MRI)等无创性影像学检查方法, 能够清晰显示肝静脉(hepatic vein, HV)、下腔静脉(inferior vena cava, IVC)狭窄部位和类型, 可指导临床治疗及效果的观察。

关键词: 布加氏综合征; 超声; 多层螺旋CT; 磁共振

王丹, 张在人, 李艳英, 闫文颖, 赵德利, 万勇. Budd-Chiari综合征影像诊断的进展. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 746-750
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/746.asp>

0 引言

布加综合征(Budd-Chiari syndrome, BCS)是肝静脉(hepatic vein, HV)和/或肝静脉水平的下腔静脉(inferior vena cava, IVC)完全或不完全阻塞所导致的一组临床综合征, 以在肝小静脉、肝静脉、下腔静脉或右心房水平的肝静脉流出道梗阻为特点。临床表现可归纳为两个方面: (1) 肝静脉阻塞主要表现: 瘀血性肝肿大、脾大, 腹水, 腹壁静脉、食道胃底静脉曲张, 上消化道出血等, 主要由肝静脉回流障碍所致, (2) 下腔静脉阻塞主要表现: 腹壁和(或)腰背、下肢静脉曲张, 下肢水肿, 色素沉着, 甚至溃烂。BCS可发生于任何年龄, 但以20-40岁青壮年多见, 男性发病率稍多于女性。近年来, 随着BCS逐渐为人们所认识以及影像学检查手段的进步, BCS的检出率有明显增高的趋势^[1-7]。

1 发病机制及分型

1.1 发病机制 BCS病因及发病机制不明, 有多种学说。近年来医源性肝静脉阻塞的直接原因常常是介入器械的断裂、残留、置入支架位置不当或移位造成, 以及治疗过程中血管内膜或血管壁的损伤, 局部血栓形成、内膜过度增生及不平衡的血管重塑等^[8-10]。

1.2 BCS的分型 为了指导临床治疗, 不同学者对BCS进行了各种分型, 国内最早由Wang^[11]将BCS

同行评议者
吕明德, 教授, 中山大学附属第一医院普通外科; 程英升, 副教授, 上海交通大学附属第六人民医院科教处

分为8型, 随后由许培钦 *et al*^[12]从外科手术角度分为4型6个亚型. 介入医生从影像学角度也有不同的分型, 祖茂衡 *et al*^[13]从影像学将其分为4型8个亚型: I型为下腔静脉隔膜型, 其中包括膜性完全阻塞和隔膜有孔2个亚型; II型为下腔静脉节段型, 再分为下腔静脉节段性闭塞和狭窄2个亚型; III型为肝静脉型, 可再分为无副肝静脉和有副肝静脉2个亚型; IV型为混合型, 包括肝静脉和下腔静脉阻塞无副肝静脉亚型及肝静脉和下腔静脉阻塞有副肝静脉2个亚型. 这种分型方法在影像学中应用广泛. 也有学者认为, 无论从外科学角度还是影像学角度的分型均存在缺陷, 为此提出了一些简单的分型方法^[14].

2 影像学检查

包括疑为癌性、结核性腹膜炎的顽固性腹水, 原因不明的肝、脾肿大或下肢浮肿等临床症状, 在近年多会被考虑到可能是由BCS所引起的, 需要影像学及介入造影检查证实. 主要包括: 无肝炎、血吸虫病史, 无长期嗜酒或服用损肝药物史; 消化道症状和乏力不明显; 胸腹壁静脉明显曲张, 且有自下而上回流; 触诊示肝肿大, 伴有下肢水肿或静脉曲张; 肝功能检查无明显异常, 球蛋白升高少见; 腹水量大且顽固, 并排除其他原因^[15]. 以往主要依赖X线造影诊断, 下肢静脉造影术给患者带来痛苦与创伤, 且操作技术复杂, 有一定难度. 随着多种影像诊断设备的进步和影像学方法的不断提高, 使得BCS的检查方法简单化、多样化, 主要有彩超、CT、MRI、数字血管减影造影(DSA)等, 并将各种结果与下腔静脉造影及手术治疗进行对照, 获得满意效果.

2.1 超声诊断 超声诊断BCS病变的方法有灰阶超声及多普勒超声2种. 在大多数情况下超声扫查能提供有关下腔静脉或肝静脉病变的部位、范围、程度和性质的情况. 这就为BCS的介入治疗提供了重要信息. 多位国内外学者研究显示, 超声诊断与DSA符合率可以达到90%以上^[6,16-17]. (1)肝脏声像图: 肝肿大, 尤其是尾状叶肿大; 肝静脉不同程度扩张、迂曲或粗细不均, 肝静脉(肝右静脉、肝中静脉、肝左静脉)之间出现交通支和扩张的静脉湖, 彩色多普勒超声(CDFI)取样为低速连续性血流频谱; 肝静脉近第二肝门处呈红蓝双色血流, 提示有返流; 肝静脉一支或多支内见膜样强回声或节段性管腔狭窄, CDFI检查局部呈五彩血流与湍流频谱, 完全闭塞的静脉管腔结构不清楚, 且无彩色血流与频

谱; 肝内扩张的血管流速减慢, 肝静脉血流流速小于20 cm/s, 曲线呈单向、平坦的稳流, 类似门脉流速曲线. 有逆流的部位呈正、负双向频谱, 狭窄部位流速加快, 呈湍流频谱; (2)下腔静脉声像图: 肝段下腔静脉膜型阻塞狭窄时, CDFI血流显像显示下腔静脉阻塞, 上段的管腔内, 突出隔膜状回声强光带或片状实性强回声; 狭窄处下腔静脉CDFI示血流速度快, 扩张处呈深蓝色血流, 血流速度慢; 下腔静脉有血栓时, CDFI显示血流呈蓝色, 当血栓形成严重时, 可致管腔堵塞, 即无彩色血流及多普勒频谱, 下腔静脉血流受阻, 若累及第二肝门时, 则出现肝静脉回流受阻表现; 下腔静脉炎性狭窄下腔静脉管壁增厚、毛糙. 致使管腔狭窄; (3)门静脉高压声像图: 门静脉增粗, 血流量增加; 脐静脉重新开放, 侧支血管网呈C形或S形, 脾肿大, 腹水等^[18-19].

多位国内外学者研究显示CDFI与静脉造影相比, CDFI诊断正确率可达90%以上. 显示管腔内快速血流的起点, 来判断与梗阻部位, 以管腔狭窄、闭锁或栓塞的长度, 判断其梗阻范围, 以管腔局部声像图改变来判断其梗阻性质, 同时, 以管腔内部血流变化、频谱形态及血流速度判断梗阻的程度^[20-24]. 超声诊断不足: (1)超声检查仍受仪器分辨力及检查医师和经验影响严重; (2)受腹水影响大; (3)因病变靠近心脏受心脏搏动的干扰, 而使某些病变的判断发生困难, 假阳性或假阴性的结果时有发生.

2.2 CT诊断 以往文献较多关注超声在评价BCS的价值, 而多层螺旋CT(MSCT)对于该病的诊断意义报道很少. 以往认为由于下腔静脉内的栓子、狭窄造成的血流瘀滞, 造影剂进入下腔静脉后常分布于周边, 出现层流现象, 导致CT既不能立体直观地显示堵塞或狭窄的下腔静脉和肝静脉, 也不能显示堵塞或狭窄的具体形态, 特别是准确评价肝静脉阻塞程度及范围尚有困难. 而MSCT高压注射器的使用及三维后处理技术使得这些问题得以解决. 有学者通过与DSA的对照研究, 得出横断面和CT血管成像显示肝静脉阻塞的正确率分别为61.9%和100%^[25].

2.2.1 MSCT表现: 患者的CT增强扫描均采用了三期法, 即动脉期20S, 门脉期70S, 静脉期100S. 通过影像分析, 上述扫描方式与单期相或双期相相比具有优势, 可以与其他血管疾病相鉴别. 在三期扫描中, 肝动脉或门静脉狭窄或闭塞与肝静脉阻塞的表现是不同的. 肝动脉狭窄时, 由于门静脉的灌注正常, 于50S和70S时肝实质

创新盘点
本文总结介绍近年来新发展起来的多层螺旋CT的后处理和MRI的新采用序列等技术, 对BCS的诊断价值有重要意义.

应用要点
应用彩超能清晰显示下腔静脉、肝静脉及交通支管腔情况,有无血流、血流方向和充盈缺损等,尤其对肝内静脉交通支情况非常有效。3D CE MRA能显示BCS的各种征象,并能帮助提供正确诊断。多层螺旋CT诊断BCS也有很大帮助。

会出现均匀的强化;而门静脉狭窄时,50S扫描时肝实质内相应的供血区呈低灌注状态。BCS于MSCT上的表现可分为直接征像和间接征像。(1)直接征像:平扫时发现下腔静脉膜性病变的钙化;注入造影剂后,下腔静脉、门静脉内的充盈缺损。这种典型征象,所见的比例很低。因为轻微的下腔静脉的截断和细小的隔膜很难在常规CT中观察到。在以前的CT检查中,隔膜型的BCS常常漏检,在多层螺旋CT的薄层图像有助于观察;闭塞的静脉内无对比剂充盈,闭塞静脉周围的间隙增宽。间接征像:最常见的表现是肝脏强化时间的延迟和程度的降低,及斑片状强化。主要原因是肝静脉的阻塞和肝脏的充血,所引起的肝门静脉内血流量的减少或消失^[26]。斑片状的强化首先出现于门静脉的小分支周围,然后随着时间的延迟扩展至全肝^[27]。大多数人,肝脏为肝动脉和门静脉双重供血,直接流入下腔静脉。因此肝的轻微充血,会引起造影剂提前进入这些部位。Mathieu *et al*^[28]认为肝的延迟强化区与肝静脉阻塞的位置有关;肝肿大,以及大量的胸腔积液和腹腔积液^[4,29-30]。

2.2.2 MSCT后处理技术: MSCT后处理技术具有重要作用。MSCT的三维重建技术,可以把肝静脉期图像根据需要重建成5.0 mm, 2.5 mm, 甚至1.0 mm、0.625 mm。有利于对各期图像的细致观察,门静脉、下腔静脉细微病变的检出。MSCT的多种后处理技术包括最大密度投影法(MIP)、容积重现(VR)、多平面重组法(MPR)和表面遮盖显示(SSD)。MIP最为简单可靠。HV的显示有赖于肝窦中对比剂的逐级回流,所以对对比剂的浓度低于肝动脉和门静脉,与肝实质的密度差别相对较小,由于VR利用了全部体素的信息,即使调整阈值也不易与门静脉的分支区别;SSD则使用了容积内最表层体素的信息,难以体现HV和肝实质的密度差别;MIP则不然,通过手动调整层块的厚度和密度,可以突出显示闭塞静脉的部位、数量、栓子和IVC内的隔膜^[31-50]。

CT平扫对BCS的诊断率低,往往只能见到部分间接征象。增强扫描需用大剂量含碘造影剂,有引起肾毒性和过敏反应的危险,不能用于碘过敏或肾功能不全者。

2.3 磁共振诊断 磁共振有多种血管成像方法可以应用于BCS的诊断。主要包括:(1)肝脏静脉系统的技术基于时间飞逝(time-of-flight, TOF)和相位对比(phase contrast, PC)技术的非增强MR血管成像但他们受到成像时间长、运动和流动

伪影、饱和作用的限制^[51-52];(2)磁共振血管成像(magnetic resonance angiography, MRA)是一种无损性血管成像技术。可应用于肝动脉、周围血管及门静脉检查^[3-4,7,30,53-54];(3)最近一种称为新鲜血液成像(fresh blood imaging, FBI)的MRA技术已经问世,并在BCS的临床诊断中显示出良好的作用。FBI序列MRA图像真实,尤其适用于流动缓慢或阻塞的血管,血流方向对其影响不大,可显示细小的静脉血管及侧枝循环情况,因此特别适于肝静脉闭塞型BCS的术前检查,可准确显示肝静脉与下腔静脉的空间关系,检测肝静脉的通畅性和侧支循环^[55-56];(4)三维对比剂增强MR血管成像(three dimensional contrast-enhanced magnetic resonance angiography, 3D CE MRA)是一项新技术,目前被广泛用于动脉、门静脉和中央静脉系统的成像。3D CE MRA是最近发展起来的无创性技术,操作简便,能多方位显示血管解剖。使用该技术,只须一次注射对比剂和短时屏气。即可完成肝静脉、IVC和门静脉成像,他只须从外周静脉注入少量钆对比剂。传输到工作站上,重组成类似X线血管造影的投影图像,可以采用MIP和MPR对图像进行重组并分析。3D CE MRA的优点:(1)克服了TOF和PC的流动伪影和饱和作用;(2)可同时显示观肝实质和血管结构及血管外病变。Miller *et al*^[57]使用CT和MR技术也有相同发现。同腔静脉造影相比,对于IVC阻塞,3D CE MRA均可正确诊断;(3)可准确显示显示肝静脉、IVC和门静脉系统的病变。3D CE MRA能显示肝内外侧支形成。肝内侧支的显示高度提示BCS^[35,57-69]。磁共振成像受扫描时间、运动和流动伪影、饱和作用的限制。注入造影剂量虽少,但也有引起肾毒性和过敏反应的危险。

总之,多种无创伤影像学技术(超声、MSCT、磁共振等)对BCS的检查具有重要的意义。不仅能明确阻塞部位,对病变类型、范围、梗阻程度及侧支循环进行判断,指导门静脉分流术、安放金属弹力支架等手术方法的选择,还可以进行术后的定期复查,对治疗效果进行评测^[68-71]。

3 参考文献

- 1 Menon KV, Shah V, Kamath PS. The Budd-Chiari syndrome. *N Engl J Med* 2004; 350: 578-585
- 2 Wang ZG, Zhang FJ, Yi MQ, Qiang LX. Evolution of management for Budd-Chiari syndrome: a team's view from 2564 patients. *ANZ J Surg* 2005; 75: 55-63
- 3 Glockner JF. Three-dimensional gadolinium-enhanced MR angiography: applications for

- abdominal imaging. *Radiographics* 2001; 21: 357-370
- 4 Brancatelli G, Federle MP, Grazioli L, Golfieri R, Lencioni R. Benign regenerative nodules in Budd-Chiari syndrome and other vascular disorders of the liver: radiologic-pathologic and clinical correlation. *Radiographics* 2002; 22: 847-862
- 5 Zeitoun D, Brancatelli G, Colombat M, Federle MP, Valla D, Wu T, Degott C, Vilgrain V. Congenital hepatic fibrosis: CT findings in 18 adults. *Radiology* 2004; 231: 109-116
- 6 Kruskal JB, Newman PA, Sammons LG, Kane RA. Optimizing Doppler and color flow US: application to hepatic sonography. *Radiographics* 2004; 24: 657-675
- 7 Hussain HK, Syed I, Nghiem HV, Johnson TD, Carlos RC, Weadock WJ, Francis IR. T2-weighted MR imaging in the assessment of cirrhotic liver. *Radiology* 2004; 230: 637-644
- 8 李晓强, 余朝文, 周为民, 聂中林. 布加综合征根治术术式选择及手术要点. 解剖与临床 2002; 7: 19-21
- 9 韩新巍, 马波, 吴刚, 高雪梅, 马南, 王艳丽, 丁鹏绪. Budd-Chiari综合征: 下腔静脉阻塞区钳夹活检病理学探讨. 介入放射学杂志 2006; 15: 530-532
- 10 Wang ZG, Jones RS. Budd-Chiari syndrome. *Curr Probl Surg* 1996; 33: 83-211
- 11 Wang ZG. Recognition and management of Budd-Chiari syndrome. Experience with 143 patients. *Chin Med J (Engl)* 1989; 102: 338-346
- 12 许培钦, 马秀现, 叶学祥, 冯留顺, 党晓卫, 赵永福, 张水军, 唐哲, 赵龙柱, 卢秀波. 布-加综合征外科治疗20年经验总结(附1360例报告). 中国实用外科杂志 2004; 24: 543-545
- 13 祖茂衡, 徐浩, 顾玉明, 李国均, 张庆桥, 魏宁, 王诚. 不同类型Budd-Chiari综合征的介入治疗(附200例分析). 中华放射学杂志 1998; 132: 118-121
- 14 张小明, 李清乐. 布加综合征诊治现状. 中国医学科学院学报 2007; 29: 25-28
- 15 黄雪玲, 王深明, 常光其, 叶有强. 布加氏综合征的彩色多普勒检查. 中国医学影像学杂志 2000; 10: 223-224
- 16 Hiraki T, Kanazawa S, Mimura H, Yasui K, Tanaka A, Dendo S, Yoshimura K, Hiraki Y. Altered hepatic hemodynamics caused by temporary occlusion of the right hepatic vein: evaluation with Doppler US in 14 patients. *Radiology* 2001; 220: 357-364
- 17 Jequier S, Jequier JC, Hanquinet S, Le Coultre C, Belli DC. Orthotopic liver transplants in children: change in hepatic venous Doppler wave pattern as an indicator of acute rejection. *Radiology* 2003; 226: 105-112
- 18 张青萍, 李泉水. 现代超声显像鉴别诊断学. 第1版. 南昌: 江西科学技术出版社, 1999: 11
- 19 窦薇, 刘新华, 杨晓玲, 郝艳香, 孙威. 布加综合征的超声诊断. 中国超声诊断杂志 2003; 4: 271-273
- 20 Gaiani S, Bolondi L, Li Bassi S, Zironi G, Siringo S, Barbara L. Prevalence of spontaneous hepatofugal portal flow in liver cirrhosis. Clinical and endoscopic correlation in 228 patients. *Gastroenterology* 1991; 100: 160-167
- 21 Bargalló X, Gilabert R, Nicolau C, García-Pagán JC, Bosch J, Brú C. Sonography of the caudate vein: value in diagnosing Budd-Chiari syndrome. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 1641-1645
- 22 Keshava SN, Kota GK, Mammen T, Jeyamani R, Moses V, Govil S, Kurian G, Chandy G. Direct intrahepatic cavo-portal shunts in Budd-Chiari syndrome: Role of simultaneous fluoroscopy and trans-abdominal ultrasonography. *Indian J Gastroenterol* 2006; 25: 248-250
- 23 Eapen CE, Velissaris D, Heydtmann M, Gunson B, Olliff S, Elias E. Favourable medium term outcome following hepatic vein recanalisation and/or transjugular intrahepatic portosystemic shunt for Budd Chiari syndrome. *Gut* 2006; 55: 878-884
- 24 Koyama FS, Hashiba K, Bromberg SH, Cappelanes CA. Endoscopic treatment of esophageal varices, using pretied loop made with polyamide thread. *Am J Gastroenterol* 2006; 43: 328-333
- 25 单鸿, 朱康顺, 肖湘生, 欧阳强, 孟晓春, 李征然, 黄明声, 姜在波, 关守海. 多层螺旋CT在肝静脉阻塞型布加综合征诊断和治疗中的应用. 中华医学杂志 2005; 85: 303-307
- 26 Cazals-Hatem D, Vilgrain V, Genin P, Denninger MH, Durand F, Belghiti J, Valla D, Degott C. Arterial and portal circulation and parenchymal changes in Budd-Chiari syndrome: a study in 17 explanted livers. *Hepatology* 2003; 37: 510-519
- 27 Ueda K, Matsui O, Kadoya M, Yoshikawa J, Gabata T, Kawamori Y, Takashima T. CTAP in budd-chiari syndrome: evaluation of intrahepatic portal flow. *Abdom Imaging* 1998; 23: 304-308
- 28 Mathieu D, Vasile N, Menu Y, Van Beers B, Lorphelin JM, Pringot J. Budd-Chiari syndrome: dynamic CT. *Radiology* 1987; 165: 409-413
- 29 Kim BS, Kim TK, Kim JS, Lee MG, Kim JH, Kim KW, Sung KB, Kim PN, Ha HK, Lee SG, Kang W. Hepatic venous congestion after living donor liver transplantation with right lobe graft: two-phase CT findings. *Radiology* 2004; 232: 173-180
- 30 Quiroga S, Sebastia C, Pallisa E, Castella E, Perez-Lafuente M, Alvarez-Castells A. Improved diagnosis of hepatic perfusion disorders: value of hepatic arterial phase imaging during helical CT. *Radiographics* 2001; 21: 65-81; questionnaire 288-294
- 31 黄备建, 吴芳, 王文平, 徐智章. 布加综合征肝静脉和下腔静脉的超声表现. 中国医学影像学杂志 2000; 16: 879-882
- 32 陶慕圣, 毕永民, 李传福, 丛培新, 孟祥水. Budd-Chiari综合征的MRI诊断及其与血管造影的比较. 医学影像学杂志 2003; 13: 29-31
- 33 牟玮, 巫北海, 周代全, 陈洁, 吴光明, 张永克. 暂时阻断肝静脉后肝脏的血流改变及其意义: CT影像学研究. 临床放射学杂志 2001; 20: 948-951
- 34 姜滨, 张龙江, 沈文, 祁吉. 多层螺旋CT对评价肝静脉流出道梗阻的价值. 诊断学理论与实践 2005; 4: 283-287
- 35 Cho OK, Koo JH, Kim YS, Rhim HC, Koh BH, Seo HS. Collateral pathways in Budd-Chiari syndrome: CT and venographic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 167: 1163-1167
- 36 Chopra S, Dodd GD 3rd, Chintapalli KN, Rhim H, Encarnacion CE, Palmaz JC, Esola CC, Ghiatas AA. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt: accuracy of helical CT angiography in the detection of shunt abnormalities. *Radiology* 2000; 215: 115-122
- 37 Rha SE, Lee MG, Lee YS, Kang GH, Ha HK, Kim PN, Auh YH. Nodular regenerative hyperplasia of the liver in Budd-Chiari syndrome: CT and MR features. *Abdom Imaging* 2000; 25: 255-258
- 38 Wong K, Paulson EK, Nelson RC. Breath-hold three-dimensional CT of the liver with multi-detector row helical CT. *Radiology* 2001; 219: 75-79
- 39 Brancatelli G, Federle MP, Grazioli L, Golfieri R, Lencioni R. Large regenerative nodules in Budd-Chiari syndrome and other vascular disorders of the liver: CT and MR imaging findings with clinicopathologic correlation. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 877-883
- 40 Maetani Y, Itoh K, Egawa H, Haga H, Sakurai T,

名词解释

新鲜血液成像(FBI): 成像原理是在心电门控下定时采集血管中的水信号, 并利用水成像原理, 通过设定不同的延迟时间选择性的获得肝静脉、下腔静脉及门脉或动脉血管的三维MRA像。

同行评价
本文对布加综合
征的介绍比较全
面,内容丰富,层
次分明,是一篇较
好的综述.

- Nishida N, Ametani F, Shibata T, Kubo T, Tanaka K, Konishi J. Benign hepatic nodules in Budd-Chiari syndrome: radiologic-pathologic correlation with emphasis on the central scar. *AJR Am J Roentgenol* 2002; 178: 869-875
- 41 Kim HC, Kim TK, Sung KB, Yoon HK, Kim PN, Ha HK, Kim AY, Kim HJ, Lee MG. CT during hepatic arteriography and portography: an illustrative review. *Radiographics* 2002; 22: 1041-1051
- 42 Kreft B, Flacke S, Zhou H, Textor J, Remig J, Schild HH. Diagnostic imaging of vascular leiomyosarcomas. *Rofo* 2004; 176: 183-190
- 43 Onodera Y, Omatsu T, Nakayama J, Kamiyama T, Furukawa H, Todo S, Nishioka T, Miyasaka K. Peripheral anatomic evaluation using 3D CT hepatic venography in donors: significance of peripheral venous visualization in living-donor liver transplantation. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 1065-1070
- 44 Qiao T, Liu CJ, Liu C, Chen K, Zhang XB, Zu MH. Interventional endovascular treatment for Budd-Chiari syndrome with long-term follow-up. *Swiss Med Wkly* 2005; 135: 318-326
- 45 Sobhonslidsuk A, Jeffers LJ, Acosta RC, Madariaga JR, Bejarano PA, Guerra JJ, Tzakis AG, Schiff ER. Budd-Chiari-like presentation of hepatic adenoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20: 653-656
- 46 Camera L, Mainenti PP, Di Giacomo A, Romano M, Rispo A, Alfinito F, Imbriaco M, Soscia E, Salvatore M. Triphasic helical CT in Budd-Chiari syndrome: patterns of enhancement in acute, subacute and chronic disease. *Clin Radiol* 2006; 61: 331-337
- 47 Wu XJ, Cao JM, Han JM, Li JS. Transjugular intrahepatic portosystemic shunt in the treatment of Budd-Chiari syndrome with extensive occlusion of the hepatic veins. *Zhonghua Wai Ke Za Zhi* 2006; 44: 1029-1032
- 48 Bedioui H, Nouira K, Ayadi S, Daghfous A, Bakhtri M, Ksantini R, Chebbi F, Fteriche F, Jouini M, Kacem M, Emna M, Ben Safta Z. Budd-Chiari syndrome secondary to hepatic echinococcosis. *Gastroenterol Clin Biol* 2007; 31: 721-724
- 49 Aydinli M, Bayraktar Y. Budd-Chiari syndrome: etiology, pathogenesis and diagnosis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2693-2696
- 50 Meng XC, Zhu KS, Qin J, Zhang JS, Wang XH, Zou Y, Zhang YQ, Shan H. Clinical significance of multislice spiral CT scans in hepatic veins occlusion in Budd-Chiari syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 100-105
- 51 Kane R, Eustace S. Diagnosis of Budd-Chiari syndrome: comparison between sonography and MR angiography. *Radiology* 1995; 195: 117-121
- 52 Soyer P, Rabenandrasana A, Barge J, Laissy JP, Zeitoun G, Hay JM, Levesque M. MRI of Budd-Chiari syndrome. *Abdom Imaging* 1994; 19: 325-329
- 53 Semelka RC, Helmberger TK. Contrast agents for MR imaging of the liver. *Radiology* 2001; 218: 27-38
- 54 Krinsky GA, Lee VS, Theise ND, Weinreb JC, Rofsky NM, Diflo T, Teperman LW. Hepatocellular carcinoma and dysplastic nodules in patients with cirrhosis: prospective diagnosis with MR imaging and explantation correlation. *Radiology* 2001; 219: 445-454
- 55 Yokoyama K, Nitatori T, Inaoka S, Takahara T, Hachiya J. Non-contrast enhanced MR venography using 3D fresh blood imaging (FBI): initial experience. *Radiat Med* 2001; 19: 247-253
- 56 徐克, 任克. 布加综合征非创伤性影像学检查的应用与评价. *中华医学杂志* 2005; 5: 296-297
- 57 Miller WJ, Federle MP, Straub WH, Davis PL. Budd-Chiari syndrome: imaging with pathologic correlation. *Abdom Imaging* 1993; 18: 329-335
- 58 祖茂衡, 徐浩, 顾玉明, 李国均, 张庆桥, 魏宁, 崔建华. 经皮经肝和经颈静脉行肝静脉成形术. *中华放射学杂志* 1997; 31: 543-546
- 59 孟晓春, 单鸿, 朱康顺, 徐川, 张建新, 刘凌云, 叶滨宾. Budd-Chiari综合征多层CT动态增强扫描及CT血管成像分析. *中华放射学杂志* 2005; 39: 652-656
- 60 林江, 王平, 周康荣, 王建华, 颜志平. 三维对比剂增强MR血管成像诊断布加综合征的价值. *中华放射学杂志* 2006; 40: 1071-1074
- 61 Walter E, Muntwyler J, Bertschinger P, Flury R, Ochs A, Haag K, Rossle M, Blum HE. Trans-jugular intrahepatic portosystemic stent-shunt (TIPS) in a patient with Budd-Chiari syndrome. *Schweiz Med Wochenschr* 1993; 123: 1696-702
- 62 Blum U, Rossle M, Haag K, Ochs A, Blum HE, Hauenstein KH, Astinet F, Langer M. Budd-Chiari syndrome: technical, hemodynamic, and clinical results of treatment with transjugular intrahepatic portosystemic shunt. *Radiology* 1995; 197: 805-811
- 63 Mori H, Yoshioka H, Mori K, Ahmadi T, Okumura T, Saida Y, Itai Y. Radiation-induced liver injury showing low intensity on T2-weighted images noted in Budd-Chiari syndrome. *Radiat Med* 2002; 20: 69-76
- 64 Lin J, Chen XH, Zhou KR, Chen ZW, Wang JH, Yan ZP, Wang P. Budd-Chiari syndrome: diagnosis with three-dimensional contrast-enhanced magnetic resonance angiography. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2317-2321
- 65 Macarini L, Marini S, Murrone M, Ettorre GC. Alterations in hepatic uptake and distribution of organ-specific superparamagnetic MRI contrast media: clinical findings and classification according to pathogenesis. *Radiol Med (Torino)* 2004; 108: 92-106
- 66 Pezzoli G, Ricciardi S, Masotto C, Mariani CB, Careni A. n-hexane induces parkinsonism in rodents. *Brain Res* 1990; 531: 355-357
- 67 Xu K, Ren K, Chen YS. Application and evaluation of non-invasive examination for Budd-Chiari syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 91-94
- 68 Ren K, Xu K, Sun WG, Chen YS, Qi XX, Li RL, Jin AY. Preliminary evaluation of magnetic resonance fresh blood imaging for diagnosis of Budd-Chiari syndrome. *Chin Med J (Engl)* 2007; 120: 95-99
- 69 Brancatelli G, Vilgrain V, Federle MP, Hakime A, Lagalla R, Iannaccone R, Valla D. Budd-Chiari syndrome: spectrum of imaging findings. *AJR Am J Roentgenol* 2007; 188: W168-W176
- 70 李晓强, 吴允明, 周为民, 余朝文, 聂中林. 布加综合征继发下腔静脉血栓的诊治. *中华普通外科杂志* 2002; 17: 28-29
- 71 Zhang CQ, Fu LN, Xu L, Zhang GQ, Jia T, Liu JY, Qin CY, Zhu JR. Long-term effect of stent placement in 115 patients with Budd-Chiari syndrome. *World J Gastroenterol* 2003; 9: 2587-2591

编辑 潘伯荣 电编 何基才

扶正理气合剂对实验性功能消化不良大鼠胃排空和胃动素的影响

张超贤, 秦咏梅, 韩宇

张超贤, 秦咏梅, 韩宇, 新乡医学院第一附属医院消化内科
河南省卫辉市 453100

作者贡献分布: 张超贤为此文的主要贡献者; 此课题由张超贤、秦咏梅及韩宇设计; 研究过程由张超贤及秦咏梅完成; 研究所用新试剂及分析工具由韩宇提供; 数据分析由张超贤及秦咏梅完成; 本论文写作由张超贤完成。

通讯作者: 张超贤, 453100, 河南省卫辉市, 新乡医学院第一附属医院消化内科. nn21882001@yahoo.com.cn

电话: 0373-4404195

收稿日期: 2007-12-06 修回日期: 2008-01-30

Effects of Fuzheng Liqi mixture on gastric emptying and serum motilin content in rats with functional dyspepsia

Chao-Xian Zhang, Yong-Mei Qin, Yu Han

Chao-Xian Zhang, Yong-Mei Qin, Yu Han, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, Henan Province, China

Correspondence to: Chao-Xian Zhang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Xinxiang Medical College, Weihui 453100, Henan Province, China. nn21882001@yahoo.com.cn

Received: 2007-12-06 Revised: 2008-01-30

Abstract

AIM: To investigate the efficacy of Fuzheng Liqi mixture (FLM) in the treatment of functional dyspepsia in rats.

METHODS: All SD rats were randomly divided into control group, model group, mosapride group and FLM group. Gastric emptying was observed with phenolsulfonphthalein, and the content of motilin (MTL) in plasma was detected using radioimmunoassay.

RESULTS: The gastric emptying and MTL content in model group were obviously decreased than those in control group ($25.85\% \pm 1.76\%$ vs $39.37\% \pm 2.18\%$, $P < 0.05$; 129.38 ± 22.27 mg/L vs 180.57 ± 24.13 mg/L, $P < 0.05$). The gastric emptying was accelerated and MTL content enhanced significantly in mosapride group and FLM group as compared with those in model group ($37.37\% \pm 3.14\%$, $38.19\% \pm 4.61\%$ vs $25.85\% \pm 1.76\%$, $P <$

0.05 ; 210.51 ± 42.59 mg/L, 227.36 ± 40.74 mg/L vs 129.38 ± 22.27 mg/L, $P < 0.05$), and there was no significant difference between FLM group and mosapride group.

CONCLUSION: FLM can increase the plasma content of MTL to promote gastric emptying, which may be one of the therapeutic mechanisms in treating functional dyspepsia.

Key Words: Fuzheng Liqi mixture; Functional dyspepsia; Gastric emptying; Motilin

Zhang CX, Qin YM, Han Y. Effects of Fuzheng Liqi mixture on gastric emptying and serum motilin content in rats with functional dyspepsia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 751-754

摘要

目的: 研究扶正理气合剂对大鼠功能性消化不良的治疗作用及其可能机制。

方法: 健康成年SD大鼠40只, 随机分为空白对照组、模型组、莫沙必利组和扶正理气合剂组。测定各组大鼠胃排空和血浆胃动素的含量。

结果: 模型组大鼠胃排空和血浆胃动素的含量明显低于空白对照组($25.85\% \pm 1.76\%$ vs $39.37\% \pm 2.18\%$, $P < 0.05$; 129.38 ± 22.27 mg/L vs 180.57 ± 24.13 mg/L, $P < 0.05$)。经治疗后, 莫沙必利组和扶正理气合剂组明显升高, 与模型组比较差异有统计学意义($37.37\% \pm 3.14\%$, $38.19\% \pm 4.61\%$ vs $25.85\% \pm 1.76\%$, $P < 0.05$; 210.51 ± 42.59 , 227.36 ± 40.74 mg/L vs 129.38 ± 22.27 mg/L, $P < 0.05$), 而莫沙必利组和扶正理气合剂组之间差异无统计学意义。

结论: 扶正理气合剂能通过升高血浆中胃动素的含量而促进胃排空, 这可能是该方治疗功能性消化不良作用机制之一。

关键词: 扶正理气合剂; 功能性消化不良; 胃排空; 胃动素

背景资料

功能性消化不良(FD)是最常见的消化内科疾病。该病的病因和发病机制至今尚未清楚, 西医无特效药, 多采取对症治疗, 而中医治疗FD可获得满意的疗效。因此寻找促胃动力中药具有现实的理论意义和实用价值。

同行评议者

陈治水, 教授, 中国人民解放军二一医院中医科

相关报道

近年来多数学者认为胃肠运动功能障碍是FD的主要发病机制。另有研究证实FD患者胃排空延长、收缩减弱或期收缩缺乏均与MTL不出峰或峰值下降有关。

张超贤, 秦咏梅, 韩宇. 扶正理气合剂对实验性功能消化不良大鼠胃排空和胃动素的影响. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 751-754

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/751.asp>

0 引言

功能性消化不良(functional dyspepsia, FD)是最常见的消化内科疾病。该病的病因和发病机制至今尚未清楚, 西医无特效药, 多采取对症治疗, 而中医治疗FD可获得满意的疗效^[1]。我们在临床上应用扶正理气合剂治疗FD, 取得了良好的效果。而以扶正理气合剂治疗FD的实验性研究尚未见报道, 因此, 本实验通过观察扶正理气合剂对FD大鼠模型血浆胃动素(motilin, MTL)含量和胃排空的影响, 以探讨其作用机制。

1 材料和方法

1.1 材料 健康清洁级SD大白鼠40只, 3月龄, 雌雄各半, 体质量180-220 g。由新乡医学院实验动物中心提供。扶正理气合剂(新乡医学院第一附属医院生产, 莫沙必利(5 mg/片, 鲁南贝特制药有限公司生产, 研细以蒸馏水稀释成0.125 g/L的溶液)。血浆胃动素放射免疫分析试剂盒(北京华英生物技术研究所), FJ2003/50P γ 放射免疫计数器(国营262厂), LD4-2A高速离心机(北京医用离心机厂), 721分光光度计(上海仪器三厂生产)。

1.2 方法

1.2.1 扶正理气合剂的制备处方: 黄芪40 g、金银花60 g、连翘60 g、赤芍48 g、大黄32 g、桃仁60 g、陈皮60 g、炒莱菔子80 g、枳实48 g、党参48 g、甘草24 g、公英60 g、木香48 g配成1000 mL。将大黄单独煎煮10 min(10倍量水加热煮沸后再下大黄), 提取液放出备用。将大黄药渣与余药共置多效提取器内, 加水适量, 加热蒸馏, 收集馏出液备用, 提取液放出。再加水煎煮2次(第1次10倍量水1.5 h, 第2次8倍量水1 h), 过滤, 合并3次滤液, 减压浓缩至适量(1:1)时, 静置冷藏24 h, 虹吸上清液再浓缩, 然后将大黄提取液、馏出液及附加剂加入, 搅匀, 调整总量为1000 mL, 分装于200 mL的高密度聚乙烯瓶内, 封口, 消毒即可。

1.2.2 分组和造模: 适应性喂养1 wk, 按完全随机设计法将40只大鼠分为4组, 分别为空白对照组、模型对照组、莫沙必利组和扶正理气合剂组, 每组10只。除空白对照组外, 参照文献[2]大鼠胃电节律失常模型的方法, 采用不规则喂养的方法, 即单日进食, 逢双禁食, 以打乱正常的

表 1 各组动物血浆MTL含量和胃排空率(mean \pm SD)

分组	n	MTL(mg/L)	胃排空率(%)
正常组	10	180.57 \pm 24.13	39.37 \pm 2.18
模型组	9	129.38 \pm 22.27 ^a	25.85 \pm 1.76 ^a
莫沙必利组	9	210.51 \pm 42.59 ^c	37.37 \pm 3.14 ^c
扶正理气合剂组	10	227.36 \pm 40.74 ^c	38.19 \pm 4.61 ^c

^a $P < 0.05$ vs 正常组; ^c $P < 0.05$ vs 模型组。

饮食规律, 自由饮水。同时在每升饮用水中加入10 mol/L的盐酸10 mL, 以破坏胃内的酸碱环境。

1.2.3 给药方法: 造模第3周开始给药, 在保持造模条件不变的情况下, 莫沙必利组给予莫沙必利蒸馏水稀释液12 mL/(kg·d), 扶正理气合剂组给予扶正理气合剂12 mL/(kg·d), 同时空白对照组、模型对照组给予9 g/L NaCl溶液(12 mL/kg体质量)ig, 1次/d, 共给药2 wk。在治疗过程中模型组和莫沙必利组各死亡1只。

1.2.4 观测项目和方法: 参照文献[3]方法, 各组动物用药结束时, 禁食1 d(不禁水), d 2将浓度1 g/L的酚红溶液按10 mL/(kg·bw) ig, 30 min后处死动物。取胃内容物溶入0.15 mol/L NaOH溶液中, 静置1 h。然后从中取5 mL上清液加入1 mL三氯乙酸溶液混合离心, 离心后取4 mL上清液加入1 mL NaOH溶液, 在721分光光度计上读取560 nm处吸光度值。胃排空率(%) = (1-胃内酚红含量/灌胃酚红含量) \times 10%。

1.2.5 血浆胃动素的测定: 股静脉采血, 分别置于含30 μ L的100 g/L EDTA和30 μ L抑肽酶混合均匀的塑料试管和无抗凝剂的塑料试管中, 分离血浆和血清, 均用放免法, 按药盒说明书的方法测定。

统计学处理 数据均以mean \pm SD表示, 采用SPSS10 for Windows统计软件包进行统计学处理, 多组间计量资料采用方差分析。

2 结果

模型组大鼠血浆中MTL含量、胃排空率与正常对照组比较明显降低, 有显著性差异($P < 0.05$); 扶正理气合剂或莫沙必利与模型组比较, 均能显著增大大鼠血浆中MTL含量和胃排空率, 有显著性差异($P < 0.05$); 扶正理气合剂与莫沙必利比较, 没有显著性差异($P > 0.05$, 表1)。

3 讨论

FD系指不能以器质性疾病解释而见有持续性

或反复发作性上腹部疼痛和餐后饱胀、腹部胀气、暖气、早饱、恶心等上腹部不适症状的一组临床症候群^[4], 占消化疾病患者的20%-40%, 对患者的生活质量有明显影响, 因此一直是人们研究的热点问题^[5]. FD发病机制目前尚未明确, 可能涉及多种因素, 估计FD患者中20%-50%有胃肠运动功能障碍, 近年来多数学者认为胃肠运动功能障碍是FD的主要发病机制^[6]. 目前在临床已使用一系列促胃肠动力药, 如胃复安、吗叮啉、西沙比利等, 虽有肯定的疗效, 但这些药物偏重于胃肠局部功能调节, 有不同程度副作用^[7], 因而, 寻找促胃肠动力中药具有现实的理论意义和实用价值.

FD病位在胃, 与肝、脾密切相关. 脾胃同居中焦, 是人体气机升降的枢纽, 脾升胃降是完成受纳运化功能的基本保证. 多数FD患者病程久, 病久必虚, 脾气虚弱, 使枢机不利, 升降失常而致病; 又脾胃为土脏, 依赖肝气的疏泄条达, 肝气郁结, 土壅木滞, 可加重中焦郁滞, 气机壅遏, 不通则痛, 临床总以胃痛或胃部不适为主要见症, 脾虚气滞是本病的基本病机. 脾虚气滞, 则血行不畅, 日久则成血瘀, 临床上在健脾益气基础上加用化瘀之品往往取得较好疗效^[8]. 扶正理气合剂为纯中药复方制剂, 组方包括大黄、枳实、桃仁、党参、黄芪、赤芍、木香、陈皮、莱菔子、金银花、连翘、蒲公英、甘草, 本方以陈皮、枳实、木香行气消胀, 大黄、莱菔子消积导滞, 消除腹胀腹痛; 以党参、黄芪补中益气、治脾胃之虚、增强免疫力; 加上桃仁、赤芍活血化瘀、散结^[9]. 现代药理研究证实, 大黄对十二指肠有一定的兴奋作用, 对大鼠整个离体结肠的张力增加, 蠕动加快, 其通过对十二指肠及远段结肠的干预, 促进胃的收缩和排空, 是中药的促胃肠动力药物, 大黄亦有利胆与杀灭HP的作用^[10]; 陈皮、枳实含挥发油和橙皮甙等甙类物质, 对消化道有缓和的刺激作用, 能促进胃液分泌, 使胃肠道平滑肌兴奋性增加, 收缩增强^[11]; 党参有抗胃黏膜损伤和双向调节作用, 能调节应激状态下大鼠胃电活动基本电节律的紊乱, 抑制胃动力的亢进, 亦有研究证实其对胃底收缩有显著的促进作用; 炒莱菔子有促进胃肠蠕动作用^[12]; 木香则有缩短胃对钡剂的排空时间以及升高血浆胃动素的作用^[13]; 黄芪有促进胃肠蠕动、修复胃黏膜、增强胃肠道免疫功能作用^[14].

MTL是先从猪小肠黏膜中提取分离出来

的由22个氨基酸组成的多肽, 后来发现在大多数哺乳动物的胃肠道均存在释放MTL的细胞. MTL的生理作用主要是影响胃肠道的运动, 在消化期间, MTL呈周期性释放, 引起胃和上部小肠产生消化期综合肌电III相并诱发胃强烈收缩和小肠明显的分节运动^[15], 食管下扩约肌的紧张性收缩可防止胃内容物返流入食管同时增强结肠和胆囊运动. 有报道^[16]功能性消化不良患者血浆胃动素水平低于健康对照组, 存在胃动素释放障碍. 另有研究证实FD患者胃排空延长、收缩减弱或III期收缩缺乏均与MTL不出现释放高峰或峰值下降有关^[17].

本研究显示, 模型组大鼠血浆中MTL含量与正常对照组比较明显降低, 有显著性差异($P<0.05$); 扶正理气合剂或莫沙必利与模型组比较, 均能显著增高大鼠血浆中MTL含量, 有显著性差异($P<0.05$); 扶正理气合剂与莫沙必利比较, 没有显著性差异($P>0.05$). 各组MTL在血浆中表达的程度与胃排空率相平行, 模型组MTL含量明显降低, 而治疗组MTL含量较模型组又显著增高, 说明MTL对实验性功能消化不良大鼠胃排空可能起重要作用. 扶正理气合剂能显著增高大鼠模型血浆MTL的含量, 表明其能通过促进内源性MTL的释放、促进胃排空达到治疗的目的. 实验结果表明, 扶正理气合剂与莫沙必利在各项检测指标的比较中大体相当, 这为临床上应用扶正理气合剂治疗功能性消化不良提供了理论和实验依据.

4 参考文献

- 1 刘鸿慧, 王垂杰. 功能性消化不良的中医治疗述评. 辽宁中医学院学报 2004; 6: 101-102
- 2 朱金照, 冷恩仁, 张捷, 许其增. 大腹皮对大鼠胃电节律紊乱的影响及机制. 解放军医学杂志 2002; 27: 39-40
- 3 麻微微, 王舒然, 蔺威鸣, 袁超, 王国秀. 饮食诱导肥胖和肥胖抵抗大鼠胃肠动力学研究. 中国公共卫生 2007; 23: 431-432
- 4 张万岱, 危北海, 陈治水. 功能性消化不良的中西医结合诊治方案. 世界华人消化杂志 2004; 12: 2683-2686
- 5 唐红卫, 刘莉, 黄裕新, 徐海峰, 高巍, 周润锁, 尚磊, 高峰, 安晓丽. 功能性消化不良胃电图与胃排空检测的同步研究. 第四军医大学学报 2003; 24: 1783-1786
- 6 唐红卫, 黄裕新, 高巍. 功能性消化不良胃动力异常与胃肠激素的关系. 世界华人消化杂志 2001; 9: 694-697
- 7 张煜. 中医治疗功能性消化不良述评. 实用中医药杂志 2005; 21: 45
- 8 陶琳, 张声生, 汪红兵, 李帷. 健脾理气活血方治疗功能性消化不良临床研究. 中国中医药信息杂志 2005; 12: 11-13
- 9 张永恒, 乔立新, 卢乙众, 秦双. 扶正理气合剂的研制及临床应用. 新乡医学院学报 2002; 19: 136-137
- 10 杨晓英, 饶和平. 健脾消痞汤治疗功能性消化不良疗

创新盘点
本研究首次通过观察扶正理气合剂对FD大鼠模型血浆胃动素含量和胃排空的影响, 探讨其作用机制.

应用要点
扶正理气合剂能显著增高大鼠模型血浆MTL的含量, 表明其能通过促进内源性MTL的释放、促进胃排空达到治疗的目的, 为临床上应用扶正理气合剂治疗FD提供了理论和实验依据.

同行评价
本文选题新颖, 设计合理, 实验手段先进, 结果可信, 文笔流畅, 对开发研制治疗功能性消化不良新型中药制剂有一定参考意义。

- 效观察. 中华中医药学刊 2007; 25: 853-854
- 11 李家邦. 中医学. 第6版. 北京: 人民卫生出版社, 2003: 175
- 12 单要军, 薛松. 消痞健胃合剂对功能性消化不良胃动素胃泌素的影响. 中医药学刊 2005; 23: 140-141
- 13 陈少夫, 李宇权, 何风云, 潘丽丽. 木香对胃酸分泌、胃排空及胃泌素、生长抑素、胃动素水平的影响. 中国中西医结合杂志 1994; 14: 406-408
- 14 李香珍, 邓晓明, 王军. 强胃汤治疗功能性消化不良150例疗效观察. 四川中医 2005; 23: 56-57
- 15 Jonsson BH, Hellström PM. Motilin- and neuropeptide Y-like immunoreactivity in a

psychophysiological stress experiment on patients with functional dyspepsia. *Integr Physiol Behav Sci* 2000; 35: 256-265

16 许翠萍, 李亮成, 耿引凤, 徐大毅. 中药胃肠力苏胶囊对胃排空影响的动物实验与临床研究. 山西医科大学学报 2001; 32: 143-145

17 Näslund E, Backman L, Theodorsson E, Hellström PM. Intraduodenal neuropeptide levels, but not plasma levels, vary in a cyclic fashion with the migrating motor complex. *Acta Physiol Scand* 1998; 164: 317-323

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第二十次全国中西医结合消化学术会议征文通知

本刊讯 中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会决定于2008-11在上海市召开第二十次全国中西医结合消化系统疾病学术会议, 并同时举办全国中西医结合消化疾病(重点为肝病、内镜与胃癌)新技术新理论继续教育学习班. 学习班招收对象: 中西医结合、中医或西医的消化专业医师、科研人员、研究生等. 参加学习班者授予国家级1类继续教育学分; 大会论文报告者另授继续教育学分6分.

1 征稿内容

消化内镜技术及其中西医结合临床应用; 脂肪肝、慢性肝炎与肝硬化等常见肝病的中西医结合基础与临床研究; 消化道肿瘤中西医结合诊疗; 脾胃学说及其临床应用; 其他消化系统疾病(包括食管、胃、肝、胆、胰腺等疾病)的基础研究、临床研究与实践等.

2 征稿要求

请注明作者姓名、单位、详细通讯地址、邮编. 稿件请附800字论文摘要, 尽可能以电子信件的形式将稿件传送, 截稿日期: 2008-09-30.

3 联系方式

刘成海, 201203, 上海市浦东新区张衡路528号上海中医药大学附属曙光医院肝病所, 传真: 021-51324445或51328500, shxhhy2008@yahoo.cn或czs.xiaohua@163.com

链激酶对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用

宋少伟, 刘永锋, 梁健, 何三光

宋少伟, 中国医科大学附属第一医院普通外科教研室 辽宁省沈阳市 110001
刘永锋, 梁健, 何三光, 中国医科大学附属第一医院普通外科 辽宁省沈阳市 110001
辽宁省生物医药科技发展策略研究及药物创新技术品种研究资助项目, No. 2006226031-216
作者贡献分布: 宋少伟直接参与实验和文章撰写, 刘永锋, 梁健及何三光行政, 技术, 材料支持和指导.
通讯作者: 宋少伟, 110001, 沈阳市和平区南京北街155号, 中国医科大学附属第一医院普通外科. songsw10@hotmail.com
电话: 024-83283330
收稿日期: 2007-11-06 修回日期: 2008-01-23

Protective effect of streptokinase on rat liver ischemia reperfusion injury

Shao-Wei Song, Yong-Feng Liu, Jian Liang, San-Guang He

Shao-Wei Song, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China
Yong-Feng Liu, Jian Liang, San-Guang He, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Liaoning Province Biomedical Science and Technology Research and Drug Development Strategy of Innovative Technology Research Projects, No. 2006226031-216

Correspondence to: Shao-Wei Song, Department of Gastroenteropancreatic Surgery, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. songsw10@hotmail.com
Received: 2007-11-06 Revised: 2008-01-23

Abstract

AIM: To study the protective effect of streptokinase on rat liver ischemia reperfusion injury.

METHODS: Thirty-six Wistar rats were divided randomly into control group and 2 experiment groups (12 in each group). Livers from the control group were perfused with 10 mL Ringer's solution through the portal vein and stored at 4°C for 24 h. Livers from the experiment group were perfused with Ringer's solution containing 7500 IU streptokinase with or without hypothermal oxygen stored at 4°C for 24 h. All cold stored livers were followed by *in vitro* perfusion at 37°C

for 45 min, and stored at 4°C. Changes in ALT, GLDH, and activity of PNP, 5'nucleotidase and bile secretion were detected.

RESULTS: The activity of ALT, GLDH and PNP was significantly lower in the experiment groups than in the control group ($P < 0.05$). Bile secretion ($3.7 \pm 0.7 \mu\text{L/g}$ at 45 min, $9.1 \pm 0.7 \mu\text{L/g}$ at 45 min *vs* $1.1 \pm 0.9 \mu\text{L/g}$ at 45 min, $P < 0.05$) and 5'nucleotidase activity were significantly increased in the experiment groups compared with the control group.

CONCLUSION: Streptokinase can improve rat liver microcirculation and ischemia reperfusion injury.

Key Words: Streptokinase; Liver; Microcirculation; Ischemia reperfusion

Song SW, Liu YF, Liang J, He SG. Protective effect of streptokinase on rat liver ischemia reperfusion injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 755-758

摘要

目的: 研究链激酶对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用.

方法: 36只Wistar大鼠随机分成3组, 每组12只. 对照组大鼠肝脏经门脉10 mL乳酸林格液灌洗后, 低温4°C UW液中保存24 h, 实验组大鼠肝脏经含链激酶7500 IU乳酸林格液灌洗后, 分别低温或低温静脉持续氧气灌注保存24 h后, 离体常温再灌注45 min, 观察灌洗液谷氨酰胺丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、谷氨酸乳酸脱氢酶(glutamate-lactate dehydrogenase, GLDH)和嘌呤核苷磷酸化酶(purine nucleoside phosphorylase, PNP)活性及肝脏胆汁分泌量、肝组织5'核苷酸酶活性的变化.

结果: 实验组再灌注过程中灌洗液ALT、GLDH和PNP活性均明显低于对照组 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 胆汁分泌量增加 [$3.7 \pm 0.7 \mu\text{L}/(\text{g} \cdot 45 \text{ min})$, $9.1 \pm 0.7 \mu\text{L}/(\text{g} \cdot 45 \text{ min})$ *vs* $1.1 \pm 0.9 \mu\text{L}/(\text{g} \cdot 45 \text{ min})$, $P < 0.05$, $P < 0.01$]; 5'核苷酸酶

背景资料
肝脏缺血再灌注损伤病理生理过程复杂, 迄今尚无明确认识, 故对其发生机制的研究已成为医学界关注的热点, 越来越多的研究表明缺血再灌注损伤是造成移植原发无功能的原因之一, 其发生率为2%-23%, 甚至因此而被迫对患者进行再次移植. 近年来随着抗排斥反应药物的进展, 移植排斥反应得到了有效的控制, 如何有效地减少移植物的缺血再灌注损伤, 目前成为移植界的主要难题之一.

同行评议者
房林, 副教授, 同济大学附属上海市第十人民医院普通外科

相关报道
有研究报道心脏
停搏的供肝经链
激酶灌注后,可明
显提高供体的质
量。

活性染色明显增强。

结论:链激酶改善低温保存肝脏的微循环,减轻缺血再灌注损伤。

关键词:链激酶;肝脏;微循环;缺血再灌注损伤

宋少伟,刘永锋,梁健,何三光.链激酶对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用.世界华人消化杂志 2008; 16(7): 755-758
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/755.asp>

0 引言

肝脏移植已被公认为是治疗终末期肝脏疾病的一种有效手段,决定肝移植成功与否的一个重要因素就是肝脏移植物的活力^[1],缺血再灌注损伤是造成肝脏移植原发无功能的主要原因,如何保持低温保存肝脏的活性是防止缺血再灌注损伤的关键。微循环障碍是组织细胞缺血再灌注损伤发生的重要机制,改善微循环是防治缺血再灌注损伤综合措施中的重要环节。链激酶可防止微血栓形成,改善微循环,本实验旨在探讨链激酶对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的保护作用。

1 材料和方法

1.1 材料 36只♂ Wistar大鼠,体质量为250-350 g,随机分为对照组,实验组1和实验组2, $n = 12$ 。肌苷液、黄嘌呤氧化酶均购自Sigma公司。比色分析采用日本岛津20分光光度计。

1.2 方法

1.2.1 手术及灌注:大鼠开腹后游离出胆总管并插管,然后游离门静脉,在其前壁剪一小口,迅速插管原位灌注,灌注液分别为10 mL的林格液(对照组)和10 mL的林格液+链激酶7500 IU(实验组1和实验组2),灌注高度为40 cm。快速切取肝脏,4℃保存于UW液,其中实验组2在低温保存期间经肝下腔静脉以18 mmHg的压力持续氧气灌入,低温保存24 h后置于离体灌注装置中,温度保持37℃,200 mL Krebs-Henseleit液循环灌注45 min,灌注的压力为1.96 kPa(20 cm H₂O),灌注液中O₂:CO₂(95%:5%)。灌注0、15、30和45 min时,从灌注液中取样3 mL。检测灌注液中谷氨酰胺丙氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)和谷氨酸乳酸脱氢酶(glutamate-lactate dehydrogenase; GLDH)和嘌呤核苷磷酸化酶(purine nucleoside phosphorylase PNP)活性。灌注结束时测量胆汁分泌量,以 $\mu\text{L}/(\text{g}\cdot 45\text{ min})$ 表示。

在大鼠肝脏的左叶切取125 mm²大小的肝组织,-70℃液氮保存,然后制成冰冻切片,以备5'核苷酸酶活性的检测。

1.2.2 PNP活性检测:取检测液0.1 mL,与肌苷液0.1 mL、磷酸缓冲液2.5 mL(0.1 mol/L, pH7.4)、黄嘌呤氧化酶0.1 mL 37℃温箱孵育30 min, 3000 r/min,离心15 min,取上清液在分光光度计比色($\lambda = 293\text{ nm}$)。

1.2.3 5'核苷酸酶的测定具体方法:将冰冻切片取出后,37℃孵育箱中复温30 min。同时制成180 g/L的聚乙烯醇Tris顺丁烯二酸缓冲液,用氢氧化钠调至pH值为7.2后,向培养基中加入7.2 mmol/L的硝酸铅(20 mL/L培养基)、10 mmol/L的氯化镁(10 mL/L培养基)和5 mmol/L的AMP(12.5 mL/L培养基),混合均匀,将复温后的冰冻切片取出,在标本上滴入上述培养基,然后放入37℃孵育箱中孵育15 min。温水冲洗切片,除去培养基。再将切片浸泡于10 g/L硫化氨1 min后,盖片固定^[2]。

统计学处理 所得数据均以mean±SD表示,采用方差分析 q 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

再灌注过程中实验组灌洗液中ALT、GLDH和PNP活性均明显低于对照组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$,表1)。再灌注结束时,对照组胆汁分泌量 $1.1 \pm 0.9\ \mu\text{L}/(\text{g}\cdot 45\text{ min})$,明显低于实验组1($3.7 \pm 0.7\ \mu\text{L}/(\text{g}\cdot 45\text{ min})$)($P < 0.05$)和实验组2($9.1 \pm 0.7\ \mu\text{L}/(\text{g}\cdot 45\text{ min})$)($P < 0.01$)。实验组在门脉区出现5'-NT染色强度的轻度减弱;而在对照组,在胆小管和肝窦细胞区染色变得非常模糊,在门脉区,5'-NT的活性明显降低(图1)。

3 讨论

肝脏缺血再灌注损伤的机制尚未完全阐明,近年来微血管损伤和微循环障碍在该损伤发生发展中的作用引起人们的重视,微循环障碍及血液流变学改变在组织细胞缺血再灌注损伤中发挥重要作用。肝脏低温保存后再灌注可发生微循环障碍,而且是肝功能衰竭的主要原因。微循环损伤包括红细胞集聚和微血栓形成,目前不少研究关注肝脏微循环,这些研究显示接触保存液后红细胞的可变性遭到了破坏,这些红细胞能堵塞肝窦间隙从而破坏肝脏小管道影响微循环^[3]。由于微循环障碍灌注不足减少了组织细胞的氧和营养

表 1 再灌注期间灌注液中ALT、GLDH和PNP活性(mean ± SD)

再灌注	ALT (U/L)			GLDH (U/L)			PNP[nmol/(min·mL)]		
	对照组	实验组1	实验组2	对照组	实验组1	实验组2	对照组	实验组1	实验组2
5 min	62.7 ± 5.6	24.8 ± 2.9 ^a	13.2 ± 1.9 ^a	8.9 ± 0.9	4.1 ± 0.6 ^a	2.6 ± 0.4 ^a	32.2 ± 1.7	26.4 ± 2.3 ^a	16.9 ± 2.0 ^a
15 min	85.2 ± 6.6	40.5 ± 3.9 ^a	20.7 ± 3.5 ^b	11.4 ± 1.0	5.8 ± 0.8 ^a	4.2 ± 0.6 ^b	42.5 ± 1.9	30.6 ± 2.4 ^b	21.9 ± 1.9 ^a
30 min	104.3 ± 6.9	53.2 ± 4.4 ^b	32.0 ± 3.9 ^b	14.8 ± 1.0	8.4 ± 1.0 ^a	6.1 ± 0.7 ^a	52.1 ± 3.1	35.2 ± 3.0 ^b	28.2 ± 2.4 ^b
45 min	121.5 ± 8.0	73.0 ± 6.6 ^a	41.8 ± 4.7 ^b	21.2 ± 1.5	12.1 ± 1.7 ^a	8.7 ± 0.6 ^b	65.5 ± 4.5	49.8 ± 3.1 ^b	41.3 ± 2.5 ^b

^aP<0.05, ^bP<0.01 vs 对照组.



图 1 5'NT染色图片. A: 对照组; B: 实验组1; C: 实验组2.

物质的供应, 从而引起组织一系列功能和代谢的紊乱, 如无氧酵解过程增强, 乳酸及脂肪酸等酸性代谢产物蓄积以及能量生成不足, 导致细胞结构受损, 细胞膜通透性增加可导致细胞水肿, 溶酶体膜通透性增加或破损引起的各种溶酶体释放, 从而导致细胞的广泛溶解坏死; 肝移植后微循环的损伤将影响术后移植肝的功能恢复. 肝脏低温保存后再灌注时可发生白细胞黏附, 而且白细胞黏附是造成微循环及肝功能损害的重要因素, 再灌注后可使白细胞黏附聚集在局部并释放毒性介质, 导致内皮细胞的进一步损害, 这些积聚的白细胞和内皮细胞可阻塞肝窦, 同时引起血小板黏附血管内凝血及血栓形成, 实验发现微血栓在微循环中的形成也是影响肝脏微循环的因素^[4], 加重微循环的损伤. 链激酶可以减少血小板的激活和微血栓, 减少肝窦内皮细胞凋亡的发生^[5]. Yamauchi *et al* 研究表明心脏停搏的供肝经链激酶灌注后, 可明显提高供体的质量^[6-8]. 本研究发现低温保存前给予链激酶灌洗的实验组大鼠, 灌注液中ALT和GLDH的含量明显降低, 说明肝脏功能得到明显改善. 胆汁分泌量是受微循环和肝细胞的数量影响的, 所以实验组胆汁分泌量增加也表明肝脏微循环障碍和肝实质细胞损害的程度减轻.

微循环的紊乱和肝窦“无复流”现象已经被大家认识到是缺血再灌注损伤的重要原因. 肝窦内皮细胞耐受缺氧的能力比肝细胞差, 而且已

经有许多证据表明肝脏缺血再灌注后首先受到损伤的是内皮细胞, 然后才进一步损伤肝细胞. 肝窦内皮细胞损伤可致肝脏微循环障碍, 较实质细胞对移植肝脏功能的影响更具有意义. 由于肝窦内皮细胞完整性破坏和表面受体暴露导致微循环连续性和完整性破坏, 已经发现肝脏缺血再灌注损伤后, 内皮细胞表面黏附分子表达明显升高, 从而增加了中性粒细胞的聚集^[9]. 缩血管因子的增加进一步影响了局部的血供, 从而导致肝脏局部的继续缺血坏死^[10], 造成微循环障碍. PNP是一种位于肝窦内皮细胞和参与ATP降解的酶, 是肝窦内皮细胞损伤的指标之一^[11]. 5'核苷酸酶活性的丢失是肝组织早期缺血损伤的指标, 位于胆小管和肝窦内皮细胞膜上, 随着冷缺血时间的延长, 降低, 并且分布的部位也发生改变. 本研究发现实验组PNP活性明显降低和5'核苷酸酶活性组化染色强于对照组, 表明链激酶可减轻冷保存过程中肝窦内皮细胞的损伤.

近年来关于使用机器灌注保存的研究获得了很大重视^[12-14], 机器灌注保存与简单冷保存相比, 主要优点是能持续给肝细胞提供维持其基本功能的能量底物, 但使用机器灌注所需设备复杂繁多, 费用昂贵, 限制其在临床应用. 因此本实验采用简单的氧气持续灌注代替机器灌注. 经静脉系统氧气持续灌注是防止各种缺血实质性器官组织无氧损伤的有效办法. 研究表明这种保存策略可延长猪原位肝移植的生存率^[15]. 在

应用要点
链激酶可减轻肝脏缺血再灌注损伤, 可应用于临床的肝脏保存.

同行评价
本文设计简单, 结果明确, 对临床有一定的指导意义.

缺血低温保存过程中, 氧利于保持肝窦内皮细胞结构的完整, 持续氧灌注还可减少黏附因子-1的表达和MHC II的表达, 从而减少白细胞的黏附, 改善微循环和防止排斥反应的发生^[16]. 我们的研究表明链激酶灌洗和低温静脉系统氧气连续灌注这两种方法具有协同作用, 更加利于缺血再灌注损伤肝脏的功能恢复.

4 参考文献

- 1 卢思聪, 吕凌, 张峰. 移植肝的保存. 世界华人消化杂志 2007; 15: 2805-2808
- 2 van Gulik TM, Nio CR, Frederiks WM, Klopper PJ, van der Heyde MN. An in vitro method for comparing the efficacy of two preservation solutions in one canine liver using the 5'-nucleotidase assay. *Transpl Int* 1993; 6: 8-13
- 3 Chmiel B, Cierpka L. Organ preservation solutions impair deformability of erythrocytes in vitro. *Transplant Proc* 2003; 35: 2163-2164
- 4 Okajima K, Harada N, Kushimoto S, Uchiba M. Role of microthrombus formation in the development of ischemia/reperfusion-induced liver injury in rats. *Thromb Haemost* 2002; 88: 473-480
- 5 Tolba RH, Yonezawa K, Song S, Burger C, Minor T. Synergistic value of fibrinolysis and hypothermic aerobic preservation with oxygen in the protection of livers from non-heart-beating donors: an experimental model. *Transplant Proc* 2004; 36: 2927-2930
- 6 Yamauchi J, Richter S, Vollmar B, Menger MD, Minor T. Warm preflush with streptokinase improves microvascular procurement and tissue integrity in liver graft retrieval from non-heart-beating donors. *Transplantation* 2000; 69: 1780-1784
- 7 Yamauchi J, Schramm R, Richter S, Vollmar B, Menger MD, Minor T. Improvement of microvascular graft equilibration and preservation in non-heart-beating donors by warm preflush with streptokinase. *Transplantation* 2003; 75: 449-453
- 8 Hachenberg A, Tolba RH, Akbar S, Minor T. Improvement of postpreservation viability of livers from non-heart-beating donors by fibrinolytic preflush with streptokinase upon graft retrieval. *Transplant Proc* 2001; 33: 2525-2526
- 9 El-Wahsh M, Seifalian AM, Fuller BJ, Rolles K, Davidson BR. Induction of adhesion molecule expression in liver ischaemia-reperfusion injury is associated with impaired hepatic parenchymal microcirculation. *Br J Surg* 2004; 91: 1034-1039
- 10 McCuskey RS. Morphological mechanisms for regulating blood flow through hepatic sinusoids. *Liver* 2000; 20: 3-7
- 11 宋少伟, 刘永锋, 梁键. 嘌呤核苷磷酸化酶活性和外源性透明质酸吸收率对大鼠肝脏缺血再灌注损伤的研究. 中国医科大学学报 2007; 36: 17-19
- 12 Lauschke H, Olschewski P, Tolba R, Schulz S, Minor T. Oxygenated machine perfusion mitigates surface antigen expression and improves preservation of predamaged donor livers. *Cryobiology* 2003; 46: 53-60
- 13 Minor T, Sitzia M, Dombrowski F. Kidney transplantation from non-heart-beating donors after oxygenated low-flow machine perfusion preservation with histidine-tryptophan-ketoglutarate solution. *Transpl Int* 2005; 17: 707-712
- 14 Lindell SL, Compagnon P, Mangino MJ, Southard JH. UW solution for hypothermic machine perfusion of warm ischemic kidneys. *Transplantation* 2005; 79: 1358-1361
- 15 Minor T, Saad S, Nagelschmidt M, Kötting M, Fu Z, Paul A, Isselhard W. Successful transplantation of porcine livers after warm ischemic insult in situ and cold preservation including postconditioning with gaseous oxygen. *Transplantation* 1998; 65: 1262-1264
- 16 Minor T, Akbar S, Tolba R, Dombrowski F. Cold preservation of fatty liver grafts: prevention of functional and ultrastructural impairments by venous oxygen persufflation. *J Hepatol* 2000; 32: 105-111

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

肝内胆管癌细胞系ICC-9810与肝细胞系L02蛋白质组学的差异分析

刘博, 肖雪媛, 董家鸿, 何大澄, 黄志强

刘博, 董家鸿, 黄志强, 中国人民解放军总医院肝胆外科 全军肝胆外科研究所 北京市 100853
肖雪媛, 何大澄, 北京师范大学生物系细胞所 中国高校蛋白质组学研究院 北京市 100875
通讯作者: 刘博, 100853, 北京市, 中国人民解放军总医院肝胆外科. jnliubo@sohu.com
电话: 010-66935569
收稿日期: 2007-12-08 修回日期: 2008-01-30

Differential expression of proteins in intrahepatic cholangiocarcinoma cell line ICC-9810 and liver cell line L02

Bo Liu, Xue-Yuan Xiao, Jia-Hong Dong, Da-Cheng He, Zhi-Qiang Huang

Bo Liu, Jia-Hong Dong, Zhi-Qiang Huang, Department of Hepatobiliary Surgery, General Hospital of Chinese PLA; Hepatobiliary Surgery Institute of Chinese PLA, Beijing 100853, China
Xue-Yuan Xiao, Da-Cheng He, Institute of Cell Biology, Beijing Normal University, Beijing 100875, China
Correspondence to: Dr. Bo Liu, Department of Hepatobiliary Surgery, General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100853, China. jnliubo@sohu.com
Received: 2007-12-08 Revised: 2008-01-30

Abstract

AIM: To analyze the differential expression of proteins in intrahepatic cholangio-carcinoma cell line ICC-9810 and normal liver cell line L02, and to screen the potential molecular markers for the diagnosis of intrahepatic cholangiocarcinoma.

METHODS: Surface enhanced laser desorption / ionization (SELDI) mass spectrometry with ProteinChip IMAC3 and WCX2 was performed to compare the expressed proteins in intrahepatic cholangiocarcinoma cell line ICC-9810 and normal liver cell line L02. Protein profiling was examined with a PBSII-C ProteinChip reader and proteome data were analyzed using Proteinchip Software 3.0.2.

RESULTS: ProteinChip IMAC3 and WCX2 captured all the 376 protein peaks in ICC-9810 and L02 cell lines. Among the identified 27 dif-

ferential proteins in ICC-9810 cell line, 9 showed a higher expression and 18 a lower expression as compared with L02 cell line. Six proteins, namely 3767, 7999, 10 555, 12 163, 22 066 and 26 794 Da, were conjointly detected by IMAC3 and WCX2 ProteinChip.

CONCLUSION: Expression of proteins is different in intrahepatic cholangiocarcinoma cells and normal liver cells. These differentially expressed proteins can be used as candidate biomarkers of intrahepatic cholangiocarcinoma and provide insights into the pathogenesis of intrahepatic cholangiocarcinoma.

Key Words: Intrahepatic cholangiocarcinoma; Hepatocyte; Differential protein; Surface enhanced laser desorption / ionization

Liu B, Xiao XY, Dong JH, He DC, Huang ZQ. Differential expression of proteins in intrahepatic cholangiocarcinoma cell line ICC-9810 and liver cell line L02. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 759-762

摘要

目的: 分析肝内胆管癌细胞系ICC-9810与正常肝细胞系L02的蛋白质表达差异, 筛选肝内胆管癌的潜在分子标志物。

方法: 应用表面增强激光解吸离子化(surface enhanced laser desorption/ionization, SELDI)蛋白质芯片技术检测肝内胆管癌及正常肝细胞系的蛋白质谱。用PBSII-C型蛋白质芯片阅读机读取数据, 采用Proteinchip Software 3.0.2软件分析数据。

结果: IMAC3、WCX2两种蛋白芯片共捕获376个蛋白峰, 发现27个差异蛋白。与正常肝细胞系L02蛋白谱相比, 9个蛋白在肝内胆管癌细胞系ICC-9810中高表达, 18个蛋白在肝内胆管癌细胞系ICC-9810中低表达。其中3767、7999、10 555、12 163、22 066和26 794 Da 6个差异蛋白可被WCX2和IMAC3芯片共同捕获。

结论: 肝内胆管癌与正常肝细胞存在差异蛋

背景资料

肝内胆管癌占肝脏恶性肿瘤的10%-15%。其发病率和病死率有逐年增高的趋势。胆管癌5年生存率为7%, 根治术后5年生存率12.5%。其早期诊断、鉴别诊断和术前定性诊断都相当困难。临床确诊患者多属晚期, 且预后差。CA19-9是胆管癌常用的血清学指标, 80%以上患者CA19-9升高, 但特异性差, 绝大部分患者都是在晚期被诊断而丧失了手术的机会。因此, 寻找新的血清标志分子对于胆管癌的早期诊断、术后复发的监测非常重要。

同行评议者
曹志成, 院士, 香港伊利沙伯医院临床肿瘤部, 肿瘤科研部

研发前沿
蛋白质组学的研究是继基因组学研究之后的又一个具有重大发展前景的科学领域,其在实际应用方面也有极为广阔的前景。

白表达,这些差异蛋白为寻找肝肿瘤标志物,了解肝内胆管癌的发病机制提供了重要线索。

关键词: 肝内胆管癌; 肝细胞; 差异蛋白; 表面增强激光解吸离子化

刘博, 肖雪媛, 董家鸿, 何大澄, 黄志强. 肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 与肝细胞系 L02 蛋白质组学的差异分析. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 759-762

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/759.asp>

0 引言

肿瘤细胞蛋白质组与正常细胞蛋白质组差异表达的研究是探索肿瘤发生机制、发现肿瘤标志物的有效途径. 肝内胆管癌约占肝癌的10%, 近年来在世界范围内肝内胆管癌发生率逐渐上升^[1-3]. 我们利用蛋白质芯片技术分析了肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 与正常肝细胞系 L02 的蛋白质谱, 对筛选肝内胆管癌的标志蛋白进行了初步分析.

1 材料和方法

1.1 材料 肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 由中国人民解放军总医院提供, 正常肝细胞系 L02 购自中国科学院上海细胞所. 胰蛋白酶、RPMI 1640 购自 Gibco 公司, 乙氰、三氟乙酸、尿素、蛋白酶抑制剂、Hepes、Tri-HCl、CHAPS 和 OGP 购自 Sigma 公司. IMAC3 蛋白质芯片、WCX2 蛋白质芯片和阴离子交换柱(Hyper QDF)、PBSII-C 型蛋白质芯片阅读机和 Proteinchip Software 3.0.2 分析软件购自 CIPHERGEN Biosystems 公司.

1.2 方法 肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 和肝细胞系 L02 用含 100 mL/L 胎牛血清的 RPMI 1640 培养基培养. 用 2.5 g/L 胰蛋白酶消化、收集细胞, PBS 洗涤, 加入细胞裂解液(8 mol/L Urea、40 g/L CHAPS、40 mmol/L Tris-HCl pH7.4, 1 mg/L 的 Leupeptin 和 Aprotinin、0.1 mmol/L PMSF), 作用 15 min, 20 049 g 离心 30 min, 取少量上清用 BCA 蛋白定量试剂盒测定蛋白质浓度, 剩余上清-80℃分装冻存备用. 用 1 mol/L Urea 调节蛋白浓度至 2 g/L. 取 200 μL 滴加到阴离子交换柱柱床上面, 1100 g/min 振荡 20 min. 阴离子交换柱采用梯度 pH 洗脱液(pH9, pH7, pH5, pH4, pH3 和有机溶剂)洗脱, 以获得不同 pH 范围的流出液组分. 每组分别采用 IMAC3 和 WCX2 芯片检测, 每组同时在两个同种芯片上检测, 以避免同一种芯片之间的组间差异. 按照 CIPHERGEN Biosystems

公司蛋白质芯片操作指导进行 IMAC3、WCX2 蛋白芯片实验. 本课题设定有意义峰的信噪比为 3, 差异蛋白定义为蛋白质峰强度相差 1 倍以上. 根据这一标准, PBSII-C 型蛋白质芯片阅读机收集 IMAC3、WCX2 蛋白芯片数据, CIPHERGEN Proteinchip 软件系统自动分析数据. 细胞培养在解放军总医院全军肝胆外科研究所进行, 蛋白质提取及检测在北京师范大学中国高校蛋白质组学研究院完成.

2 结果

分析蛋白质芯片阅读机读取的 IMAC3、WCX2 蛋白芯片数据, IMAC3、WCX2 两种蛋白芯片共捕获 376 个蛋白峰, 与正常肝细胞 L02 蛋白谱相比, 有 27 个蛋白质在肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 中出现明显的变化, 其中分子量为 3639、3767、4422、5800、8716、9115、10 127、10 527 和 26 794 Da 的 9 个蛋白在肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 中高表达, 分子质量 3782、4084、4843、5339、5362、5961、6056、6959、7027、7189、7999、8160、8400、10 555、11 643、12 163、12 207 和 22 066 Da 的 18 个蛋白在肝内胆管癌细胞中低表达. 在上述差异蛋白中有 6 个蛋白可被 WCX2 和 IMAC3 芯片共同捕获, 3767、26 794 Da 蛋白在肝内胆管癌细胞系 ICC-9810 中高表达, 7999、10 555、12 163 和 22 066 Da 蛋白峰只在正常肝细胞系中高表达(图1-2).

3 讨论

胆管癌分肝内胆管癌和肝外胆管癌. 近年来肝内胆管癌发病率和死亡率有逐年增高的趋势. 肝内胆管癌病因不明, 研究显示与胆管结石、胆管炎、胆管囊肿、免疫性肠病、寄生虫感染、HBV 及 HCV 病毒感染、肝硬化及饮酒等有关^[4-9]. 肝内胆管癌早期诊断困难, 临床确诊患者多属晚期, 预后差. 周俭 *et al*^[10] 分析 31 例肝内胆管癌临床资料, 5 年生存率 7%. 寻找敏感性高和特异性强的肝内胆管癌标志物, 力求做出早期诊断, 是提高肝内胆管癌生存率的关键.

蛋白质是基因组的表达产物, 能更直接地反映疾病在分子水平的变化. 国内外多家机构已经开始利用蛋白质组学寻找肿瘤特异蛋白, 并对各种蛋白进行分离鉴定^[11-17]. Srisomsap *et al*^[19] 利用蛋白质组学技术分析了肝内胆管癌细胞系 HuCCA-1、肝细胞癌细胞系 HepG2

相关报道
Yu *et al* 采用双向凝胶电泳技术比较了肝细胞癌细胞系 BEL-7402 和正常肝细胞系 L02 的蛋白质谱变化, 发现肝癌细胞谷光甘肽巯基转移酶蛋白比正常肝细胞高 18 倍, 而脂肪细胞型脂肪酸结合蛋白只存在于正常肝细胞.

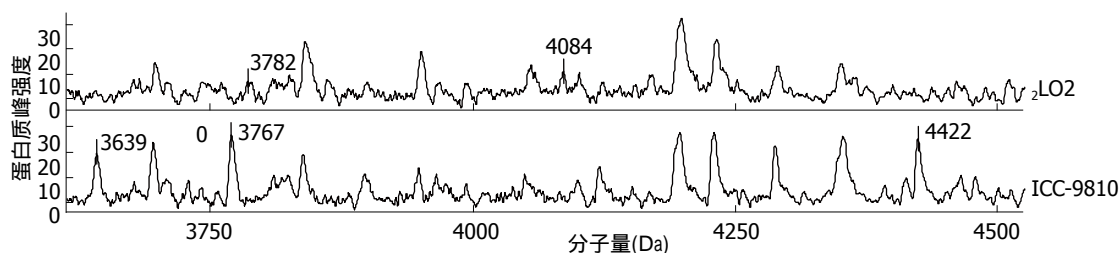


图 1 两细胞系在IMAC3芯片3600–4500 Da区段的蛋白质谱图. 在分子量为3782、4084 Da处, 肝内胆管癌细胞系ICC-9810的蛋白表达量低于肝细胞L02, 在分子量为3639、3767、4422 Da处, 肝内胆管癌细胞系ICC-9810的蛋白表达量高于L02.

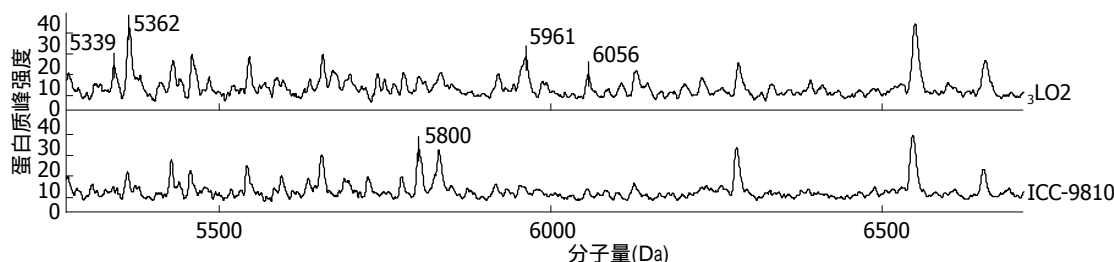


图 2 两细胞系在IMAC3芯片5300–6700 Da区段的蛋白质谱图. 在分子量为5339、5362、5961、6056 Da处, 肝内胆管癌细胞系ICC-9810的蛋白表达量低于肝细胞L02, 在分子量为5800 Da处, 肝内胆管癌细胞系ICC-9810的蛋白表达量高于肝细胞L02.

和 HCC-S102及人乳腺癌细胞系MCF-7的蛋白质表达, 发现43个差异蛋白, 进一步研究表明CK7、CK19 和分子质量为32.9 kDa的三个蛋白质在肝内胆管癌细胞中特异表达, 对肝内胆管癌的诊断和与肝细胞癌的鉴别诊断具有重要意义. 周福平 *et al*^[20]利用显微切割技术研究了组织标本的肝内胆管癌和肝细胞癌蛋白质组, 通过质谱鉴定出28个有意义的蛋白, 20个蛋白仅在肝细胞癌表达或表达明显增高, 8个蛋白仅在肝内胆管癌中表达或者高表达. 免疫组化证实BK125H2.1在肝细胞癌中表达强阳性, 而肝内胆管癌中缺失表达. 分析认为BK125H2.1可能成为鉴别肝细胞癌与肝内胆管癌特异性的分子标记物.

最近研究证实, 肝干细胞定向分化为成熟肝细胞和胆管细胞, 异常分化为肝细胞癌和胆管细胞癌. 认为肝内胆管癌和正常肝细胞具有共同的母细胞来源, 只是异常分化和正常分化的结果^[21]. 因此肝内胆管癌和正常肝细胞具有一定的可比性. 本研究以体外培养的肝内胆管癌细胞系ICC-9810和正常肝细胞系L02为实验材料, 采用SELDI蛋白质芯片技术比较肝内胆管癌细胞系ICC-9810和正常肝细胞系L02的蛋白表达, 发现有27个蛋白质在肝内胆管癌细胞系ICC-9810中出现明显的变化, 9个蛋白在肝内胆管癌细胞系ICC-9810中高表达, 18个蛋白低表达. 特别是WCX2和IMAC3芯片共同捕获的3767、26 794、7999、10 555、12 163和22 066

Da 6个蛋白, 进一步减少了单一芯片检查的误差, 增加了芯片检查的可信度, 获得的肿瘤细胞与正常细胞蛋白差异的生物学信息更准确. 我们已经开始对这些差异蛋白进行凝胶电泳分离、氨基酸测序和鉴定, 以确定差异蛋白的性质, 这些差异蛋白即是肝内胆管癌标志物的候选蛋白. 研究这些差异蛋白, 可以进一步了解正常肝细胞和肝脏肿瘤细胞的生物学特性, 就有可能筛选出肝内胆管癌的标志蛋白, 从而揭示肝内胆管癌发生发展的分子机制.

肝内胆管癌细胞系与肝细胞系之间的蛋白差异, 并不能全面反映肝内胆管癌和肝细胞之间的蛋白差异. 我们正在进行从肝癌患者血清或组织标本中筛选和鉴定肝癌的标志蛋白的研究.

4 参考文献

- 1 Shaib Y, El-Serag HB. The epidemiology of cholangiocarcinoma. *Semin Liver Dis* 2004; 24: 115-125
- 2 Singh P, Patel T. Advances in the diagnosis, evaluation and management of cholangiocarcinoma. *Curr Opin Gastroenterol* 2006; 22: 294-299
- 3 Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Global cancer statistics, 2002. *CA Cancer J Clin* 2005; 55: 74-108
- 4 祝学光. 胆管癌发病机理研究进展. *中华实验外科杂志* 2002; 19: 391-392
- 5 Welzel TM, Mellema L, Gloria G, Sakoda LC, Hsing AW, El Ghormli L, Olsen JH, McGlynn KA. Risk factors for intrahepatic cholangiocarcinoma in a low-risk population: a nationwide case-control study. *Int J Cancer* 2007; 120: 638-641
- 6 Shaib YH, El-Serag HB, Nooka AK, Thomas M,

创新盘点
本文采用SELDI蛋白质芯片技术比较肝内胆管癌细胞系ICC-9810和正常肝细胞系L02的蛋白表达, 特别是WCX2和IMAC3两个芯片共同捕获的3767、26 794、7999、10 555、12 163和22 066 Da 6个蛋白, 进一步减少了单一芯片检查的误差, 增加了芯片检查的可信度, 获得的肿瘤细胞与正常细胞蛋白差异的生物学信息更准确.

应用要点
研究差异蛋白可以进一步了解正常肝细胞和肝脏肿瘤细胞的生物学特性, 筛选出肝内胆管癌的可能标志蛋白, 从而揭示肝内胆管癌发生发展的分子机制.

同行评价
本文行文简洁,但
研究内容稍嫌简
单,若能对其蛋白
鉴定作更深入研
究,将对读者更有
裨益。

- Brown TD, Patt YZ, Hassan MM. Risk factors for intrahepatic and extrahepatic cholangiocarcinoma: a hospital-based case-control study. *Am J Gastroenterol* 2007; 102: 1016-1021
- 7 Donato F, Gelatti U, Tagger A, Favret M, Ribero ML, Callea F, Martelli C, Savio A, Trevisi P, Nardi G. Intrahepatic cholangiocarcinoma and hepatitis C and B virus infection, alcohol intake, and hepatolithiasis: a case-control study in Italy. *Cancer Causes Control* 2001; 12: 959-964
- 8 Nakanuma Y, Harada K, Ishikawa A, Zen Y, Sasaki M. Anatomic and molecular pathology of intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2003; 10: 265-281
- 9 Shimonishi T, Sasaki M, Nakanuma Y. Precancerous lesions of intrahepatic cholangiocarcinoma. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2000; 7: 542-550
- 10 周俭, 吴志全, 樊嘉, 马曾辰, 任正刚, 邱双健, 汤钊猷. 胆管细胞癌临床特点及其与肝细胞癌的比较. *中华普通外科杂志* 2000; 15: 330-332
- 11 Adam BL, Qu Y, Davis JW, Ward MD, Clements MA, Cazares LH, Semmes OJ, Schellhammer PF, Yasui Y, Feng Z, Wright GL Jr. Serum protein fingerprinting coupled with a pattern-matching algorithm distinguishes prostate cancer from benign prostate hyperplasia and healthy men. *Cancer Res* 2002; 62: 3609-3614
- 12 Petricoin EF, Ardekani AM, Hitt BA, Levine PJ, Fusaro VA, Steinberg SM, Mills GB, Simone C, Fishman DA, Kohn EC, Liotta LA. Use of proteomic patterns in serum to identify ovarian cancer. *Lancet* 2002; 359: 572-577
- 13 曹志成. 蛋白质芯片SELDI-TOFMS技术的研究进展及其在临床中的应用. *生物工程学报* 2006; 22: 871-876
- 14 肖雪媛, 卫秀平, 何大澄. 应用蛋白质芯片技术从血清中筛选肺癌标志. *中国科学(C辑)* 2003; 33: 1-6
- 15 Yu LR, Zeng R, Shao XX, Wang N, Xu YH, Xia QC. Identification of differentially expressed proteins between human hepatoma and normal liver cell lines by two-dimensional electrophoresis and liquid chromatography-ion trap mass spectrometry. *Electrophoresis* 2000; 21: 3058-3068
- 16 Seow TK, Liang RC, Leow CK, Chung MC. Hepatocellular carcinoma: from bedside to proteomics. *Proteomics* 2001; 1: 1249-1263
- 17 Feng Y, Tian ZM, Wan MX, Zheng ZB. Protein profile of human hepatocarcinoma cell line SMMC-7721: identification and functional analysis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2608-2614
- 18 Wang KJ, Wang RT, Zhang JZ. Identification of tumor markers using two-dimensional electrophoresis in gastric carcinoma. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 2179-2183
- 19 Srisomsap C, Sawangareetrakul P, Subhasitanont P, Panichakul T, Keeratichamroen S, Lirdprapamongkol K, Chokchaichamnankit D, Sirisinha S, Svasti J. Proteomic analysis of cholangiocarcinoma cell line. *Proteomics* 2004; 4: 1135-1144
- 20 周福平, 胡和平, 艾建华, 陆豪杰, 王红阳, 吴孟超. 运用激光捕获显微切割对肝细胞癌与肝内胆管癌蛋白质组的分析. *第二军医大学学报* 2005; 26: 1111-1114
- 21 潘兴华, 陈系古, 庞荣清, 靳杭红. 肝干细胞与肝再生、肝癌的关系. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 1925-1927

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志关于作者署名的声明

本刊讯 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. 第一方面是直接参与, 包括: (1)酝酿和设计实验, (2)采集数据, (3)分析/解释数据. 第二方面是文章撰写, 包括: (1)起草文章, (2)对文章的知识性内容作批评性审阅. 第三方面是工作支持, 包括: (1)统计分析, (2)获取研究经费, (3)行政、技术或材料支持, (4)指导, (5)支持性贡献. 每个人必须在第一至第三方面至少具备一条, 才能成为文章的署名作者. 世界华人消化杂志不设置共同第一作者和共同通信作者.

联合应用供体未成熟树突状细胞与CD40L mAb体诱导大鼠小肠移植免疫耐受

王海权, 陈涛, 徐皓, 肇毅, 吴文溪

王海权, 上海市交通大学附属第一人民医院外科 上海市 200080

陈涛, 徐皓, 肇毅, 吴文溪, 南京医科大学第一附属医院胃肠外科 江苏省南京市 210029

作者贡献分布: 此课题由王海权, 徐皓, 吴文溪设计; 研究过程由王海权, 陈涛, 徐皓, 肇毅操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由徐皓提供; 数据分析由王海权完成; 本论文写作由王海权及吴文溪完成。

通讯作者: 吴文溪, 210029, 江苏省南京市广州路300号, 南京医科大学第一附属医院胃肠外科. wuwenxi99@163.com

电话: 025-83718836-6863

收稿日期: 2007-11-26 修回日期: 2008-01-31

Combination of immature dendritic cells and anti-CD40L monoclonal antibody induce immune tolerance of intestinal allograft in rats

Hai-Quan Wang, Tao Chen, Hao Xu, Yi Zhao, Wen-Xi Wu

Hai-Quan Wang, Department of General Surgery, the First Affiliated People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200080, Shanghai, China

Tao Chen, Hao Xu, Yi Zhao, Wen-Xi Wu, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Dr. Wen-Xi Wu, Department of Gastrointestinal Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. wuwenxi99@163.com

Received: 2007-11-26 Revised: 2008-01-31

Abstract

AIM: To investigate the combined effects of CD40L monoclonal antibody (mAb) with immature dendritic cells on donor-specific immune tolerance in rats undergoing small intestinal transplantation.

METHODS: DDCs were collected from bone marrow progenitor cells of Wistar rats cultured with granulocyte macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) and interleukin-4 (IL-4) in vitro. Seven days before transplantation of small intestinal from Wistar donors, normal saline (group A, $n = 15$), immature dendritic cells (group B, $n = 15$), and immature dendritic cell

anti-CD40L monoclonal antibody (group C, $n = 15$) were infused intravenously into SD recipient rats ($n = 15$), respectively. Small bowel transplantation was performed and the survival time of recipients was observed ($n = 6$). Histopathological examination was evaluated, and serum IL-2, IL-10 and interferon- γ (INF- γ) levels were assayed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) ($n = 5$)

RESULTS: The survival time of recipients in group C was significantly longer than that in group A and group B (22.67 ± 7.09 d vs 7.17 ± 1.47 , 11.00 ± 2.61 d, $P < 0.01$). The degree of the inflammatory infiltrated cells and intestinal mucosal structural destruction were significantly milder in group C. The concentration of serum IL-2 and INF- γ was much lower in group C compared with that in group A and group B (IL-2: 225.4 ± 48.7 ng/L vs 374.1 ± 13.2 , 353.6 ± 10.4 ng/L; INF- γ : 56.9 ± 2.6 ng/L vs 229.2 ± 20.6 , 125.4 ± 18.5 ng/L, $P < 0.05$). The concentration of serum IL-10 was obviously higher in group C compared with that in group A and group B (186.4 ± 10.6 ng/L vs 91.7 ± 5.4 , 162.2 ± 8.1 ng/L, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The pretreatment with immature donor dendritic cells plus anti-CD40L mAb can induce immune tolerance and prolong small bowel allograft survival after transplantation.

Key Words: Intestinal transplantation; Immature dendritic cell; CD40L monoclonal antibody; Enzyme-linked immunosorbent assay; Histopathological examination

Wang HQ, Chen T, Xu H, Zhao Y, Wu WX. Combination of immature dendritic cells and anti-CD40L monoclonal antibody induce immune tolerance of intestinal allograft in rats. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 763-766

摘要

目的: 研究供体骨髓来源的未成熟树突状细胞(imDC)联合CD40L mAb诱导大鼠小肠移植免疫耐受。

背景资料

小肠移植已经从一个实验性研究发展成肠衰竭患者的可行治疗方法之一。但是其仍面临着许多问题和挑战。诱导供者特异性免疫耐受被认为是最终克服移植后排斥的有效途径。

同行评议者
戴朝六, 教授, 中国医科大学第二临床学院(盛京医院)肝胆外科

研发前沿
未成熟树突状细胞(imDC)在诱导移植免疫耐受中具有重要作用,如何抑制其成熟成为目前研究的热点。

方法: 体外培养供体大鼠树突状细胞(DC), 实验动物分为3组, 受体于手术前分别预处理后进行小肠移植。A组($n = 15$): 注射生理盐水; B组($n = 15$): 注射供体来源的imDC; C组($n = 15$): 同时注射供体来源的imDC+CD40L mAb。观察受体存活时间($n = 6$), 移植小肠病理学检查, 用ELISA法检测受体血清IL-2、INF- γ 和IL-10水平($n = 5$)。

结果: C组受体动物存活时间明显长于A、B两组, 统计学有显著差异(22.67 ± 7.09 d vs 7.17 ± 1.47 d, 11.00 ± 2.61 d, $P < 0.01$), C组移植小肠炎性细胞浸润、黏膜结构破坏程度、血清IL-2、INF- γ 水平均明显低于A、B组, 有统计学差异(IL-2: 225.4 ± 48.7 ng/L vs 374.1 ± 13.2 ng/L, 353.6 ± 10.4 ng/L; INF- γ : 56.9 ± 2.6 ng/L vs 229.2 ± 20.6 , 125.4 ± 18.5 ng/L, $P < 0.05$), 血清IL-10水平C组明显高于A、B组, 有统计学意义(186.4 ± 10.6 ng/L vs 91.7 ± 5.4 , 162.2 ± 8.1 ng/L, $P < 0.05$)。

结论: 联合应用CD40L mAb和imDC可抑制小肠移植后的排斥反应, 诱导受体产生免疫耐受。

关键词: 小肠移植; 未成熟树突状细胞; CD40L单克隆抗体; 酶联免疫吸附实验; 病理学检查

王海权, 陈涛, 徐皓, 肇毅, 吴文溪. 联合应用供体未成熟树突状细胞与CD40L mAb诱导大鼠小肠移植免疫耐受. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 763-766
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/763.asp>

0 引言

树突状细胞(DC)是分布广泛的抗原呈递细胞, 具有极强的抗原呈递能力, 不仅能激活静息型T细胞启动免疫排斥反应, 而且由于未成熟树突状细胞(imDC)几乎不表达MHC抗原, 协同刺激分子CD80和CD86极低, 可诱导T细胞的无能或凋亡。共刺激通路在T细胞激活和同种免疫反应中的作用非常重要。CD40/CD40L是其中两大经典途径之一, 在以往的器官移植实验中他已成为研究免疫抑制的主要靶点^[1-2]。本研究采用CD40L单抗阻断共刺激途径之一的CD40/CD40L通路, 以期增强imDC在诱导大鼠小肠移植免疫耐受中的作用, 并探讨移植后Th1、Th2细胞因子IL-2、IL-10和INF- γ 在其中的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 ♂ Wistar大鼠和SD大鼠, 体质量 200 ± 50 g, 清洁级, 购自中国科学院上海实验动物中

心。细胞培养基RPMI1640购自美国Gibco公司; 胎牛血清购自澳大利亚Hyclone公司; CD40L mAb、细胞因子rmGM-CSF、rmIL-4和IL-10 ELISA检测试剂盒购自美国R&D公司; 大鼠IL-2、INF- γ ELISA检测试剂盒购自上海晶美生物技术有限公司。

1.2 方法

1.2.1 大鼠骨髓来源DC的培养: 参照Son *et al*^[3]的方法, 稍作改动。颈椎脱臼处死Wistar大鼠无菌手术取出股骨和胫骨, 冲洗出骨髓细胞, 以Tris-NH₄Cl去红细胞, 不完全1640培养基洗涤2次, 溶于完全1640培养基置于无菌培养皿中, 在37℃孵箱中培养3 h, 收集非黏附细胞, 以 6×10^5 个细胞/孔加入24孔板培养, 用含rmGM-CSF和rmIL-4质量浓度各10 μ g/L的DC培养液继续培养, 隔天换液。培养d 6为imDC, 流式细胞术进行细胞表型分析。

1.2.2 大鼠异位节段性小肠移植模型的建立及分组: 参照Inoue *et al*^[4]的方法, 将Wistar大鼠的小肠(长度为15 cm)移植给SD大鼠, 术后受体置于26-28℃环境中, 苏醒后即可进食固体颗粒饲料和水。随机分为3组($n = 15$)。A组: 阴性对照组, 受体小肠移植术前7 d注射生理盐水; B组: 小肠移植前7 d, 受体经阴茎背iv供体的imDC, 细胞数为 2×10^6 个/只; C组: 小肠移植前7d, 受体经阴茎背静脉注射供体的imDC, 细胞数为 2×10^6 个/只。同时ip CD40L mAb 200 μ g/只。

1.2.3 组织学分析: 于移植术后3、5、7和14 d, 4 g/L戊巴比妥钠(40 mg/kg)腹腔麻醉后取大鼠移植肠作常规HE染色组织学检查。病理学检查参照Wilson *et al*^[7]排斥反应分级对小肠移植排斥反应损伤的进行分级, 将排斥损伤分为轻、中、重度。

1.2.4 受体大鼠血清细胞因子检测: 移植术后第7天, 取受体外周血离心后, ELISA法检测血清中IL-2、IL-10和INF- γ 水平, 按试剂盒说明书操作。

统计学处理 数据以mean \pm SD表示, 统计学分析采用方差分析检验各组细胞因子的水平差异。采用SNK检验进一步分析组间差异。生存曲线采用Log-rank检验。P < 0.05认为差异具有显著性。

2 结果

2.1 术后存活时间分析 B组平均存活时间分别为 11.00 ± 2.61 d, 而A组术后生存率较低, 平均存活时间分别仅为 7.17 ± 1.47 d; C组平均存活时间为 22.67 ± 7.09 d, 显著延长受体大鼠小肠移植术后存活时间。C组平均存活时间显著高于A、B两

组($P<0.01$, 图1).

2.2 移植肠病理学检查 术后d 3开始, A、B和C组黏膜固有层、黏膜下层和肌层均有炎性细胞浸润, 浸润细胞主要为单核细胞和淋巴细胞. A、B组较C组浸润细胞明显增多, 可见小血管壁炎性细胞浸润, 管腔内血栓形成, 黏膜变薄, 绒毛及腺体隐窝变浅, 黏膜结构破坏, 随移植物的时间的延长变化逐渐加剧. 术后7 d绒毛结构明显消失, 黏膜部分脱落, 术后14 d黏膜几乎全部脱落, 留下肌层变薄, 有局灶性溶解和纤维素样坏死. C组术后3-14 d仅有黏膜层肿胀, 绒毛腺体结构和肌层破坏不明显.

2.3 受体大鼠血清细胞因子检测 C组受体大鼠血清IL-2质量浓度为显著低于A、B两组(225.4 ± 48.7 ng/L vs 374.1 ± 13.2 ng/L, 353.6 ± 10.4 ng/L, $P<0.05$); C组受体大鼠血清INF- γ 质量浓度为显著低于A、B两组(56.9 ± 2.6 ng/L vs 229.2 ± 20.6 ng/L, 125.4 ± 18.5 ng/L, $P<0.05$); 同时组C受体大鼠血清IL-2质量浓度为显著高于A、B两组(186.4 ± 10.6 ng/L vs 91.7 ± 5.4 ng/L, 162.2 ± 8.1 ng/L, $P<0.05$).

3 讨论

小肠移植已经从一个实验性研究发展成肠衰竭患者的可行治疗方法之一. 但是其仍面临着许多问题和挑战. 诱导供者特异性免疫耐受被认为可能是最终克服移植后排斥的有效途径^[5-6].

在同种异体器官移植的排斥反应中, 受体T细胞应答是机体对抗原产生免疫反应或耐受的关键环节. 器官移植后, 通过受体T细胞直接或间接自我识别途径, 被激活供体和受体来源的DC细胞在移植排斥过程中扮演着重要的角色. DC递呈抗原表现为免疫激活还是免疫耐受取决于DC的表型、功能和成熟状态. imDC表面缺乏或低表达共刺激分子、黏附分子及MHC-II类分子, 不能激活T细胞, 具有明显的耐受原性^[7].

研究显示CD40-CD40L旁路在移植排斥过程中也扮演重要的角色^[8-9]. CD40-CD40L这种作用可能由其作为T细胞的共刺激信号直接途径或通过诱导B细胞表面CD80和CD86分子表达的间接途径实现. Hancock *et al*^[10]报道, CD40信号通路在小鼠异位心脏移植模型中参与介导急性排斥反应, 应用MRI短暂阻断CD40通路能延长移植存活时间. 但是单独使用CD40L mAb不能有效影响T细胞因子和B7分子的表达.

移植免疫的核心环节是T细胞的活化, 这包

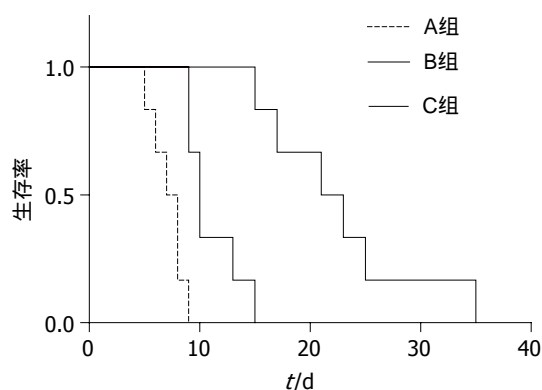


图1 各组大鼠小肠移植术后生存曲线图($n=6$).

括CD4⁺T细胞Th及CD8⁺的细胞毒性T细胞(Tc). Th产生大量的细胞因子, 如IL-2, IL-10和INF- γ 等, 促进其他效应细胞活化并发挥功能, 而Tc可直接杀伤靶细胞. 本实验检测了移植后d 7 IL-2, IL-10, INF- γ 变化. 结果发现移植后imDC+CD40L mAb组大鼠Th1细胞因子IL-2、INF- γ 明显降低, 而Th2细胞因子IL-10明显升高, 与imDC组及对照组比较差异有显著统计学意义($P<0.05$). Th1和Th2细胞均有Th0细胞分化而来. Th0细胞分泌的细胞因子有IL-2, IL-10, INF- γ 等. 在Th0细胞分化的初始阶段, 若加入Th2细胞因子如IL-10则抑制Th0向Th1分化; 若加入Th1细胞因子如IL-2、INF- γ 则抑制Th0向Th2分化. 在移植免疫应答中, 一般认为Th1细胞因子(主要是IL-2和INF- γ 等)参与介导排斥反应^[11-12], 而Th2细胞因子(主要是IL-4和IL-10等)^[13-14]可拮抗Th1细胞并抑制CTL细胞的功能, 从而诱导移植耐受. 机体在正常状态下Th1和Th2细胞功能处于动态平衡, 当机体受到异己抗原攻击时, Th1和Th2细胞中某一亚群功能增强, 另一亚群功能减弱, Lib Lau称该现象为“克隆转换”. 我们的研究结果显示在imDC+CD40L mAb组Th1细胞因子IL-2、INF- γ 明显降低, 而Th2细胞因子IL-10明显升高. 抑制了Th1细胞活化, 从而抑制排斥的发生. Th1细胞向Th2细胞的偏移在移植免疫耐受的形中发挥了重要的作用.

本研究通过联合应用imDC和CD40L mAb, 阻断imDC的CD40信号, 抑制imDC成熟, 以期增强imDC诱导小肠移植的免疫耐受. 研究结果发现: 联合使用imDC和CD40L mAb组与对照组和imDC组相比能够显著延长移植物的存活时间($P<0.01$). 病理学检查结果可明显减轻同种异体排斥反应的发生. 血清中IL-2和INF- γ 浓度显著降低. 同时血清中IL-10浓度明显升高. 其主要机

相关报道
近年有报道骨髓母细胞和CD40L单抗可以诱导同种异体移植物的生存时间, 提示CD40L单抗和来源于骨髓母细胞的imDC有可能在移植免疫耐受上有协同作用.

创新盘点
本实验从imDC与细胞因子IL-2、IL-10和INF- γ 关系方面, 探讨其在免疫耐受的机制.

应用要点
对DC进行不同方法的处理,使之表达免疫抑制性细胞因子或分子,其可降低移植受者术后所需的免疫抑制剂剂量,减少药物的毒副作用发生率,提高器官移植的效果。

同行评价
本文采用CD40L单抗阻断共刺激途径之一的CD40/CD40L通路,以期增强供体来源,未成熟DC在诱导大鼠小肠移植免疫耐受中的作用,并探讨移植后TH1, TH2等细胞因子的作用,具有一定的价值,实验设计合理。

制可能是阻断CD40信号,抑制imDC的成熟, Th1细胞因子减少,免疫应答的微环境遭到破坏. 阻断CD40信号,这一免疫应答的机制不能启动,从而减轻宿主T细胞对移植攻击. 但其具体机制还很复杂,需要进一步探讨。

4 参考文献

- 1 Wang Y, Dai H, Liu Z, Cheng X, Tellides G, Dai Z. Neutralizing IL-7 promotes long-term allograft survival induced by CD40/CD40L costimulatory blockade. *Am J Transplant* 2006; 6: 2851-2860
- 2 Kanaya K, Tsuchida Y, Inobe M, Murakami M, Hirose T, Kon S, Kawaguchi S, Wada T, Yamashita T, Ishii S, Uede T. Combined gene therapy with adenovirus vectors containing CTLA4Ig and CD40Ig prolongs survival of composite tissue allografts in rat model. *Transplantation* 2003; 75: 275-281
- 3 Son YI, Egawa S, Tatsumi T, Redlinger RE Jr, Kalinski P, Kanto T. A novel bulk-culture method for generating mature dendritic cells from mouse bone marrow cells. *J Immunol Methods* 2002; 262: 145-157
- 4 Inoue S, Tahara K, Sakuma Y, Hori T, Uchida H, Hakamada Y, Murakami T, Takahashi M, Kawarasaki H, Hashizume K, Kaneko M, Kobayashi E. Impact of graft length on surgical damage after intestinal transplantation in rats. *Transpl Immunol* 2003; 11: 207-214
- 5 Markees TG, Pearson T, Cuthbert A, Pearson AL, Shultz LD, Leif J, Phillips NE, Mordes JP, Greiner DL, Rossini AA. Evaluation of donor-specific transfusion sources: unique failure of bone marrow cells to induce prolonged skin allograft survival with anti-CD154 monoclonal antibody.

Transplantation 2004; 78: 1601-1608

- 6 Xu H, Chen T, Wang HQ, Ji MJ, Zhu X, Wu WX. Prolongation of rat intestinal allograft survival by administration of donor interleukin-12 p35-silenced bone marrow-derived dendritic cells. *Transplant Proc* 2006; 38: 1561-1563
- 7 Wilson NS, Villadangos JA. Lymphoid organ dendritic cells: beyond the Langerhans cells paradigm. *Immunol Cell Biol* 2004; 82: 91-98
- 8 Li JM, Gorechlad J, Larsen CP, Waller EK. Apoptotic donor leukocytes limit mixed-chimerism induced by CD40-CD154 blockade in allogeneic bone marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant* 2006; 12: 1239-1249
- 9 Perco P, Blaha P, Kainz A, Mayer B, Hauser P, Wekerle T, Oberbauer R. Molecular signature of mice T lymphocytes following tolerance induction by allogeneic BMT and CD40-CD40L costimulation blockade. *Transpl Int* 2006; 19: 146-157
- 10 Hancock WW, Sayegh MH, Zheng XG, Peach R, Linsley PS, Turka LA. Costimulatory function and expression of CD40 ligand, CD80, and CD86 in vascularized murine cardiac allograft rejection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996; 93: 13967-13972
- 11 Horwitz DA, Zheng SG, Gray JD. The role of the combination of IL-2 and TGF-beta or IL-10 in the generation and function of CD4+ CD25+ and CD8+ regulatory T cell subsets. *J Leukoc Biol* 2003; 74: 471-478
- 12 Levay-Young B, Shearer JD, Gruessner AC, Kim SC, Nahkleh RE, Gruessner RW. Intestinal graft versus native liver cytokine expression in a rat model of intestinal transplantation: effect of donor-specific cell augmentation. *Transplant Proc* 2004; 36: 399-400
- 13 Wilczynski JR, Radwan M, Kalinka J. The characterization and role of regulatory T cells in immune reactions. *Front Biosci* 2008; 13: 2266-2274
- 14 Marinic I, Gagro A, Rabatic S. Regulatory T cells. *Acta Med Croatica* 2006; 60: 447-456

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

RNAi沉默PRL-3基因对大肠癌细胞侵袭的抑制

钱立平, 范钰, 陈坚, 林庚金

钱立平, 陈坚, 林庚金, 复旦大学附属华山医院消化科 上海市 200040
范钰, 江苏大学附属人民医院肿瘤研究所, 化疗科 江苏省镇江市 212002
镇江市科技计划基金资助项目, No. SH2006019
作者贡献分布: 钱立平与范钰对此文所作贡献均等; 此课题由范钰设计; 研究过程由钱立平, 陈坚操作完成; 研究所用试剂及分析工具均由范钰, 钱立平提供; 数据分析由陈坚, 林庚金完成; 本论文写作由钱立平, 范钰完成。
通讯作者: 范钰, 212002, 江苏省镇江市电力路8号, 江苏大学附属人民医院肿瘤研究所, 化疗科. yufanzh99@sina.com
电话: 0511-85797359
收稿日期: 2007-10-07 修回日期: 2008-01-30

Silence of PRL-3 gene by RNA interference in inhibiting the invasion of human colon cancer cells

Li-Ping Qian, Yu Fan, Jian Chen, Geng-Jin Lin

Li-Ping Qian, Jian Chen, Geng-Jin Lin, Department of Gastroenterology, Huashan Hospital Affiliated to Fudan University, Shanghai 200040, China
Yu Fan, Department of Chemotherapy, Cancer Institute, People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, Zhenjiang 212002, Jiangsu Province, China
Supported by: the Science and Technology Program of Zhenjiang City, No. SH2006019
Correspondence to: Yu Fan, Department of Chemotherapy, Cancer Institute, People's Hospital Affiliated to Jiangsu University, 8 Dianli Road, Zhenjiang 212002, Jiangsu Province, China. yufanzh99@sina.com
Received: 2007-10-07 Revised: 2008-01-30

Abstract

AIM: To investigate the effects of RNA interference-induced gene silence of proteins in regenerating liver cell-3 (PRL-3) on the invasion of human colon cancer cells.

METHODS: Colon cancer cell line HCT116 was transfected by PRL-3 small interfering RNA (siRNA), and the mRNA of PRL-3 was determined by fluorescence quantitative real-time polymerase chain reaction (FRQ-PCR) assay. The anchorage-independent growth was examined using colony formation in soft agar, and invasion ability was evaluated by Boyden chamber model.

RESULTS: Compared with that in control

groups, the level mRNA of PRL-3 in cancer cells transfected with PRL-3 siRNA was inhibited in a concentration- and time-dependent manner ($P < 0.05$). *In vitro* experiment showed that transfection of colon cancer cells with PRL-3 siRNA resulted significantly in reduction of both colony formation and cell invasion in a concentration- and time-dependent manner, respectively ($P < 0.05$, $P < 0.05$). *In vivo* experiment showed that there were lots of cancer cells invading into blood vessel and striped muscle around carcinoma tissue in two control groups, but such phenomenon did not occur in siRNA-transfected groups.

CONCLUSION: PRL-3 may play an important role in the invasion of human colon cancer cells, and RNAi-induced PRL-3 down-regulation can inhibit cell invasion ability.

Key Words: Colon carcinoma; Proteins in regenerating liver cell-3; Invasion; RNA interference; Small interfering RNA; Fluorescence quantitative real-time polymerase chain reaction

Qian LP, Fan Y, Chen J, Lin GJ. Silence of PRL-3 gene by RNA interference in inhibiting the invasion of human colon cancer cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 767-770

摘要

目的: 探讨RNA干扰(RNA interference, RNAi)沉默促肝细胞再生磷酸酶3(proteins in regenerating liver cell-3, PRL-3)基因对大肠癌细胞侵袭的影响。

方法: 应用PRL-3基因小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)转染处理大肠癌细胞系HCT116后, 采用荧光实时定量PCR方法检测PRL-3基因mRNA水平, 分别采用软琼脂集落培养实验和Boyden小室模型实验检测癌细胞的锚着不依赖性增殖和侵袭能力。其次将转染48 h的细胞接种裸鼠, 观察对癌细胞体内侵袭的影响。

结果: 与两对照组比较, siRNA组PRL-3 mRNA水平明显降低, 且呈浓度和时间依赖性($P < 0.05$)。体外实验发现: 与对照组比较,

背景资料

促肝细胞再生磷酸酶(PRLs)是新发现的一种蛋白酪氨酸磷酸酶(PTP), 可通过酪氨酸的去磷酸化和磷酸化调节细胞的生长、分化、细胞周期、细胞间信息传递和其他活动。PRLs基因家族主要有3个成员, PRL-1, PRL-2和PRL-3, 彼此之间的同源性高达76%-85%。

同行评议者
曹志成, 院士, 香港伊利沙伯医院临床肿瘤部, 肿瘤科研部

研发前沿
恶性肿瘤的综合治疗十分重要。在大肠癌的综合治疗中,基因治疗引起了重视,但以PRL-3基因为靶点,以RNAi技术为工具,诊疗大肠癌的研究甚少。

PRL-3 siRNA转染组软琼脂集落形成数和穿过滤膜的癌细胞均呈剂量依赖性减少($P<0.05$, $P<0.05$)。体内实验发现:空白对照组和空载对照组有较多癌细胞侵袭癌肿组织周围的横纹肌,并侵犯血管,而siRNA转染组未见这些现象。

结论: PRL-3在大肠癌细胞侵袭中起着重要的作用,采用PRL-3 siRNA转染可抑制大肠癌细胞侵袭。

关键词: 大肠肿瘤; 促肝细胞再生磷酸酶3; 侵袭; RNA干扰; 小干扰RNA; 荧光实时定量聚合酶链式反应

钱立平, 范钰, 陈坚, 林庚金. RNAi沉默PRL-3基因对大肠癌细胞侵袭的抑制. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 767-770
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/767.asp>

0 引言

促肝细胞再生磷酸酶(proteins in regenerating liver cell, PRLs)是新发现的一种蛋白酪氨酸磷酸酶(protein tyrosine phosphatase, PTP), 可通过酪氨酸的去磷酸化和磷酸化调节细胞的生长、分化、细胞周期、细胞间信息传递和其他活动^[1]。PRLs基因家族主要有3个成员, PRL-1, PRL-2和PRL-3, 彼此之间的同源性高达76%-85%^[2]。许多实验研究发现, PRLs分子具有细胞转化的功能, 能导致细胞的恶性转化并且增强肿瘤细胞的增殖、移动、浸润和转移^[3-6]。尤其是PRL-3基因表达在转移性结直肠癌组织中显示出高度的特异性^[7-8], 但目前对该基因在大肠癌细胞侵袭中的研究很少。本研究借助于RNA干扰(RNA interference, RNAi)技术, 以合成的PRL-3基因小干扰RNA(small interfering RNA, siRNA)转染处理大肠癌细胞HCT116, 从体内外观察其对癌细胞侵袭的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 ♀ Balb/c裸鼠15只, 4周龄, 体质量约14-18 g, 购自中国科学院上海生物化学研究所, 于无特殊病原体条件(SPF)下饲养。人大肠癌细胞HCT116本科实验室冻存, PRL-3 siRNA序列(5'-GUGACCUAUGACAAAACGCTT-3'和5'-GCGUUUUGUCAUAGGUCACCTT-3')由Dharmacon公司合成, PRL-3抗体购自Santa Cruz公司, TRIzol, RNase inhibitor, 逆转录酶SSRT II, Taq酶和转染试剂Oligofectamine购自Invitrogen公司。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养及转染处理: 大肠癌HCT116细

胞在含100 mL/L胎牛血清的RBMI 1640培养液, 37℃、50 mL/L CO₂、饱和湿度环境的条件下连续培养。转染前1 d, 将 1.0×10^5 对数期生长的细胞接种于24孔培养板, 1 mL/well, 培养过夜。次日进行转染。基本操作说明书进行。细胞分为(1)空白对照组(Con-A): 未经任何处理的大肠癌细胞, (2)空载对照组(Con-B): 即脂质体对照组, (3)siRNA组: 100 mL/L胎牛血清的RBMI 1640中含不同浓度(3.125、6.25、12.5 nmol/L)的已用脂质体包埋的siRNA。转染后于不同时间采用胰酶消化收取细胞, 进行以下实验。

1.2.2 大肠癌细胞PRL-3基因mRNA水平检测: 采用荧光实时定量PCR检测。应用TRIzol抽提细胞总RNA, 取总RNA 1 μg, 以Oligo dT为引物逆转录合成cDNA第一链, 以此cDNA链2 μL为模板进行PCR扩增, 荧光实时定量PCR检测步骤参照文献[9]进行。PRL-3引物序列为: 上游: 5'-GGGACTTCTCAGGTCGTGTC-3'; 下游: 5'-AGCCCCGTACTTCTTCAGGT-3'。FAM探针: 5'-CCGCTTCTCGTCGATGTAGGTCACG-3'-TAMRA。以GAPDH为内参。PCR反应条件为: 95℃, 预变性3 min, 95℃ 30 s; 52℃ 45 s; 72℃ 45 s; 35个循环后72℃再延伸7 min。

1.2.3 软琼脂集落形成: 参照文献方法[10], 进行软琼脂集落培养实验, 观测PRL-3 siRNA对大肠癌细胞锚着不依赖性增殖的影响。

1.2.4 体外侵袭: 收集转染48 h的细胞, 采用Boyden小室模型^[11]检测癌细胞侵袭情况。Boyden小室上室细胞穿过膜上matrigel到膜的下室面, 其数量反映了细胞侵袭能力的大小。400倍光镜下计数穿过聚碳酸酯膜的细胞数, 以侵袭细胞的相对数目表示肿瘤细胞侵袭能力。随机计数5个视野内的细胞数, 取平均值进行统计处理, 每组计数3份样本。

1.2.5 大肠癌细胞裸鼠体内侵袭: 收集各组细胞, 无血清的DMEM洗涤2次后, 准确计数并调整细胞浓度为 3×10^9 /L, 将各组细胞接种到裸鼠的皮下, 0.2 mL/只。28 d后, 断颈处死裸鼠, 解剖裸鼠, 用40 g/L甲醛固定收集的组织, 制片, HE染色, 观察肿瘤细胞在体内有无转移和局部浸润的情况。

统计学处理 数据资料以mean±SD表示。以SPSS10.0统计学软件进行处理。以 $P<0.05$ 为有统计学意义, 以 $P<0.01$ 为差异性显著。

2 结果

2.1 siRNA转染对大肠癌细胞PRL-3基因的影响

相关报道
文献报道, PRL-3基因与结直肠癌转移性组织呈高表达, 提示与大肠癌转移有关, 不过该基因在大肠癌细胞体外研究资料很少。

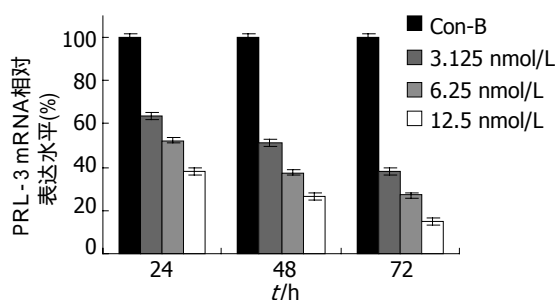


图1 PRL-3 siRNA转染对大肠癌HCT116细胞PRL-3 mRNA水平的影响。

与对照组细胞比较, siRNA组PRL-3 mRNA水平明显降低, 且呈浓度和时间依赖性($P<0.05$, 图1)。

2.2 软琼脂集落形成实验 大肠癌HCT116细胞在体外半固体培养体系中可以自发地形成集落。而经PRL-3 siRNA转染的细胞集落生长呈剂量依赖性减少($P<0.05$, 图2)。

2.3 PRL-3 siRNA对肠癌细胞侵袭的影响 本研究采用Boyden小室模型方法采用PRL-3 siRNA转染对大肠癌细胞侵袭能力的影响, 结果发现: 与对照组比较, siRNA组穿过滤膜的癌细胞数明显下降, 且与浓度相关($P<0.05$, 图3)。

2.4 裸鼠病理组织学 Con-A组和Con-B组癌细胞有较多部位侵犯癌组织周围的横纹肌, 并存在癌细胞侵入血管的现象, 而siRNA转染组未见这些现象。说明转染组癌细胞体内侵袭能力明显受到抑制。

3 讨论

PRL-3是一种具有促进细胞生长、浸润和迁移的PTP酶。有报道证实PRL-3在肝癌^[11]、卵巢癌^[12]、肠癌^[13-14]和胃癌^[15]中高表达, 且转染了PRL-3基因的细胞运动、侵袭和转移能力明显增强。最近有学者^[7]采用SAGE技术分析正常结肠黏膜上皮、良性肿瘤、原发性和转移性结肠直肠癌组织间的基因表达差异, 发现只有PRL-3基因的表达具有特异性: 在18例转移灶中出现高表达, 在非转移性原发灶和正常黏膜上皮中呈低表达。Bardelli *et al*^[8]在研究中发现了PRL-3基因表达的转移特异性和组织来源特异性: 在正常黏膜无高表达(0/8), 在转移性结肠直肠癌中高表达(27/29, 93.1%), 在非结肠直肠癌转移病灶中无高表达(0/10)。由此提示, PRL-3基因可能是反映大肠癌侵袭转移的重要标志之一。但既往研究多在大肠癌病理组织学方面, 对该基因在细胞水平方面研究得较少。为此, 本研究采用了先进的RNAi技术沉默该基因在大肠癌细胞中表达

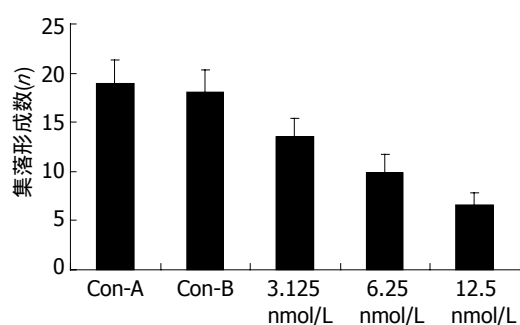


图2 PRL-3 siRNA转染对大肠癌细胞锚着不依赖性增殖的影响。

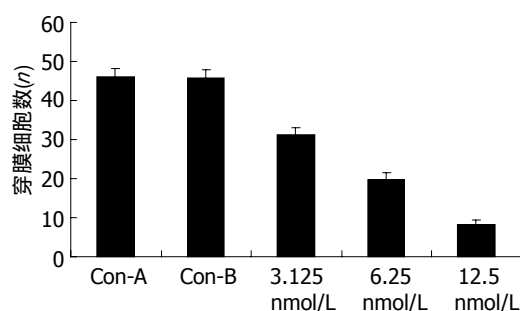


图3 PRL-3 siRNA转染对大肠癌HCT116细胞侵袭的影响。

水平, 探讨其在大肠癌细胞侵袭中的可能作用。

在基因研究领域, RNAi和siRNA已引起了广泛的注意。RNAi是近年来发现的一种调节mRNA的生物学现象, 能够使基因的mRNA被相应的双链RNA分子敲除, 其效果要远强于正义和反义RNA^[16]。RNAi最主要的功能在于可以调节和关闭基因的表达, 进而调控细胞的各种高级生命活动。而siRNA是指RNAi过程中在细胞内产生的长约21-25核苷酸(nt)的小双链RNA分子, 是RNAi作用机制的重要中间效应分子。而且已有人工合成的siRNA, 具有明显的敲除相应基因mRNA的效果^[17]。由于siRNA具有高效敲除基因表达的工具, 已被广大科学工作者用来研究基因功能和基因治疗的工具。

本研究根据PRL-3基因mRNA特点, 设计siRNA序列, 并用化学方法合成, 转染大肠癌HCT116细胞, 然后采用荧光实时定量PCR方法检测PRL-3 mRNA水平。结果发现, 转染组细胞mRNA水平明显下降, 提示PRL-3转染成功。说明该siRNA可作为研究PRL-3基因功能的有力工具。我们从体内外观察了PRL-3 siRNA转染对大肠癌细胞体内外侵袭的影响。

正常真核细胞, 除成熟血细胞外, 大多须黏附于特定的细胞外基质上才能抑制凋亡而存活, 称为锚着依赖性(anchorage dependence)。肿瘤

创新盘点
本研究以PRL-3基因为靶点, 以RNAi技术为工具, 探讨对大肠癌细胞体外侵袭的影响。

应用要点
PRL-3在大肠癌细胞中高表达, 以该基因为靶点, 可针对PRL-3高表达相应肿瘤进行基因治疗。

同行评价

本文就RNAi沉默PRL-3基因抑制大肠癌细胞侵袭进行研究,推测PRL-3在大肠癌细胞侵袭中起着重要的作用,对PRL-3基因及大肠癌细胞侵袭机制有一定的了解意义,但讨论不够深入,参考文献略嫌不足。

细胞可以锚着不依赖性生长。肿瘤细胞在软琼脂形成集落的多少与恶性程度呈正相关。癌细胞侵袭能力强,则在软琼脂上形成的集落数目多。软琼脂集落培养实验和Boyden小室模型实验发现,经PRL-3 siRNA转染处理的结肠癌细胞软琼脂集落数和穿膜细胞数明显减少,且呈浓度依赖性。裸鼠模型实验发现,对照组癌细胞有多处侵犯肿瘤周围组织,并存在癌细胞侵入血管的现象,而PRL-3转染组未出现这些现象。提示PRL-3下调可抑制大肠癌细胞的体内外侵袭能力。

本研究提示,PRL-3基因在大肠癌细胞侵袭中起着重要的作用,以siRNA转染下调可明显抑制大肠癌细胞的体内外侵袭能力,其内在机制尚需要进一步深入研究。

4 参考文献

- 1 Carter DA. Expression of a novel rat protein tyrosine phosphatase gene. *Biochim Biophys Acta* 1998; 1442: 405-408
- 2 Peng Y, Genin A, Spinner NB, Diamond RH, Taub R. The gene encoding human nuclear protein tyrosine phosphatase, PRL-1. Cloning, chromosomal localization, and identification of an intron enhancer. *J Biol Chem* 1998; 273: 17286-17295
- 3 Diamond RH, Cressman DE, Laz TM, Abrams CS, Taub R. PRL-1, a unique nuclear protein tyrosine phosphatase, affects cell growth. *Mol Cell Biol* 1994; 14: 3752-3762
- 4 Zeng Q, Dong JM, Guo K, Li J, Tan HX, Koh V, Pallen CJ, Manser E, Hong W. PRL-3 and PRL-1 promote cell migration, invasion, and metastasis. *Cancer Res* 2003; 63: 2716-2722
- 5 Matter WF, Estridge T, Zhang C, Belagaje R, Stancato L, Dixon J, Johnson B, Bloem L, Pickard T, Donaghue M, Acton S, Jeyaseelan R, Kadambi V, Vlahos CJ. Role of PRL-3, a human muscle-specific tyrosine phosphatase, in angiotensin-II signaling. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 283: 1061-1068
- 6 Werner SR, Lee PA, DeCamp MW, Crowell DN, Randall SK, Crowell PL. Enhanced cell cycle progression and down regulation of p21(Cip1/Waf1) by PRL tyrosine phosphatases. *Cancer Lett* 2003; 202: 201-211
- 7 Saha S, Bardelli A, Buckhaults P, Velculescu VE, Rago C, St Croix B, Romans KE, Choti MA, Lengauer C, Kinzler KW, Vogelstein B. A phosphatase associated with metastasis of colorectal cancer. *Science* 2001; 294: 1343-1346
- 8 Bardelli A, Saha S, Sager JA, Romans KE, Xin B, Markowitz SD, Lengauer C, Velculescu VE, Kinzler KW, Vogelstein B. PRL-3 expression in metastatic cancers. *Clin Cancer Res* 2003; 9: 5607-5615
- 9 范钰, 郑树, 丁佳逸. 脂质体介导的cripto反义寡核苷酸抑制结肠癌细胞端粒酶活性. *中国病理生理杂志* 2006; 22: 761-765
- 10 范钰, 郑树, 赵刚. 青蒿琥酯对乳腺癌MCF-7细胞抗失巢凋亡的影响. *中国病理生理杂志* 2006; 22: 571-575
- 11 Wu X, Zeng H, Zhang X, Zhao Y, Sha H, Ge X, Zhang M, Gao X, Xu Q. Phosphatase of regenerating liver-3 promotes motility and metastasis of mouse melanoma cells. *Am J Pathol* 2004; 164: 2039-2054
- 12 Polato F, Codegoni A, Fruscio R, Perego P, Mangioni C, Saha S, Bardelli A, Broggin M. PRL-3 phosphatase is implicated in ovarian cancer growth. *Clin Cancer Res* 2005; 11: 6835-6839
- 13 Peng L, Ning J, Meng L, Shou C. The association of the expression level of protein tyrosine phosphatase PRL-3 protein with liver metastasis and prognosis of patients with colorectal cancer. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004; 130: 521-526
- 14 Stephens BJ, Han H, Gokhale V, Von Hoff DD. PRL phosphatases as potential molecular targets in cancer. *Mol Cancer Ther* 2005; 4: 1653-1661
- 15 Miskad UA, Semba S, Kato H, Yokozaki H. Expression of PRL-3 phosphatase in human gastric carcinomas: close correlation with invasion and metastasis. *Pathobiology* 2004; 71: 176-184
- 16 Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC. Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 1998; 391: 806-811
- 17 Elbashir SM, Harborth J, Lendeckel W, Yalcin A, Weber K, Tuschl T. Duplexes of 21-nucleotide RNAs mediate RNA interference in cultured mammalian cells. *Nature* 2001; 411: 494-498

编辑 李军亮 电编 何基才

高低危生活方式食管癌患者放化疗临床疗效的比较

李刚, 朱川, 任必勇, 邓超, 张军, 张力, 李庆平, 刘学芬, 熊德明

李刚, 朱川, 任必勇, 邓超, 张军, 张力, 李庆平, 刘学芬, 熊德明, 重庆三峡中心医院肿瘤防治研究所 重庆市 404000
重庆市医学重点研究室建设资助项目, No. 2007-14
作者贡献分布: 此课题由李刚, 李庆平设计; 研究过程由李刚, 任必勇, 朱川, 邓超, 张军, 张力, 刘学芬及熊德明操作完成; 数据分析由李刚, 朱川完成; 本论文写作由李刚完成。
通讯作者: 李刚, 404000, 重庆市, 三峡中心医院肿瘤防治研究所. lg456456@hotmail.com
电话: 023-58103569
收稿日期: 2007-09-18 修回日期: 2008-02-25

Clinical effective analysis of chemo-radiotherapy for esophageal carcinoma patients with dietary and lifestyle informations of high and low risk

Gang Li, Chuan Zhu, Bi-Yong Ren, Chao Deng, Jun Zhang, Li Zhang, Qing-Ping Li, Xue-Fen Liu, De-Ming Xiong

Gang Li, Chuan Zhu, Bi-Yong Ren, Chao Deng, Jun Zhang, Li Zhang, Qing-Ping Li, Xue-Fen Liu, De-Ming Xiong, Institute for Cancer Prevention and Treatment, Chongqing Sanxia Central Hospital, Chongqing 404000, China

Supported by: the Key Medical Laboratory Construction Program of Chongqing Municipality, No. 2007-14

Correspondence to: Gang Li, Institute for Cancer Prevention and Treatment, Chongqing Sanxia Central Hospital, Chongqing 404000, China. lg456456@hotmail.com

Received: 2007-09-18 Revised: 2008-02-25

Abstract

AIM: To study the clinical effects of chemo-radiotherapy for esophageal carcinoma patients with dietary and lifestyle informations of high risk.

METHODS: In a nested case-control study, data for esophageal carcinoma potential determinants was analyzed from a survey that conducted on 496 patients in Wanzhou district of Chongqing municipality. The classification tree model was constructed using exhaustice chi-square automatic interactiong detection method. The clinical effects of chemo-radiotherapy for esophageal carcinoma patients were observed.

RESULTS: In the 7 out of 15 risks factors se-

lected, water pollution and fast eating were the most important factors. Furthermore, esophageal carcinoma was more frequent among smokers and fast eater in alcohol drinkers. There was more survival benefits for esophageal carcinoma patients with high risk dietary and lifestyle information (the median survival time, 21 month) relative to low risk information patients (14 month) followed by chemo-radiotherapy. Significant difference has been obtained between two groups ($t = 15.87, P < 0.01$).

CONCLUSION: It is possible that water pollution, and poor dietary and lifestyle informations such as hot-temperature food items and fast eating, smoking and alcohol drinking were the main risk factors for esophageal carcinoma of Wanzhou region. Chemo-radiotherapy improved more clinical benefits for esophageal carcinoma patients with diet habits and lifestyle informations of high risk.

Key Words: Esophageal neoplasms; Epidemiology; Risk factors; Diet habit; Chemotherapy; Radiotherapy; Chi-square automatic interactiong detection

Li G, Zhu C, Ren BY, Deng C, Zhang J, Zhang L, Li QP, Liu XF, Xiong DM. Clinical effective analysis of chemo-radiotherapy for esophageal carcinoma patients with dietary and lifestyle informations of high and low risk. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 771-775

摘要

目的: 研究高危与低危生活方式食管癌患者放化疗后的临床效果。

方法: 对重庆市万州地区食管癌患者496例采用卡方自动交互检测法建立分类树模型进行危险因素筛选。通过巢式病例对照研究分析高危与低危生活方式患者临床放化疗效果。

结果: 从分类树模型15个潜在危险因素中筛选出7个主要危险因素, 进食快和饮水污染是最重要的危险因素。在饮酒者中, 吸烟、进食过快者更容易出现食管癌。具有肿瘤生活方式高危险因素者放化疗中位生存时间(21 mo)高

背景资料
食管癌是严重威胁我国人民健康的疾病, 其发病因素复杂, 包括居民的生活习惯、饮水污染、微量元素缺乏以及遗传因素等。研究高低危生活方式食管癌患者的临床放化疗效果可能具有重要意义。

同行评议者
曹秀峰, 主任医师, 南京医科大学附属南京第一医院肿瘤中心

相关报道
80%以上的肿瘤发病与生活方式有关。食管癌患者临床放化疗疗效存在着个体差异,差异与遗传因素有关,也可能与个体发病生活方式有关。高低危生活方式食管癌患者放化疗可能存在一定的差异。

于低危险因素生活方式组患者中位生存时间(14 mo),差异具有显著性($t = 15.87, P < 0.01$)。

结论: 饮水污染和不良饮食习惯(进食过滚烫、吸烟与饮酒)可能是该地区食管癌的生活方式高危因素,放化疗可能使高危生活方式食管癌患者临床受益更多。

关键词: 食管肿瘤; 流行病学; 危险因素; 饮食习惯; 化疗; 放疗; 卡方自动交互检测

李刚, 朱川, 任必勇, 邓超, 张军, 张力, 李庆平, 刘学芬, 熊德明. 高低危生活方式食管癌患者放化疗临床疗效的比较. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 771-775
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/771.asp>

0 引言

三峡库区是食管癌发病率和死亡率较高的地区,特别在农村地区,食管癌严重威胁着人民的健康。食管癌发病因素复杂,包括居民的生活习惯、饮水污染、进食霉变食品^[1-5]和腌制酸菜、微量元素缺乏以及遗传因素等^[6-8]。目前在恶性肿瘤这类多因子疾病的病因学研究中,传统的统计方法筛选恶性肿瘤的危险因素有一定的局限性,而分类树模型具有相对优势^[9-10]。目前有关高危生活方式食管癌患者的临床放化疗研究国内外尚未见报道。我们采用SPSS14.0软件,利用卡方自动交互检测(chi-square automatic interactiong detection, CHAID)法建立分类树模型,从家族史、饮水状况以及吸烟饮酒史、饮食习惯等方面筛选危险因素,并分析患者临床放化疗效果。

1 材料和方法

1.1 材料 2003-06/2007-06重庆市万州地区居住经病理确认的食管癌病例496例,年龄31-80.5岁。行放化疗之前回顾性调查,内容包括家庭经济状况、生活方式及饮食习惯、饮水状况、既往病史、家族史和一般体格检查等。采用统一的调查表,以询问方式对调查对象进行调查。所有资料经核对校正后,输入计算机,进行分析。采用Exhaustive CHAID法建立分类树模型进行危险因素筛选,具有至少两项危险因素者列为高危生活方式组。

1.2 方法 高低危生活方式组均接受相同的临床放化疗,先采用常规照射,肿瘤剂量每3-5 wk 30-42 Gy/15-23次,每次2 Gy,每日1次,每周5次,然后给予后程加速超分割放射治疗,具体操作为每次1.5 Gy,每日2次,两次之间间隔至少6 h,

表 1 入组时食管癌患者一般情况($n = 248$, %)

	生活方式	
	高危	低危
性别		
男性	141(56.9)	132(53.2)
女性	107(43.1)	116(46.8)
年龄(岁)		
均数(SD)	57.9(10.7)	59.3(12.1)
中位数	58.0	59.0
范围	31.0-84.0	32.5-80.5
组织学分型		
鳞癌	218(87.9)	222(89.5)
腺癌	7(2.8)	8(3.2)
其他	23(9.3)	18(7.3)
入选状态		
较早期	91(36.8)	82(33.2)
中晚期	157(63.2)	166(66.8)
WHO体力状况		
0	36(14.5)	37(14.9)
1	157(63.3)	153(61.7)
2	54(21.8)	57(23.0)
3	1(0.4)	1(0.4)
食管癌手术后	93(37.5)	81(32.7)

每周10次,剂量30 Gy,总剂量60-70 Gy。放疗后每例患者接受药物化疗,化疗:DDP+5-FU DDP: 20 mg/m², 5-FU 500 mg/m², d1-d5, 静脉滴注。共4周期,化疗过程每周查血常规一次,每2 wk食管吞钡X线摄片,定期检查肝脏和肾脏功能。治疗结束3 mo后按WTO实体瘤疗效标准评价近期疗效。治疗开始至死亡时间计算生存率,失访者自失访之日按死亡计算。

统计学处理 采用巢式病例对照研究方法分析两组临床疗效。采用SPSS14.0软件Log-Rank test分析两组生存状况,以 $P < 0.05$ 为统计学有显著性差异。

2 结果

2.1 食管癌发病情况 具有组织学分型的其中以鳞癌最为多见。一级亲属患食管癌的相对危险性高危组为低危组的0.91倍,二级亲属为低危组的1.07倍。两组一级亲属的现患率差异经统计学检验 $\chi^2 = 2.64, P > 0.05$ 。食管癌高低危生活方式组在年龄($P = 0.91$)、性别($P = 0.23$)、入选时食管癌分期($P = 0.24$)等方面差异无统计学意义(表1),两组中均未发现有毒物质接触史。

2.2 食管癌危险因素分析 将文化程度、家庭人均年收入、饮酒、吸烟、食用辛辣食物、饮

表 2 饮食因素与食管癌关系的单因素分析

危险因素	β	OR	95% CI	P
饮地面水	0.43	0.88	0.50-1.55	0.000
进食快烫	2.55	12.9	2.26-72.81	0.004
吸烟	1.05	2.87	1.80-4.56	0.004
食用腌菜	0.61	2.01	1.31-3.14	0.007
饮酒	0.56	0.73	1.33-2.19	0.007
高盐饮食	0.55	1.47	1.12-3.23	0.026
冰箱使用率	0.66	0.54	0.71-1.92	0.020
20年前经济	-1.93	0.14	0.02-0.90	0.038
饮茶	0.72	0.39	0.28-0.63	0.331

表 3 食管癌不同治疗方式的逐年生存率(%)

	放疗组	化疗组	放射-化疗组
近期疗效			
高危组	85.6	72.7	95.1
低危组	78.5 ^a	68.3 ^a	88.4 ^a
1年生存率			
高危组	54.2	43.7	68.8
低危组	43.1 ^a	38.7 ^a	52.0 ^a
3年生存率			
高危组	24.5	23.6	32.1
低危组	17.6 ^a	10.6 ^a	22.1 ^a

^aP<0.05 vs 高危组。

水、进食快、烫习惯和家族肿瘤史等共15个变量做为危险因子纳入模型, 进行食管癌危险因素分类树分析。利用分类树模型所得预测概率绘制ROC曲线, 计算ROC曲线下面积, 筛选出进食快和饮水污染是最重要的危险因素。在饮酒者中, 吸烟、进食过快者更容易患食管癌。进食快烫、饮酒、吸烟、饮用水质、食用辛辣食物、食用腌菜、高盐饮食、经济生活水平、冰箱使用率、不按时进早餐、常吃剩饭菜与食管癌发生的危险性呈正相关。未发现饮茶与食管癌的关系(表2)。

2.3 趋势检验 按危险因素所占项数多少分为4级, 每个等级与第一个等级进行比较得OR值。危险因素与临床疗效呈一定的量效关系, 将单因素条件Logistic回归分析中差异有统计学意义($P<0.05$, 表2)的可能危险因素, 引入多因素条件Logistic回归模型进行分析(规定入选水平为0.3, 剔除水平为0.05), 结果显示, 调整混杂因素影响后, 两组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

2.4 随访结果分析 随访时间截止2007-06, 全部病例随访3年, 随访率97%, 具有明显肿瘤危险因

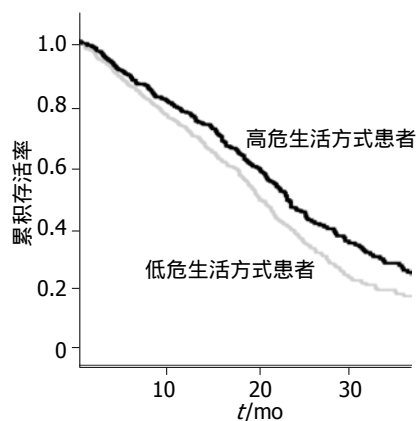


图 1 高危与低危生活方式食管癌患者生存状况分析。

素者中位生存时间21 mo, 低危险因素肿瘤患者中位生存时间为14 mo。高危生活方式组放化疗1年生存率为68.8%, 低危生活方式组放化疗1年生存率为52.0%, $\chi^2 = 12.51$, $P = 0.000$, 高危生活方式组放化疗2年生存率为45.7%, 低危生活方式组为35.1%, $\chi^2 = 6.15$, $P = 0.047$, 高危生活方式组放化疗3年生存率为32.1%, 低危生活方式组为22.1%, $\chi^2 = 6.23$, $P = 0.043$ 。不同治疗方式逐年生存率见表3。以Log-Rank检验进行曲线比较两组生存状况, 其P值为0.000, 表明食管肿瘤高危因素者与低食管肿瘤危险因素者生存率存在显著性差异(图1)。从食管影像学角度进行评估, 两组差异同样具有显著性, 与上述研究结果一致。

3 讨论

分类树分析是一种非参数回归模型, 较常规的回归分析更能揭示肿瘤的危险因素, 近年来在国内外开始大量应用, 分类树模型建立: 即先建立一棵完整的树, 然后用交叉印证的方法从末梢开始“剪枝”, 直到“剪枝”后的模型明显变差为止^[9-10]。在将数据集根据各个属性变量分类时, 可以提取一定的分类规则, 这些规则中包含的变量就可能是结果变量的影响因素, 即可能的危险因素。目标变量是按照统计检验所得的P值大小依次分解, 从分类树模型图中发现, 树型结构的第一层是按照调查对象的饮用水质分解, 所以对食管癌发病影响最大的因素是饮用水质。因此加强该地区食管癌的一级预防, 改善饮水, 变饮地表水为饮地下水, 对食管癌的预防具有重大意义。

分类树分析提示食管肿瘤还与饮食习惯密切相关, 危险因素有嗜烟酒、常吃腌制食品、口味喜辣椒、常吃剩饭菜, 这与先前的研究是

应用要点
饮水污染和不良饮食习惯(进食过快、吸烟与饮酒)可能是该地区食管癌的生活方式高危因素。放化疗可能使高危生活方式食管癌患者临床受益更多, 对临床治疗具有一定指导意义。

名词解释

分类树分析: 是一种非参数回归模型, 较常规的回归分析更能揭示肿瘤的危险因素, 近年来在国内外开始大量应用, 分类树模型建立: 即先建立一棵完整的树, 然后用交叉印证的方法从末梢开始“剪枝”, 直到“剪枝”后的模型明显变差为止。

一致的^[7-8,11-20]。这可能与个体膳食结构不合理导致胃肠功能紊乱有关。经常不规律地进食(OR值为6.573), 可能会导致胃黏膜的损伤, 增加致癌物致癌的风险。盐渍食品除高盐可破坏胃黏膜屏障^[16-20]。一般认为腌制及多盐食物易在体内形成N-亚硝基化合物, 而后者与肠化生有关, 为潜在的致癌因子。该地区冰箱的使用率不到10%, 霉变粮食或常吃剩饭菜, 可能与某些霉菌有致癌或促癌作用有关。研究还表明在饮酒者中, 吸烟、进食过快者更容易出现食管癌。吸烟对食管癌的发病也起到了促进作用, 可能与吸烟时烟雾内硫氰酸根离子增多, 促进了亚硝酰胺的合成所致^[3,18-19]。放化疗对肿瘤患者的生存时间有影响以高危生活方式肿瘤患者影响更明显, 放化疗组比单纯放疗或者化疗组生存时间长, 具有明显肿瘤危险因素者放化疗可以获得相对优越的中位生存时间($t = 15.87, P < 0.01$)。从食管影像学角度进行评估也得出一样的结论。曾经有多项研究报道社会阶层低与食管癌等有关^[11,8,16-17]。本研究中, 近20年经济水平低是食管癌的危险因素, 提示近20年的经济水平的差异可能是导致行为、生活习惯和心理因素等方面的差异, 进而影响肿瘤的发生。此次研究收集了一定区域食管癌的确证病例作为研究对象, 尽可能使研究对象具有代表性, 对于食管癌危险因素分析属于回顾性, 对于临床研究研究属于前瞻性, 同时因巢式病例对照研究方法的局限, 选择性偏倚对结果的影响可能存在。

食管癌目前尚无标准放化疗方案, 5-FU/DDP: 使用最广泛, 研究最多, 有效率20%-50%^[8]。研究结果显示, 两组1、2、3年生存率差异均有统计学意义, 高危生活方式组局部未控或复发率明显低于低危生活方式组, 5年生存率尚在进一步观察中。放化疗可能使高危生活方式食管癌患者临床受益更多。具体机制尚明白了, 推测可能原因: 食管癌是具有遗传背景的疾病, 有些地区食管癌表现出遗传易感性和家族聚集现象, 因此, 非高危生活方式肿瘤患者肿瘤发病更多涉及先天获得性遗传学改变, 高危生活方式肿瘤患者肿瘤发病更多涉及后天获得性遗传学改变^[12]。目前常规的放化疗方式可能很难纠正先天性的分子生物学异常, 因此放化疗对非高危生活方式所导致的肿瘤效果较差^[13]。此外, 万州地区是一个农业区, 随着经济的发展, 环境的污染加重, 农业中大量使用农药及化肥, 使饮水、土壤和农作物受到不同的影响, 加之其他化工

产品、原料对人的影响作用, 可能是导致食管癌的发病部位向食管的贲门部位移动, 并表现出与工业化国家类似的发病特征的部分原因^[2-4], 而这些饮用水质污染归为高危生活方式组, 此部分下段食管癌患者治疗方式是首选手术治疗, 可能也是我们观察到的高危生活方式组生存期长的原因。尽管食管癌的发生与遗传因素之间有着不可估量的联系, 相对与环境因素而言, 遗传因素的作用可能仍是第2位^[14-15], 促使食管癌发病的因素更多的考虑还是环境因素(其中包括生活饮食因素)所起的作用^[8,18-21]。因此, 高低危生活方式食管癌患者放化疗效果差异可能还有其他原因, 其机制尚需进一步研究。

致谢: 感谢四川大学公共卫生学院统计学教研室老师对本课题的指导。

4 参考文献

- 1 Li K, Yu P. Food groups and risk of esophageal cancer in Chaoshan region of China: a high-risk area of esophageal cancer. *Cancer Invest* 2003; 21: 237-240
- 2 Chang F, Syrjanen S, Shen Q, Cintonino M, Santopietro R, Tosi P, Syrjanen K. Evaluation of HPV, CMV, HSV and EBV in esophageal squamous cell carcinomas from a high-incidence area of China. *Anticancer Res* 2000; 20: 3935-3940
- 3 Lee CH, Lee JM, Wu DC, Hsu HK, Kao EL, Huang HL, Wang TN, Huang MC, Wu MT. Independent and combined effects of alcohol intake, tobacco smoking and betel quid chewing on the risk of esophageal cancer in Taiwan. *Int J Cancer* 2005; 113: 475-482
- 4 曹志成. 中西医理论治疗食管癌进展. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 709-713
- 5 Wang JM, Xu B, Rao JY, Shen HB, Xue HC, Jiang QW. Diet habits, alcohol drinking, tobacco smoking, green tea drinking, and the risk of esophageal squamous cell carcinoma in the Chinese population. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2007; 19: 171-176
- 6 Rossi M, Garavello W, Talamini R, La Vecchia C, Franceschi S, Lagiou P, Zamboni P, Dal Maso L, Bosetti C, Negri E. Flavonoids and risk of squamous cell esophageal cancer. *Int J Cancer* 2007; 120: 1560-1564
- 7 Wang Z, Tang L, Sun G, Tang Y, Xie Y, Wang S, Hu X, Gao W, Cox SB, Wang JS. Etiological study of esophageal squamous cell carcinoma in an endemic region: a population-based case control study in Huaian, China. *BMC Cancer* 2006; 6: 287
- 8 Lu H, Cai L, Mu LN, Lu QY, Zhao J, Cui Y, Sul JH, Zhou XF, Ding BG, Elashoff RM, Marshall J, Yu SZ, Jiang QW, Zhang ZF. Dietary mineral and trace element intake and squamous cell carcinoma of the esophagus in a Chinese population. *Nutr Cancer* 2006; 55: 63-70
- 9 Zhang YJ, Chen K, Jin MJ, Fan CH. Study on the application of classification tree model in screening the risk factors of malignant tumor. *Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi* 2006; 27: 540-543
- 10 Kass G. An exploratory technique for investigating

- large quantities of categorical data. *J Appl Stat* 2002; 29: 119-127
- 11 Bahmanyar S, Ye W. Dietary patterns and risk of squamous-cell carcinoma and adenocarcinoma of the esophagus and adenocarcinoma of the gastric cardia: a population-based case-control study in Sweden. *Nutr Cancer* 2006; 54: 171-178
- 12 Croce CM. Oncogenes and cancer. *N Engl J Med* 2008; 358: 502-511
- 13 Murtaza I, Mushtaq D, Margoob MA, Dutt A, Wani NA, Ahmad I, Bhat ML. A study on p53 gene alterations in esophageal squamous cell carcinoma and their correlation to common dietary risk factors among population of the Kashmir valley. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4033-4037
- 14 González CA, Jakszyn P, Pera G, Agudo A, Bingham S, Palli D, Ferrari P, Boeing H, del Giudice G, Plebani M, Carneiro F, Nesi G, Berrino F, Sacerdote C, Tumino R, Panico S, Berglund G, Simán H, Nyrén O, Hallmans G, Martinez C, Dorronsoro M, Barricarte A, Navarro C, Quirós JR, Allen N, Key TJ, Day NE, Linseisen J, Nagel G, Bergmann MM, Overvad K, Jensen MK, Tjonneland A, Olsen A, Bueno-de-Mesquita HB, Ocke M, Peeters PH, Numans ME, Clavel-Chapelon F, Boutron-Ruault MC, Trichopoulou A, Psaltopoulou T, Roukos D, Lund E, Hemon B, Kaaks R, Norat T, Riboli E. Meat intake and risk of stomach and esophageal adenocarcinoma within the European Prospective Investigation Into Cancer and Nutrition (EPIC). *J Natl Cancer Inst* 2006; 98: 345-354
- 15 Castellsague X, Munoz N, De Stefani E, Victora CG, Castelletto R, Rolon PA. Influence of mate drinking, hot beverages and diet on esophageal cancer risk in South America. *Int J Cancer* 2000; 88: 658-664
- 16 Korn WM. Prevention and management of early esophageal cancer. *Curr Treat Options Oncol* 2004; 5: 405-416
- 17 Wang LD, Yang HH, Fan ZM, Lu XD, Wang JK, Liu XL, Sun Z, Jiang YN, He X, Zhou Q. Cytological screening and 15 years' follow-up (1986-2001) for early esophageal squamous cell carcinoma and precancerous lesions in a high-risk population in Anyang County, Henan Province, Northern China. *Cancer Detect Prev* 2005; 29: 317-322
- 18 Boeing H. Alcohol and risk of cancer of the upper gastrointestinal tract: first analysis of the EPIC data. *IARC Sci Publ* 2002; 156: 151-154
- 19 Wolfgarten E, Rosendahl U, Nowroth T, Leers J, Metzger R, Holscher AH, Bollschweiler E. Coincidence of nutritional habits and esophageal cancer in Germany. *Onkologie* 2001; 24: 546-551
- 20 Cronin-Fenton DP, Sharp L, Carsin AE, Comber H. Patterns of care and effects on mortality for cancers of the oesophagus and gastric cardia: a population-based study. *Eur J Cancer* 2007; 43: 565-575

同行评价
本文从食管癌患者的高低危生活方式入手, 分析两组患者对放化疗的疗效, 有一定的新意, 对选择治疗方案和预后判断有一定参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志的同行评价

本刊讯 《世界华人消化杂志》对所有文章进行在线同行评价, 采用匿名方式。通常每篇文章邀请2-3位专家审阅, 至少2人通过方可录用, 否则退稿。每期最后一页致谢本期所有审稿人(含退稿)。文章等级评定: A级、B级、C级、D级、E级、不清楚。其中A和B属于很好, C和D不算太好, E是很差, 还有一部分是不清楚。

胃癌中Ezrin, E-cadherin及CD44的表达及意义

张建新, 毛正发, 王旭青, 王崇高, 吴建农

背景资料
Ezrin是ERM(Ezrin, radixin, mosin)家族成员之一, 几乎存在于任何细胞中。生理状态下其作用为参与细胞表面结构形成及细胞间黏附、信号传导及细胞运动。在很多肿瘤组织中其表达水平显著增高, 对其功能却了解不多。

张建新, 王旭青, 江苏大学附属医院普外科 江苏省镇江市 212001
毛正发, 王崇高, 江苏大学医学院 江苏省镇江市 212001
吴建农, 江苏大学附属医院病理科 江苏省镇江市 212001
江苏省镇江市社会发展基金资助项目, No. SH2004044
通讯作者: 毛正发, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院普外科. jdh127880@sina.com
电话: 0511-582022215
收稿日期: 2007-09-30 修回日期: 2008-01-26

Expression of Ezrin, E-cadherin and CD44 and their significances in gastric carcinoma

Jian-Xin Zhang, Zheng-Fa Mao, Xu-Qing Wang, Chong-Gao Wang, Jian-Nong Wu

Jian-Xin Zhang, Xu-Qing Wang, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Zheng-Fa Mao, Chong-Gao Wang, Medical School of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Jian-Nong Wu, Department of General Pathology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Supported by: the Social Development Foundation of Zhenjiang, No. SH2004044
Correspondence to: Zheng-Fa Mao, Department of General Surgery, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. jdh127880@sina.com
Received: 2007-09-30 Revised: 2008-01-26

Abstract

AIM: To investigate the expression of Ezrin, CD44 and E-cadherin and their correlations with the tumor biological behavior in gastric cancer.

METHODS: Immunohistochemical technique was used to detect the expression of Ezrin, CD44 and E-cadherin in 80 gastric cancer samples and 62 cases of adjacent mucosa.

RESULTS: Ezrin over-expression was positively correlated with the lymphatic metastasis and was inversely correlated with the cancer differentiation (both $P < 0.05$). CD44 over-expression was positively correlated with the depth of cancer invasion, lymphatic metastasis, but inversely correlated with the differentiation level ($P < 0.05$).

E-cadherin expression was inversely correlated with the depth of invasion, lymphatic metastasis, and differentiation level ($P < 0.05$). Spearman correlation analysis showed that there was a positive correlation between Ezrin and CD44 expression ($r_s = 0.305$, $P < 0.05$), and an inverse correlation between Ezrin and E-cadherin expression ($r_s = -0.314$, $P < 0.05$).

CONCLUSION: The increase of Ezrin expression can affect the cell differentiation and adhesion of gastric carcinoma by modulating the expression of adhesion molecules E-cadherin and CD44.

Key Words: Gastric cancer; Ezrin; CD44; E-cadherin; Immunohistochemistry

Zhang JX, Mao ZF, Wang XQ, Wang CG, Wu JN. Expression of Ezrin, E-cadherin and CD44 and their significances in gastric carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 776-779

摘要

目的: 检测Ezrin及细胞黏附分子E-cadherin、CD44在胃癌细胞的表达, 了解Ezrin对瘤细胞黏附分子调节及对胃癌浸润生长的影响。

方法: 手术切除胃癌标本80例(其中62例附癌旁胃组织)行Ezrin、E-cadherin和CD44v6免疫组化染色。

结果: Ezrin的表达与胃癌的转移呈正相关, 与分化程度呈负相关(均 $P < 0.05$)。CD44的表达与胃癌的浸润深度、淋巴结转移呈正相关, 与分化程度呈负相关(均 $P < 0.05$)。E-cadherin的表达与胃癌的浸润深度、转移及分化程度呈负相关(均 $P < 0.05$)。Spearman等级相关分析显示, Ezrin与CD44的表达呈显著正相关($r_s = 0.305$, $P < 0.05$), Ezrin与E-cadherin的表达呈负相关($r_s = -0.314$, $P < 0.05$)。

结论: 胃癌组织Ezrin增加与肿瘤细胞的分化有关, 并可调节E-cadherin、CD44而影响胃癌细胞的黏附性。

关键词: 胃癌; 细胞骨架连接蛋白; CD44; 上皮钙黏蛋白; 免疫组织化学

同行评议者
姜春萌, 教授, 大连医科大学附属第二医院消化内科

张建新, 毛正发, 王旭青, 王崇高, 吴建农. 胃癌中Ezrin, E-cadherin及CD44的表达及意义. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 776-779
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/776.asp>

0 引言

胃癌的浸润、转移是其患者主要的致死原因。肿瘤的侵袭转移是一个复杂的病变过程, 涉及多个基因的改变。Ezrin是ERM(Ezrin, radixin, moesin)家族成员之一, 近年来其对肿瘤细胞黏附分子的调节在肿瘤的浸润生长和转移中的作用渐被重视^[1-2]。体外细胞培养显示, Ezrin的缺失与瘤细胞的运动能力和侵袭性增加等有关, 并可影响细胞表面cadherin等黏附分子而促进肿瘤浸润转移^[3], 并且Ezrin蛋白可通过与细胞表面黏附分子cadherin和CD44等连接, 调节细胞-细胞及细胞-细胞外基质之间的黏附, 从而影响肿瘤细胞侵袭性等生物学行为^[4-5]。

本研究用免疫组化方法检测人体胃癌标本Ezrin、E-cadherin和CD44表达, 观察Ezrin对肿瘤细胞的分化和黏附的影响以探讨其对胃癌浸润转移的作用。

1 材料和方法

1.1 材料 收集江苏大学附属医院2005-2006年病理诊断为胃癌的手术切除标本80例, 其中男50例, 女30例, 年龄43-73岁。根据2002年WHO关于胃肿瘤的分类将其分为乳头状腺癌、管状腺癌和未分化癌等。其中, 腺鳞癌5例, 未分化癌3例, 乳头状腺癌14例, 管状腺癌58例。为了方便统计, 将乳头状腺癌与高分化管状腺癌列入高分化腺癌组, 将未分化癌列入低分化腺癌组, 并将高分化腺癌组与中分化腺癌组合并为一组。其中62例附癌旁组织。Ezrin单抗、E-cadherin及CD44v6单抗, II、III抗均购自福建迈新生物技术开发公司(即用型)。

1.2 方法

1.2.1 标本及切片: 40 g/L福尔马林固定, 石蜡包埋。每例组织蜡块4 μ m连续切片10张, 其中1张切片HE染色作光镜下诊断复查, 另3张切片作Ezrin、E-cadherin和CD44免疫组织化学染色, 其余备用。

1.2.2 免疫组织化学染色: 切片常规脱蜡冲洗后, 置10 mmol/L柠檬酸盐缓冲液(pH6.0)高压修复抗原, 过氧化物酶和小牛血清先后处理, I 抗室温孵育1 h, 分别滴加II、III抗, DAB显色。用PBS液代替一抗作为阴性对照, 已知阳性标本作

阳性对照。苏木素复染细胞核。

1.2.3 免疫组化判断标准: CD44v6和E-cadherin主要在细胞膜上呈棕黄色线状分布。Ezrin在胞质内呈棕色颗粒。按染色强度和阳性表达细胞数, 参考Mathew *et al*^[6]分级标准: -: 无表达; +: <50%细胞阳性表达或染色较浅; ++: \geq 50%阳性表达且深染。

统计学处理 采用SPSS12.0软件进行统计学处理, 应用 χ^2 检验和Spearman等级相关分析各组指标结果与临床病理关系, $P < 0.05$ 为有显著差异。

2 结果

2.1 手术切除标本 (1)Ezrin表达与临床病理的关系: 80例胃癌中Ezrin表达阳性率为61.3%。Ezrin沿细胞膜内侧线性分布, 并在胞质呈棕色颗粒分布, 肿瘤组织表达从局部或灶性至弥漫性均有, 以弥漫性为主, 癌周组织阳性表达以弥漫性为主。肿瘤组织Ezrin阳性率显著高于癌周组织($P < 0.01$); 低分化的胃癌Ezrin阳性率高于高分化胃癌($P < 0.05$); 有淋巴结转移的Ezrin阳性率高于无淋巴结转移($P < 0.05$); Ezrin的表达在不同性别及浸润深度两组间不存在显著性差异, 表明Ezrin表达与性别及胃癌浸润深度无关($P > 0.05$, 表1)。(2)E-cadherin表达与临床病理的关系: 80例胃癌中E-cadherin表达阳性率为53.7%。E-cadherin染色阳性信号为上皮细胞膜棕黄色颗粒。癌周组织E-cadherin阳性率显著高于肿瘤组织($P < 0.05$); 高分化胃癌E-cadherin阳性率高于低分化胃癌($P < 0.05$); 侵及肌层的E-cadherin阳性率高于侵及浆膜及浆膜外者($P < 0.05$); 无淋巴结转移的E-cadherin阳性率高于有淋巴结转移($P < 0.05$, 表1)。(3)CD44v6表达与临床病理的关系: 80例胃癌中CD44v6表达阳性率为65%。CD44v6阳性产物主要定位于细胞膜和胞质上, 呈棕黄色。肿瘤组织CD44v6阳性率显著高于癌周组织($P < 0.05$); 低分化的胃癌CD44v6阳性率高于高分化胃癌($P < 0.05$); 侵及浆膜及浆膜外者的CD44v6阳性率高于侵及肌层($P < 0.05$); 有淋巴结转移的CD44v6阳性率高于无淋巴结转移($P < 0.05$, 表1)。

2.2 Ezrin、E-cadherin及CD44在胃癌组织中的表达 Ezrin与CD44在胃癌中的表达情况, 通过统计学分析结果显示两者的表达密切相关($\chi^2 = 17.600$, $P = 0.000$)。Spearman等级相关分析提示Ezrin表达与CD44表达呈正相关($r_s = 0.305$, $P < 0.05$)。Ezrin与E-cadherin在胃癌中的表达情况, 经统计学分析结果亦显示其表达密切相关($\chi^2 =$

相关报道

近有研究发现, 在胰腺癌、黑色素瘤、横纹肌肉瘤及食管上皮细胞癌中, Ezrin高表达的癌细胞株有更高的转移能力, 可促进肿瘤转移, 也有相反报道, Ezrin低表达或不表达的恶性卵巢癌愈后不良。

创新盘点

本文首次在胃癌中联合检测Ezrin、E-cadherin及CD44三个指标的表达情况,研究它们与胃癌的浸润、转移之间的相关性。

表 1 胃癌中Ezrin、E-cadherin和CD44v6表达与临床病理因素的关系

项目	n	Ezrin阳性		E-cadherin阳性		CD44v6阳性	
		n	%	n	%	n	%
性别							
男	50	28	56	30	60	34	68
女	30	21	70	13	43.3	18	60
分化程度							
高-中	54	26	48.1	35	64.8	30	55.6
低	26	20	76.9	8	30.8	22	84.6
淋巴结转移							
有	48	35	72.9	21	43.8	40	83.3
无	32	14	43.8	22	68.8	12	37.5
浸润深度							
肌层	36	22	61.1	25	69.4	17	47.2
浆膜层	44	27	61.4	18	40.9	35	79.5
组织类型							
癌组织	80	49	61.3	43	53.7	52	65.0
癌周组织	62	20	32.3	54	87.1	6	9.7

7.131, $P = 0.008$), Spearman等级相关分析提示Ezrin表达与E-cadherin表达呈负相关($r_s = -0.314$, $P < 0.05$).

2.3 Ezrin/CD44联合表达与胃癌浸润和转移 在19例Ezrin(-)/CD44(-)的胃癌标本中,有7例浸润至浆膜层(36.8%),5例发生淋巴结转移(26.3%);而在33例Ezrin(+)/CD44(+)的胃癌标本中,有19例浸润至浆膜层(57.5%),20例发生淋巴结转移(60.6%).分别比较两组浸润至浆膜层的阳性率以及淋巴结转移率,均有显著性差异, P 值分别是0.150和0.017.

2.4 Ezrin/E-cadherin联合表达与胃癌浸润和转移 在23例Ezrin(-)/E-cadherin(+)的胃癌标本中,有8例浸润至浆膜层(34.8%),9例发生淋巴结转移(39.1%);而在19例Ezrin(+)/E-cadherin(-)的胃癌标本中,有14例浸润至浆膜层(83.3%),16例发生淋巴结转移(84.2%).两组浸润至浆膜层的阳性率以及淋巴结转移率相比均有显著性差异, P 值分别是0.012和0.004.

3 讨论

E-cadherin和CD44v6都为跨膜糖蛋白.E-cadherin是钙黏素家族中的一员,他主要分布于各种上皮细胞中.他通过胞质连环素与细胞骨架蛋白相连,是介导细胞之间以及细胞与细胞外基质黏附的主要分子之一.近年来研究认为E-cadherin黏附功能的丧失是肿瘤细胞获得高侵袭性的关键^[7-10].Endo *et al*^[11]对107例胃癌组织检

测E-cadherin表达下降并与瘤细胞分化和预后有关.本实验亦证实了这一观点,发现E-cadherin表达减少会明显促进胃癌的浸润、转移.

CD44为透明质酸受体,根据基因外显子表达方式的不同编码生物学特性不同的两种蛋白:标准型(CD44s)和变异型(CD44v),其变异体CD44v6等在恶性肿瘤的高表达使瘤细胞对基质侵袭力增强与肿瘤的浸润转移有关.CD44v6的促进转移作用机制可能是表达CD44v6的肿瘤细胞与远隔的淋巴管和血管内某一配体结合,使转移处的肿瘤细胞更加稳定地寄宿与生长,有效形成转移瘤.近年来通过免疫组化和原位杂交技术研究发现,CD44v6的过量表达与多种人体恶性肿瘤,如乳腺癌、胃癌、食管癌等许多肿瘤的发生、发展、侵袭及转移密切相关^[12-13],认为CD44v6可作为独立的预后指标.

Ezrin是ERM(Ezrin, radixin, mosin)家族中研究较深入的细胞内骨架蛋白.通过其C-,N-末端分别与细胞骨架和细胞膜蛋白的结合,不仅具有结构功能,而且对细胞的分化、形态、迁移性及细胞与细胞、细胞和基质之间的黏附性有重要的调节作用.研究中发现在生长因子的作用下,Ezrin可以与CD44结合后与细胞骨架连接,促进肿瘤细胞的增生与转移,同时CD44表达上调,使功能性Ezrin表达增加,此时肿瘤转移与侵袭能力也随之增加^[14-16].Pujuguet *et al*发现,Ezrin的突变体EzrinT567D,相当于持续形式的Ezrin,可使E-cadherin从细胞内向细胞膜

应用要点

本文应用免疫组化的方法检测Ezrin、E-cadherin及CD44在癌组织中的表达情况,并讨论三者与胃癌的浸润和转移的关系,以期对胃癌诊断、治疗和判断预后提供依据。

转运减慢, 导致E-cadherin在细胞内集聚, 细胞表面的E-cadherin减少, 导致细胞连接松散^[17-18]. 过度表达的Ezrin也可能发挥同样的作用, 导致E-cadherin隔离在细胞内, 从而造成细胞间连接松散, 有利于肿瘤转移.

本研究结果表明, Ezrin、CD44阳性表达程度在癌组织中与癌旁组织中都存在显著差异, Ezrin、CD44的表达程度在胃癌组织中明显增高, 提示Ezrin、CD44与胃癌发生、发展密切相关. Ezrin、CD44表达程度随着肿瘤分化程度降低而增高, 提示两者可能参与胃癌的分化. 伴有淋巴结转移的病例中, Ezrin、CD44表达程度明显高于无淋巴结的转移的病例, 提示Ezrin、CD44参与胃癌的淋巴结的转移过程. 而E-cadherin在癌组织中、低分胃癌及有淋巴结转移的病例中, 与相应对照组相比其表达均减弱或者缺失, 提示其表达的下调导致癌细胞黏附性减弱, 易脱离并具有较强的侵袭性. 其可能机制为: 随着肿瘤发生发展, Ezrin表达增强, 致使肿瘤细胞运动能力增强, 同时E-cadherin遭破坏, 在细胞与细胞间的表达能力下降, 导致细胞自肿瘤组织中脱落, 进而引起肿瘤的转移. 这说明Ezrin、CD44和E-cadherin与胃癌的浸润和转移密切相关, 可以作为胃癌浸润和转移的肿瘤标志物, 为胃癌的治疗和预后提供依据.

4 参考文献

- 1 Lamb RF, Roy C, Diefenbach TJ, Vinters HV, Johnson MW, Jay DG, Hall A. The TSC1 tumour suppressor hamartin regulates cell adhesion through ERM proteins and the GTPase Rho. *Nat Cell Biol* 2000; 2: 281-287
- 2 McCartney BM, Kulikaukas RM, LaJeunesse DR, Fehon RG. The neurofibromatosis-2 homologue, Merlin, and the tumor suppressor expanded function together in *Drosophila* to regulate cell proliferation and differentiation. *Development* 2000; 127: 1315-1324
- 3 Hiscox S, Jiang WG. Ezrin regulates cell-cell and cell-matrix adhesion, a possible role with E-cadherin/beta-catenin. *J Cell Sci* 1999; 112 Pt 18: 3081-3090
- 4 Hunter KW. Ezrin, a key component in tumor metastasis. *Trends Mol Med* 2004; 10: 201-204
- 5 Curto M, McClatchey AI. Ezrin...a metastatic detERMinant? *Cancer Cell* 2004; 5: 113-114
- 6 Mathew J, Hines JE, Obafunwa JO, Burr AW, Toole K, Burt AD. CD44 is expressed in hepatocellular carcinomas showing vascular invasion. *J Pathol* 1996; 179: 74-79
- 7 Shiozaki H, Oka H, Inoue M, Tamura S, Monden M. E-cadherin mediated adhesion system in cancer cells. *Cancer* 1996; 77: 1605-1613
- 8 Siitonen SM, Kononen JT, Helin HJ, Rantala IS, Holli KA, Isola JJ. Reduced E-cadherin expression is associated with invasiveness and unfavorable prognosis in breast cancer. *Am J Clin Pathol* 1996; 105: 394-402
- 9 Richmond PJ, Karayiannakis AJ, Nagafuchi A, Kaisary AV, Pignatelli M. Aberrant E-cadherin and alpha-catenin expression in prostate cancer: correlation with patient survival. *Cancer Res* 1997; 57: 3189-3193
- 10 王红建, 史成章, 秦先锋, 黄秋实. Ezrin、FAK及E-cadherin在大肠癌组织中的表达及其临床意义. *世界华人消化杂志* 2006; 15: 591-595
- 11 Endo K, Ueda T, Ueyama J, Ohta T, Terada T. Immunoreactive E-cadherin, alpha-catenin, beta-catenin, and gamma-catenin proteins in hepatocellular carcinoma: relationships with tumor grade, clinicopathologic parameters, and patients' survival. *Hum Pathol* 2000; 31: 558-565
- 12 孙红, 韩苏夏, 肖菊香, 南克俊, 李明众. 宫颈组织CD44v6表达的意义. *第四军医大学学报* 2002; 23: 462-466
- 13 柳洲, 陈惠祯. CD44v6基因在子宫颈癌中的表达意义. *实用肿瘤杂志* 2001; 16: 49-51
- 14 Hefler LA, Concin N, Mincham D, Thompson J, Swarte NB, van Eijkeren MA, Sie-Go DM, Hammond I, McCartney AJ, Tempfer CB, Speiser P. The prognostic value of immunohistochemically detected CD44v3 and CD44v6 expression in patients with surgically staged vulvar carcinoma: a multicenter study. *Cancer* 2002; 94: 125-130
- 15 Rodríguez-Rodríguez L, Sancho-Torres I, Leakey P, Gibbon DG, Comerici JT, Ludlow JW, Mesonero C. CD44 splice variant expression in clear cell carcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol* 1998; 71: 223-229
- 16 Setälä L, Lipponen P, Tammi R, Tammi M, Eskelinen M, Alhava E, Kosma VM. Expression of CD44 and its variant isoform v3 has no prognostic value in gastric cancer. *Histopathology* 2001; 38: 13-20
- 17 Pujuguet P, Del Maestro L, Gautreau A, Louvard D, Arpin M. Ezrin regulates E-cadherin-dependent adherens junction assembly through Rac1 activation. *Mol Biol Cell* 2003; 14: 2181-2191
- 18 Xu Y, Yu Q. E-cadherin negatively regulates CD44-hyaluronan interaction and CD44-mediated tumor invasion and branching morphogenesis. *J Biol Chem* 2003; 278: 8661-8668

同行评价
本文采用方法适当, 成熟, 论述准确, 对临床有一定参考价值.

编辑 程剑侠 电编 何基才

胃癌中高表达ATP/GTP结合蛋白1基因的筛选及验证

张宇川, 张尤历, 王文兵, 高广, 陆芬英

背景资料
目前, 恶性肿瘤已成为危害人类健康最严重的疾病之一。根据世界卫生组织的统计, 全球每年因为恶性肿瘤而死亡的人约有500余万。肿瘤的预防与治疗已成为与人类每一个家庭都密切相关的社会问题。在我国, 胃癌仍是最为常见的恶性肿瘤, 临床上以内镜和病理为主的胃癌诊断, 以手术和药物为主的治疗效果均不令人满意。因此, 寻找癌组织中表达特异的基因, 将为癌症的早期诊断和治疗靶基因提供分子理论支持。

同行评议者
黄颖秋, 教授, 本溪钢铁(集团)有限责任公司总医院消化内科

张宇川, 张尤历, 陆芬英, 江苏大学附属医院消化科 江苏省镇江市 212001
王文兵, 高广, 江苏大学生命科学院 江苏省镇江市 212001
作者贡献分布: 此课题由张宇川, 张尤历, 王文兵策划设计; 课题实验由张宇川, 高广及陆芬英操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由王文兵提供; 本论文写作由张宇川和高广完成。
通讯作者: 张尤历, 212001, 江苏省镇江市解放路438号, 江苏大学附属医院消化科, zjyouli@yahoo.com.cn
电话: 0511-85011787 传真: 0511-85011787
收稿日期: 2007-11-04 修回日期: 2008-02-16

Screening and identification of ATP/GTP binding protein 1 gene expressed highly in gastric cancer

Yu-Chuan Zhang, You-Li Zhang, Wen-Bing Wang, Guang Gao, Fen-Yin Lu

Yu-Chuan Zhang, You-Li Zhang, Fen-Yin Lu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China
Wen-Bing Wang, Guang Gao, Institute of Life Science, Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China

Correspondence to: You-Li Zhang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of Jiangsu University, 438 Jiefang Road, Zhenjiang 212001, Jiangsu Province, China. zjyouli@yahoo.com.cn
Received: 2007-11-04 Revised: 2008-02-16

Abstract

AIM: To investigate the molecular mechanism of gastric carcinogenesis, screen and validate the genes expressed differently in gastric cancer.

METHODS: Messenger RNA differential display polymerase chain reaction (DD-PCR) was employed to search differently expressed fragments, some of which were cloned and sequenced. By homologous analysis in GenBank, the corresponding homologous genes of those fragments were found. The corresponding genes of those differently expressed fragments were validated by real-time semi-quantitative and quantitative PCR.

RESULTS: By DD-PCR, one expressed sequence tag (EST) was identified to be ATP/GTP binding protein 1 (A/GTPBP1) gene. The result of real-time semi-quantitative and quantitative PCR

showed that the expression level of A/GTPBP1 gene in gastric cancer tissues was significantly higher than that in normal tissues. The open reading frame (ORF) of A/GTPBP1 gene, which encodes 1186 amino acids, was 3561-base pair long. The molecular weight was about 84.4 kDa. Protein sequence similarity analysis showed that A/GTPBP1 was a member of G protein family.

CONCLUSION: The over-expression of AGT-PBP1 gene in gastric cancer may indicate an important role in gastric carcinogenesis.

Key Words: Fluorescent differential display; Real-time quantitative polymerase chain reaction; Gastric cancer; ATP/GTP binding protein 1

Zhang YC, Zhang YL, Wang WB, Gao G, Lu FY. Screening and identification of ATP/GTP binding protein 1 gene expressed highly in gastric cancer. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 780-783

摘要

目的: 探讨胃癌中差异表达的基因在胃癌发生和发展的分子机制中的作用。

方法: 提取胃癌组织样本的总RNA, 通过荧光差异显示技术(DD-PCR)获得胃癌样品中差异的片段, 对这些片段进行克隆和测序。通过在GenBank中同源性检索, 查找与差异片段相对应的同源基因。利用半定量PCR及定量PCR方法验证该基因表达的差异性。

结果: 通过DD-PCR得到差异片段中的一个片段对应与人ATP/GTP结合蛋白1基因(A/GTPBP1)。半定量PCR及荧光定量PCR技术检测结果表明, A/GTPBP1基因在胃癌组织中的表达量高于其对应的癌旁组织。该基因的读码框长3561 bp, 编码1186个氨基酸, 分子质量为84.4 kDa, 蛋白质相似性分析表明该蛋白为G蛋白家族成员。

结论: A/GTPBP1在胃癌组织中异常高表达, 可能在胃癌发生过程中起调节作用。

关键词: 荧光差异显示; 定量聚合酶链反应; 胃癌;

ATP/GTP结合蛋白1基因

张宇川, 张允历, 王文兵, 高广, 陆芬英. 胃癌中高表达ATP/GTP结合蛋白1基因的筛选及验证. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 780-783

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/780.asp>

0 引言

胃癌是最常见的癌症类型之一, 占癌症死因的第2位^[1-3]. 我国是世界上胃癌的高发国家之一. 目前, 分子生物学研究已发现很多基因, 如RAS基因家族、MYC基因家族和ERBB基因家族等与胃癌的发生、发展有关^[4-9]. 然而胃癌发生的确切分子生物学机制仍未阐明, 寻找胃癌中新的特异表达的基因对胃癌的基础与临床研究具有重要意义.

荧光差异显示技术(DD-PCR)是以多聚酶链式反应(PCR)和聚丙烯酰胺凝胶电泳两种技术为基础建立起来的, 具有简便、灵敏、省时等优点, 目前广泛应用于寻找表达特异基因的研究中^[10-14]. 本实验应用DD-PCR筛选到胃癌中差异表达的ATP/GTP结合蛋白1(A/GTPBP1)基因, 并利用半定量PCR、荧光定量PCR等方法对该基因的表达进行了验证, 初步认为与胃癌的发展有关.

1 材料和方法

1.1 材料 胃癌的癌组织及癌旁组织标本取自江苏大学附属医院外科手术. 荧光差异显示试剂盒购于Genhunter公司, 荧光定量PCR试剂盒购于TaKaRa公司, MMLV反转录试剂盒购于Promega公司, RNA提取试剂TRIzol购自Invitrogen公司.

1.2 方法

1.2.1 cDNA的制备: 用TRIzol提取的方法提取胃癌及癌旁组织的总RNA, 采用GeneSpect III测定总RNA的浓度, 经DNase消化后用MML V反转录得到胃癌组织及癌旁组织的cDNA.

1.2.3 DD-PCR: 3种荧光引物(FHT12 A, FHT12 G, FHT12 C)与20种试剂盒中的随机引物做不同组合, 进行DD-PCR, PCR产物8 μ L上样于6%的聚丙烯酰胺凝胶, 1400 V恒压电泳5 h左右.

1.2.4 差异片段的克隆: 差异条带经切割和处理后作为模板, 进行二次PCR, 将产物连接于T载体. 连接产物转化大肠杆菌DH5 α , 蓝白斑筛选阳性克隆. 阳性克隆经酶切鉴定后测序(由上海生物工程公司完成).

1.2.5 荧光定量PCR分析: 利用Primer5.0软件设计用于定量PCR的A/GTPBP1基因引物, 内参选用人 β -actin(GenBank登录号: AK225414), 检测A/GTPBP1基因在胃癌组织、癌旁组织中表达的差异. 引物序列为: A/GTPBP1: F-GCCTCCATTCAAAGAGCCTA, R-TACGCTGGTCCACAACGAAT; 内参 β -actin: F-GAGACCTTCAACACCCCAGCC, R-GGAGTACAGGTCTTTGCGGATG. 扩增片段长度分别为300 bp和512 bp. 反应条件为94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 35 s. 根据 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 公式计算基因相对拷贝数, 利用SPSS13.0软件对获得的数据进行分析.

1.2.6 半定量PCR分析: 为了对荧光定量PCR的结果进一步检验, 用做定量PCR的两对引物对不同模板cDNA分别作半定量PCR, 反应条件为94 $^{\circ}$ C 30 s, 55 $^{\circ}$ C 30 s, 72 $^{\circ}$ C 35 s, 25个循环. 通过凝胶成像系统软件对所得电泳条带进行亮度分析.

2 结果

2.1 胃癌和癌旁组织总RNA的提取 提取的总RNA进行凝胶电泳结果显示, 28S和18S条带较为明显, 总RNA的完整性和质量较好. 采用GeneSpect III检测, A_{260}/A_{280} 值均在1.8-2.0之间, 结果与电泳结果一致, 达到反转录要求.

2.2 荧光差异显示结果及阳性差异片段的筛选 聚丙烯酰胺凝胶电泳结果发现, 胃癌和癌旁组织中基因的表达存在差异性. 为进一步了解这些差异片段的信息, 将差异片段切出后, 进行二次扩增, 并对扩增到的片段进行克隆和序列分析. 将测序获得的序列在NCBI数据库中进行比对, 其中编号为W4的差异片段与GenBank中的A/GTPBP1基因同源性达到99%(GenBank登录号: AL157882). 该基因读码框为3561 bp, 编码1186个氨基酸. 根据氨基酸序列推测其为G蛋白家族的成员.

2.3 荧光定量PCR分析 应用12例胃癌标本对AGTPBP1基因在胃癌及癌旁组织的表达量进行检测. 应用SPSS13.0软件作定量分析. 结果表明, AGTPBP1基因在胃癌组织中的表达量高于其相应的癌旁组织, 其差异具统计学意义($P < 0.05$, 图1).

2.4 半定量PCR分析 为进一步验证A/GTPBP1基因在胃癌及癌旁组织中表达量的差异, 本研究中取四例胃癌组织标本对该基因进行半定量分析. A/GTPBP1基因在胃癌组织及癌旁组织中均

研发前沿
幽门螺杆菌与胃癌的发生关系极大, 且幽门螺杆菌分泌的毒素可导致细胞的变化, 但其毒素如何引起细胞基因表达的改变尚不清楚.

创新盘点

本文采用荧光差异显示法从癌变的内因-细胞内基因表达的变化, 尝试发现与胃癌发生特异性相关的基因, 该方法现在很少应用于东方人典型的癌症类型-胃癌中。

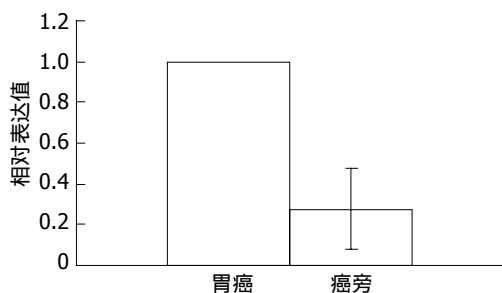


图1 A/GTPBP1基因在胃癌及癌旁组织差异表达。

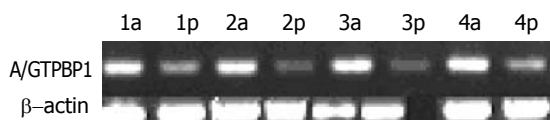


图2 A/GTPBP1基因在胃癌组织及癌旁组织中电泳图谱。1a-4a: 胃癌组织中A/GTPBP1基因电泳图; 1p-4p: 癌旁组织中A/GTPBP1基因电泳图。

有表达, 但在癌中的表达量高于旁组织(图2)。通过凝胶成像系统软件对所得电泳条带进行亮度和面积的分析, 然后用SSPS13.0软件处理, 得到直观的图像, A/GTPBP1基因在胃癌组织中的表达量高出癌旁组织约6倍(图2)。

3 讨论

目前, 恶性肿瘤已成为危害人类健康最严重的疾病之一。根据世界卫生组织的统计, 全球每年因为恶性肿瘤而死亡的人约有500余万。肿瘤的预防与治疗已成为与人类每一个家庭都密切相关的社会问题。在我国, 胃癌仍是最为常见的恶性肿瘤, 临床上以内镜和病理为主的胃癌诊断, 以手术和药物为主的治疗效果均不令人满意。20年来的研究进展证实, 肿瘤的发生、发展与基因的失活或高表达密切相关^[4-9]。因此, 寻找癌组织中表达特异的基因, 将为癌症的早期诊断和治疗靶基因提供分子理论支持。

本研究应用mRNA差异显示技术筛选到胃癌中高表达的基因A/GTPBP1。在GenBank中的同源性比较表明, 该基因位于人9号常染色体上, 读码框长3561 bp, 编码1186个氨基酸。ATP/GTP结合蛋白(A/G蛋白)是细胞膜受体与选择性效应器之间信号转导的重要蛋白质, A/G蛋白表达水平及其活性的变化相应地调节着细胞生理、生化及其相关基因的表达^[15-16]。肿瘤细胞具有很强的增殖能力, 恶性肿瘤细胞对人体的破坏主要是因为其具有高增殖力及浸润性, A/G蛋白表达水平的增高, 可以更多地激活cAMP系统, 诱导细胞的生长。目前已有研究表明, 甲状腺癌组

织中存在具有活性的突变Gsα(G蛋白的一个亚基)基因, 并认为甲状腺癌的发生可能与Gsα基因的高表达有关^[17-19]。本研究筛选并应用多例胃癌标本验证发现ATP/GTP结合高于其相应的癌旁组织, 该基因的高表达可能与胃癌细胞中cAMP系统的信号转导调控密切相关, 推测其高表达特异性地与胃癌的发展有关。由于A/G蛋白包含多个亚基, 结构较复杂, 究竟是一个还是多个亚基的高表达参与了胃癌的发生、发展及A/GTPBP1基因在癌组织中的高表达是否具有普遍性等均有待进一步研究。

4 参考文献

- Yeole BB, Kumar AV. Population-based survival from cancers having a poor prognosis in Mumbai (Bombay), India. *Asian Pac J Cancer Prev* 2004; 5: 175-182
- Tovar-Guzman V, Hernandez-Giron C, Barquera S, Rodriguez-Salgado N, Lopez-Carrillo L. Epidemiologic panorama of stomach cancer mortality in Mexico. *Arch Med Res* 2001; 32: 312-317
- Tsugane S, Sasazuki S. Diet and the risk of gastric cancer: review of epidemiological evidence. *Gastric Cancer* 2007; 10: 75-83
- van Lieshout EM, Roelofs HM, Dekker S, Mulder CJ, Wobbes T, Jansen JB, Peters WH. Polymorphic expression of the glutathione S-transferase P1 gene and its susceptibility to Barrett's esophagus and esophageal carcinoma. *Cancer Res* 1999; 59: 586-589
- Yang YQ, Zhang LJ, Dong H, Jiang CL, Zhu ZG, Wu JX, Wu YL, Han JS, Xiao HS, Gao HJ, Zhang QH. Upregulated expression of S100A6 in human gastric cancer. *J Dig Dis* 2007; 8: 186-193
- Wang HL, Bai H, Li Y, Sun J, Wang XQ. Rationales for expression and altered expression of apoptotic protease activating factor-1 gene in gastric cancer. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5060-5064
- Taniguchi H, Fujiwara Y, Doki Y, Sugita Y, Sohma I, Miyata H, Takiguchi S, Yasuda T, Tomita N, Morishita R, Monden M. Gene therapy using ets-1 transcription factor decoy for peritoneal dissemination of gastric cancer. *Int J Cancer* 2007; 121: 1609-1617
- Sugimoto M, Furuta T, Shirai N, Nakamura A, Kajimura M, Sugimura H, Hishida A. Effects of interleukin-10 gene polymorphism on the development of gastric cancer and peptic ulcer in Japanese subjects. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1443-1449
- Chae YS, Kim JG, Sohn SK, Cho YY, Moon JH, Bae HI, Park JY, Lee MH, Lee HC, Chung HY, Yu W. Investigation of vascular endothelial growth factor gene polymorphisms and its association with clinicopathologic characteristics in gastric cancer. *Oncology* 2006; 71: 266-272
- Con SA, Takeuchi H, Valerin AL, Con-Wong R, Con-Chin GR, Con-Chin VG, Nishioka M, Mena F, Brenes F, Yasuda N, Araki K, Sugiura T. Diversity of *Helicobacter pylori* cagA and vacA genes in Costa Rica: its relationship with atrophic gastritis and gastric cancer. *Helicobacter* 2007; 12: 547-552
- Miyamoto N, Yamamoto H, Taniguchi H, Miyamoto C, Oki M, Adachi Y, Imai K, Shinomura

应用要点

新的相关基因A/G结合蛋白1的发现为深入研究其与胃癌的关系打下了基础, 同时该基因也可拓展到其他肿瘤类型中的研究。

- Y. Differential expression of angiogenesis-related genes in human gastric cancers with and those without high-frequency microsatellite instability. *Cancer Lett* 2007; 254: 42-53
- 12 Liang P, Pardee AB. Differential display of eukaryotic messenger RNA by means of the polymerase chain reaction. *Science* 1992; 257: 967-971
- 13 Zhang XQ, Yang YQ, Liu BY, Jin XL, Li W, Tang KL, Zhang QH, Lin YZ, Zhu ZG. Gene expression profiling of diffuse-type gastric cancer by cDNA microarray. *Zhonghua Zhong Liu Za Zhi* 2006; 28: 116-119
- 14 闻燕, 王文兵, 高广, 许文荣, 朱伟, 李峰. 食管癌中高表达的钙结合蛋白1基因的序列分析及意义. *江苏大学学报(医学版)* 2007; 17: 155-157
- 15 Xie GX, Palmer PP. How regulators of G protein signaling achieve selective regulation. *J Mol Biol* 2007; 366: 349-365
- 16 Appert-Collin A, Baisamy L, Diviani D. Regulation of g protein-coupled receptor signaling by a-kinase anchoring proteins. *J Recept Signal Transduct Res* 2006; 26: 631-646
- 17 Harris A, Morgan JL, Pecot M, Soumare A, Osborne A, Soares HD. Regenerating motor neurons express Nna1, a novel ATP/GTP-binding protein related to zinc carboxypeptidases. *Mol Cell Neurosci* 2000; 16: 578-596
- 18 Lania AG, Mantovani G, Spada A. Mechanisms of disease: Mutations of G proteins and G-protein-coupled receptors in endocrine diseases. *Nat Clin Pract Endocrinol Metab* 2006; 2: 681-693
- 19 吕朝晖, 陆菊明, 潘长玉, 罗国春. G蛋白 α 亚基mRNA在不同甲状腺疾病的表达. *中华内科杂志* 2003; 42: 103-105

同行评价
本文选题新颖, 目的明确, 方法合理, 结果可信, 具有较好的学术价值.

编辑 李军亮 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

山西省对世界华人消化杂志编辑标准 质量评估的结果 (2007)

本刊讯 根据山西省科技期刊编辑标准质量评估的结果, 世界华人消化杂志(世界华人消化杂志, *WJCD*)2006年在政治, 出版标准, 期刊学术标准和科技期刊编辑标准中存在的问题总结如下, 希望得到更多读者和作者的监督和指正.

1 存在的问题

不管是在广告中还是在编辑中均存在错别字, 如14期1432页胆源性写成了胆原性, 21期2641页反映肿瘤写成了反应肿瘤; 在数字小数点处理问题上也不够规范, 统一和严谨, 如在14期1431页此问题就很明显; 在参考文献的校对和审读中还不够认真, 仔细, 如4期452页参考文献4, 7英文作者名没有大写, 参考文献6英文刊名没有大写; 34期3334页参考文献20刊名没有斜体, 在文章的校对和审读中, 编辑没有严格的执行标准, 如已经规定它改为他, 粘膜改为黏膜, 适应证和综合征的症都改为证, 但在21期和34期封4还存在这些错误; 在标点符号的使用上科学性还不够高, 在4期457页脾、肾和21期2142页分为内引流组、外引流组中的顿号被使用成了逗号.

2 有争议的问题

关于天, 月, 周, 等的中英文用法, 有的建议都用中文, 有的建议用英语, 但英语的缩写也不一样, 如周有的认为是wk, 有的认为是w; 在疗程和疗效, 食管和食道, 消化系与消化道, 抗菌素和抗生素的统一上意见还不够明确, 有待进一步的规范.

今后在更加科学, 统一, 规范的科学编辑标准下, 我们在态度上会认真, 在思想中争创新, 在编辑上更严谨, 在审读中更全面, 在校对中更细心, 避免同样的错误发生, 给大家献上更好更规范的文章. (世界华人消化杂志科学编辑: 程剑侠 2008-03-28)

心脏病术后胃肠功能紊乱的中医辨证思路和疗效

马丽红, 曲家珍, 张瑞华

背景资料
近年来心脏外科手术技术的提高和方法的改进, 使许多心血管系统疾病得到根治或改善, 尤其是心脏移植术的成功, 为许多重度心衰患者带来了福音, 患者存活时间延长, 生活质量明显提高, 死亡率显著下降。但是, 因心脏外科手术通常是在全身麻醉、低温、体外循环非生理状态下进行, 患者的生理功能受到一定的干扰, 因此采用有效措施预防和治疗心脏病术后消化功能紊乱, 对患者的手术疗效和恢复具有重要意义。

马丽红, 曲家珍, 张瑞华, 中国医学科学院阜外心血管病医院中医科 北京市 100037
通讯作者: 马丽红, 100037, 北京市西城区北礼士路167号, 中国医学科学院阜外心血管病医院中医科. mlh4463@163.com
电话: 010-88398275 传真: 010-58720861
收稿日期: 2007-11-05 修回日期: 2008-03-03

The way and therapeutic efficacy of traditional Chinese medicine treatments based on the differentiation of symptoms and signs on gastrointestinal function disorder after cardiovascular surgery

Li-Hong Ma, Jia-Zhen Qu, Rui-Hua Zhang

Li-Hong Ma, Jia-Zhen Qu, Rui-Hua Zhang, Department of Chinese Medicine, Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100037, China

Correspondence to: Li-Hong Ma, Cardiovascular Institute and Fuwai Hospital Chinese Academy of Medical Sciences, 167 North Lishi Road, Xicheng District, Beijing 100037, China. mlh4463@163.com

Received: 2007-11-05 Revised: 2008-03-03

Abstract

AIM: To study the way and summarize the therapeutic effect of syndrome differentiation-based Chinese medicine treatments on gastrointestinal function disorder after cardiovascular surgery.

METHODS: This study included a group of 80 patients with gastrointestinal function disorder after cardiovascular surgery, who were treated by traditional Chinese medicine based on the differentiation of symptoms and signs.

RESULTS: Of the 80 patients, 46 ones showed excellent efficacy and 31 ones exhibit general efficacy. No effectiveness was found in 3 patients. The total effective rate of the treatment by traditional Chinese medicine was 96.25%.

CONCLUSION: Treatment based on the differentiation of symptoms and signs can improve the gastrointestinal function of patients after car-

diovascular surgery and reduce the in-hospital time.

Key Words: Gastrointestinal function disorder; Cardiovascular surgery; Traditional Chinese medicine; Differential treatment

Ma LH, Qu JZ, Zhang RH. The way and therapeutic efficacy of traditional Chinese medicine treatments based on the differentiation of symptoms and signs on gastrointestinal function disorder after cardiovascular surgery. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 784-786

摘要

目的: 总结心脏病术后胃肠功能紊乱的中医辨证思路和临床疗效。

方法: 对2001-2006年心血管病手术后消化功能紊乱而进行中医辨证治疗的80例患者的临床资料进行回顾性分析, 评价治疗前后临床症状改善及转归。

结果: 80例术后消化功能紊乱患者经中医辨证治疗后, 显效46例, 有效31例, 无效3例, 总有效率为96.25%。

结论: 中医辨证治疗对心脏病术后消化功能紊乱具有较好疗效, 促进术后患者心功能的恢复, 缩短住院时间, 具有重要的临床意义。

关键词: 消化功能紊乱; 心血管外科手术; 中医; 辨证治疗

马丽红, 曲家珍, 张瑞华. 心脏病术后胃肠功能紊乱的中医辨证思路和疗效. *世界华人消化杂志* 2008; 16(7): 784-786
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/784.asp>

0 引言

术后消化功能紊乱是心脏病术后常见的并发症, 患者出现上腹部不适或疼痛、厌食、口干难忍、恶心或呕吐、呃逆、腹胀、便秘或腹泻等症, 直接影响手术的成功和患者各脏功能的恢复^[1], 导致患者术后住院时间延长。目前胃肠功能障碍在危重症中的重要性越来越受到重视, 被认为是多器官功能障碍的始发因素之一^[2]。

同行评议者
季国忠, 主任医师,
南京医科大学
第二附属医院

因此采用有效措施预防和治疗心脏病术后消化功能紊乱, 对患者的手术疗效和恢复具有重要意义。目前, 可使用的有关西药很多, 但疗效并不满意, 我们根据中医辨证施治, 收到较好疗效, 现报道如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2001-05/2006-05我院外科接受手术治疗的心血管病患者80例, 男52例, 女28例; 年龄5-79(平均51.23)岁。心脏瓣膜病31例, 其中风湿性心脏病27例, 二尖瓣脱垂2例, 主动脉瓣关闭不全2例; 先天性心脏病10例, 其中室间隔缺损5例, 房间隔缺损4例, 主动脉缩窄1例; 冠状动脉粥样硬化性心脏病35例, 主动脉夹层2例; 扩张型心脏病2例。行瓣膜置换、修补及环缩术者31例, 冠状动脉旁路移植术35例, 室间隔缺损修补术5例, 房间隔缺损修补术4例, 人工血管替换术2例, 心脏移植2例。

参考1995年版《中药新药临床研究指导原则》^[3]和上海中医学院主编的《内科学》中医辨证分为四型: 胃阴不足型(32例): 证见呃逆急促, 纳呆厌食, 胃脘灼热或隐痛, 口干咽燥, 大便秘结, 五心烦热、舌红绛少苔或无苔, 脉细数。脾胃虚弱型(19例): 证见不思饮食, 气短乏力, 暖气或胃脘隐痛, 食后腹胀, 便溏或排便费力, 但并不干结, 舌淡红苔薄白, 脉细弱或结代。脾虚湿阻型(18例): 证见纳呆食少, 脘腹痞满, 暖气恶心, 口黏或口苦, 气短乏力, 大便不畅或失禁, 舌淡苔白厚腻, 脉滑。肝胃不和型(11例): 证见胃脘及胸胁胀满, 呃逆频作, 嘈杂泛酸, 恶心或呕吐, 失眠多梦, 大便无规律, 舌红苔白, 脉弦。

1.2 方法 手术在全身麻醉、低温、体外循环下进行, 术后常规给予强心、利尿、扩血管、抗凝以及抗感染治疗, 80例患者均手术成功。术后3-4 d出现不同程度的上腹部不适或疼痛、或烧灼感、厌食、口干难忍、恶心、或呕吐、呃逆、腹胀、便秘或腹泻等消化功能紊乱症状, 给予吗叮啉, 或调整常规用药, 停用对胃肠有刺激的药物, 症状仍不缓解, 中医治疗时为术后5-26 d, 平均11.6 d。胃阴不足型: 治以养阴润燥和胃, 以益胃汤加减。药用太子参20 g, 沙参15 g, 麦冬20 g, 玉竹10 g, 生熟地各20 g, 白术10 g, 茯苓15 g, 丁香6 g, 苡仁20 g, 山药15 g, 焦三仙30 g, 桔梗6 g, 生甘草6 g。脾胃虚弱型: 治以益气健脾和胃, 以补中益气汤加减。药用黄芪30 g, 西洋参3 g, 白术9 g, 陈皮10 g, 甘草6 g, 当归10 g, 柴胡6 g, 升麻6 g, 麦冬12 g。脾虚湿阻型: 治以健脾祛湿, 理气和

胃, 以丁香透膈散合四君子汤加减。药用党参12 g, 白术10 g, 茯苓15 g, 木香6 g, 砂仁6 g, 丁香6 g, 苡仁20 g, 山药15 g, 焦三仙30 g, 陈皮9 g, 藿香10 g, 佩兰10 g, 苏梗6 g。肝胃不和型: 治以疏肝和胃, 降逆止吐。方用逍遥散合旋复代赈汤加减。药用旋复花10 g, 代赈石12 g, 太子参15 g, 白术10 g, 茯苓10 g, 柴胡6 g, 郁金10 g, 炙甘草6 g。每剂中药水煎150 mL, 分2次温服, 7 d为1个疗程。在中药治疗期间, 患者常规给予强心、利尿、扩血管及抗凝治疗, 剂量与服药方法不变。

2 结果

疗效判定标准参考1995年版《中药新药临床研究指导原则》^[3]制定: 治疗1个疗程后, 临床症状消失或改善两级以上, 舌象趋于正常, 为显效; 症状减轻, 较治疗前改善一级以上, 舌苔脉象异常仍存为有效; 未达到有效及显效标准者为无效。80例患者, 显效46例, 有效31例, 无效3例, 总有效率为96.25%。

3 讨论

尽管近年来心脏外科手术技术的提高和方法的改进, 使许多心血管系统疾病得到根治或改善, 尤其是心脏移植术的成功, 为许多重度心衰患者带来了福音, 患者存活时间延长, 生活质量明显提高, 死亡率显著下降^[4]。但是, 因心脏外科手术通常是在全身麻醉、低温、体外循环非生理状态下进行, 患者的生理功能受到一定的干扰, 对全身的内环境有较大的影响, 甚至在心脏泵血功能已恢复正常后, 这些影响在相当一段时间内仍持续存在, 因而常出现一些与手术相关的并发症, 术后消化功能紊乱是最常见的术后并发症之一, 直接影响手术的成功和患者各脏器功能的恢复^[1]。

由于体外循环时间过长, 治疗药物对胃肠道的刺激, 术后大量抗生素的应用引起肠道菌群失调, 术中、术后缺氧, 心功能不全引起消化道淤血, 消化功能紊乱在接受心脏术后患者中并不少见, 常引起严重的不良后果, 如电解质紊乱、延迟口服药治疗、饮食摄入和脱水等^[5]。直接影响心脏功能的恢复。临床上多应用西药对症治疗, 包括促胃肠动力、保护胃黏膜、抑酸、抗幽门螺旋杆菌、抗焦虑和抗抑郁等治疗, 有一定的疗效, 但长期应用副作用多^[6]。

消化功能紊乱属于中医学之“噎逆”、“胃脘痛”、“虚秘”和“泄泻”等范畴, 中医辨证治疗多年来积累了丰富的经验^[7], 且具有

应用要点
中医辨证治疗对心脏病术后消化功能紊乱具有较好疗效, 可促进术后患者心功能恢复, 缩短住院时间。

同行评价
本研究具有祖国医学特色,类似报道不多,对促进心脏术后患者心功能恢复,缩短住院时间,具有一定的临床意义。

规范的中医诊疗标准^[8],临床辨证与辨证相结合,方法灵活^[9],疗效显著,且副作用小^[10]因而具有明显的优势。由于心脏手术的特殊性,心脏病术后患者元气大伤、宗气大泄、伤阴动血、痰湿食滞内生,与常见的消化功能紊乱的患者病因病机不同。根据中医理论,本病以气阴两虚为本,气滞湿阻为标。治以益气健脾、养阴润燥、理气和胃为总则。我们对80例术后消化功能紊乱患者进行中医辨证治疗,能显著缓解患者术后出现的上腹部不适或疼痛、或烧灼感、厌食、口干难忍、恶心、或呕吐、呃逆、腹胀、便秘或腹泻等症,保证正常术后药物和营养摄入,改善电解质紊乱,促进心功能的恢复,从而缩短患者的住院时间,具有重要临床意义。

4 参考文献

- 1 吴英恺,王一山,李平,林训生.国际心胸外科实践.第1版.上海:上海科学技术出版社,1988:87-135
- 2 焦增绵,于全俊.中西医临床心血管病学.北京:中国中医药出版社,2000
- 3 中药新药临床研究指导原则.中华人民共和国卫生部颁布 1993:1
- 4 吴兆苏,赵冬.世纪之交的心血管流行病学和人群防治研究.中华心血管病杂志 1998; 26: 83
- 5 朱晓东,薛淦兴.心脏外科指南.第1版.北京:世界图书出版公司,1990:558-576
- 6 张煜.中医治疗功能性消化不良述评.实用中医药杂志 2005; 21: 45
- 7 周保国.中医治疗功能性消化不良进展概况.内蒙古医药 2003; 4: 36-37
- 8 张生声,汪红兵,李乾构.功能性消化不良中医诊治规范(草案).中国中西医结合消化杂志 2002; 4: 194
- 9 刘鸿慧,王垂杰.功能性消化不良的中医治疗述评.辽宁中医学院学报 2004; 6: 101-102
- 10 赵荣莱,沈惠安.功能性消化不良中医治疗进展.中国中西医结合脾胃杂志 1998; 6: 254-256

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界胃肠病学杂志社

• 消息 •

世界华人消化杂志电子杂志的开放存取出版

本刊讯 《世界华人消化杂志》采取开放存取出版方式,自1995年起,发表的文章可以在线免费阅读全文(<http://www.wjgnet.com/1009-3079/index.jsp>).自2003-04-15至2007-12-31,电子版的点击次数为21762951,平均每天点击12743次.总下载次数280505,平均每天下载164次.(世界胃肠病学杂志社 2008-03-08)

ERCP中十二指肠镜下胆管腔内超声胆管取石的应用价值

文卫, 王敏, 范志宁, 蒋国斌, 吴萍

文卫, 王敏, 范志宁, 蒋国斌, 吴萍, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心 江苏省南京市 210011
作者贡献分布: 范志宁与文卫对此文所作贡献均等; 此课题由范志宁, 文卫, 王敏、蒋国斌及吴萍设计; 数据分析由文卫、王敏、蒋国斌及吴萍完成; 本论文写作由文卫, 王敏完成。
通讯作者: 范志宁, 210011, 江苏省南京市姜家园121号, 南京医科大学第二附属医院消化医学中心。
fanzhining@hotmail.com
电话: 025-58509932 传真: 025-58509931
收稿日期: 2007-09-27 修回日期: 2008-02-18

Applicative value of intraductal ultrasonography in the removal of calculus by endoscopic retrograde cholangiopancreatography

Wei Wen, Min Wang, Zhi-Ning Fan, Guo-Bin Jiang, Ping Wu

Wei Wen, Min Wang, Zhi-Ning Fan, Guo-Bin Jiang, Ping Wu, Digestive Medical Centre, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China
Correspondence to: Zhi-Ning Fan, Digestive Medical Centre, the Second Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, 121 Jiangjiayuan, Nanjing 210011, Jiangsu Province, China. fanzhining@hotmail.com
Received: 2007-09-27 Revised: 2008-02-18

Abstract

AIM: To discuss the value of intraductal ultrasonography (IDUS) in removing calculus by endoscopic retrograde cholangiopancreatography (ERCP).

METHODS: One hundred patients with suspected extrahepatic bile duct stones were included in this study. ERCP was performed first and then IDUS was followed through endoscopic working channel to detect extrahepatic bile duct; finally the substance in extrahepatic bile duct was proved by endoscopic sphincterotomy (EST) and stone extraction. For the patients whose calculus was removed by galet basket, IDUS was performed again.

RESULTS: Of the 100 patients, bile duct stones were found in 93 cases, and cancer embolus, floccule, gas and Mirrizzi syndrome were found

in 1 case respectively. No stones were found in 3 cases. Stones of 37 cases were extracted by galet basket and retained stones were found in 3 cases after ERCP. By ERCP, ninety-two cases were diagnosed with bile duct stones, 3 cases suspected, and 5 cases without stones and the final result showed that 3 cases were misdiagnosed. So the accuracy and sensitivity of ERCP were 97% and 94.8% respectively. By IDUS, no misdiagnosis and missing diagnosis occurred. So the accuracy and sensitivity of IDUS in the diagnosis of extrahepatic bile duct stones were 100% and 100% respectively.

CONCLUSION: IDUS can compensate the visual error of ERCP on extrahepatic bile duct stones. IDUS is superior to ERCP in the diagnosis extrahepatic bile duct stones, especially cholangiectasis and Mirrizzi syndrome. Besides, IDUS can prevent retained stones after ERCP.

Key Words: Bile duct; Extrahepatic; Calculus; Endoscopic retrograde cholangiopancreatography; Endoscopic ultrasonography

Wen W, Wang M, Fan ZN, Jiang GB, Wu P. Applicative value of intraductal ultrasonography in the removal of calculus by endoscopic retrograde cholangiopancreatography. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 787-791

摘要

目的: 讨论十二指肠镜下胆管腔内超声(IDUS)在内镜逆行胆胰管造影(ERCP)胆管取石术中的应用价值。

方法: 临床怀疑肝外胆管结石的患者100例, 先进行ERCP, 再行IDUS探查, 而后行乳头切开取石, 并对应用碎石网篮取石的患者取石后再次行IDUS检查。

结果: 胆管结石93例, 癌栓1例, 胆管絮状物1例、气体及Mirrizzi综合征各1例, 无结石3例。胆管结石中37例应用碎石网篮取石, ERCP取石后仍残余结石3例。ERCP下诊断结石92例, 可疑3例, 无结石5例, 最后结果表明误诊3例, 其诊断结石的准确率和敏感性分别为97%、

背景资料
胆管结石可以导致一系列的严重并发症, 如胆管炎、胰腺炎等, 随着内镜技术的不断发展, 目前内镜方法治疗胆管结石已经成为胆管结石的主要和首选的方法。内镜逆行胆胰管造影(ERCP)对肝外胆管结石诊断的准确率可达90%以上, 优于US、CT和MRI, 但受操作者和造影剂浓度等因素影响较大。

同行评议者
张宗明, 教授, 清华大学第一附属医院消化医学中心

相关报道
随着内镜技术的发展, IDUS在临床应用逐渐增加, 目前在胆道狭窄的应用相对较多, 对于ERCP取石的应用报道不多。

94.8%; 而IDUS无漏诊及误诊, 其诊断结石的准确率、敏感性均为100%和100%。

结论: IDUS可弥补ERCP的视觉误差且在确定胆管结石方面优于ERCP, 尤其是在胆管扩张和Mirrizzi综合征时, 同时可以预防ERCP胆管取石术中残余结石的发生。

关键词: 胆管; 肝外; 结石; 内窥镜逆行胰胆管造影术; 腔内超声检查

文卫, 王敏, 范志宁, 蒋国斌, 吴萍. ERCP中十二指肠镜下胆管腔内超声胆管取石的应用价值. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 787-791

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/787.asp>

0 引言

胆管结石可以导致一系列的严重并发症, 如胆管炎、胰腺炎等, 随着内镜技术的不断发展, 目前内镜方法治疗胆管结石已经成为胆管结石的主要和首选的方法^[1]. 内镜逆行胆胰管造影(endoscopic retrograde cholangiopancreatography, ERCP)对肝外胆管结石诊断的准确率可达90%以上, 优于US、CT和MRI, 但受操作者、造影剂浓度等因素影响较大. 而胆管腔内超声检查(intraductal ultrasonography, IDUS)则可消除以上因素的影响. 目前IDUS诊断肝外胆管结石技术国内相关报道不多, 为此我们对100例临床怀疑肝外胆管结石的患者进行了IDUS检查, 并与ERCP结果进行对照如下。

1 材料和方法

1.1 材料 2005-11/2007-03临床上有腹痛、黄疸和发热等表现并经腹部B超和/或CT、MRI等检查确定或怀疑有肝外胆管结石的患者100例, 按照随机入选原则进行了ERCP与胆管IDUS的对照研究, 男78例, 女22例, 年龄19-86(平均年龄58.5)岁. 侧视十二指肠镜(Olympus TJF-240), 微型超声探头Olympus UM-G20-29R导管式探头, 频率20 MHz.

1.2 方法 所有患者均采用经内镜下十二指肠乳头插管的方式进行胆管检查. 患者取俯卧位, 术前常规im安定10 mg、解痉灵20 mg, im或iv杜冷丁50 mg. 先进行ERCP检查, 记录ERCP造影结果, 再自活检孔道将超声微探头经十二指肠乳头插入胆管探查, 并在X线下确定探头的位置, 记录超声结果. 对于需要用碎石网篮碎石的患者在取石后再次应用IDUS探查, 并记录超声

结果. ERCP确定胆管腔内内容物的方法^[2]: (1)胆管结石: 造影见继发性结石多为小的圆形或类圆形充盈缺损, 原发性结石可为柱状或不规则状充盈缺损, 轮廓较清晰, 形态不变、可有棱角, 上下活动. 变动患者的体位时充盈缺损影大小不变并可向体位低侧移动; (2)胆管积气: 造影见胆管腔内的充盈缺损可单发, 也可成串, 成簇, 圆形或椭圆形, 边缘光滑, 无棱角, 触之可变形, 或大小数量发生改变, 变动患者的体位时充盈缺损影常向体位高侧移动, 单发者尤其应与结石鉴别; (3)絮状物: 不规则充盈缺损, 形状可变化, 变动患者的体位时充盈缺损影大小发生变化, 但不自行下沉; (4)胆管内癌栓: 多位于肝门部胆管内, 位置相对固定不动, 为“膨胀性”充盈缺损影, 形态不规则, 边缘尚清楚, 质地软, 触之可轻度变形, 病变以上肝内胆管急性扩张, 以下胆管无扩张. IDUS确定胆管内容物的方法: (1)胆管结石: 可见胆管腔内强回声, 后伴声影, 且该物质与胆管壁分界清楚; (2)胆管积气: 探头周围环形强回声, 其后超声波完全衰减; (3)絮状物: 片状强回声, 后无声影; (4)Mirrizzi综合征: 可见胆管腔外强回声, 后伴声影, 且该物质与胆管间可见胆管壁及胆囊管壁的超声结构; (5)胆管内癌栓: 肿瘤起源于胆管壁, 多呈低回声向胆管腔内隆起, 边界清楚, 肿瘤内部回声不均匀. 乳头切开胆管探查: 对ERCP和(或)IDUS考虑或怀疑胆管腔内存在实性物质的患者, 进行乳头切开, 并用网篮套取胆管腔内物质, 再用取石球囊清理胆管, 在内镜下观察取出物性状. 腹腔镜下胆囊切除术: 对IDUS怀疑Mirrizzi综合征患者, 进行腹腔镜下胆囊切除术。

统计学处理 使用SPSS11.0统计软件包进行统计学处理, $P < 0.05$ 差别有统计学意义。

2 结果

胆管结石93例, 癌栓1例, 胆管絮状物1例; 胆管积气1例, 此患者乳头上有瘘口; Mirrizzi综合征1例. 胆管内无结石3例. 应用碎石网篮取石37例, 在取石气囊清理胆道后仍有3例残留结石. ERCP检查认为肝外胆管结石92例, 怀疑结石3例, 无结石5例. 在92例ERCP诊断为结石的患者中, 患者经取石确定为结石91例, 癌栓1例; 怀疑结石3例中絮状物1例, 经取石确定为积气1例, 经腹腔镜胆囊切除术证实为Mirrizzi综合征1例; ERCP诊断为无结石的5例患者中取石结果为结石2例, 故ERCP共误诊3例. ERCP诊断的准确率

表 1 100例患者ERCP和IDUS诊断结果

	胆管 结石	胆管 癌栓	胆管 絮状物	胆管 积气	Mirrizzi 综合征	无结石
ERCP +	91	0	0	0	1	3
-	2	1	1	1	0	0
IDUS +	93	1	1	1	1	3
-	0	0	0	0	0	0

和敏感性分别为97.0%(97/100)和94.8%(92/97)。

应用IDUS诊断患者共100例137次。IDUS诊断结石96例(包含ERCP术后残留结石3例), 癌栓1例, 胆管絮状物1例, 胆管积气1例, Mirrizzi综合征1例, 与乳头切开取石和腹腔镜胆囊切除术结果完全一致。其诊断的准确率和敏感性分别为100.0%(137/137) 和100.0%(134/134)。

ERCP与IDUS的结果不同9例。ERCP认为是结石1例, 而IDUS发现为癌栓; 怀疑结石的3例中絮状物1例, 经取石确定为积气1例, 经腹腔镜胆囊切除术证实为Mirrizzi综合征1例。其中ERCP未发现结石2例, 而IDUS发现结石, 并经取石证实为结石; 另外还有巨大结石3例, 给予碎石网篮碎石后取出结石并取石气囊清理胆道后造影未见明显结石, 但经IDUS复查时发现残余结石。

对100例患者ERCP和IDUS诊断结果采用2个相关样本的Wilcoxon方法进行比较, 结果 $P = 0.025$, 统计量 $z = 2.236$, 说明IDUS与ERCP的诊断结果差异有统计学意义($P < 0.05$)(表1); 对37例经碎石取石患者ERCP和IDUS诊断残余结石的灵敏度经过计算: $P = 0.12$ (单侧), 统计量 $z = 1.732$, 说明IDUS与ERCP诊断残余结石的灵敏度差异有统计学意义($P < 0.05$)(表2); 对100例患者ERCP和IDUS准确率和敏感性的比较: $P = 0.035$ (单侧), 统计量 $z = 1.81$, 说明IDUS与ERCP对于胆管结石的诊断在准确率和敏感性上差异有统计学意义($P < 0.05$)(表3)。

3 讨论

自20世纪70年代ERCP用于临床以来, 一直作为肝外胆管结石诊断的金标准, 叶震世 *et al*^[3]报道其诊断胆总管结石的准确率可达96.9%。但ERCP得到的是胆管的间接影像, 对胆管内容物的判定是依其形状和造影剂的对比而定, 故影响ERCP对结石判断的因素主要有: (1)结石的性质及大小; (2)胆管扩张程度; (3)操作者经验; (4)造影剂浓度及推注速度; (5)胆道气体; (6)X线机

表 2 37例经碎石取石患者ERCP和IDUS诊断结果

	有结石	无结石
ERCP	34	3
IDUS	37	0

表 3 100例患者ERCP和IDUS准确率和敏感性的

	ERCP	IDUS
准确率	97%	100%
敏感性	94.8%	100%

质量等。由于以上因素的影响, 可能造成ERCP对于与造影剂对比度较差的结石(尤其是小结石及泥沙样结石), 或胆管积气、气泡等作出错误诊断。本组病例中ERCP诊断的准确率和敏感性分别为97%和94.8%。

IDUS是以微型超声探头插入胆总管扫查, 能清晰显示胆总管及十二指肠乳头的解剖, 如胆管壁的层次、厚度、肿瘤及结石等, 有文献报告^[4-6]其敏感性100%, 特异性75%, 准确性88.9%, 是确定胆管结石更准确的方法, 并且无论肝外胆管内径是否狭窄或扩张均对其无明显影响。

Moon *et al*^[7]报道了32例怀疑为急性胆源性胰腺炎的患者, ERCP与IDUS对胆管结石的诊断准确率分别为90.0%和95.0%。Stavropoulos *et al*^[8]对4例重症患者在ICU病房内, 在没有X线的情况下应用IDUS定位进行ERCP取石取得成功。Das *et al*^[9]在1303例行ERCP诊治的患者中, 对125例ERCP诊断不明确的患者应用IDUS进行进一步诊断, 对胆管结石的诊断正确率是95%。IDUS更正ERCP诊断28例, 占24%。我们采用IDUS进行诊断, 并与乳头切开探查取石及腹腔镜胆囊切除术的结果进行对照, 其诊断的准确率和敏感性均为100%。本组病例中IDUS更正ERCP诊断9例, 占9%。

ERCP对胆管内絮状物的判定是依靠胆管内絮状物的不规则形状在检查时发生变化而确定的, 本组胆管内絮状物1例, 位于肝总管, 检查中因其形状无明显变化, 故ERCP判定为结石, 而IDUS是对胆管内容物的质地进行探查, 术中发现该物质为片状强回声, 后方无声影。因此, 确定其为絮状物, 取出的物质证明IDUS诊断正确。胆管积气的患者1例, 术中见该患者乳头部有一漏口, 气体积于肝外胆管中段, 容易给ERCP的

应用要点
本文对Mirrizzi综合征的患者用IDUS进行鉴别诊断, 降低了临床中对该病的误诊率, 同时本文对ERCP误诊及漏诊后经IDUS证实的原因一一说明, 有助于指导临床。

名词解释
胆管腔内超声检查(IDUS): 是以微型超声探头经十二指肠侧视镜插入胆总管扫描, 能清晰显示胆总管及十二指肠乳头的解剖, 如胆管壁的层次、厚度、肿瘤及结石等。

诊断造成错觉, IDUS探头置于胆总管中段, 表现出超声波完全衰减征象, 因此考虑为积气, 用网篮全张开通过该段, 网篮没有遇到阻力, 用大球囊清理胆道, 并置球囊于胆管开口造影, 造影剂完全充填胆管腔, 证实了胆管积气。Wehrmann *et al*^[10]也报道了在ERCP中应用IDUS能提高ERCP对胆道气体鉴别能力。

Mirrizzi综合征是由于长期胆囊结石压迫, 造成肝总管或胆总管管壁受压或缺损, 引起胆道梗阻, 发生梗阻性黄疸。假如术前没有明确诊断, 可能导致发病率和死亡率的增高。ERCP是诊断Mirrizzi综合征的金标准, 可提供Mirrizzi综合征的病因、程度和胆道梗阻范围以及包括胆瘘的胆道畸形^[11], 但当胆囊管与肝总管或胆总管在前后位置上重叠, ERCP可造成视觉上的错觉, 误将胆囊管结石判断成胆总管结石。IDUS对此有明显的优势, 能提供高清晰的胆管以及胆管外临近结构图像, 准确判断结石与胆管的关系。Wehrmann *et al*^[12]报道IDUS对Mirrizzi综合征的敏感性是97%, 特异性是100%。本组Mirrizzi综合征1例, ERCP显示胆总管内一充盈缺损, 诊断为胆总管结石, 但网篮无法抓住结石。而IDUS可见胆管腔外强回声, 后伴声影, 且该物质与胆管间可见胆管壁及胆囊管壁的超声结构, 诊断为Mirrizzi综合征, 后经外科手术证实。

ERCP误诊3例, 1例是结石较小, 胆管扩张, 胆管内充满造影剂后, 掩盖了结石, Tseng *et al*^[5]和Tamada *et al*^[13]也报道过此类情况; 另1例结石位于胆管末段, 而此患者为憩室旁乳头, 末段胆管位于憩室内, 在造影时, 憩室内的气体掩盖了结石所形成的充盈缺损, 造成了该部分的视觉误区, 在ERCP下没有显出结石, 但IDUS发现了结石。还有1例是将癌栓误诊为结石。此例癌栓在造影下表现为形态不规则, 边界尚清楚, 胆总管扩张约2.5 cm, 癌栓大小约2.0 cm, 可随造影剂波动, ERCP显示充盈缺损, 位于肝门部, 误认为是结石, 但在IDUS下显示低回声, 起源于胆管壁。探头反复探查, 可见胆管壁的连续性被破坏, 并可显示肿瘤表面不规则, 网篮取出鱼肉样物质, 活检为癌栓。对于ERCP网篮不易取出的结石, 当其位置相对固定不动或移动的幅度较小时, 更适合行IDUS检查, 以防止网篮误将癌栓取出而造成胆道大量出血。

目前临床上常用的取石气囊在注气的情况下直径是1.8 cm。当胆总管扩张大于1.8 cm时, 气

囊在清理胆管时对于小的结石可能无法清理干净而造成ERCP取石术后残余结石的发生, 增加患者痛苦。本组ERCP漏诊的另3例患者均属于类似情况。3例患者均为胆总管扩张(2-3.5 cm)并巨大结石, 给予碎石网篮碎石后取出结石并取石气囊清理胆道后造影未见明显结石。但经IDUS确诊时发现了结石, 并再次应用8线网篮取出结石得以证实。我们认为尤其对于应用碎石网篮碎石后取出结石但取石气囊直径小于胆总管直径时, 应常规行IDUS检查, 从而避免小的结石残留而增加患者的痛苦。此外, 在整个检查过程中, Ahlawat *et al*^[11]报道IDUS的操作时间为8±3 min, 本组病例IDUS的操作时间是6±2 min, 我们操作时间较短可能与本组病例主要是单纯胆管结石有关。但总体而言, IDUS的操作时间在ERCP操作时间中所占比例较短, 因此不会因检查时间过长而增加患者的痛苦。

通过以上研究, 我们认为IDUS可弥补ERCP的视觉误差, 他对肝外胆管结石的诊断准确率高于ERCP, 如果将ERCP和IDUS联合使用, 可提高肝外胆管结石判定的准确率, 与文献报道相同^[8,14], 并且可以避免ERCP术中的误诊、漏诊以及残余结石的发生, 减少患者的痛苦。

4 参考文献

- 1 王东, 李兆申, 张文俊, 潘雪, 孙振兴, 邹晓平. 急性胆源性胰腺炎内镜治疗疗效及安全性. 世界华人消化杂志 2003; 11: 1550-1553
- 2 胡冰, 周岱云, 龚彪. ERCP临床诊疗图解. 第1版. 上海: 上海科学技术出版社, 2004: 32
- 3 叶震世, 钟燕, 吴艳环, 郭明玉, 蔡志萍, 任建林. ERCP对梗阻性黄疸病因的诊断价值. 世界华人消化杂志 2004; 12: 1748-1749
- 4 Menzel J, Hoepffner N, Sulkowski U, Reimer P, Heinecke A, Poremba C, Domschke W. Polypoid tumors of the major duodenal papilla: preoperative staging with intraductal US, EUS, and CT--a prospective, histopathologically controlled study. *Gastrointest Endosc* 1999; 49: 349-357
- 5 Tseng LJ, Jao YT, Mo LR, Lin RC. Over-the-wire US catheter probe as an adjunct to ERCP in the detection of choledocholithiasis. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 720-723
- 6 Krishna NB, Saripalli S, Safdar R, Agarwal B. Intraductal US in evaluation of biliary strictures without a mass lesion on CT scan or magnetic resonance imaging: significance of focal wall thickening and extrinsic compression at the stricture site. *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 90-96
- 7 Moon JH, Cho YD, Cha SW, Cheon YK, Ahn HC, Kim YS, Kim YS, Lee JS, Lee MS, Lee HK, Shim CS, Kim BS. The detection of bile duct stones in suspected biliary pancreatitis: comparison of MRCP, ERCP, and intraductal US. *Am J Gastroenterol* 2005; 100: 1051-1057
- 8 Stavropoulos S, Larghi A, Verna E, Stevens P.

- Therapeutic endoscopic retrograde cholangiopancreatography without fluoroscopy in four critically ill patients using wire-guided intraductal ultrasound. *Endoscopy* 2005; 37: 389-392
- 9 Das A, Isenberg G, Wong RC, Sivak MV Jr, Chak A. Wire-guided intraductal US: an adjunct to ERCP in the management of bile duct stones. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 31-36
- 10 Wehrmann T, Martchenko K, Menke D, Lange P, Stergiou N. Clinical value of intraductal ultrasonography for clarification of confusing ERCP results. *Dtsch Med Wochenschr* 2003; 128: 863-869
- 11 Ahlawat SK, Singhania R, Al-Kawas FH. Mirizzi syndrome. *Curr Treat Options Gastroenterol* 2007; 10: 102-110
- 12 Wehrmann T, Riphaut A, Martchenko K, Kokabpick S, Pauka H, Stergiou N, Frenz MB. Intraductal ultrasonography in the diagnosis of Mirizzi syndrome. *Endoscopy* 2006; 38: 717-722
- 13 Tamada K, Ohashi A, Tomiyama T, Wada S, Satoh Y, Higashizawa T, Ido K, Sugano K. Comparison of intraductal ultrasonography with percutaneous transhepatic cholangioscopy for the identification of residual bile duct stones during lithotripsy. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 100-103
- 14 Domagk D, Wessling J, Reimer P, Hertel L, Poremba C, Senninger N, Heinecke A, Domschke W, Menzel J. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography, intraductal ultrasonography, and magnetic resonance cholangiopancreatography in bile duct strictures: a prospective comparison of imaging diagnostics with histopathological correlation. *Am J Gastroenterol* 2004; 99: 1684-1689

同行评价
本文有较好的科学性, 创新性和可读性, 有较好的临床应用价值。

编辑 程剑侠 电编 郭海丽

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2008年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志作者修改稿 增加科学新闻稿的内容

本刊讯 论文有一个供本专业以外的读者阅读的中英文科学新闻稿, 与文章正文分开, 篇幅可以达到1000以内, 其中摘要75字以内. 这个科学新闻稿, 不含数字, 缩写, 首字母缩略语或计量单位, 除非特别重要. 他含有对研究工作的背景和原理所做的一个简短的介绍, 接下来是对主要结论的一个陈述, 陈述部分以"Here we show"或相似的语句开始. 有趣的辅助性图片对科学新闻稿也是很有帮助的.

科学新闻稿发布在EurekAlert/AAAS新闻中心(<http://chinese.eurekalert.org/zh/index.php>). EurekAlert! 中文版是由美国科学协会(AAAS)主办的一项联机全球的新闻服务. EurekAlert! 中文版, 向大学、医疗中心、期刊、政府机构、企业和其他机构提供一个信息发布中心的服务. 该机构可通过EurekAlert! 中文版向媒体发布新闻. EurekAlert! 中文版还向公众, 提供新闻和信息来源. EurekAlert! 中文版新闻涵盖所有科学、医学和技术领域. 该中心为922个学术机构(包括世界华人消化杂志)提供科学新闻, 并即刻传达给世界各地的5400位注册记者. 这意味着您的工作会引起世界上所有主流媒体机构的关注, 他们也许会选择在报纸或其他媒体中对您的工作进行特别报道.

我们的新闻发布服务将包括通讯作者的详细联系方式, 重要基金资助论文及文章的文献出处著录和网页链接的信息. (总编辑: 马连生 2008-03-08)

APACHE II 评分系统在重症急性胰腺炎预后评估中的应用

樊景云, 黄宗文, 郭佳, 何馥倩, 陈燕, 马悦

背景资料
急性胰腺炎(AP)是常见的内外科急腹症之一。20%-30%的AP患者进展为以病程长、器官衰竭及胰腺坏死为特点的重症急性胰腺炎(SAP)。SAP病因复杂,病情危重,并发症多,预后不良。尽管近年对SAP的病理生理机制认识和治疗水平已有较大进展,病死率仍高达10%-30%。寻找临床中早期判断病情、准确推测预后并将病情严重度量化的方法,有利于指导临床科学选择治疗方案,降低病死率。

樊景云, 黄宗文, 郭佳, 何馥倩, 陈燕, 马悦, 四川大学华西医院中西医结合科 四川省成都市 610041
四川省科技厅攻关资助项目, No. 04SG022-016-07
作者贡献分布: 樊景云和黄宗文对本文贡献均等; 此课题由樊景云、黄宗文、郭佳设计; 研究过程由樊景云、黄宗文、郭佳、何馥倩、陈燕、马悦操作完成; 数据收集由樊景云、黄宗文、郭佳完成; 论文撰写由樊景云、黄宗文完成。
通讯作者: 黄宗文, 610041, 四川省成都市, 四川大学华西医院中西医结合科. huangzongwen@medmail.com.cn
电话: 028-85422556
收稿日期: 2007-11-28 修回日期: 2008-01-30

Value of APACHE II scoring system in predicting the prognosis of severe acute pancreatitis

Jing-Yun Fan, Zong-Wen Huang, Jia Guo, Fu-Qian He, Yan Chen, Yue Ma

Jing-Yun Fan, Zong-Wen Huang, Jia Guo, Fu-Qian He, Yan Chen, Yue Ma, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China
Supported by: the Science and Technology Department Brainstorm Project of Sichuan Province, No. 04SG022-016-07

Correspondence to: Zong-Wen Huang, Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, Sichuan Province, China. huangzongwen@medmail.com.cn
Received: 2007-11-28 Revised: 2008-01-30

Abstract

AIM: To evaluate the applied value of APACHE II scoring system in predicting the prognosis of severe acute pancreatitis (SAP).

METHODS: Three hundred consecutive SAP patients, admitted into West China Hospital of Sichuan University from 2004 to 2007, were studied retrospectively. Data associated to APACHE II scoring system were recorded. We analyzed the APACHE II score of the patients with various outcome and the relationship between the mortality and APACHE II score on the 1th, 3th and 7th day. The prediction results of dead and survived patients using 8, 9, 10, and 11 scores as the cut off points were also analyzed.

RESULTS: The APACHE II score between the

dead patients or patients with local complication and recovered patients showed significant differences ($P = 0$ and $0.001 < 0.01$). The mortality rate increased with the growing APACHE II score. The APACHE II score of the 1th, 3th and 7th day was positively correlated with mortality rates. And the correlation of the 3th day is the strongest. The APACHE II score within 24 h no less than 10 score is the best cut off point to predict the prognosis of SAP.

CONCLUSION: APACHE II scoring system can dynamically predict the changes of SAP and play a very important role in assessing prognosis and guiding therapy.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Acute physiological and chronic health evaluation II scoring system; Prognosis

Fan JY, Huang ZW, Guo J, He FQ, Chen Y, Ma Y. Value of APACHE II scoring system in predicting the prognosis of severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 792-795

摘要

目的: 探讨急性生理和慢性健康状况评分(APACHE II)系统对重症急性胰腺炎(SAP)患者预后评估的价值。

方法: 回顾2004-2007年四川大学华西医院收治的SAP患者300例临床资料, 进行APACHE II评分, 分析各个结局的APACHE II评分, 计算入院后d 1、3、7的评分与对应的病死率并进行相关分析, APACHE II评分以8、9、10、11分为临界值时对死亡的预测结果。

结果: 死亡和胰腺局部并发症患者APACHE II评分与治愈患者评分相比有差异($P = 0$ 和 $0.001 < 0.01$), 随着APACHE II评分增加, 病死率亦随之增加。患者d 1、3、7的评分和病死率均呈正相关, d 3患者的评分值高低与死亡相关性最高。24 h APACHE II评分10分为临界点时对评估SAP患者预后效果最佳。

结论: APACHE II评分可动态评估患者病情

同行评议者
郭晓钟, 教授, 沈阳军区总医院消化内科

变化, 对预测预后以及指导临床有重要意义。

关键词: 重症急性胰腺炎; APACHE 评分系统; 预后

樊景云, 黄宗文, 郭佳, 何馥倩, 陈燕, 马悦. APACHE 评分系统在重症急性胰腺炎预后评估中的应用. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 792-795

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/792.asp>

0 引言

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)是常见的内外科急腹症之一. 20%-30%的AP患者进展为以病程长、器官衰竭及胰腺坏死为特点的重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)^[1]. SAP病因复杂, 病情危重, 并发症多, 预后不良^[2]. 尽管近年对SAP的病理生理机制认识和治疗水平已有较大进展, 病死率仍高达10%-30%^[3]. 寻找临床中早期判断病情、准确推测预后并将病情严重度量化的方法, 有利于指导临床科学选择治疗方案, 降低病死率. Mortele *et al*^[4]认为一个理想的预后评估方法应能准确鉴别轻症和重症, 使用简单, 方便应用, 研究者的主观偏移小. 1985年华盛顿大学医学中心的Knaus *et al*^[5]提出急性生理和慢性健康状况评分(acute physiological and chronic health evaluation, APACHE II). 目的在于评估疾病严重程度, 加强危重患者的监护. 其监测指标由急性生理学评分、年龄指数和慢性健康指数三部分组成, 前一部分测量并计算12项急性生理指标, 后两者主要反映患者抵御疾病打击的能力. 理论上可完整评价患者全身状况.

APACHE II评分在SAP中的应用国内外已进行过多次研究. 他可回顾性评价, 也可实时记分, 跟踪病情动态变化, 定量反映疾病严重程度, 但APACHE II评分也存在缺点. 他的记分方法, 生理指标采集时间等因素的差异, 影响医院间APACHE II评分的可比性. 随着治疗手段的提高, 对各个评分系统进行再评价, 了解其目前的理想诊断阈值及恰当的预后评估时机非常必要. 本文通过回顾性分析临床资料旨在进一步探讨APACHE II评分系统在临床中对患者预后评估价值.

1 材料和方法

1.1 材料 2004-01/2007-08收治的SAP患者850例, 根据纳入标准及因研究需要共选出住院患者300例. 其平均年龄 $48.21 \pm 13.97(13-83)$ 岁, 男性

175名, 女125名, 男女之比为1.3:1. 胆源性148例占49.33%, 酒精性37例占12.33%, 饮食不当所致69例占23%, 高脂血症41例占13.67%, 产后所致胰腺炎2例, 妊娠、ERCP术后各1例, 病因不明53例, 占17.67%.

1.2 方法

1.2.1 标准: 纳入标准: (1)所有病例均符合中华医学会消化病学分会^[6]2007年制定的SAP诊断标准; (2)所选病例均在发病后3 d内入我院治疗. 排除标准: (1)排除资料不齐的患者; (2)排除其他非病情原因自动出院的患者.

1.2.2 APACHE 评分: APACHE II评分^[5]由急性生理学评分、年龄评分、慢性健康状况评分组成. 选取指标均为测得的最偏离正常值.

1.2.3 治疗及观察指标: 所有患者病程早期均采用中西医结合内科保守治疗. 如患者出现急性呼吸窘迫综合征及时转ICU行呼吸机支持呼吸; 胰腺坏死伴有感染、胰周脓肿以及腹腔室膈综合征、病情危重内科治疗无效者转外科行手术治疗, 出现肾脏功能不全及时行持续性床旁血液滤过净化治疗. 观察结局的指标主要为死亡. 此次出院或死亡为观察截至时间.

统计学处理 利用SPSS15.0软件进行统计分析. 计量资料以 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示, 采用 t 检验. 两变量间相关分析采用直线相关与回归分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 APACHE 评分结果 300例SAP患者入院24 h APACHE II评分为 $0-33(8.72 \pm 6.04)$ 分; 153名患者APACHE II评分大于等于8分. 有32例死亡, 死亡患者入院24 h的APACHE II评分为 $5-33(17.97 \pm 6.43)$ 分; 胰腺局部并发症99例, 其评分为 $0-22(9.05 \pm 4.89)$ 分; 治愈169例评分为 $0-23(6.78 \pm 4.81)$ 分. 结局为死亡、胰腺局部并发症的APACHE II评分与治愈患者的评分均数相比较, 差异有统计学意义($P = 0$ 和 $0.001 < 0.01$).

2.2 APACHE 评分高低与病死率的分析 将每个分值患者的病死率与对应APACHE II评分进行Spearman等级相关性分析, 得出d 1 APACHE II评分高低与病死率的相关系数为0.82, d 3为0.86, d 7为0.6, 故在患者入院7天内APACHE II评分高低与病死率正相关, d 3相关性最强. 将APACHE II评分划分为段, 从0分开始, 每5分为1段, 计算每一个分数段SAP患者、死亡的例数

相关报道
1974年Ranson *et al*提出了急性胰腺炎的严重程度11项预后评分系统. 1981年William *et al*提出了APACHE评分系统, 1985年又提出APACHE 及APACHE 评分系统.

创新盘点

APACHE 评分问世已有二十余年的时间,随着治疗水平的提高,有必要对该评分系统进行再评价以确立其在SAP预后评估中的价值。24 h内APACHE评分临界值取10时对死亡和生存有较好的预测价值。第3天APACHE评分高低与病死率相关性最强。

表 1 APACHE II 评分高低与患者病死率的分布(%)

APACHE II 评分	d 1	d 3	d 7
0-4	0.00	0.88	0.61
5-9	2.15	6.67	5.38
10-14	10.77	19.15	37.50
15-19	24.32	34.78	80.00
20-24	76.92	62.50	75.00
25-29	75.00	66.67	100.00
30-35	100.00	-	-

及其病死率。随着APACHE II评分分值增加,病死率也随之增加(表1)。入院24 h APACHE II评分为14分以上时,患者的病死率剧增,从10.77%迅速增至24.32%;大于19分患者病死率可达76.92%。入院后d 3 APACHE II评分10-14分值段的病死率为19.15%;15-19分病死率增为34.78%。d 7 APACHE II评分在5-9分时病死率为5.38%,10-14分值段病死率激增至37.5%。

2.2 APACHE 对死亡患者的结局评估 分别以8, 9, 10, 11为临界值评价APACHE II评分对死亡患者的结局预测。临界值为8, 9, 10分死亡患者均为30例,临界值11分时死亡患者减为27例。8、9、10分为临界值时敏感性均为93.75%,特异性逐渐增加,10分时为66.79%。以11分为临界点时敏感性降为84.38%,特异性为71.64%。10分时约登指数最高为60.54%。阳性预测值以10分时为25.21%,11分为26.21%,11分时最高。阳性似然比10分时为2.82,11分时为2.98,11分时最高(表2-3)。

3 讨论

本研究以2007年中华医学会消化病学分会制定的SAP诊断标准纳入患者300例,其中第一个24 h内APACHE II评分8分及以上153例,占51%。结局为死亡、胰腺局部并发症的SAP患者APACHE II评分均数与治愈患者相比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。APACHE II评分高低和疾病的预后密切相关。随着APACHE II评分增加,病死率也随之增加。患者病死率与对应的APACHE II评分经Spearman等级相关性分析,得出二者在入院后d 1、3和7的相关系数,均呈正相关,且可看出d 3 APACHE II评分高低与病死率相关性最强。8、9、10分为临界值时敏感性均为93.75%,特异性逐渐增加,10分时为66.79%。以11分为临界点时敏感性降为84.38%,特异性为71.64%。约登指数10分时最高,为60.54%。11

表 2 APACHE II 评分各临界值时SAP患者的主要结局(n)

APACHE II 评分	死亡	生存	合计
8	30	123	153
0-7	2	145	147
9	30	103	133
0-8	2	165	167
10	30	89	119
0-9	2	179	181
11	27	76	103
0-10	5	192	197

分时阳性预测值和阳性似然比最高,稍高于10分。

本组资料结果显示APACHE II评分在预测SAP患者预后方面有以下特点:(1)入院d 3 APACHE II评分对SAP预后预测最好,d 1的预测效果也较好;(2)APACHE II评分越高患者死亡的发生率越高。d 1 APACHE II评分为14分以上,d 3 14分以上及d 7评分仍在9分以上的患者病死率较高,应该引起高度的警惕,加强监护及治疗措施;(3)APACHE II评分以10分为临界点时对SAP死亡和生存的结局评估最好,约登指数最高。以11分为临界点次之,特异度最高。

于刚 *et al*^[7]认为入院时APACHE II评分 ≥ 8 分的SAP患者如在48 h内评分增长 ≥ 2 时,表示病情明显加重,预后不佳。2002年Khan *et al*^[8]研究回顾分析125例患者后认为入院APACHE II 48 h评分和死亡有明显的相关性,而入院时评分和死亡之间相关性不强。故其认为与入院时评分相比,入院后48 h APACHE II对不良预后的SAP患者有较好的预测价值。APACHE II评分分值在短期内有逐渐上升趋势或居高不下,往往预示病情加重,预后差,病死率高;若分值变化不大,甚至有下降趋势,则预示病情好转,病死率低^[9]。此观点与本研究相似。刘岩 *et al*^[10]以9分为临界点时,APACHE II 24 h的敏感性为0.82,特异性0.69,约登指数为0.51。王飞海 *et al*^[11]认为24 h内以9分为临界点敏感性0.789,特异性0.854,阳性似然比5.40,阴性似然比0.07。陈迁 *et al*^[12]研究认为APACHE II评分以15分为界值,评分 >15 分,病情严重,预后差,病死率高;评分 <15 分,病情轻,预后好,病死率低。与我们的研究结果有一定差异。

因为本研究为回顾性分析,且一部分SAP患者因其他原因自动离院,无法观察到结局被排除在外;对于SAP患者总体而言,本研究样本含

应用要点

APACHE 评分可动态评估患者病情变化,对预测预后以及指导临床有重要意义。

表 3 APACHE II 评分在不同临界值时死亡风险的结果评估

界值点	敏感性 (%)	特异性 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	准确度 (%)	阳性似然比	阴性似然比	约登指数 (%)
8	93.75	54.1	19.61	98.64	58.33	2.04	0.12	47.85
9	93.75	61.57	22.56	98.8	65	2.44	0.1	59.32
10	93.75	66.79	25.21	98.9	69.67	2.82	0.09	60.54
11	84.38	71.64	26.21	97.46	73	2.98	0.09	56.02

同行评价
本研究样本量较大, 说服力强, 对于临床判断SAP预后有较大指导及借鉴价值。

量较小, 可能存在机遇偏倚性; 因所收集的病例时间跨度大, 难以达到治疗方案的完全一致; 纳入病例均为四川大学华西医院收治SAP患者, 因各个地方、医院患者的外部基线资料及治疗方案不尽一致, 据APACHE II 评分系统评估的SAP患者结局可能有一定差异。

我们认为在SAP预后评价方面, APACHE II 评分系统仍是目前比较全面、客观的量化指标, 对早期评估SAP预后有较高的预测价值。有循证研究表明在多个评分系统中APACHE II 评分敏感性和特异性最高, 且可早期评估预后及在住院期间任何时间均可评估, 唯一的缺陷是过于繁琐^[13]。李兆申 *et al*^[14] 也认为APACHE II 诊断标准在任何时期都可用来判断疾病的严重程度, 观察变化可判断疾病恢复、发展或恶化, 不足之处是其过于复杂而可行性差。有学者认为APACHE II 评分系统对局部并发症的预见能力较弱^[15]。SAP患者病情凶险多变, 在临床中我们还需要更多探索, 降低APACHE II 评分在临床评价中的繁琐性, 将连续监测数天的APACHE II 分值结合或者联合其他临床评分系统, 能更准确判断疾病的严重度及预后。

4 参考文献

- Balthazar EJ. Acute pancreatitis: assessment of severity with clinical and CT evaluation. *Radiology* 2002; 223: 603-613
- 李兆申. 急性胰腺炎的内科治疗. *中国实用内科杂志* 2004; 24: 710-713
- Whitcomb DC. Clinical practice. Acute pancreatitis. *N Engl J Med* 2006; 354: 2142-2150
- Mortele KJ, Wiesner W, Intriere L, Shankar S, Zou KH, Kalantari BN, Perez A, vanSonnenberg E, Ros PR, Banks PA, Silverman SG. A modified CT severity index for evaluating acute pancreatitis: improved correlation with patient outcome. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 1261-1265
- Knaus WA, Draper EA, Wagner DP, Zimmerman JE. APACHE II: a severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 13: 818-829
- 中华医学会消化病学分会胰腺疾病学组. 中国急性胰腺炎诊治指南(草案). *现代消化及介入诊疗* 2007; 12: 206-208
- 于刚, 徐艳玲, 王福良, 王鹏志. 急性重症胰腺炎APACHE 评分与预后. *天津医科大学学报* 2006; 12: 44-46
- Khan AA, Parekh D, Cho Y, Ruiz R, Selby RR, Jabbour N, Genyk YS, Mateo R. Improved prediction of outcome in patients with severe acute pancreatitis by the APACHE II score at 48 hours after hospital admission compared with the APACHE II score at admission. *Acute Physiology and Chronic Health Evaluation. Arch Surg* 2002; 137: 1136-1140
- 劳逸波. 动态APACHE 评分在重症急性胰腺炎预后评估中的应用. *现代实用医学* 2007; 19: 626-623
- 刘岩, 路箴, 李兆申, 董元航, 张文俊, 潘雪. APACHE II, Ranson和CT评分系统对重症急性胰腺炎预后评价的比较. *胰腺病学* 2006; 6: 196-200.
- 王飞海, 金洲祥, 徐鲁白, 郑志强. APACHE-O评分系统对急性重症胰腺炎的预测价值. *肝胆胰外科杂志* 2007; 19: 231-234
- 陈迁, 张焱焱, 贺房勇. 急性胰腺炎APACHE 评分系统的临床意义. *中国综合临床* 2003; 19: 620
- 龚自华, 王兴鹏. 用循证医学的原理评价急性胰腺炎的预后和治疗. *胰腺病学* 2002; 2: 116-119
- 李兆申, 潘雪. 胰腺疾病的基础与临床研究进展. *世界华人消化杂志* 2004; 12: 2521-2524
- 邹晓平, 顾超, 刘明东, 李运红, 钱铖. 三种临床评分标准对急性胰腺炎预后的评估价值比较. *中华消化杂志* 2007; 27: 32-35

编辑 李军亮 电编 郭海丽

胆囊脂肪瘤1例

夏念信, 邱宝安, 刘澎, 白刚, 王立秋

夏念信, 邱宝安, 刘澎, 白刚, 王立秋, 中国人民解放军海军总医院肝胆外科 北京市 100037

通讯作者: 夏念信, 100037, 北京市海淀区阜成路6号, 中国人民解放军海军总医院肝胆外科. xnxdoctor@yahoo.com.cn

收稿日期: 2007-11-29 修回日期: 2008-01-22

One-case analysis of gallbladder lipoma

Nian-Xin Xia, Bao-An Qiu, Peng Liu, Gang Bai, Li-Qiu Wang

Nian-Xin Xia, Bao-An Qiu, Peng Liu, Gang Bai, Li-Qiu Wang, Department of Hepatobiliary Surgery, Navy General Hospital of Chinese PLA, Beijing 100037, China

Correspondence to: Nian-Xin Xia, Department of Hepatobiliary Surgery, Navy General Hospital of Chinese PLA, 6 Fucheng Road, Haidian District, Beijing 100037, China. xnxdoctor@yahoo.com.cn

Received: 2007-11-29 Revised: 2008-01-22

Abstract

A young and middle-aged female patient was examined because of repeated discomfort in right back for 3 months. Liver and kidney function and serum tumor markers were normal. The gallbladder fossa was occupied with low-density areas by examination of ultrasound and computed tomography (CT). Gallbladder lipoma complicated with gallstones was displayed by gallbladder fat and fat-suppressed window magnetic resonance imaging (MRI). Surgery and postoperative pathologic examination identified a rare clinical gallbladder lipoma. Gallbladder benign tumor has no special clinical presentation, and diagnosis relies on surgery and pathology.

Key Words: Gallbladder lipoma; Gallbladder tumor; Lipoma

Xia NX, Qiu BA, Liu P, Bai G, Wang LQ. One-case analysis of gallbladder lipoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2008; 16(7): 796-797

摘要

青壮年女性患者, 因反复右背部不适3 mo体检。肝功能和血清肿瘤标志物正常。B超和

CT检查胆囊窝区低密度占位。胆囊MRI脂肪抑制窗和脂肪窗显示胆囊脂肪瘤合并胆囊结石。手术和术后病理检查证实为临床罕见的胆囊脂肪瘤。胆囊良性肿瘤无特殊临床表现, 确诊依靠手术及病理。

关键词: 胆囊脂肪瘤; 胆囊肿瘤; 脂肪瘤

夏念信, 邱宝安, 刘澎, 白刚, 王立秋. 胆囊脂肪瘤1例. 世界华人消化杂志 2008; 16(7): 796-797

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/16/796.asp>

0 引言

胆囊良性肿瘤临床少见, 而脂肪瘤更是罕见。我科近期收治1例, 现将病历资料和诊治体会汇报如下。

1 病例报告

患者女性, 35岁, 2007-10-20入院。患者于3 mo前出现反复右肩背部不适, 与饮食无明显关系。无明显腹痛、以及寒战发热和黄疸, 无胃肠不适和呼吸道症状。门诊B超、CT检查示: 慢性胆囊炎, 胆囊结石; 胆囊窝区低密度占位, 初诊为胆囊良性肿瘤, 脂肪瘤待除外。查体皮肤巩膜无黄染, 腹平软, 剑突下及胆囊区无压痛, 未扪及包块, 无肝区扣击痛, 莫非氏征阴性。实验室检查血常规、肝功能和血清肿瘤标志物均正常。胆囊MRI脂肪抑制像和普通T1T2加权像显示胆囊脂肪瘤合并胆囊结石诊断明确(图1)。术中见胆囊8 cm×7 cm×6 cm大小。壁明显增厚, 胆囊体部浆膜下一约8 cm×7 cm肿块, 为淡黄色脂肪样组织, 包膜完整并与胆囊完全融合(图2)。囊内有12 cm×12 cm胆固醇结石1枚, 胆总管无扩张, 内未扪及异物。手术行胆囊和胆囊脂肪瘤一并切除。术后病理检查: 慢性胆囊炎, 胆结石, 胆囊浆膜下脂肪瘤。

2 讨论

胆囊良性肿瘤罕见, 约占胆囊肿瘤的21%-46%^[1]。其中以腺瘤最常见, 其他包括血管瘤, 脂肪瘤,

同行评议者
肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

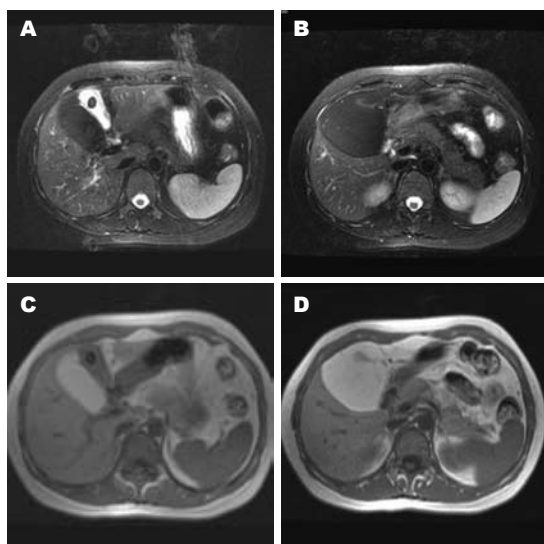


图 1 胆囊MRI成像. A-B: MRI-T2加权脂肪抑制像; C-D: MRI-T1加权像.

平滑肌瘤及肉芽组织肿瘤等, 均是来源于间叶组织的良性肿瘤, 均罕见. 光盘检索近10余年资料, 国内仅有2例报道, 本例为国内第3例. 胆囊良性肿瘤无特殊临床表现, 多见于中年女性, 体检发现者占18.5%-25.4%^[2]. 如合并胆囊结石可能伴有轻微右上腹不适或消化道症状. 胆囊脂肪瘤很少恶变, 原则是诊断后采取手术治疗. 影像学检查可辅助确诊本病, 我们认为彩超可作为筛选, MRI影像诊断价值优于CT; 最后诊断依

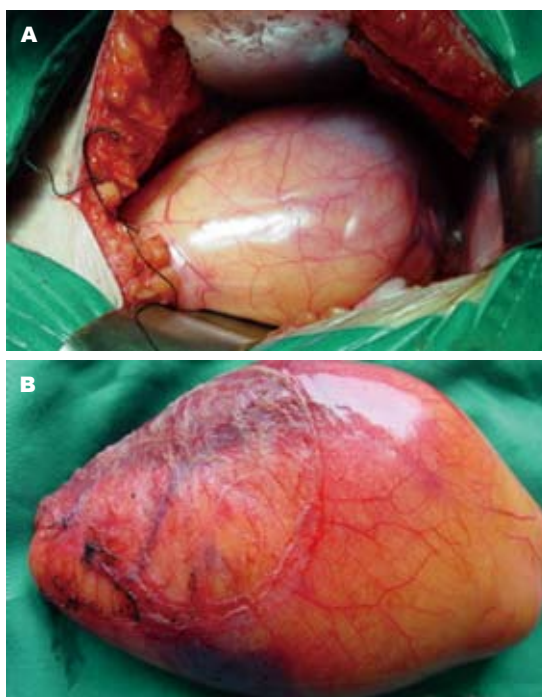


图 2 胆囊标本. A: 术中; B: 术后.

靠手术及病检确诊.

3 参考文献

- 1 陶健, 张惠健, 姚横德. 胆囊脂肪瘤1例. 肝胆胰外科杂志 2003; 15: 146
- 2 丁伟钺. 胆囊脂肪瘤1例. 中华普通外科杂志 2001; 1: 41

编辑 程剑侠 电编 何基才

同行评价
胆囊脂肪瘤少见,
可作病例报道.

致谢世界华人消化杂志编委

本期文章审稿中(包括退稿), 我刊编委付出了宝贵的时间和大量的精力, 提高了《世界华人消化杂志》的学术质量, 在此表示衷心感谢!

陈治水 主任医师

中国人民解放军第二一医院中医科

程英升 副教授

上海交通大学附属第六人民医院放射科, 上海交通大学影像医学研究所

丁惠国 主任医师

首都医科大学附属北京佑安医院肝病消化科

樊晓明 主任医师

复旦大学附属金山医院消化科

范学工 教授

中南大学湘雅医院感染病科

范志宁 主任医师

南京医科大学第二附属医院内镜中心

龚建平 教授

重庆医科大学附属第二医院肝胆外科

关晓辉 主任医师

吉林北华大学附属医院消化内科

郭晓钟 教授

沈阳军区总医院消化内科

李定国 教授

上海交通大学医学院(原上海第二医科大学)附属新华医院消化内科

李永哲 副教授

中国医学科学院中国协和医科大学, 北京协和医院检验科

林胜璋 副教授

温州医学院附属二院肝胆外科

刘海林 主任医师

上海交通大学医学院附属第九人民医院消化科

刘占举 教授

郑州大学第二附属医院消化内科

禄韶英 主治医师

西安交通大学医学院第一附属医院普外科

吕宾 教授

浙江中医学院附属医院(浙江省中医院、浙江省东方医院)消化科

吕明德 教授

中山大学附属第一医院肝胆外科

倪润洲 教授

南通大学附属医院消化内科

沈琳 主任医师

北京大学临床肿瘤医院消化内科

王小众 教授

福建医科大学附属协和医院消化内科

王志刚 副主任医师

上海市第六人民医院普外科

吴健雄 教授

中国医学科学院中国协和医科大肿瘤医院肿瘤医院腹部外科

吴泰璜 教授

山东省立医院肝胆外科

肖恩华 教授

中南大学湘雅二医院放射教研室

许文燮 教授

上海交通大学生命科学院生物医学工程系

杨希山 教授

广东省中医药局

殷正丰 教授

第二军医大学东方肝胆外科医院

张吉翔 教授

南昌大学第二附属医院消化内科

张锦生 教授

复旦大学上海医学院病理学系

张宗明 教授

清华大学第一附属医院消化医学中心