

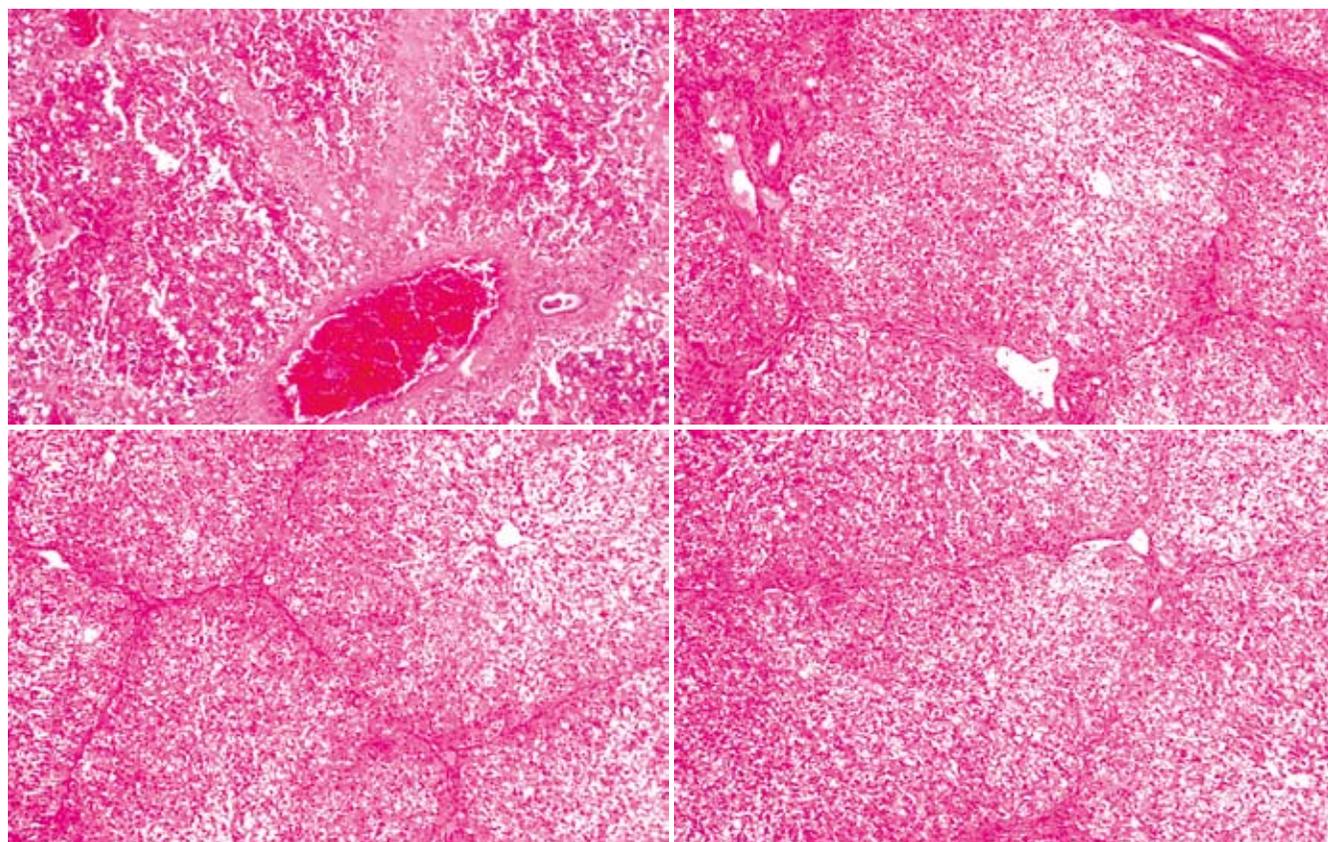
ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

世界华人消化杂志®

WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2009年4月8日 第17卷 第10期 (Volume 17 Number 10)



10 / 2009

ISSN 1009-3079



9 771009 307056

名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

《世界华人消化杂志》是一份同行评议性的旬刊，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》和俄罗斯《文摘杂志》收录。

世界华人消化杂志®

编辑委员会

2009-01-01/2011-12-31

wcjd@wjgnet.com www.wjgnet.com

总顾问

陈可冀教授
黄象谦教授
黄志强教授
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

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
杨思风教授
姚希贤教授
岳茂兴教授
张万岱教授
周学文教授

常务编委

程英升教授
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
聂新明教授
陈洪副教授

陈其奎教授
陈卫昌教授
陈贻胜教授
程斌副教授
迟宝荣教授
崔立红副教授
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
冯志杰主任医师
傅春彬主任医师
高峰副教授
戈之铮教授
关玉盘教授
郭晓钟教授
何松教授
洪天配教授
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
黄缘教授
季国忠副教授
江米足主任医师
姜春萌教授
姜慧卿教授
金瑞教授
蓝宇教授
李定国教授
李淑德教授
李瑜元教授
李玉民教授
李玉明教授
李祖国副教授
林志辉教授
刘冰熔教授
刘凤斌教授
刘改芳主任医师
刘海林主任医师
刘占举教授
陆伦根教授
马欣主任医师

倪润洲教授
欧希龙副教授
潘秀珍教授
朴云峰教授
秦成勇教授
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
宋军副教授
宋于刚教授
唐世刚教授
田宇彬教授
王邦茂教授
王炳元教授
王承党副教授
王晓艳副教授
闻勤生教授
夏冰教授
夏时海副教授
徐可树教授
许乐主任医师
杨建民教授
姚树坤教授
叶红军主任医师
张春清教授
张国梁主任医师
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
郑培永副教授
郑鹏远教授
周国雄主任医师
朱春兰主任医师
邹晓平主任医师

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
陈进宏副主任医师
陈力教授
陈立波副教授
陈凜教授
陈强谱教授
陈汝福教授
陈亚军主任医师
陈钟教授
程爱国教授
程爱群主任医师
程树群副教授
仇毓东副教授
崔云甫教授
戴朝六教授
戴冬秋教授
单云峰副主任医师
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
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
韩天权教授
郝纯毅主任医师
何超教授
何裕隆教授
黄志勇副教授
季加孚教授
荚卫东副主任医师
蒋龙元副教授
李国威教授
李华副教授
李华山副主任医师
李靖副教授
李奇林教授
李胜研究员
李涛副主任医师

李文岗副教授
李旭副教授
梁力建教授
刘超副教授
刘建教授
刘作金副教授
卢实春教授
陆才德教授
禄韶英副主任医师
吕明德教授
吕云福教授
彭吉润主任医师
彭心宇教授
秦春宏副主任医师
秦华东教授
秦环龙教授
秦建民副主任医师
邱宝安主任医师
邱双健副教授
邱伟华副主任医师
裘正军教授
沈柏用副教授
沈世强教授
施诚仁教授
石毓君副研究员
宋振顺教授
孙诚谊教授
孙学英教授
孙延平副主任医师
邵升副教授
汤恢焕教授
田晓峰教授
汪波副主任医师
汪根树副教授
王春友教授
王德盛副主任医师
王凤山教授
王广义教授
王健生教授
王鲁副教授
王蒙副教授
王石林主任医师
王文跃主任医师
王要军教授
王悦华副主任医师

世界华人消化杂志®

编辑委员会

王振宁教授
王正康教授
王志刚副主任医师
王忠裕教授
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
谢敏主任医师
谢晓华副教授
邢光明教授
徐大华主任医师
徐迅迪副主任医师
徐泱副主任医师
许戈良教授
严律南教授
杨柏霖副主任医师
杨家和主任医师
杨秋蒙副主任医师
杨维良教授
伊力亚尔·夏合丁教授
殷正丰教授
于聪慧教授
于则利教授
郁宝铭教授
元云飞教授
张佳林教授
张进祥副教授
张俊副研究员
张群华教授
张水军教授
张宗明教授
周伟平教授
邹小明教授

消化感染病学

陈国凤主任医师
陈红松研究员
陈建杰教授
陈仕珠主任医师
陈耀凯副教授
陈志辉副主任医师
党双锁教授
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
何生松教授
胡国信副主任医师
林菊生教授
刘杞教授
刘正稳教授
貌盼勇研究员
宁琴教授
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
汤华研究员
唐霓副研究员
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
宣世英教授
杨江华副主任医师
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
赵连三教授
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
李军祥教授
李勇副教授
李振华教授
刘成海研究员

刘孟安教授
刘平教授
刘绍能主任医师
沈洪教授
唐志鹏研究员
王富春教授
王新月教授
谢鸣教授
徐列明教授
许玲副教授
张声生教授

消化肿瘤学

曹秀峰主任医师
曹志成院士
陈公琰主任医师
李瑗教授
刘宝瑞教授
刘彬彬副研究员
刘云鹏教授
沈克平主任医师
肖文华主任医师
熊斌教授
张凤春教授

消化影像学

白彬主任医师
陈克敏教授
官泳松教授
韩新巍教授
李健丁教授
龙学颖副主任医师
倪才方教授
魏经国教授
肖恩华教授
徐爱民副教授
徐克教授
杨业发教授
杨建勇教授
赵卫主任医师

消化内镜及介入治疗学

丁佑铭教授
郝俊鸣副主任医师
潘林娜教授
孙明军教授
万军教授

吴硕东教授
袁友红副教授

消化中西医结合学

唐文富副教授
王学美研究员
魏睦新教授
张春虎副教授

消化基础研究

曹洁副教授
曹鹏副研究员
樊红副教授
高春芳研究员
高国全教授
高英堂研究员
管冬元副教授
胡旭初副教授
黄文林教授
李刚教授
李杰副教授
李永哲副研究员
李增山副教授
刘克辛教授
梅林教授

彭曦副研究员
钱睿哲教授
任超世研究员
任浩副教授
台桂香教授
谭学瑞教授
田颖刚副研究员
汪思应教授
吴军研究员
吴俊华副教授
徐宁志研究员
许文燮教授
姚登福教授
阴赅宏研究员
郁卫东副研究员
喻荣彬副教授
张青云研究员
张学教授
赵平副教授
周南进研究员
周士胜教授
周素芳教授

周晓东研究员
周晓武副主任医师

消化病理学

杜祥教授
李淳副教授
刘丽江教授
刘勇钢副主任医师
马大烈教授
潘兴华副主任医师
王鲁平主任医师
王娅兰教授
魏蕾教授
阎晓初副教授
颜宏利副教授
于颖彦教授
余宏宇教授
张锦生教授
赵景民教授
朱亮副教授

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ● 2009年4月8日 第17卷 第10期 (总第270期)

述 评	955 肝细胞癌的肝脏切除治疗进展 丁义涛
基础研究	962 自体骨髓间充质干细胞移植对实验性急性肝功能衰竭的治疗作用 许海云, 施晓雷, 褚薛慧, 丁义涛 969 丹红对大鼠重症急性胰腺炎相关性心肌损害的防治作用 戴建忠, 范辉 976 海洛因依赖对大鼠结肠内分泌细胞表达5-HT及生长抑素的影响 洪艳, 梁文妹 981 Fas相关死亡结构域蛋白荧光真核表达载体的构建及其鉴定 印安宁, 江应安, 张险峰
临床研究	985 应用实时荧光定量RT-PCR法建立肝癌分子诊断指数 王伟丽, 高英堂, 杜智, 王毅军, 景丽, 郭华, 杨斌, 白同
焦点论坛	992 原发性肝癌治疗研究进展 刘宝瑞, 王婷婷, 钱晓萍, 郭峰, 褚朝顺, 陆子鹏, 苗毅, 于金明, 李宝生, 闫婧 993 原发性肝癌分子靶向治疗研究进展 刘宝瑞, 王婷婷, 钱晓萍 998 原发性肝癌射频消融研究进展 郭峰, 褚朝顺, 陆子鹏, 苗毅 1005 原发性肝癌的放射治疗 于金明, 李宝生, 闫婧
文献综述	1008 肝脏屏障功能及其损伤的研究进展 张明, 秦环龙
研究快报	1014 天晴甘平减轻急性肝衰竭小鼠肝细胞损伤的机制 刘凤超, 贺永文, 喻佛定 1018 大黄素对大鼠胰腺星状细胞TGF- β 1含量的影响 梁晓强, 章学林, 顾宏刚, 张静喆 1021 生长抑素联合丹参对实验性重症急性胰腺炎的治疗作用 张国顺, 王玉兰, 张超, 马利转, 徐晓平 1025 化学改性壳聚糖膜及透明质酸钠对缺血性腹膜粘连的预防作用 江素君, 周卸来, 倪有娣, 茹金泉, 杜红英, 郑婷, 胡巧玲
临床经验	1030 慢性胃炎伴低级别上皮内瘤的临床特点及转归 孙圣斌, 吴杰, 王萍, 张姮 1033 不同状态糖尿病患者胃电活动的特点 陈维娜, 蓝宇, 柯美云

	<p>1038 脂肪肝相关危险因素的评估 向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元</p> <p>1042 早期通里攻下法对重症急性胰腺炎结局影响的系统评价 苗彬, 崔乃强, 李忠廉, 马涛, 赵光, 王心</p> <p>1048 医源性上消化道大出血的选择性血管造影诊断及栓塞治疗 段旭华, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 黄锐, 任建庄</p> <p>1053 第二代氩离子凝固疗法治疗消化系统疾病患者260例 张莉, 董蕾, 柳嘉, 张军, 万晓龙, 王进海</p>	
致 谢	1060 致谢世界华人消化杂志编委	
消 息	<p>968 2007年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序</p> <p>975 第二十一次全国中西医结合消化学术会议征文通知</p> <p>991 世界华人消化杂志栏目设置</p> <p>997 世界华人消化杂志英文摘要要求</p> <p>1004 《世界胃肠病学杂志》(英文版)成功通过评审被PMC收录</p> <p>1007 第十二届全国腹部影像学会议征文通知</p> <p>1017 第九次全国消化系疾病学术会议征文通知</p> <p>1020 《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆2008年版《中文核心期刊要目总览》</p> <p>1024 中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志2007年影响因子0.568</p> <p>1029 世界华人消化杂志性质、刊登内容及目标</p> <p>1037 全国消化疾病诊治进展学习班在京举办</p> <p>1047 世界华人消化杂志标点符号用法</p> <p>1059 2009年广东省中西医结合、中医脾胃消化病学术会议暨国家级继续教育项目消化病进展研讨班征文通知</p>	
封面故事	<p>许海云, 施晓雷, 褚薛慧, 丁义涛. 自体骨髓间充质干细胞移植对实验性急性肝功能衰竭的治疗作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 962-968 http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/962.asp</p>	
本期责任人	<p>编务 刘晓芳; 送审编辑 李军亮; 组版编辑 何基才; 责任编辑 李军亮; 英文编辑 张海宁, 张晓枚; 审核编辑 张海宁; 形式规范 马连生</p>	
<p>世界华人消化杂志</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi</p> <p>吴阶平 题写封面刊名 陈可冀 题写版权刊名 (旬刊)</p> <p>创 刊 1993-01-15 改 刊 1998-01-25 出 版 2009-04-08 原刊名 新消化病学杂志</p> <p>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</p>	<p>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</p> <p>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</p> <p>印刷 北京科信印刷厂</p> <p>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)</p> <p>订购 全国各地邮电局</p> <p>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</p>	<p>世界华人消化杂志是一份同行评议性的旬刊, 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》和俄罗斯《文摘杂志》收录.</p> <p>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.</p> <p>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.</p> <p>2009年版版权归世界华人消化杂志所有</p>
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
www.wjgnet.com		

World Chinese Journal of Digestology

April 2009 Contents in Brief Volume 17 Number 10

EDITORIAL	955 Research progress of liver resection for hepatocellular carcinoma <i>Ding YT</i>
BASIC RESEARCH	962 Effects on swine acute liver failure by combined therapy of autologous mesenchymal stem cell transplantation and medical treatment <i>Xu HY, Shi XL, Chu XH, Ding YT</i> 969 Protective effects of Danhong injection against heart injury in rats with severe acute pancreatitis <i>Dai JZ, Fan H</i> 976 Effect of heroin dependence on expression of 5-hydroxytryptamine and somatostatin in endocrine cells of rat colon <i>Hong Y, Liang WM</i> 981 Construction and identification of pEGFP-N1-FADD eukaryotic fluorescent expression vector <i>Yin AN, Jiang YA, Zhang XF</i>
CLINICAL RESEARCH	985 Molecular diagnostic index for hepatocellular carcinoma using real-time fluorescent quantitation RT-PCR: a pilot study <i>Wang WL, Gao YT, Du Z, Wang YJ, Jing L, Guo H, Yang B, Bai T</i>
TOPIC HIGHLIGHT	992 Advances in treatment of primary hepatocellular carcinoma <i>Liu BR, Wang TT, Qian XP, Guo F, Chu CS, Lu ZP, Miao Y, Yu JM, Li BS, Yan J</i> 993 Advance in molecular targeted therapy for primary hepatocellular carcinoma <i>Liu BR, Wang TT, Qian XP</i> 998 Research progress of radiofrequency ablation in treating primary hepatocellular carcinoma <i>Guo F, Chu CS, Lu ZP, Miao Y</i> 1005 Radiotherapy of primary hepatocellular carcinoma <i>Yu JM, Li BS, Yan J</i>
REVIEW	1008 Advances in hepatic barrier function and injury <i>Zhang M, Qin HL</i>
RAPID COMMUNICATION	1014 Mechanism of diammonium glycyrrhizinate enteric-coated capsules in alleviating hepatocytic injury in mice with acute liver failure <i>Liu FC, He YW, Yu FD</i> 1018 Effect of emodin on transforming growth factor- β 1 in rat pancreatic stellate cells <i>Liang XQ, Zhang XL, Gu HG, Zhang JZ</i> 1021 Therapeutic effect of sandostatin with salviae miltiorrhizae on experimental severe acute pancreatitis <i>Zhang GS, Wang YL, Zhang C, Ma LZ, Xu XP</i> 1025 Preventive effects of chemically-modified chitosan film with sodium hyalurate on the ischemia-induced peritoneal adhesion <i>Jiang SJ, Zhou XL, Ni YD, Ru JQ, Du HY, Zheng T, Hu QL</i>

CLINICAL PRACTICE	<p>1030 Clinical features and outcome of chronic gastritis accompanying low-grade intraepithelial neoplasia <i>Sun SB, Wu J, Wang P, Zhang H</i></p> <p>1033 Characteristics of gastric myoelectrical activity in diabetic patients <i>Chen WN, Lan Y, Ke MY</i></p> <p>1038 Assessment of risk factors associated with fatty liver disease <i>Xiang GQ, Meng XY, Zhang H, Tai WX, Meng XD, Wang BY</i></p> <p>1042 Systematic evaluation of the therapeutic efficacy of Tongli Gongxia herbs on severe acute pancreatitis <i>Miao B, Cui NQ, Li ZL, Ma T, Zhao G, Wang X</i></p> <p>1048 Selective angiographic diagnosis and transcatheter arterial embolization of iatrogenic massive upper gastrointestinal bleeding <i>Duan XH, Zheng CS, Feng GS, Liang HM, Huang R, Ren JZ</i></p> <p>1053 Treatment of gastrointestinal diseases with second-generation argon plasma coagulation: an analysis of 260 cases <i>Zhang L, Dong L, Liu J, Zhang J, Wan XL, Wang JH</i></p>
ACKNOWLEDGMENT	1060 Acknowledgments to reviewers of World Chinese Journal of Digestology
COVER	<p><i>Xu HY, Shi XL, Chu XH, Ding YT.</i> Effects on swine acute liver failure by combined therapy of autologous mesenchymal stem cell transplantation and medical treatment.</p> <p>Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2009; 17(10): 962-968</p> <p>http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/962.asp</p>
RESPONSIBLE EDITORS FOR THIS ISSUE	<p>Assistant Editor: <i>Xiao-Fang Liu</i> Review Editor: <i>Jun-Liang Li</i> Electronic Page Editor: <i>Ji-Cai He</i></p> <p>Editor-in-Charge: <i>Jun-Liang Li</i> English Language Editor: <i>Hai-Ning Zhang, Xiao-Mei Zhang</i></p> <p>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 April 8, 2009

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@wjgnet.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@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.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

© 2009 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 © 2009 by Editorial Department of *World Chinese Journal of Digestology*

肝细胞癌的肝脏切除治疗进展

丁义涛

丁义涛, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008

丁义涛, 教授, 博士生导师, 主要从事肝胆外科, 专于人工肝与肝移植临床研究。

卫生部重点基金资助项目, No. WKJ2005-2-032

南京市卫生局重点基金资助项目, No. ZKXO410

通讯作者: 丁义涛, 210008, 江苏省南京市, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科, yitaoding@hotmail.com

电话: 025-83304616

收稿日期: 2009-01-06 修回日期: 2009-02-18

接受日期: 2009-03-16 在线出版日期: 2009-04-08

Research progress of liver resection for hepatocellular carcinoma

Yi-Tao Ding

Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Drum Tower Hospital Affiliated to Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Supported by: the Major Program Foundation of Ministry of Health, No. WKJ2005-2-032; and the Major Program Foundation of Health Bureau of Nanjing City, No. ZKXO410

Correspondence to: Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Drum Tower Hospital Affiliated to Medical School of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. yitaoding@hotmail.com

Received: 2009-01-06 Revised: 2009-02-18

Accepted: 2009-03-16 Published online: 2009-04-08

Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is one of the most common cancer worldwide. In China, 90% of HCC patients are complicated with chronic liver disease (CLD), and most of them have entered into the stage of cirrhosis. Today, resection with curative intent is still an important treatment. Development of surgical techniques has improved the tolerance of patients and safety of hepatectomy. However, intrahepatic recurrences are very common due to the persistence of the underlying hepatopathy. Recurrences should be screened earlier and, when possible, treated by re-resection, percutaneous destruction, or salvage liver transplantation.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Liver resection; Surgical technique

Ding YT. Research progress of liver resection for hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 955-961

摘要

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见恶性肿瘤之一,在我国约90%患者伴有慢性肝病(chronic liver disease, CLD),且大多数已进入肝硬化阶段。目前,肝切除术仍然是治疗HCC的主要手段。外科手术技术的进步,明显提高了肝癌肝切除术的安全性。然而,由于持续的基础肝病存在,肝内复发是很常见的。肝内复发应该及早被筛查,并尽可能通过再次肝切除、经皮肿瘤消融或肝移植治疗。

关键词: 肝细胞癌; 肝脏切除术; 外科手术技巧

丁义涛. 肝细胞癌的肝脏切除治疗进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(10): 955-961

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/955.asp>

0 引言

肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)是最常见恶性肿瘤之一,我国约90%患者伴有慢性肝病(chronic liver disease, CLD),且大多数已进入肝硬化阶段。外科手术包括肝部分切除术和肝移植术是治疗HCC最主要的方式。尽管HCC早期诊断率不断提高,但目前仅有一分之三患者就诊时有外科手术切除机会。对于伴有肝硬化的HCC患者,最适宜的外科治疗方法应该是肝移植,肝移植既切除了肿瘤原发病灶,又治愈CLD^[1]。一般认为对于小肝癌(单个病灶<5 cm,或2-3个病灶<3 cm),且无血管浸润的HCC合并CLD的患者是肝移植的最佳适应证^[2-3]。然而供肝的严重短缺,严重限制了肝移植治疗的广泛应用。由于国人大多数HCC合并不同程度的肝硬化,在肝硬化情况下的实施肝切除术,必须考虑肝脏切除量,防止发生术后肝功能衰竭;另外潜在CLD可引起新的损害,从而增加术后风险。在过去的十多年,肝切除技术取得长足进步,如精确三维成像技术、肝脏储备功能评估方法、

■背景资料

对于伴有肝硬化的HCC患者,最适宜的外科治疗方法应该是肝移植,然而供肝的严重短缺,限制了肝移植治疗的广泛应用。因此,肝切除术仍然是目前治疗HCC标准治疗方法。本文结合文献和作者的经验,主要叙述HCC合并肝硬化患者的肝切除术的适应证、肝脏储备功能评价及肝切除外科技术的一些进展。

■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;肖恩华,教授,中南大学湘雅二医院放射教研室

■研究前沿
精确肝切除技术应用于肝癌的治疗使得最大化保护有功能肝组织和最小化出血的两个治疗原则成为可能。

外科手术技术、先进手术器械、麻醉和ICU等,肝切除手术死亡率从20世纪80年代的10%减少到今天的5%以下,一些团队包括我们甚至报道零死亡率^[4-5]。因此,肝切除术仍然是目前治疗HCC标准治疗方法。本文结合文献和自己的经验,主要叙述HCC合并肝硬化患者的肝切除术的适应证、肝脏储备功能评价及肝切除外科技术的一些进展。

1 术前评估与适应证

合并有CLD的HCC患者肝切除术后肝功能衰竭并发症的发生率取决于患者肝脏再生能力,肝脏再生能力与肝脏的纤维化程度、肝炎的活动程度相关。若术后发生肝功能衰竭,严重者会导致患者死亡。因此,HCC伴肝硬化患者行肝切除术需进行严格评估,包括肿瘤分期、形态学和肝脏储备功能。

1.1 形态学评估与适应证 形态学评估主要是基于影像学各种成像技术,包括腹部B超、肝脏三维CT及MRI。影像学检查可获取肿瘤大小、准确的定位、与血管关系、血管侵犯程度以及卫星灶的情况,还可进行容积计算,甚至模拟肝切除。

肝切除术适应证取决于肿瘤的大小、数量、位置以及经评估后残余肝脏的体积,最好的适应证是单一病灶,残余肝脏的体积超过50%的患者^[6]。对于小肝癌(<5 cm)需评估选择治疗方法(切除、移植和经皮固化消融)。肿瘤的位置在治疗方法的选择中是一个重要的考虑因素,对于位于肝脏边缘的肿瘤,不需切除过多的肝组织,可选择肝切除而达到治愈目的。相反,位于中央的小于5 cm肿瘤,往往需切除较大体积的肝组织,易发生术后肝功能衰竭,因此,宜选择经皮固化消融治疗和肝移植。对于肿瘤直径大于5 cm,应首先选择肝脏切除术,术前应进行肝储备功能和体积评估^[7-8]。卫星灶的形成是肝癌通过微血管侵袭发生局部转移的证据,一旦发现提示预后较差,但并不是外科手术的禁忌证。瘤体数目>两个或以上,通常表明多中心致癌作用,提示手术切除不能达到治愈的目的。对于肝切除后残肝内的单一病灶,仍可行局部切除或射频治疗。若伴有远处转移性灶尤其是肺转移,一般不宜行肝切除术。

出现门静脉主干或肝静脉癌栓,往往提示进展期肝癌,多伴有肝内/外转移,预后很差。若患者全身情况较好,估计切除后残肝体积>50%,此类患者进行肝切除后仍可获得部分缓解,有

时能延长生存期^[9]。肝癌破裂出血,应行急诊止血手术或行急诊动脉栓塞止血,止血成功,可考虑行I/II期肝脏切除术^[10]。

肝癌肝切除术的禁忌证包括肝外转移,散布的多个病灶,胆总管被侵犯,门静脉干或下腔静脉广泛的瘤栓。

1.2 肝脏储备功能评估与适应证 Child-Pugh分级: Child-Pugh分成三个等级: A(正常肝功能), B(中度肝脏功能不足)和C(严重肝功能不足)。多数学者认为肝硬化患者只有肝功能Child-Pugh A级才可行肝脏切除术^[11]。但部分Child-Pugh A级的肝硬化患者行肝脏切除术,尽管切除范围不大,术后仍可发生严重肝功能衰竭,显示出Child-Pugh分级评估的局限性。

吲哚氰绿潴留(indocyanine green retention, ICGR)试验: 一些学者,尤其是在亚洲,使用整套肝功能实验来评估肝脏储备功能。ICGR一定程度上反映肝储备功能,被广泛接受可行肝切除术的标准是: 注射吲哚氰绿染色剂, 15 min后残余浓度(ICGR15)<15%可耐受较大体积的肝脏切除, 20%以上仅能耐受局部小体积肝脏切除^[4]。我们报道采用脉动色素浓度测定法(PDD法)进行ICG清除试验检测44例原发性肝癌患者ICGR15,结果显示PDD法是行ICG清除试验检测肝储备功能实用可行的理想方法; R15能很好地反映原发性肝癌患者的肝储备功能^[12]。

乙型肝炎的活动度, 血清转氨酶水平: Farges和他的同事证实在合并有CLD, 转氨酶超过正常水平两倍的肝癌患者, 肝切除术后死亡率可增加。因此主张存在活动性肝炎患者, 肝切除术前可行抗病毒、保肝、降酶治疗, 通过这些措施, 直至转氨酶水平正常^[13]。

肝组织活检: 通过肝组织活检对肝纤维化程度进行Metavir评分(F0-F4)^[14]。术后风险度依次为最严重肝硬化(F4)、严重的纤维化(F3), 中度的纤维化(F2), 而轻度的纤维化(F1), 肝切除的风险度与正常肝脏切除接近。其他肝纤维化检查方法(如: 纤维化试验、弹性测定法)也有一定的参考价值。

肝脏切除术后的肝脏残余体积的评估: 通过成像技术评估肝脏各部分、切除肝脏和肿瘤组织体积进行精确分析。计算切除组织占整个肝脏体积的百分比[(切除肝脏体积-肿瘤体积)/整个肝脏的体积], 更有参考价值的是残余有效功能肝脏的百分比[剩余肝脏体积/(整个肝脏体积-肿瘤体积)]。一般认为对肝硬变的肝脏切除

量不宜超过50%。

术前门静脉栓塞术: 当一叶肝脏被巨大肿瘤占据很大部分时, 若对侧肝脏出现代偿性增大, 仍可安全进行肝脏切除术。若对侧肝脏没有出现代偿性增大, 术前行门静脉栓塞术, 经皮对将要切除的半肝门静脉分支进行栓塞, 可导致将来剩余肝脏的代偿性增大。该方法还可评估肝脏的再生能力, 如果门静脉栓塞后不伴有对侧肝脏的代偿增大, 那么较大的肝脏切除术需慎重考虑。如果对侧肝脏能够代偿增大, 那么肝脏切除术可以完成, 并且死亡率低于5%。目前, 绝大多数学者同意在伴有肝硬化的患者行右半肝切除术前需行门静脉栓塞术。因为左侧肝脏很少超过整个肝脏体积的40%。因此, 一般不进行左侧门静脉栓塞^[6]。

2 肝脏切除技术

肝脏切除术一般选用左右两侧肋缘下切口或人字形切口。腹腔自动拉钩应用, 使得肝脏能够充分暴露。进腹后手术探查很重要, 必要时可使用术中超声, 评估肿瘤的精确位置、与门静脉和肝静脉的关系、脉管内的癌栓、肝内其他卫星灶及转移灶的情况。

伴有CLD的肝脏切除术主要有三个问题: 解剖性/非解剖性肝切除的选择、功能性肝组织的保护和出血的预防。

2.1 解剖性/非解剖性肝切除的选择和功能性肝组织的保护

解剖性肝切除是指切肝前预先解剖、阻断或断离相应肝叶、肝段的入肝血流, 然后按解剖学标志切除相应肝段、肝叶、半肝或三叶的肝组织。此法有助于减少切肝时出血, 减少残肝断面并发症。正常肝脏的再生力允许切除60%-70%以上的肝脏, 不同于正常的肝脏, 肝脏纤维化导致肝脏的再生能力减低, 尤其是已确定有肝硬化时, 可导致手术后肝功能不全。解剖性肝切除切除较多的非瘤有功能肝组织, 势必会影响残肝的功能代偿。非解剖性肝切除是指切肝前不预先解剖、阻断或断离直接供应肿瘤及周围组织的入肝血流, 其切除范围仅包括肿瘤及周围肝组织, 与肝段、肝叶分布并不一致, 以尽可能多的保护非瘤有功能肝组织, 一般要求切缘距肿瘤边缘至少1 cm以上^[15]。

HCC较易发生门脉管道的侵犯, 其出现的频率随着肿瘤的大小而增加。肝癌门脉侵犯往往从邻近的门脉分支开始, 进而导致局部的转移扩散。解剖性肝切除范围能够包括可能已经

被侵犯的邻近门脉分支, 因此, 对HCC来说解剖性肝切除是合理的治疗方法。近来回顾性研究关注到解剖性肝切除在提高总生存率及无瘤生存率方面的作用。Hasegawa *et al*比较了解剖性肝段切除组($n = 156$)和非解剖性肝切除组($n = 54$)的5年生存率, 解剖性肝切除组采用了联合肝段、肝段切除和亚肝段切除, 解剖性肝切除组总的5年生存率和无瘤生存率分别是66%和35%, 而非解剖性肝切除组总的5年生存率和无瘤生存率分别是34%和16%, 两组比较有显著性差别($P < 0.01$)^[16]。我们曾随机对照观察38例解剖性和非解剖性(15例 vs 23例)肝切除术治疗原发性肝癌的安全。结果显示: 两组均无手术死亡, 术中出血、并发症发生率、住院时间无显著差异。解剖性肝切除术后近期复发率显著降低, 1年无瘤生存率高于非解剖性肝切除。提示解剖性肝切除是治疗原发性肝癌安全有效的术式, 对有适应证的病例应尽可能采用此种手术方式, 有望获得较好的疗效^[17]。但也有研究表明尚不能确定解剖性肝切除比较非解剖性切除治疗的这种优点^[18]。

因此, 当患者的肝功能储备功能处于临界水平时, 此时, 有功能肝实质的保护比解剖性切除更为重要。我国自20世纪70年代以来, 非解剖性肝切除为HCC最主要术式, 成为该术式病例数最多、经验最丰富的国家, 死亡率明显降低及大批长期生存病例涌现, 令世人瞩目。因此, 根据我国国情, 非解剖性切除仍然是治疗HCC的有效方法, 应因地制宜。

若肿瘤位于肝脏周边, 可行非解剖性楔形切除术, 切缘距肿瘤边缘至少1 cm以上, 也可进行解剖性切除术。三叶或三叶以上的肝脏切除术, 一般选择非解剖性切除, 以尽可能地保护有功能肝组织。中央型肝癌(S4, S5, S8)、右半肝(S5-S8)、右前叶(S5, S8)、右后叶(S6, S7)和单独肝段切除可行解剖性切除, 术中采用超声和/或选择性的血管造影了解血管走行, 可帮助确定切除范围。

2.2 出血的预防

很多研究表明肝癌肝切除术中出血和输血与预后明显相关, 出血和输血可增加肿瘤复发的频率^[19-20]。笔者20世纪90年代研究表明肝切除术中出血量与术后生存率和无瘤生存期明显相关, 在国内较早地提出了宁可延长阻断时间, 尽可能减少出血量, 能明显降低肝切除手术并发症和死亡率这样的观点^[21]。

肝切除控制出血的方法包括血流阻断技

■ 相关报道

1991年Reich首先成功开展腹腔镜肝脏切除术(LH), 此后得到快速发展, 目前文献多见于小于5 cm肝脏周边肿瘤治疗, 特别是左侧肝叶/段切除。其安全性与开腹肝脏切除术相似, 明显优势在于微创性。LH没有大的腹部切口, 创伤小, 术后腹水发生率低。有学者将LH肝切除的适应证扩大到肝脏周边肿瘤同时又有腹水或是中度肝功能不全的患者, 这些通常是剖腹手术的禁忌。此外, LH后的再手术或肝移植比剖腹手术后再手术要简单很多。

■应用要点

近年,随着肝移植技术日趋成熟,肝移植中的体外血液转流技术和器官低温保存技术逐步应用于复杂、困难的肝切除,衍生出今天体外肝外科发展,通过改良方法可不进行体外血液转流,使得离体/半离体肝切除术更加容易、安全和精确。在供肝匮乏的今天,离体/半离体肝切除技术对于常规肝切除难以处理的肝癌的治疗仍有一定的价值。

术、低中心静脉压麻醉、对于巨大肿瘤的前路手术和肝实质横断的合适方式。

血流阻断时间和方式:肝硬化的肝脏不如正常的肝脏能耐受局部缺血,血流阻断方式宜采用间断阻断(阻断15 min紧跟着松开5 min)。有作者前瞻性随机研究比较间断血流阻断和连续血流阻断,证明间断性阻断是有优势的,尤其在合并有肝硬化时^[22-23]。间断肝门阻断的时间可以比连续阻断时间更长,有报道超过90 min的肝门阻断也是无害的。这种技术可以减少出血,并且提供足够的时间行精确的解剖学切除。

无血切肝术,是指通过阻断肝脏的出入血管,使肝脏处于完全无血流状态下,进行手术操作的一类技术方法的总称。自从1966年Heaney *et al*首先开始关于常温下暂时性全肝血流完全阻断的实验研究以来,无血切肝术经历了30多年的发展,相继出现了常温下全肝血流阻断,低温灌注全肝血流阻断,选择性血流阻断等手术方法。

全肝血流阻断现在很少需要,只有在下腔静脉受累的情况下需要,作者20世纪80年代首先在国内提倡采用改良常温下全肝血流阻断技术(即在行常温下全肝血流阻断肝切除术时不阻断腹主动脉)。此法大大提高了手术切除率,简化了手术方法,同样达到了无血切肝的目的^[21,24]。低温灌注可提高对缺血的耐受性。但是此项技术较复杂,肝脏血流完全阻断的时间长,并可引起明显的血液动力学和某些生物化学方面的改变,其中尤以凝血机制方面的改变最为明显。因此该项技术较少使用。

选择性(半肝/肝段)血流阻断技术:切肝前预先选择解剖、阻断或断离相应半肝/肝段的入/出肝血流,保留对侧半肝/其他肝段正常血供。选择性的血管阻断允许对需要切除的肿瘤行精确解剖学定位,开展精确性肝切除。

前方入路切肝术:当施行一个较大病灶的肝切除术时,肝脏应当被完全游离以解剖第二、三肝门,控制出血。但对于右肝巨大肿瘤,有时这种解剖游离困难,可能导致出血,也可能导致肿瘤的破裂或脉管内瘤栓脱落。此时宜采用前方入路切肝术,可减少了肿瘤破裂和肝脏出血的危险,减少脱落进循环系统的肿瘤细胞数^[25]。由于这些原因,一些研究者建议即使不是很大的肿瘤也应使用这一技术。前方入路右肝切除基本步骤包括:解剖分离右侧Glissonian系统,阻断/不阻断血流,从前到后的离断肝脏,一直到肝后腔静脉。Belghiti *et al*报道预置吊带法

可以帮助指导横切面和减少出血,使前路手术变得较为容易,即在肝脏和下腔静脉间预置吊带,入口点是肝下下腔静脉的中点,出口点是在肝上下腔静脉右后静脉、肝中静脉入口之间^[26]。

维持低的中心静脉压:除了血流阻断技术,另一个能够减少出血的重要方法是肝切除时尽可能地限制手术中的液体入量,维持低的中心静脉压。需要有经验的麻醉队伍,也需要外科队伍与麻醉队伍的出色合作。有报道间断肝门阻断结合低的中心静脉压可以避免所有的大出血,并使得80%的患者在手术过程中不需要输血^[27]。

肝实质离断的方法:随着医学技术不断提高,许多新的肝实质离断器械和方法应用于临床如超声刮吸刀(CUSA)、水媒射频切割闭合器(TissueLink)、水刀(Water-jet dissector)、激光刀(Laser dissector)和彭氏多功能手术解剖器等广泛应用,大大减少了术中出血。许多学者推荐使用超声刀,但随机调查研究显示不能证明超声刀的使用较其他方法具有明显优势^[28-29]。所以这些方法选择和效果取决于外科医生经验和使用技巧。

2.3 其他技术 离体/半离体肝切除技术:离体肝切除术即原位自体肝移植术,1988年德国Pichlmayr首先提出并应用于临床治疗10例困难的肝切除患者。半离体切肝术的设想是由吴孟超于1988年根据Pichlmayr的全离体肝切除方法完成了动物实验后提出。我们于1992年在国际上率先将半离体肝切除技术成功地运用临床,突破了肝脏外科禁区。其方法是在阻断第一肝门、肝下段下腔静脉及肝上段下腔静脉后,横断肝上段腔静脉,将肝脏下翻至切口外,以实现肝脏后方的暴露^[21,30]。离体/半离体肝切除术能提高肝脏隐匿后方、侵犯肝后下腔静脉和主肝静而常规不能切除的肿瘤切除率。但早期离体或半离体方法,存在技术复杂、分离面广、创伤大的缺点,因而在很大程度上限制了其临床价值的发挥。近年,随着肝移植技术日趋成熟,肝移植中的体外血液转流技术和器官低温保存技术逐步应用于复杂、困难的肝切除,衍生出今天体外肝外科发展,通过改良方法可不进行体外血液转流,使得离体/半离体肝切除术更加容易、安全和精确。在供肝匮乏的今天,离体/半离体肝切除技术对于常规肝切除难以处理的肝癌的治疗仍有一定的价值。

精确肝切除技术:活体肝移植技术的发展使得精确肝切除技术成为可能。要求术前精确的影像学判断指导解剖性切肝途径;精确测定

肝储备功能, 剩余肝体积准确判断; 不阻断肝血流或选择性的阻断拟切除的肝脏叶或段的血流; 掌握足够的手术技巧, 熟练使用超声刀或水刀等设备. 精确肝切除技术应用于肝癌的治疗使得最大化保护有功能肝组织和最小化出血的两个治疗原则成为可能.

腹腔镜肝脏切除术: 1991年Reich首先成功开展腹腔镜肝脏切除术(laparoscopic hepatectomy, LH), 此后得到快速发展, 目前文献多见于小于5 cm肝脏周边肿瘤治疗, 特别是左侧肝叶/段切除. 其安全性与开腹肝脏切除术相似, 明显优势在于微创性. LH没有大的腹部切口, 创伤小, 术后腹水发生率低. 有学者将LH肝切除的适应证扩大到肝脏周边肿瘤同时又有腹水或是中度肝功能不全的患者, 这些通常是剖腹手术的禁忌. 此外, LH后的再手术或肝移植比剖腹手术后再手术要简单很多^[31-33].

3 手术后并发症

肝癌肝切除后并发症发生率在30%-50%, 肝硬化的肝脏甚至在较小部分切除后出现腹水也是很常见的. 大量腹水可并发腹壁腹水漏、感染和呼吸系统并发症等. 主要并发症是术后肝功能衰竭. 术后肝功能衰竭表现为: 黄疸、凝血因子缺乏(凝血酶原时间延长或是国际化比值增高)、腹水和肝性脑病. 因此, 伴有肝硬化的HCC肝脏切除后需要在专科中心进行治疗. 应该采取措施减少这些并发症, 包括: 限制水盐摄入, 预防性抗生素使用, 营养支持和谨慎的药物管理(止痛药、镇静剂、肾毒性药物)^[34-35].

4 肝切除术后结果

如前所述, 手术死亡率在近15年有了很大的改善. Poon和他的同事们研究比较两个相邻时期住院死亡率, 从1989-1993年的13%下降到1994-1999年的2.5%^[36]. 日本的一组资料显示1990-1999的12 000例患者, 手术死亡率从1990-1991年的2.3%下降到1998-1999年的0.6%^[38]. 长期生存率的结果因不同种族、选择标准而不同. 据报道: 有良好预后指征的患者(单一肿瘤、Child-Pugh分级A级、没有门脉高压)5年生存率在50%到70%之间. 迄今为止, 日本最大病例组报道1、3、5年生存率分别是85%、67%和50%^[37]. 我们1500例肝癌肝切除术后1、3、5年生存率分别是75%、60%和45%.

由于持续的基础肝脏疾病存在, 肝内复发是

很常见的: 文献报道5年复发率为60%-80%. 复发灶出现的部位通常远离最初切除部位, 这也是多中心致癌作用的证据之一. 若复发灶在切除位置附近, 可能是原发灶转移扩散, 一般出现早. 很多因素影响HCC切除术后的生存率, 其中3个是被公认的: 基础肝脏疾病的严重程度, 病灶的大小和数量, 是否存在显微镜下和肉眼可见的血管的侵犯. 美国的一个多中心研究表明, 单个肿瘤直径等于或是小于5 cm的患者切除后5年生存率为43%, 相比之下, 肿瘤直径大于5 cm的患者切除后5年生存率为32%^[38]. 多发病灶的出现是疾病晚期的证据, 而且与生存率降低、复发率增加有关. 在日本报道中, 单个肿瘤的患者5年生存率为57%, 而3个或是更多肿瘤的患者5年生存率为26%. 出现肉眼可见的血管侵犯是最差的预后因素, 新近的一个西方102例患者多中心研究显示: 出现门脉分枝或主要静脉侵犯其1、3、5年生存率为47%、17%、10%^[9]. 显微镜下血管侵犯具独立的同样预后价值, Vauthey和他的同事研究发现没有肉眼和显微镜下血管侵犯的5年生存率分别为41%和46%, 出现肉眼和显微镜下血管侵犯的5年生存率分别为15%和29%. 瘤体大小和出现显微镜下血管侵犯之间有一定的相互关系, 显微镜下血管侵入出现率在肿瘤小于2 cm时为20%, 2-5 cm时为30%-60%, 大于5 cm时为60%-90%^[39].

其他影响预后的内素有: 肿瘤分化程度(Edmondson分级)、是否存在包膜, 输血, 甲胎蛋白水平等.

5 复发的预防、筛查和治疗

复发的预防: 目前治疗未发现的肝内微小转移的辅助方法有栓塞化疗、内照射、全身化疗及其他方法如通过治疗慢性肝病(抗病毒治疗、维甲酸类)以期预防新生肿瘤复发. 一些随机对照研究已显示全身化疗和栓塞化疗对预防复发没有明显作用. 另有一些非随机研究指出, 用¹³¹碘标记的碘化油内照射可能有预防复发的效果^[40]. 一些研究表明免疫疗法(活化的淋巴细胞、干扰素- α)和给予维甲酸类可能降低复发率, 但是尚未获得循证医学支持. 抗病毒治疗(如用拉米夫定、阿德福韦治疗乙型肝炎, 用干扰素、利巴韦林治疗丙型肝炎), 建议作为HCC的一级预防, 尚待在二级预防中加以检查验证^[41]. 靶向治疗的出现例如抗血管生成药物(Sorafenib)已展现出令人鼓舞的结果^[42-43].

■名词解释

- 1 解剖性肝切除: 是指切肝前预先解剖、阻断或断离相应肝叶、肝段的入肝血流, 然后按解剖学标志切除相应肝段、肝叶、半肝或三叶的肝组织.
- 2 非解剖性肝切除: 是指切肝前不预先解剖、阻断或断离直接供应肿瘤及周围组织的入肝血流, 其切除范围仅包括肿瘤及周围肝组织.
- 3 无血切肝术: 是指通过阻断肝脏的出入血管, 使肝脏处于完全无血流状态下, 进行手术操作的一类技术方法的总称.
- 4 选择性(半肝/肝段)血流阻断技术: 切肝前预先选择解剖、阻断或断离相应半肝/肝段的入/出肝血流, 保留对侧半肝/其他肝段正常血供.

■同行评价

本研究展示了该领域的焦点与热点问题,反映了目前肝癌肝切除治疗的国内外动态,对肝癌外科临床有重要指导价值。

复发的筛查方法包括常规的影像学检查:超声、CT、MRI(第1年每3 mo 1次,以后每6 mo 1次)和甲胎蛋白水平的检测。

复发治疗选择包括:再次肝切除术,经皮肿瘤消融和肝移植术。再次肝切除术适用于单一病灶复发且肝功能尚能代偿的患者。小的单一病灶复发亦可采用经皮肿瘤消融。肝移植理论上是复发治疗最好的选择,虽然因为缺少供体而受到限制,符合Milan标准的患者可以考虑包括以前因肿瘤有过肝切除但不在Milan标准中的患者。Faccito *et al*研究表明约半数超过Milan标准的HCC患者行肝切除后复发再行肝移植而获得长期生存^[44]。

6 结论

目前,肝切除术仍然是治疗HCC的主要手段。由于我国大多数HCC患者合并慢性肝病,术后较易发生肝功能衰竭,因此,术前应严格评估肝脏储备功能,精确定位肿瘤位置及与周围脉管关系;手术方式的选择遵循最大化保护有功能肝组织和最小化出血的两个治疗原则;根据患者具体情况和术者经验,选择解剖性/非解剖性肝切除术,切除的肝脏原则上不应超过有功能肝脏体积的50%,非解剖性肝切除术切缘距肿瘤边缘至少1 cm以上。以上的努力使得合并慢性肝病的HCC患者手术切除的死亡率低于5%,输血率低于20%,5年总生存率基本可达到50%左右。术后肝内复发应该及早被筛查,并尽可能通过重复切除、经皮肿瘤消融或肝移植治疗。

7 参考文献

- Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003; 362: 1907-1917
- Tong MJ, Blatt LM, Kao VW. Surveillance for hepatocellular carcinoma in patients with chronic viral hepatitis in the United States of America. *J Gastroenterol Hepatol* 2001; 16: 553-559
- Bolondi L, Sofia S, Siringo S, Gaiani S, Casali A, Zironi G, Piscaglia F, Gramantieri L, Zanetti M, Sherman M. Surveillance programme of cirrhotic patients for early diagnosis and treatment of hepatocellular carcinoma: a cost effectiveness analysis. *Gut* 2001; 48: 251-259
- Imamura H, Seyama Y, Kokudo N, Maema A, Sugawara Y, Sano K, Takayama T, Makuuchi M. One thousand fifty-six hepatectomies without mortality in 8 years. *Arch Surg* 2003; 138: 1198-1206; discussion 1206
- 朱新华, 仇毓东, 吴亚夫, 周建新, 徐庆祥, 丁义涛. 规则性肝切除术治疗原发性肝癌的分析. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 3305-3309
- Farges O, Belghiti J, Kianmanesh R, Regimbeau

- JM, Santoro R, Vilgrain V, Denys A, Sauvanet A. Portal vein embolization before right hepatectomy: prospective clinical trial. *Ann Surg* 2003; 237: 208-217
- Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Lam CM, Yuen WK, Yeung C, Wong J. Extended hepatic resection for hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis: is it justified? *Ann Surg* 2002; 236: 602-611
- Pawlik TM, Poon RT, Abdalla EK, Zorzi D, Ikai I, Curley SA, Nagorney DM, Belghiti J, Ng IO, Yamaoka Y, Lauwers GY, Vauthey JN. Critical appraisal of the clinical and pathologic predictors of survival after resection of large hepatocellular carcinoma. *Arch Surg* 2005; 140: 450-457; discussion 457-458
- Pawlik TM, Poon RT, Abdalla EK, Ikai I, Nagorney DM, Belghiti J, Kianmanesh R, Ng IO, Curley SA, Yamaoka Y, Lauwers GY, Vauthey JN. Hepatectomy for hepatocellular carcinoma with major portal or hepatic vein invasion: results of a multicenter study. *Surgery* 2005; 137: 403-410
- Liu CL, Fan ST, Lo CM, Tso WK, Poon RT, Lam CM, Wong J. Management of spontaneous rupture of hepatocellular carcinoma: single-center experience. *J Clin Oncol* 2001; 19: 3725-3732
- Belghiti J, Regimbeau JM, Durand F, Kianmanesh AR, Dondero F, Terris B, Sauvanet A, Farges O, Degos F. Resection of hepatocellular carcinoma: a European experience on 328 cases. *Hepato-gastroenterology* 2002; 49: 41-46
- 何鹏, 仇毓东, 丁义涛, 常俊. 脉动色素浓度测定法行ICG清除试验检测肝储备功能的临床应用. *肝胆外科杂志* 2006; 14: 189-191
- Ercolani G, Grazi GL, Ravaioli M, Del Gaudio M, Gardini A, Cescon M, Varotti G, Cetta F, Cavallari A. Liver resection for hepatocellular carcinoma on cirrhosis: univariate and multivariate analysis of risk factors for intrahepatic recurrence. *Ann Surg* 2003; 237: 536-543
- Intraobserver and interobserver variations in liver biopsy interpretation in patients with chronic hepatitis C. The French METAVIR Cooperative Study Group. *Hepatology* 1994; 20: 15-20
- Poon RT, Fan ST, Ng IO, Wong J. Significance of resection margin in hepatectomy for hepatocellular carcinoma: A critical reappraisal. *Ann Surg* 2000; 231: 544-551
- Hasegawa K, Kokudo N, Imamura H, Matsuyama Y, Aoki T, Minagawa M, Sano K, Sugawara Y, Takayama T, Makuuchi M. Prognostic impact of anatomic resection for hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2005; 242: 252-259
- 朱新华, 仇毓东, 丁义涛, 吴亚夫, 周建新, 孙喜太, 徐庆祥. 解剖性肝切除术治疗原发性肝癌的安全性及疗效探讨. *中华消化外科杂志* 2007; 6: 373-376
- Kaibori M, Matsui Y, Hijikawa T, Uchida Y, Kwon AH, Kamiyama Y. Comparison of limited and anatomic hepatic resection for hepatocellular carcinoma with hepatitis C. *Surgery* 2006; 139: 385-394
- Eguchi S, Ijtsma AJ, Slooff MJ, Porte RJ, de Jong KP, Peeters PM, Gouw AS, Kanematsu T. Outcome and pattern of recurrence after curative resection for hepatocellular carcinoma in patients with a normal liver compared to patients with a diseased liver. *Hepato-gastroenterology* 2006; 53: 592-596
- Nagino M, Kamiya J, Arai T, Nishio H,

- Ebata T, Nimura Y. "Anatomic" right hepatic trisectionectomy (extended right hepatectomy) with caudate lobectomy for hilar cholangiocarcinoma. *Ann Surg* 2006; 243: 28-32
- 21 丁义涛, 孙喜太. 无血切肝术在肝肿瘤切除49例中的应用. *中华普通外科杂志* 2000; 15: 527-529
- 22 Belghiti J, Noun R, Malafosse R, Jagot P, Sauvanet A, Pierangeli F, Marty J, Farges O. Continuous versus intermittent portal triad clamping for liver resection: a controlled study. *Ann Surg* 1999; 229: 369-375
- 23 Brooks AJ, Hammond JS, Girling K, Beckingham IJ. The effect of hepatic vascular inflow occlusion on liver tissue pH, carbon dioxide, and oxygen partial pressures: defining the optimal clamp/release regime for intermittent portal clamping. *J Surg Res* 2007; 141: 247-251
- 24 丁义涛, 刘仁庆, 吴亚夫. 常温下全肝血流阻断无血切肝术的技术改进及体会. *中华肿瘤杂志* 1988; 10: 392-394
- 25 Liu CL, Fan ST, Lo CM, Tung-Ping Poon R, Wong J. Anterior approach for major right hepatic resection for large hepatocellular carcinoma. *Ann Surg* 2000; 232: 25-31
- 26 Belghiti J, Guevara OA, Noun R, Saldinger PF, Kianmanesh R. Liver hanging maneuver: a safe approach to right hepatectomy without liver mobilization. *J Am Coll Surg* 2001; 193: 109-111
- 27 Wang WD, Liang LJ, Huang XQ, Yin XY. Low central venous pressure reduces blood loss in hepatectomy. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 935-939
- 28 Takayama T, Makuuchi M, Kubota K, Harihara Y, Hui AM, Sano K, Ijichi M, Hasegawa K. Randomized comparison of ultrasonic vs clamp transection of the liver. *Arch Surg* 2001; 136: 922-928
- 29 Lesurtel M, Selzner M, Petrowsky H, McCormack L, Clavien PA. How should transection of the liver be performed?: a prospective randomized study in 100 consecutive patients: comparing four different transection strategies. *Ann Surg* 2005; 242: 814-822, discussion 822-823
- 30 丁义涛, 刘仁庆, 吴亚夫, 金遵禹. 半离体切肝术的实验研究与临床应用. *实用癌症杂志* 1995; 10: 171-173
- 31 Cherqui D, Laurent A, Tayar C, Chang S, Van Nhieu JT, Loriau J, Karoui M, Duvoux C, Dhumeaux D, Fagniez PL. Laparoscopic liver resection for peripheral hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: midterm results and perspectives. *Ann Surg* 2006; 243: 499-506
- 32 Vibert E, Perniceni T, Levard H, Denet C, Shahri NK, Gayet B. Laparoscopic liver resection. *Br J Surg* 2006; 93: 67-72
- 33 Teramoto K, Kawamura T, Takamatsu S, Nakamura N, Kudo A, Noguchi N, Irie T, Arii S. Laparoscopic and thoracoscopic approaches for the treatment of hepatocellular carcinoma. *Am J Surg* 2005; 189: 474-478
- 34 Balzan S, Belghiti J, Farges O, Ogata S, Sauvanet A, Delefosse D, Durand F. The "50-50 criteria" on postoperative day 5: an accurate predictor of liver failure and death after hepatectomy. *Ann Surg* 2005; 242: 824-828, discussion 828-829
- 35 Wei AC, Tung-Ping Poon R, Fan ST, Wong J. Risk factors for perioperative morbidity and mortality after extended hepatectomy for hepatocellular carcinoma. *Br J Surg* 2003; 90: 33-41
- 36 Poon RT, Fan ST, Lo CM, Ng IO, Liu CL, Lam CM, Wong J. Improving survival results after resection of hepatocellular carcinoma: a prospective study of 377 patients over 10 years. *Ann Surg* 2001; 234: 63-70
- 37 Ikai I, Arii S, Kojiro M, Ichida T, Makuuchi M, Matsuyama Y, Nakanuma Y, Okita K, Omata M, Takayasu K, Yamaoka Y. Reevaluation of prognostic factors for survival after liver resection in patients with hepatocellular carcinoma in a Japanese nationwide survey. *Cancer* 2004; 101: 796-802
- 38 Vauthey JN, Lauwers GY, Esnaola NF, Do KA, Belghiti J, Mirza N, Curley SA, Ellis LM, Regimbeau JM, Rashid A, Cleary KR, Nagorney DM. Simplified staging for hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2002; 20: 1527-1536
- 39 Pawlik TM, Delman KA, Vauthey JN, Nagorney DM, Ng IO, Ikai I, Yamaoka Y, Belghiti J, Lauwers GY, Poon RT, Abdalla EK. Tumor size predicts vascular invasion and histologic grade: Implications for selection of surgical treatment for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2005; 11: 1086-1092
- 40 Lau WY, Lai EC, Leung TW, Yu SC. Adjuvant intra-arterial iodine-131-labeled lipiodol for resectable hepatocellular carcinoma: a prospective randomized trial-update on 5-year and 10-year survival. *Ann Surg* 2008; 247: 43-48
- 41 Kuzuya T, Katano Y, Kumada T, Toyoda H, Nakano I, Hirooka Y, Itoh A, Ishigami M, Hayashi K, Honda T, Goto H. Efficacy of antiviral therapy with lamivudine after initial treatment for hepatitis B virus-related hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol* 2007; 22: 1929-1935
- 42 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390
- 43 Azad NS, Posadas EM, Kwitkowski VE, Steinberg SM, Jain L, Annunziata CM, Minasian L, Sarosy G, Kotz HL, Premkumar A, Cao L, McNally D, Chow C, Chen HX, Wright JJ, Figg WD, Kohn EC. Combination targeted therapy with sorafenib and bevacizumab results in enhanced toxicity and antitumor activity. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3709-3714
- 44 Facciuto ME, Koneru B, Rocca JP, Wolf DC, Kim-Schluger L, Visintainer P, Klein KM, Chun H, Marvin M, Rozenblit G, Rodriguez-Davalos M, Sheiner PA. Surgical treatment of hepatocellular carcinoma beyond Milan criteria. Results of liver resection, salvage transplantation, and primary liver transplantation. *Ann Surg Oncol* 2008; 15: 1383-1391

编辑 李军亮 电编 何基才

自体骨髓间充质干细胞移植对实验性急性肝功能衰竭的治疗作用

许海云, 施晓雷, 褚薛慧, 丁义涛

■背景资料

急性肝功能衰竭具有很高的死亡率。肝移植是当今公认的治疗终末期肝病最为有效的手段, 但器官供需矛盾突出, 从长远来看, 肝移植术后各种并发症、术后免疫排斥药物应用等因素, 也限制了患者长期生存率。

许海云, 施晓雷, 褚薛慧, 丁义涛, 南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆外科 江苏省南京市 210008

许海云, 在读硕士, 主要从事肝胆疾病的研究。

江苏省自然科学基金资助项目, No. BK2007537

南京市卫生局重点基金资助项目, No. ZKX06015

作者贡献分布: 此课题由许海云、施晓雷及丁义涛设计; 研究过程由许海云、施晓雷及褚薛慧操作完成; 研究所用试剂及分析工具由丁义涛提供; 数据分析由许海云完成; 本论文写作由许海云、施晓雷及丁义涛完成。

通讯作者: 丁义涛, 教授, 210008, 江苏省南京市, 江苏省南京大学医学院附属鼓楼医院肝胆科. yitaoding@hotmail.com

电话: 025-83106666 传真: 025-83106666

收稿日期: 2009-01-16 修回日期: 2009-03-05

接受日期: 2009-03-09 在线出版日期: 2009-04-08

Effects on swine acute liver failure by combined therapy of autologous mesenchymal stem cell transplantation and medical treatment

Hai-Yun Xu, Xiao-Lei Shi, Xue-Hui Chu, Yi-Tao Ding

Hai-Yun Xu, Xiao-Lei Shi, Xue-Hui Chu, Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Supported by: the Natural Science Foundation of Jiangsu Province, No. BK2007537; and the Health Bureau Key Programs of Nanjing City, No. ZKX06015

Correspondence to: Professor Yi-Tao Ding, Department of Hepatobiliary Surgery, Nanjing Drum tower Hospital, 321 Zhongshan Road, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. yitaoding@hotmail.com

Received: 2009-01-16 Revised: 2009-03-05

Accepted: 2009-03-09 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To evaluate cooperative effects on swine acute liver failure by combined therapy of autologous mesenchymal stem cell transplantation and medical treatment.

METHODS: Pigs were given D-galactosamine to build models of acute liver failure. Twelve miniature pigs were randomly divided into four groups. In combined therapeutic group, 5×10^7 MSCs were injected into liver via portal veins after 24 h, 100 mL plasma and diammonium glycyrrhizinate 100 mg in vein QD. In the medical treatment group, blood plasma 100 ml and

diammonium glycyrrhizinate 100 mg in vein QD. In the MSCs transplantation group, 5×10^7 MSCs were injected into liver via portal veins after 24 h. In the control group, except for routine observation and care, no additional treatment was given. Liver function and pathological changes were measured.

RESULTS: The survival time of the control group was 44 ± 3.5 h, promoting all experimental animals to death at 48 h. The biochemical assay of the combined therapeutic group were different from those in the medical treatment group and from the MSCs transplantation group ($P < 0.05$), as well as from the biochemical assay. Area of necrosis was obviously reduced in the combined therapeutic group. Cells grow rate (34%) in the combined therapeutic group was remarkably different from those of other groups.

CONCLUSION: The medical treatment and the MSCs transplantation are useful for ALF partially. The combined therapy shows cooperative effects, and the biochemical assay and changes in liver pathology are significantly improved.

Key Words: Bone marrow; Mesenchymal stem cells; Stem cell transplantation; Combined therapy; Acute liver failure

Xu HY, Shi XL, Chu XH, Ding YT. Effects on swine acute liver failure by combined therapy of autologous mesenchymal stem cell transplantation and medical treatment. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 962-968

摘要

目的: 探讨自体骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)移植联合内科方法对急性肝功能衰竭动物的协同治疗作用。

方法: 采用D-氨基半乳糖(D-Gal)诱导建立猪急性肝功能衰竭模型。12只实验动物随机分为4组($n = 3$), 联合治疗组: 诱导24 h后, 门静脉移植 5×10^7 自体MSCs, 每24 h自体血浆100 mL、甘利欣100 mg滴注; 单纯内科治疗组: 诱

■同行评议者

张小晋, 主任医师, 北京积水潭医院消化内科

导后每24 h自体血浆100 mL、甘利欣100 mg滴注;单纯自体MSCs移植组:诱导24 h后,经门静脉移植 5×10^7 自体MSCs;对照组:除普通观察护理外,不予以任何治疗.以对照组存活时间为整个实验观察窗口,观察家猪的肝脏功能及病理变化.

结果:对照组全部死亡后(存活 44 ± 3.5 h),其他3组所有实验动物人为促死.肝脏功能指标在联合治疗组、单纯内科治疗组及单纯MSCs移植组明显优于对照组($P < 0.05$),联合治疗组比较单纯内科治疗组及单纯自体MSCs移植组有明显改善($P < 0.05$).肝脏病理HE染色提示联合治疗组、单纯内科治疗组病理改变轻于其他组,联合治疗组病理改变轻于内科治疗组,单纯MSCs移植组与对照组比较无明显差异.免疫组织化学显示联合治疗组肝脏细胞增殖率(34%)明显优于其他组,单纯内科治疗组、单纯MSCs移植组及对照组无明显差异.

结论:单纯骨髓MSCs移植或者内科治疗急性肝功能衰竭有一定效果,骨髓MSCs移植联合内科治疗具有一定协同作用,可明显改善D-Gal诱导的急性肝衰竭家猪的肝脏指标,促进肝组织及功能恢复.

关键词:骨髓;间充质干细胞;干细胞移植;联合治疗;急性肝功能衰竭

许海云, 施晓雷, 褚薛慧, 丁义涛. 自体骨髓间充质干细胞移植对实验性急性肝功能衰竭的治疗作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 962-968
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/962.asp>

0 引言

各种原因引起的急性肝功能衰竭具有很高的死亡率.肝移植是当今公认的治疗终末期肝病最为有效的手段,但由于器官供需矛盾突出,许多患者由于缺乏有效的肝脏支持治疗手段而在等待中死亡.从长远来看,肝移植术后各种并发症、术后抗免疫排斥药物应用等因素,也限制了患者长期生存.

干细胞移植由于其简单易行、应用灵活、对受体影响小及价格相对低廉等特点,近年来得到较快发展,成为继原位肝移植后又一治疗肝功能衰竭的有效手段.研究表明:骨髓间充质干细胞在一定的内环境下能够转化为肝细胞,分泌相关细胞因子,从而促进受损肝脏细胞增生.以自体骨髓干细胞作为细胞移植的细胞来

源,不仅可以解决细胞来源缺乏的问题,还可以解决异体细胞带来的免疫排斥反应等一系列问题.然而,也有研究结果表明:骨髓间充质干细胞(mesenchymal stem cells, MSCs)的移植效果并不尽如人意,干细胞在肝脏中的归巢及转化率很低.为了解决这个问题,本研究拟采用自体骨髓MSCs移植联合内科常规方法对急性肝功能衰竭(acute hepatic failure, AHF)进行治疗,以期通过改善肝脏的内环境来提高干细胞移植的效率,从而为临床开展骨髓MSCs移植提供更理想的模式.

1 材料和方法

1.1 材料 成年健康家猪12头,雌雄不限,体质量20 kg左右,由南京大学医学院附属鼓楼医院实验动物中心提供. L-DMEM培养液、特级胎牛血清、胰蛋白酶及青链双抗购自Gibco公司;淋巴细胞分离液购自TBD公司;小鼠抗猪mAb CD45-FITC购自美国Antigenix公司;小鼠抗猪mAb CD90-PE购自美国BD Pharmingen公司;大鼠抗哺乳动物mAb PCNA购自美国Chemicon公司, DAKO Invasion System通用二抗; Membrane Plasma Fractionator膜型血浆成分分离器购自日本川澄化学工业株式会社.

1.2 方法

1.2.1 猪骨髓MSCs的分离、培养及扩增:成年健康家猪氯胺酮肌肉麻醉后,于髂前上棘穿刺,抽取骨髓液15 mL.获取骨髓液按1:1比例缓慢加入到密度为1.077的淋巴细胞分离液中,2200 r/min离心25 min,收集中间云雾状的界面层, L-DMEM重悬2次后,接种于25 mL的培养瓶中.培养液为90% L-DMEM, 100 mL/L胎牛血清, 100 kU/L青霉素, 100 mg/L链霉素. 24 h后换液除去悬浮细胞,每3 d换液,第9-10天细胞生长占瓶底面积超过90%形成融合时,用2.5 g/L胰酶消化按1:3进行传代,以后重复操作,传至第5代,培养过程中倒置相差显微镜下观察.

1.2.2 MSCs的流式细胞学鉴定:取P5代细胞用于流式细胞分析.细胞消化后进行室温离心,所得细胞沉淀用PBS洗涤后弃除上清;加入600 μ L PBS吹打均匀后15 mL离心管分装,每管300 μ L细胞悬液,分为实验组和对照组,实验组加入小鼠抗猪mAb CD45、CD90各5 μ L,避光孵育20 min后行流式细胞学检测.

1.2.3 猪自体血浆分离:采用全麻下颈动脉及颈外静脉插管,肝素1 mL颈动脉推注肝素化家猪;

■ 研发前沿

干细胞移植由于其简单易行、应用灵活、对受体影响小及价格相对低廉等特点,近年来成为继原位肝移植后又一治疗肝功能衰竭的有效手段,但在肝脏中的归巢及转化率很低,这一问题有待解决.

■相关报道

目前已有相当多文献报道,体外标记骨髓间充质干细胞经各种途径移植后,可以动态观察到其归巢,并且免疫组织化学也提示干细胞可以转化为成体肝细胞,达到纠正改善肝衰竭的目的。

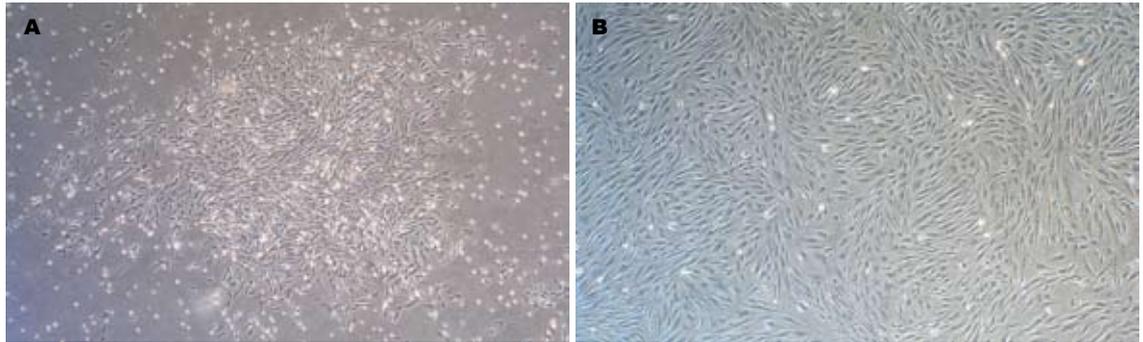


图1 MSCs形态学. A: 原代; B: 第5代.

将血液回路导管进血出血口分别接入血浆分离器进血出血口,整个回路肝素化并且排尽空气,在蠕动泵驱动下以150 mL/min的速度循环.收集新鲜血浆300 mL, -20℃冰冻备用;自体血浆分离结束后予以等量复方氯化钠输注.

1.2.4 猪急性肝损伤模型的建立: 采用全麻下颈外静脉插管,以0.6 g/kg剂量的D-Gal静脉给药. D-Gal按10%的浓度溶于50 g/L葡萄糖溶液,并调节溶液pH值至6.8,经颈外静脉中心导管滴注到动物体内;分别于术后6、12、18及24 h观察临床表现,存活动物给药24 h后进行后续的分组处理^[1].

1.2.5 实验分组及处理: 所有动物急性肝损伤造模成功后,随机分为4组. A组: 联合治疗组($n = 3$): 诱导24 h后,开腹门静脉移植 5×10^7 自体MSCs,每24 h自体血浆100 mL、甘利欣100 mg滴注; B: 单纯内科治疗组($n = 3$): 诱导后每24 h自体血浆100 mL、甘利欣100 mg滴注; C: 单纯自体MSCs移植组($n = 3$): 诱导24 h后,开腹经门静脉移植 5×10^7 自体MSCs; D: 对照组($n = 3$): 除普通观察护理外,不予以任何治疗.

5×10^7 骨髓MSCs制成4 mL细胞悬液.移植方法: 动物麻醉后,消毒腹部皮肤,分层进入腹腔,暴露肝脏,解剖肝门部,寻找门静脉,用头皮针斜行向心穿刺入门静脉,缓慢推注细胞悬液.拔针后局部按压止血,见无明显渗血后,生理盐水冲洗腹腔,逐层关腹.治疗后各组每3 h颈静脉插管处采血,分别行谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、总胆红素(TB)、血尿素氮(BUN)、血糖(GLU)、血清白蛋白(ALB)、凝血酶原时间(PT)及血氨(NH_3)浓度一系列肝功能检测.以对照组存活时间作为整个实验观察窗口.

1.2.6 组织学检查: 动物死后取出肝脏,随机取肝内血管及周围组织,甲醛固定后常规石蜡包埋,行HE染色及免疫组化检测增殖细胞核抗原(proliferating cell nuclear antigen, PCNA).

统计学处理 采用SPSS16.0统计学软件进行数据处理,组之间比较应用独立样本 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 MSCs形态学特点 原代接种24 h后换液镜下可见少量类圆形贴壁细胞稀疏生长;培养3 d后,可见单个或少量成集落生长的贴壁细胞,形态大多呈短梭形(图1A);9-10 d后,集落不断扩大并形成融合单层,细胞形态大多呈长梭形或多角形.传代后,细胞呈均匀生长,形态类似成纤维细胞,混有较多杂质细胞;传至第5代,杂质细胞不断被除去, MSCs逐渐纯化(图1B).

2.2 流式细胞学鉴定 流式细胞鉴定结果P5代细胞表面表达 $\text{CD}90^+ \text{CD}45^-$ 的细胞占总细胞数的百分比为95%以上(图2),表明P5代细胞基本为MSCs,纯度很高,可作为种子细胞进行下一步实验.

2.3 肝脏功能改变 对照组存活时间约 44 ± 3.5 h;对照组全部死亡后,其他3组所有实验动物人为促死.联合治疗组相比于对照组各类生化指标均有显著改善($P < 0.05$);单纯内科治疗组、单纯干细胞移植组与对照组相比,生化功能有一定改善,主要为AST、BUN、ALB;联合治疗组较单纯内科治疗组、单纯干细胞移植组比较,除TB、ALB外各类生化指标有所改善($P < 0.05$);单纯内科治疗组与单纯干细胞移植组相比,ALT、TB及BUN有一定改善,其余生化指标无明显统计学意义(表1).

2.4 NH_3 及凝血功能改变 联合治疗组 NH_3 及凝血功能较其余组改善明显,有统计学差异;单纯内科治疗组及单纯干细胞移植组较对照组有一定改善;内科治疗组 NH_3 改善较单纯干细胞移植组有差异(图3).

2.5 组织学病理及免疫组织化学 HE染色: 对照

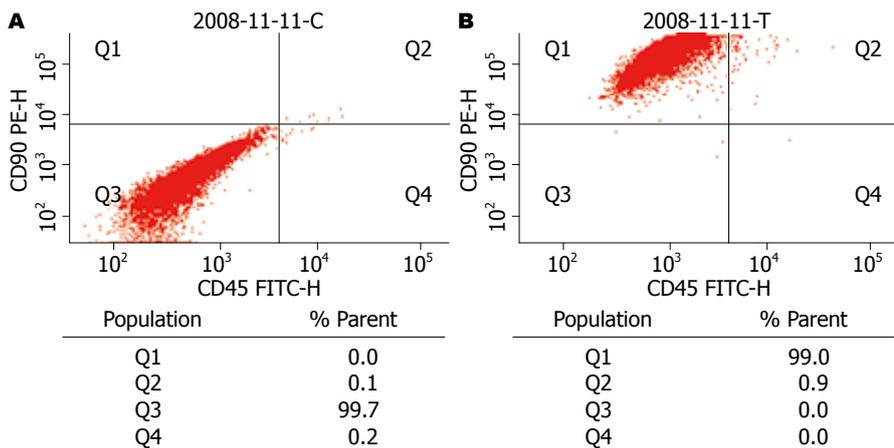


图 2 P5代细胞流式细胞分析结果. A: 对照组CD90⁺CD45⁻细胞达99.7%; B: 实验组CD90⁺CD45⁻细胞达99.0%.

创新盘点
 本文主要以干细胞输注及内科常规治疗急性肝衰竭的方法结合, 有效地延长了急性肝衰竭模型的存活时间, 给干细胞归巢、转化及发挥功能一定的时间.

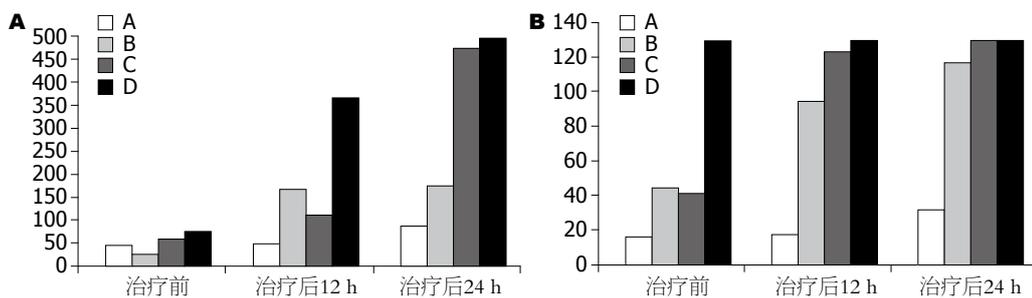


图 3 NH₃及凝血功能改变. A: NH₃; B: PT.

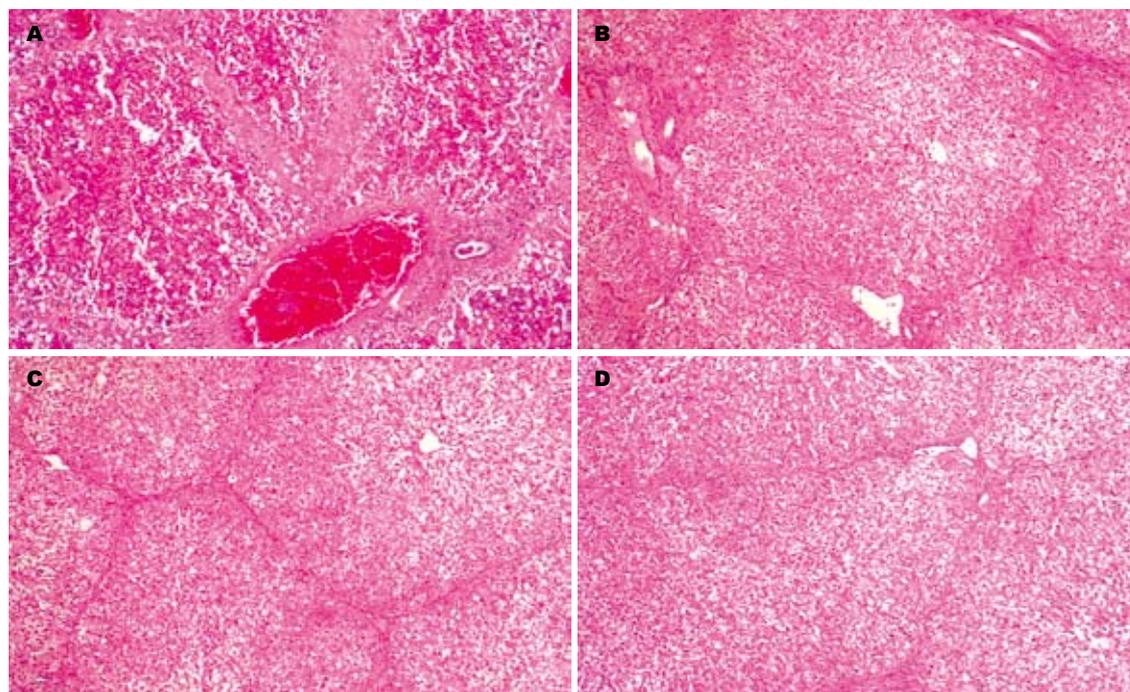


图 4 肝组织学病理图(HE × 40). A: 对照组; B: 干细胞移植治疗组; C: 内科治疗组; D: 联合治疗组.

组可见肝组织、肝小叶轮廓尚存, 肝细胞坏死严重而广泛. 肝实质坏死区域可见胆汁淤积. 坏死区仅留下原有的网状支架, 网眼中充满红细胞而使坏死区呈红色. 坏死自小叶中央静脉开始, 向四周扩延, 仅小叶周边留有少部分变性的

肝细胞. 肝窦明显扩张充血并出血, 小叶内及汇管区有淋巴细胞和巨噬细胞为主的炎细胞浸润(图4A). 单纯内科治疗组及单纯干细胞移植组肝小叶内肝细胞广泛坏死伴出血及中性粒细胞浸润, 部分汇管区中性粒细胞浸润, 部分汇管区结

应用要点

由于MSCs具有来源于自体、培养方法简单、扩增能力强、无免疫原性,且不涉及社会伦理和法律问题等优点,可以作为肝细胞移植的种子细胞和基因治疗的载体细胞,在治疗急慢性肝衰竭及遗传代谢性肝脏疾病方面具有很好的前景。

表 1 分组治疗后各组24 h内肝功能变化 (mean ± SD)

参数	治疗前				治疗后12 h				治疗后24 h			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
ALT (U/L)	31.2 ± 2.6	69.3 ± 3.4	73.9 ± 4.3	62.3 ± 7.1	38.9 ± 1.4	116.6 ± 7.5	159.8 ± 6.2	181.9 ± 8.4	41.9 ± 14.9	149.8 ± 7.2	190.0 ± 15.9	200.4 ± 7.1
AST (U/L)	134.0 ± 7.8	1091.2 ± 345.0	820.8 ± 175.0	967.6 ± 298.0	193.2 ± 4.4	2754.5 ± 806.1	2340.9 ± 285.3	5889.0 ± 123.8	1561.6 ± 111.2	3334.5 ± 1151.5	3419.1 ± 769.9	6613.5 ± 431.6
TB (μmol/L)	35.9 ± 6.3	24.3 ± 2.0	24.0 ± 2.4	26.7 ± 3.2	52.7 ± 1.3	38.6 ± 6.0	42.5 ± 2.9	53.7 ± 13.2	68.2 ± 2.9	70.5 ± 2.0	52.2 ± 2.6	69.7 ± 19.6
BUN (mmol/L)	2.4 ± 0.3	3.1 ± 0.3	3.5 ± 0.4	5.1 ± 1.2	2.7 ± 0.3	3.7 ± 0.2	3.9 ± 0.2	7.3 ± 1.1	3.2 ± 0.6	3.7 ± 0.4	6.7 ± 0.2	7.3 ± 1.0
GLU (mmol/L)	4.5 ± 0.4	4.8 ± 1.5	3.6 ± 0.5	3.5 ± 0.4	3.7 ± 0.2	3.5 ± 0.3	2.4 ± 0.4	1.7 ± 0.6	3.1 ± 0.2	1.8 ± 1.3	1.5 ± 0.5	1.1 ± 0.3
ALB (g/L)	34.0 ± 2.9	28.6 ± 3.1	35.1 ± 2.3	34.1 ± 0.5	32.9 ± 3.6	31.6 ± 1.9	31.6 ± 1.7	29.4 ± 3.1	33.7 ± 3.0	32.8 ± 3.7	32.4 ± 3.0	28.6 ± 6.7

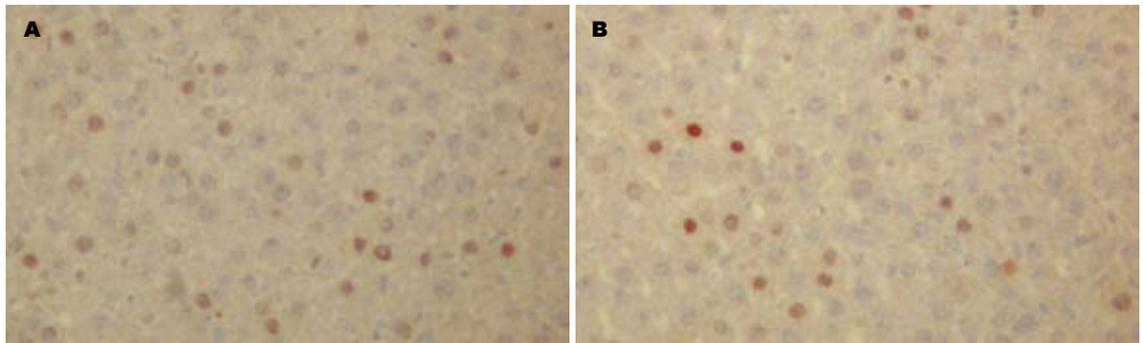


图 5 肝组织免疫组织化学染色结果(×100). A: 联合治疗组; B: 单纯内科治疗组.

构正常(图4B-C). 联合治疗组肝组织、肝小叶结构尚存, 小叶内肝细胞可见灶性坏死, 部分肝窦内充血, 小叶内见较多中性粒细胞浸润, 小叶间隔及汇管区见中性粒细胞浸润(图4D).

免疫组织化学染色: PCNA阳性表达的细胞核着棕黄色, 细小颗粒状, 疏密不等. 正常肝组织多为阴性表达, 偶见阳性表达. 对照组见几乎未见阳性表达; 单纯内科治疗组及单纯干细胞移植组存在阳性表达, 但数量较少(25%, 21%), 核着色较浅; 联合治疗组较其余3组, 阳性表达数量明显增多(34%), 且染色加深(图5).

3 讨论

骨髓干细胞作为一种成体干细胞, 除了具有一般干细胞的共性即自我更新能力以外, 还具有多向分化的能力, 可以分化为具有功能的组织细胞并应用于器官损伤的治疗, 是人们关注的热点及追求的目标^[2]. 已证实MSCs不仅能够分化为成骨细胞、软骨细胞、脂肪细胞、神经细胞、心肌细胞等^[3-4]. 近年来还发现在不同微环

境及细胞因子诱导条件下, 亦可分化为具有部分功能的类肝细胞, 从而参与肝功能的修复和重构^[5-11]. 骨髓细胞在体内不但能分化为肝细胞, 而且能分化为胆管细胞. 由于MSCs具有来源于自体、培养方法简单、扩增能力强、无免疫原性, 且不涉及社会伦理和法律问题等优点, 可以作为肝细胞移植的种子细胞和基因治疗的载体细胞, 在治疗急慢性肝衰竭及遗传代谢性肝脏疾病方面具有很好的前景^[12-17].

急性肝功能衰竭患者, 因其肝脏功能严重受损, 合成及分解功能下降, 不能维持正常生理代谢功能, 使A/G失调, 纤维蛋白原及凝血因子合成不足, 体内出现血氨升高、氨基酸不平衡、假性神经递质等, 使机体出现门脉高压, 大量腹水, 出血倾向, 严重可危机生命. 甘利欣具有较强的非特异性的抗炎作用, 可减少肝细胞的水肿、坏死, 同时甘利欣调节内源性类固醇水平, 具有保护肝细胞和溶酶体膜结构及改善肝功能的作用, 甘利欣能阻滞钙离子内流, 以减轻脏器细胞的损害^[18]. 新鲜冰冻血浆中含有大量白蛋

白、凝血因子、纤维蛋白原等, 对维持肝病患者的血浆胶体渗透压, 纠正出血倾向, 改变氨基酸不平衡有重要意义. 稀释排除有害因子如血氨的稀释可减少肝性脑病的形成, 减轻肝脏负担, 预防肝肾综合征的发生, 同时为患者肝脏功能的恢复创造有利的内环境和宝贵的时间^[19].

本实验中, 对照组存活时间为 44 ± 3.5 h, 对照组全部死亡后, 其他3组所有实验动物人为促死, 此时其余3组动物仍存活. 检测肝脏功能指标, 联合治疗组、单纯内科治疗组及单纯MSCs移植组明显优于对照组($P < 0.05$), 联合治疗组比较单纯内科治疗组及单纯自体MSCs移植组有明显改善($P < 0.05$). 肝脏病理HE染色提示联合治疗组、单纯内科治疗组病理改变轻于其他组, 联合治疗组病理改变轻于内科治疗组, 单纯MSCs移植组与对照组比较无明显差异. 免疫组织化学显示联合治疗组肝脏细胞增殖率(34%)明显优于其他组, 单纯内科治疗组、单纯MSCs移植组及对照组无明显差异.

单纯内科治疗有效减轻肝脏炎症坏死, 预防肝脏功能进一步受损, 改善已受损肝功能作用; 同时维持肝病患者的血浆胶体渗透压, 纠正出血倾向, 改变内环境不平衡状态. 单纯干细胞移植组较对照组生化及病理有一定改善, 考虑为骨髓基质干细胞移植后在受体内的分布、迁徙、分化及转归, 部分分化为肝脏细胞, 补偿受损肝功能, 同时也分泌大量细胞因子, 促进肝衰后剩余正常肝脏细胞增生, 但因急性肝功能衰竭后存活时间较短, 一般生存时间为72 h以内, 远远低于MSCs发挥功能的时间窗. 骨髓基质干细胞治疗联合内科治疗组相对与其余组有明显优势: 一方面, 内科治疗可以抑制肝功能进一步受损, 为干细胞移植后在受体内充分的分布、迁徙、分化及转归提供时间的可能性; 另一方面, 骨髓基质干细胞输注, 分泌细胞因子, 促死剩余正常肝脏细胞代偿性增生, 自身也有部分转化为肝干细胞, 协同内科治疗作用.

骨髓多能干细胞的存在具有巨大的科研和临床价值, 目前国际上虽对骨髓干细胞的研究已取得很大进展, 但对其生物学特性, 调控分化的因素, 诱导分化方法, 及诱导分化出的细胞与正常组织细胞的生物学特性有无差异等方面的研究都还不够充分, 因而临床应用方面的研究仅处于起步阶段, 有待我们继续努力^[20-21].

4 参考文献

- 1 李亚明, 张晶, 赵军, 陈煜, 段钟平. 急性肝功能衰竭动物模型的建立. *肝脏* 2006; 11: 175-180
- 2 Porada CD, Zanjani ED, Almeida-Porad G. Adult

- mesenchymal stem cells: a pluripotent population with multiple applications. *Curr Stem Cell Res Ther* 2006; 1: 365-369
- 3 Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, Henegariu O, Krause DS. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32: 11-16
- 4 Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, Jakoniuk I, Anderson SM, Li B, Pickel J, McKay R, Nadal-Ginard B, Bodine DM, Leri A, Anversa P. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-705
- 5 Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, Boggs SS, Greenberger JS, Goff JP. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-1170
- 6 Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM, Krause DS. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000; 31: 235-240
- 7 Alison MR, Poulos R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, Novelli M, Prentice G, Williamson J, Wright NA. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000; 406: 257
- 8 Sato Y, Araki H, Kato J, Nakamura K, Kawano Y, Kobune M, Sato T, Miyanishi K, Takayama T, Takahashi M, Takimoto R, Iyama S, Matsunaga T, Ohtani S, Matsuura A, Hamada H, Niitsu Y. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. *Blood* 2005; 106: 756-763
- 9 Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, Lenvik T, Johnson S, Hu WS, Verfaillie CM. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest* 2002; 109: 1291-1302
- 10 Wang PP, Wang JH, Yan ZP, Hu MY, Lau GK, Fan ST, Luk JM. Expression of hepatocyte-like phenotypes in bone marrow stromal cells after HGF induction. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 320: 712-716
- 11 李文晰, 段芳龄. 骨髓干细胞向肝系细胞分化的研究. *胃肠病学和肝病杂志* 2003; 12: 5-7
- 12 Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, Tyan DB, Cohen AH, Ferrareso C, Rozga J, Arnaout WS, Demetriou AA. Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 288: 156-164
- 13 Baccarani U, Adani GL, Sainz M, Donini A, Risaliti A, Bresadola F. Human hepatocyte transplantation for acute liver failure: state of the art and analysis of cell sources. *Transplant Proc* 2005; 37: 2702-2704
- 14 Kao CL, Lin HT, Chen YW, Chen YC, Tsai FT, Chang YL, Chiou SH, Sheu DC, Ku HH. Fibronectin suppresses lipopolysaccharide-induced liver damage and promotes the cytoprotection abilities of hepatocyte-like cells derived from human bone marrow mesenchymal stem cells. *Transplant Proc* 2007; 39: 3444-3445
- 15 Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, Carter EA, Berthiaume F, Tilles AW, Yarmush ML. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS ONE* 2007; 2: e941
- 16 Lu HH, Teng GJ, Ju SH, Sun JH, Li AM, Zhang AF. [Committed differentiation of transplanted bone derived mesenchymal stem cells and their potential to amend damaged liver functions: in vivo experiment with mice] *Zhonghua Yixue Zazhi* 2007;

■同行评价

本研究立意新颖, 设计科学, 数据可靠, 具有很好的参考价值.

- 87: 223-227
- 17 Aurich I, Mueller LP, Aurich H, Luetzkendorf J, Tisljar K, Dollinger MM, Schormann W, Walldorf J, Hengstler JG, Fleig WE, Christ B. Functional integration of hepatocytes derived from human mesenchymal stem cells into mouse livers. *Gut* 2007; 56: 405-415
- 18 杨锦南, 朱明. 甘草次酸及其衍生物药理作用研究进展. *中国药理学通报* 1997; 13: 110-112
- 19 刘相富. 人工肝支持系统中血浆置换治疗重症肝炎的疗效. *临床输血与检验* 2004; 4: 97-98
- 20 姚鹏, 胡大荣, 王帅, 闻炜, 周一鸣, 龚丽娟. 自体骨髓干细胞移植治疗慢性肝衰竭研究. *肝脏* 2005; 10: 171-173
- 21 左文革, 李瑜元. 干细胞移植治疗急性慢性肝功能衰竭的研究进展. *实用肝脏病杂志* 2007; 10: 277-279

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2007 年内科学类期刊总被引频次和影响因子排序

代码	期刊名称	总被引频次			影响因子		
		数值	学科排名	离均差率	数值	学科排名	离均差率
1170	JOURNAL OF GERIATRIC CARDIOLOGY	19	44	-0.98	0.059	44	-0.89
G275	WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	4431	1	3.46	0.745	10	0.38
G803	肝脏	467	28	-0.53	0.537	17	-0.01
G938	国际呼吸杂志	521	25	-0.48	0.386	32	-0.29
G415	国际内分泌代谢杂志	654	20	-0.34	0.520	19	-0.04
G939	国际脑血管病杂志	662	19	-0.33	0.480	22	-0.11
G501	临床肝胆病杂志	497	26	-0.50	0.318	36	-0.41
G291	临床骨科杂志	689	18	-0.31	0.455	25	-0.16
G658	临床荟萃	1169	13	0.18	0.233	40	-0.57
G257	临床内科杂志	651	21	-0.35	0.367	34	-0.32
G855	临床消化病杂志	292	36	-0.71	0.394	30	-0.27
G261	临床心血管病杂志	866	17	-0.13	0.474	24	-0.12
G293	临床血液学杂志	341	34	-0.66	0.347	35	-0.36
G491	岭南心血管病杂志	157	41	-0.84	0.110	43	-0.79
G662	内科急危重症杂志	276	37	-0.72	0.318	36	-0.41
G746	实用肝脏病杂志	297	35	-0.70	1.100	3	1.04
G190	世界华人消化杂志	2353	5	1.37	0.568	15	0.05
G800	胃肠病学	376	33	-0.62	0.372	33	-0.31
G326	胃肠病学和肝病学杂志	468	27	-0.53	0.399	29	-0.26
G451	现代消化及介入诊疗	84	43	-0.92	0.230	41	-0.58
G083	心肺血管病杂志	214	40	-0.78	0.206	42	-0.62
G419	心血管病学进展	467	28	-0.53	0.419	27	-0.23
G260	心脏杂志	523	24	-0.47	0.392	31	-0.28
G610	胰腺病学	223	38	-0.78	0.282	38	-0.48
G234	中国动脉硬化杂志	869	16	-0.13	0.521	18	-0.04
G422	中国脑血管病杂志	223	38	-0.78	0.503	21	-0.07
G267	中国实用内科杂志	2121	7	1.13	0.601	13	0.11
G211	中国糖尿病杂志	1284	11	0.29	0.931	7	0.72
G203	中国心脏起搏与心电生理杂志	616	23	-0.38	0.599	14	0.11
G633	中国血液净化	449	31	-0.55	0.478	23	-0.12
G119	中国循环杂志	643	22	-0.35	0.411	28	-0.24
G231	中华肝病杂志	2746	4	1.76	1.056	4	0.95
G235	中华高血压杂志	982	15	-0.01	0.757	9	0.40
G639	中华老年多器官疾病杂志	143	42	-0.86	0.235	39	-0.57
G876	中华老年心脑血管病杂志	465	30	-0.53	0.431	26	-0.20
G150	中华老年医学杂志	1010	14	0.02	0.510	20	-0.06
G155	中华内分泌代谢杂志	1548	9	0.56	1.032	5	0.91
G156	中华内科杂志	3238	3	2.26	0.847	8	0.57
G161	中华肾脏病杂志	1477	10	0.49	1.018	6	0.88
G285	中华消化内镜杂志	1271	12	0.28	0.607	12	0.12
G168	中华消化杂志	2249	6	1.26	1.123	2	1.08
G892	中华心律失常学杂志	384	32	-0.61	0.568	15	0.05
G170	中华心血管病杂志	3705	2	2.73	1.217	1	1.25
G172	中华血液学杂志	1632	8	0.64	0.633	11	0.17
	平均值	994			0.541		

以上数据摘自《中国科技期刊引证报告》(2008年版). 科学技术文献出版社, 160-161.

丹红对大鼠重症急性胰腺炎相关性心肌损害的防治作用

戴建忠, 范辉

戴建忠, 江苏省南通市肺科医院消化内科 江苏省南通市 226003

范辉, 江苏省苏州大学附属第三医院消化内科 江苏省南通市 213003

戴建忠, 副主任医师, 主要从事消化系统疾病的基础与临床工作。
作者贡献分布: 戴建忠对此篇文章所作贡献较大, 承担了课题的绝大部分工作。此课题戴建忠、范辉共同探讨、设计; 实验过程戴建忠与范辉共同操作完成; 研究所需材料、办公用品由戴建忠提供; 数据分析戴建忠完成; 本论文写作由戴建忠完成, 范辉提供了部分修改意见。

通讯作者: 范辉, 213003, 江苏常州, 江苏省苏州大学附属第三医院消化内科, shyfan961129@yahoo.com.cn

电话: 0513-68838000

收稿日期: 2009-01-19 修回日期: 2009-03-03

接受日期: 2009-03-09 在线出版日期: 2009-04-08

Protective effects of Danhong injection against heart injury in rats with severe acute pancreatitis

Jian-Zhong Dai, Hui Fan

Jian-Zhong Dai, Department of Gastroenterology, Nantong Pulmonary Hospital, Nantong 226003, Jiangsu Province, China

Hui Fan, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Soochow University, Changzhou 213003, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Dr. Hui Fan, Department of Gastroenterology, the Third Affiliated Hospital of Soochow University, Changzhou 213003, Jiangsu Province, China. shyfan961129@yahoo.com.cn

Received: 2009-01-19 Revised: 2009-03-03

Accepted: 2009-03-09 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To investigate the myocardial injury, the significance of intramyocardial genetic expression of *bcl-2* and *bax* induced by severe acute pancreatitis in rats, and the effects of danhong injection on heart injury in rats with SAP.

METHODS: Seventy-two male SD rats were randomly divided into the control group (group A, $n = 24$), the SAP model group (group B, $n = 24$) and the danhong injection treatment group (group C, $n = 24$). Those in group B&C received two injections of 3.2 g/kg body weight L-Arg i.p. at an interval of 1 h. Artery blood of the A, B, C groups was obtained at 6 h, 12 h and 18 h after induction

of the model respectively. The serum concentrations of CK-MB and CTnI were detected respectively. The expression of *bcl-2* gene and *bax* gene in myocardial tissue was detected using SABC immunohistochemical staining. And the myocardial tissues were examined under optical and electron microscope according to routine methods.

RESULTS: Compared with group A, the serum contents of CK-MB and CTnI in group B were significantly increased [CTnI ($\mu\text{g/L}$): 6 h: 2.18 ± 0.07 vs 0.19 ± 0.02 , 12 h: 3.32 ± 0.31 vs 0.21 ± 0.05 , 18 h: 3.81 ± 0.48 vs 0.20 ± 0.08 , all $P < 0.05$; CK-MB (U/L): 6 h: 3028.8 ± 542.2 vs 178.0 ± 42.2 , 12 h: 3511.7 ± 1172.2 vs 176.4 ± 39.8 , 18 h: 4921.2 ± 1822.3 vs 185.2 ± 41.6 , all $P < 0.05$]. Compared with group B, the serum contents of CK-MB and CTnI in group C were significantly decreased (all $P < 0.05$). Compared with group A, the expression of *bax* gene (PU) in group B was significantly increased (6 h: 4.58 ± 1.07 vs 1.10 ± 0.08 , 12 h: 8.02 ± 0.31 vs 1.15 ± 0.09 , 18 h: 8.81 ± 0.68 vs 1.20 ± 0.06 , all $P < 0.05$). The ratio of *bcl-2/bax* was significantly decreased (6 h: 0.55 ± 0.11 vs 1.17 ± 0.07 , 12 h: 0.33 ± 0.08 vs 1.23 ± 0.13 , 18 h: 0.43 ± 0.15 vs 0.98 ± 0.19 , all $P < 0.05$). Compared with group B, the expression of *bax* gene in group C was significantly decreased (all $P < 0.05$), and the expression of *bcl-2* gene in group C was significantly increased (6 h: 3.15 ± 0.92 vs 1.25 ± 0.16 , 12 h: 4.93 ± 0.52 vs 1.87 ± 0.20 , 18 h: 4.63 ± 0.82 vs 3.41 ± 0.83 , all $P < 0.05$). The ratio of *bcl-2/bax* was significantly increased (all $P < 0.05$). The pathological changes of myocardial tissues under optical and electron microscope in the group C were alleviated in contrast to the SAP group.

CONCLUSION: SAP may induce myocardial injury which might be related to the decreased expression of *bcl-2* and the increased expression of *bax* gene. Danhong injection is an effective agent in attenuating the myocardial injury and its protective mechanism might be related to its effect on the increased expression of *bcl-2* gene and the decreased expression of *bax* gene.

背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)是以胰腺自身坏死为主要特征的一种全身性疾病,常伴有肺、肾、肝、心、脑、肠道等多脏器的损害,危害大,病死率高。在诸多胰腺外器官的损害中,对心脏的损害研究较少,但SAP心肌损害是导致病死率最高的并发症之一。SAP早期合并心肌损害与心肌细胞的凋亡有密切关系,其主要可能机制通过相关基因的表达产物促凋亡的。丹红注射液是一种中药制剂,传统上用于改善心肌的改善微循环状态,减轻缺血、缺氧对心肌细胞的损害。丹红注射液在治疗SAP时,对抑制心肌细胞凋亡有无治疗作用、效果如何,通过何种通路、作用机制是什么等,这些方面目前尚无系统的研究,需要进一步研究、探索。

同行评议者

陈卫昌, 教授, 苏州大学附属第一医院消化内科; 陈其奎, 教授, 中山大学附属第二医院消化内科

■ 研究前沿

细胞凋亡是SAP性心肌损害发生的机制之一。凋亡相关基因主要包括Fas/FasL与死亡受体通路、*bcl-2*家族与线粒体通路、钙离子与内质网凋亡通路等多种途径。各个通路产生不同的作用,探索各个途径的作用及其相互关系是SAP性心肌损害中的热点、重点问题和难点问题。

Key Words: Severe acute pancreatitis; Myocardial damage; Danhong injection

Dai JZ, Fan H. Protective effects of Danhong injection against heart injury in rats with severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 969-975

摘要

目的: 研究重症急性胰腺炎(SAP)时大鼠心肌损害和心肌组织凋亡基因表达的变化及意义,探讨中药制剂丹红注射液对SAP相关性心肌损害的防治作用。

方法: SD大鼠72只随机分为正常对照组(A组, $n = 24$)、SAP模型对照组(B组, $n = 24$)和丹红治疗组(C组, $n = 24$)。采用腹腔注射L-Arg的方法制造SAP模型。检测血清CTnI、CK-MB含量,光镜、电镜下观察心肌组织的病理变化,免疫组化法检测术后6、12、18 h各时点心肌*bcl-2*、*bax*基因的表达产物。

结果: 与A组相比, B组血清CTnI、CK-MB明显升高[CTnI($\mu\text{g/L}$): 6 h: 2.18 ± 0.07 vs 0.19 ± 0.02 , 12 h: 3.32 ± 0.31 vs 0.21 ± 0.05 , 18 h: 3.81 ± 0.48 vs 0.20 ± 0.08 , 均 $P < 0.05$; CK-MB(U/L): 6 h: 3028.8 ± 542.2 vs 178.0 ± 42.2 , 12 h: 3511.7 ± 1172.2 vs 176.4 ± 39.8 , 18 h: 4921.2 ± 1822.3 vs 185.2 ± 41.6 , 均 $P < 0.05$]。与B组相比, C组血清CTnI、CK-MB也明显降低(均 $P < 0.05$)。与A组相比, B组*bax*表达(PU)产物明显升高(6 h: 4.58 ± 1.07 vs 1.10 ± 0.08 , 12 h: 8.02 ± 0.31 vs 1.15 ± 0.09 , 18 h: 8.81 ± 0.68 vs 1.20 ± 0.06 , 均 $P < 0.05$); *bcl-2/bax*比值明显降低(6 h: 0.55 ± 0.11 vs 1.17 ± 0.07 , 12 h: 0.33 ± 0.08 vs 1.23 ± 0.13 , 18 h: 0.43 ± 0.15 vs 0.98 ± 0.19 , 均 $P < 0.05$)。与B组相比, C组*bax*表达产物明显降低; *bcl-2*表达产物明显升高(6 h: 3.15 ± 0.92 vs 1.25 ± 0.16 , 12 h: 4.93 ± 0.52 vs 1.87 ± 0.20 , 18 h: 4.63 ± 0.82 vs 3.41 ± 0.83 , 均 $P < 0.05$); *bcl-2/bax*比值明显升高(均 $P < 0.05$)。光镜、镜下可见SAP大鼠的心肌组织存在明显的变性、坏死等病理变化, C组心肌组织病理损伤明显减轻。

结论: SAP可诱发心肌损害, 与心肌组织*bcl-2*基因表达降低、*bax*基因表达上调有关。丹红注射液对SAP合并心脏损害的具有保护作用, 其作用机制与下调*bax*基因在心肌组织中的表达, 上调心肌组织*bcl-2*基因的表达有关。

关键词: 重症急性胰腺炎; 心肌损害; 丹红注射液

戴建忠, 范辉. 丹红对大鼠重症急性胰腺炎相关性心肌损害的防

治作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 969-975
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/969.asp>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)病情危重, 发展迅速, 是消化内科常见的急腹症, 常并发多器官功能障碍综合征(multiple organs dysfunction syndrome, MODS), 严重威胁患者生命。在MODS中, 以肺、肾、肝脏及胸腺等损害最为常见, 对这些器官损害的研究也相对多见^[1-3]。对SAP并发心肌损害的研究则相对少见, 本研究动态观察了SAP大鼠血清心肌钙蛋白(cardiac troponin I, CTnI)、CK-MB水平的变化、心肌损害的光镜、电镜病理学表现、心肌组织*bcl-2*、*bax*基因表达产物的变化及丹红注射液对大鼠SAP相关性心肌损害的防治作用, 以探讨SAP相关性心肌损害的可能发生机制和丹红的防治作用。

1 材料和方法

1.1 材料 δ 健康SD大鼠72只, 体质量250-300 g, 由南通大学实验动物中心提供。250 g/L L-精氨酸购自上海第一生化制药厂产品(国药准字H31020517), CTnI ELISA试剂盒购自上海增健生物科技有限公司, CK-MB试剂盒购自上海长征医学科学公司, Bax, Bcl-2抗体购自Santa Cruz公司(Calif, 美国), 丹红注射液采用济南步长制药有限公司生产的制剂(国药准字Z20026866)。

1.2 方法

1.2.1 模型制作及给药方法: 将实验大鼠随机分为3组, A组(正常对照组, $n = 24$)、B组(SAP模型对照组, $n = 24$)、C组(丹红注射液治疗组, $n = 24$)。实验前禁食12 h, 自由饮水。B、C组造模按照文献[4-5]介绍方法多次预实验后采用ip 25 g/L浓度L-精氨酸(剂量3.2g/kg体质量)2次, 间隔1 h, C组于第二次L-精氨酸后1 h按照邵明辉 *et al*^[6]报道用量予以肌注丹红注射液1.6 mL/(kg·d), 分2次, 间隔6 h。对照组动物肌注等量的生理盐水。每组于注射L-精氨酸诱导SAP模型术后6、12、18 h 3个时间点采用断颈法各处死动物8只, 先打开腹腔提取胰腺组织; 再打开胸腔并游离心脏、胸主动脉, 采集胸主动脉血, 离心后血清-80℃下保存待测; 剪断胸主动脉及上、下腔静脉根部取出心脏。

1.2.2 光镜检查: 分别取胰腺头部组织及心肌组织于40 g/L多聚甲醛固定, 石蜡包埋、切片及HE

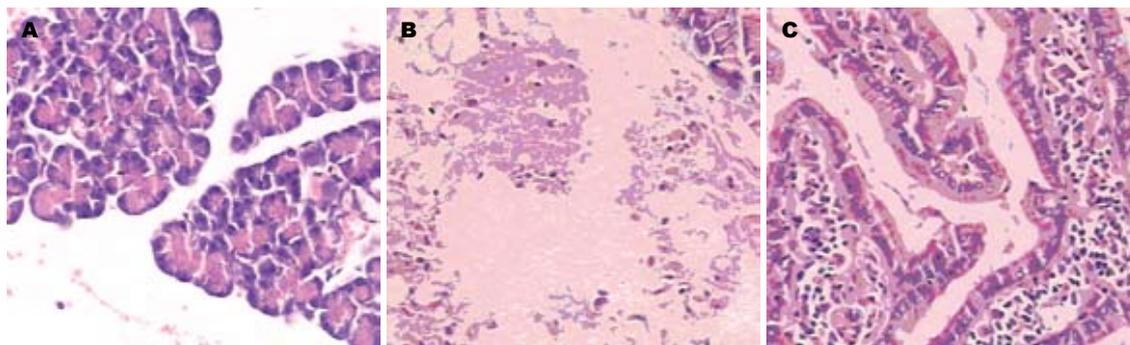


图 1 SAP大鼠胰腺变化光镜观. A: A组; B: B组; C: C组.

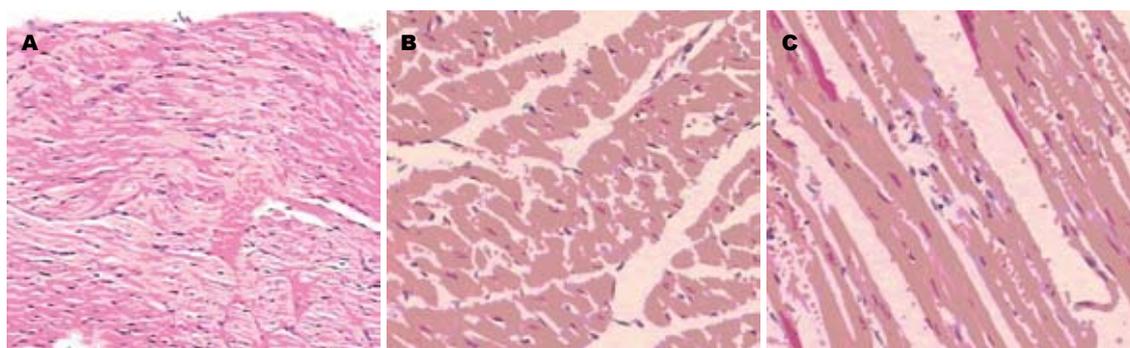


图 2 SAP大鼠心肌变化光镜观. A: A组; B: B组; C: C组.

染色, 由病理科医师对大鼠胰腺组织、心脏组织切片在光镜下观察.

1.2.3 电镜检查: 将用于电镜检查的组织在1 min内置于25 g/L戊二醛前固定, 10 g/L锇酸后固定, 丙酮逐级脱水, 环氧树脂Epon812包埋, LKBIII型超薄切片机切片, 10 g/L醋酸双氧铀及枸橼酸铅双重染色, 采用日本JEM-1230透射电镜观察心肌细胞的超微结构改变.

1.2.4 血清CTnI、CK-MB的测定: 采用放射免疫法测定血清CTnI, 日立7180全自动生化分析仪测定CK-MB.

1.2.5 免疫组织化学检测: 采用SABC免疫组织化学染色法检测的心肌组织Bcl-2、Bax蛋白表达, 染色模式: 细胞膜或细胞质, 根据染色强度分为阳性(棕黄色)、弱阳性(浅黄色)、阴性(不着色). 各组切片均采用图像分析系统对免疫组化染色阳性反应产物进行定量分析. 取切片在光学显微镜下均以400倍的倍数随机选取10个视野, 利用图像分析系统分析阳性面积和阳性区域平均灰度值, 并将阳性面积和平均灰度值换算成阳性单位(positive unit, PU), 以PU值的大小来表示阳性产物表达的多少.

统计学处理 应用SAS V8.0统计软件包进行数据处理, 所有数据均用mean±SD来表示, 采用

*t*双侧检验, 取 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 胰腺及心肌光镜改变 (1)胰腺组织: A组大鼠胰腺未见明显异常病变; B组大鼠胰腺出现出血坏死, 多为凝固性坏死, 残留腺泡呈孤立性分布, 腺管坏死; C组病理改变明显减轻, 胰腺细胞轻度变性水肿, 间质血管扩张、充血、小叶间隔增宽, 少许炎症细胞浸润(图1). (2)心脏组织: 正常组大鼠心肌组织未见明显异常病变; SAP组心肌细胞肿胀, 部分细胞崩解, 心肌纤维结构消失, 周围大量炎症细胞浸润; 丹红治疗细胞排列结构基本正常, 心肌间隙水肿, 肌纤维结构消失、紊乱, 其间可见少许炎细胞浸润(图2).

2.2 心肌电镜病理学改变 A组: 大鼠心肌细胞亚细胞结构正常, 肌膜及细胞器结构完整, 形态正常; B组: 弥漫性心肌细胞肿胀、细胞核及线粒体肿胀, 肌浆网扩张, 肌原纤维部分断裂, 肌丝分解; C组: 肌浆网轻度扩张、线粒体轻度扩张(图3).

2.3 血清CK-MB、CTnI浓度的变化 SAP组大鼠从术后6 h开始出现CTnI、CK-MB水平升高, 12、18 h进一步增高. 丹红治疗组各时点CTnI、CK-MB水平较B组下降, 组间差异有统计学意义

■ 相关报道

目前研究认为, 急性胰腺炎时胰腺及胰腺外器官都细胞存在凋亡和坏死两种死亡方式. 对于胰腺而言, 腺泡细胞的凋亡是一个有利的保护性反应, 急性胰腺炎时采取不同方式诱导受损的腺泡细胞凋亡而不以坏死方式死亡可以减轻疾病的严重程度.

■ 创新盘点

文章从SAP时大鼠心肌细胞的形态学、血清生化指标与凋亡基因的表达等方面证实了心肌损害程度与凋亡基因表达之间的关联性,并探讨使用丹红注射液治疗SAP时的抗氧化、改善微循环与对心肌的保护作用。在SAP时使用中药注射剂较汤剂便捷、有效,可避免使用糖皮质激素产生的不良反应。

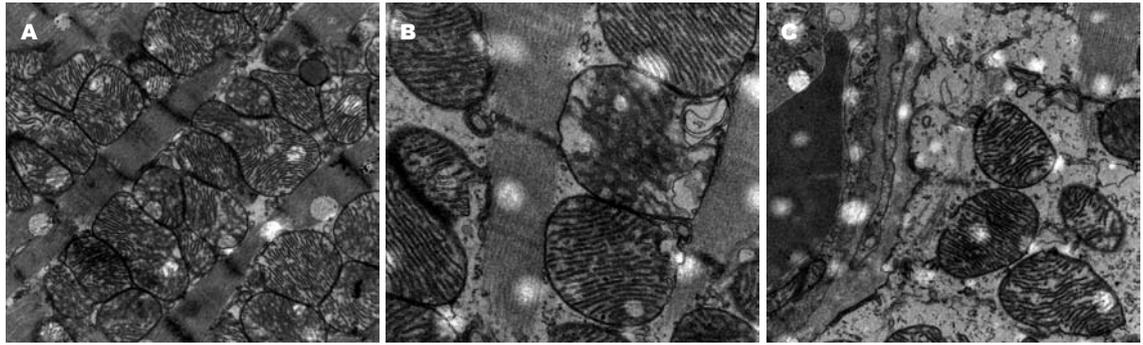


图3 SAP大鼠心肌变化电镜观。A: A组; B: B组; C: C组。

表1 血清心肌酶谱水平测定 (mean ± SD)

分组	心肌酶谱水平		
	6 h	12 h	18 h
CTnI(μg/L)			
A组	0.19 ± 0.02	0.21 ± 0.05	0.20 ± 0.08
B组	2.18 ± 0.07 ^a	3.32 ± 0.31 ^a	3.81 ± 0.48 ^a
C组	0.91 ± 0.05 ^c	1.75 ± 0.16 ^c	2.50 ± 0.29 ^c
CK-MB(U/L)			
A组	178.0 ± 42.2	176.4 ± 39.8	185.2 ± 41.6
B组	3028.8 ± 542.2 ^a	3511.7 ± 1172.2 ^a	4921.2 ± 1822.3 ^a
C组	1042.5 ± 139.2 ^c	1618.3 ± 699.2 ^c	2701.7 ± 842.1 ^c

^a*P*<0.05 vs A组; ^c*P*<0.05 vs B组。

(*P*<0.05, 表1)。

2.4 心肌组织*bcl-2*、*bax*表达产物的变化 A组造模后各时间点*bcl-2*、*bax*表达较弱。与A组相比较, B组于造模后各时间点*bcl-2*基因表达轻度增加; *bax*基因表达明显升高, *bcl-2/bax*比值降低, 差异有统计学意义(*P*<0.05)。与B组相比较, C组*bax*基因表达变化明显下降; 各时点*bcl-2*基因表达较B组明显升高, 同时*bcl-2/bax*比值上升, 差异有统计学意义(*P*<0.05, 表2, 图4)。

3 讨论

在SAP的发生、发展过程中, 降低其死亡率的重要措施是防治MODS的发生。目前对SAP相关性心脏损害的系统性研究较少见, 然而SAP的血管失代偿是导致死亡率最高的并发症之一。SAP相关性心脏损害包括心肌器质性改变、心律失常、心源性休克、心包炎等, 其心电图、心肌酶谱CK-MB、CTnI有显著差异^[7-8]。当心肌细胞受到损害而损伤的细胞膜完整性遭到破坏时, 胞质内游离的CTnI、CK-MB迅速入血, 3-6 h就可以在外周血测得其异常, 持续到伤后24 h。王成友 *et al*^[9]认为, 急性胰腺炎时大鼠心功能进行

表2 大鼠心肌组织*bax*、*bcl-2*基因表达变化 (mean ± SD)

分组	基因表达水平		
	6 h	12 h	18 h
<i>bax</i> (PU)			
A组	1.10 ± 0.08	1.15 ± 0.09	1.20 ± 0.06
B组	4.58 ± 1.07 ^a	8.02 ± 0.31 ^a	8.81 ± 0.68 ^a
C组	2.91 ± 1.05 ^c	5.75 ± 0.16 ^c	6.13 ± 0.59 ^c
<i>bcl-2</i> (PU)			
A组	1.07 ± 0.06	1.18 ± 0.11	1.18 ± 0.08
B组	1.25 ± 0.16 ^a	1.87 ± 0.20 ^a	3.41 ± 0.83 ^a
C组	3.15 ± 0.92 ^c	4.93 ± 0.52 ^c	4.63 ± 0.82 ^c
<i>bcl-2/bax</i>			
A组	1.17 ± 0.07	1.23 ± 0.13	0.98 ± 0.19
B组	0.55 ± 0.11 ^a	0.33 ± 0.08 ^a	0.43 ± 0.15 ^a
C组	1.12 ± 0.12 ^c	0.86 ± 0.10 ^c	0.83 ± 0.15 ^c

^a*P*<0.05 vs A组; ^c*P*<0.05 vs B组。

性降低、CTnI持续升高, CTnI可能达到预警急性胰腺炎心脏损伤的目的。本实验结果显示, 大鼠从SAP术后6 h开始出现血清CTnI、CK-MB水平升高, 并在12、18 h进一步增高, 表明大鼠SAP早期即存在心肌损伤, 并随着时间的推移心肌损伤进行性加重, 在本实验中, 心肌组织的光镜、电镜病理学检查也证实了这一点和王成友 *et al*的结果相仿。

细胞凋亡是近年来病理生理学研究的热点, 细胞凋亡的发生是受细胞内凋亡相关基因控制的, 凋亡相关基因主要包括Fas/FasL与死亡受体通路、*bcl-2*家族与线粒体通路、钙离子与内质网凋亡通路等多种途径, *bax-bcl-2*是其中一对重要的凋亡调节基因, 是*bcl-2*基因家族中功能相反的两个重要成员, 分别起着抑制和加速细胞凋亡的作用。当Bax蛋白形成*bax*同源二聚体(*bax-bax* homodimer)时可诱导细胞凋亡, 但随着*bcl-2*蛋白的表达量上升, 越

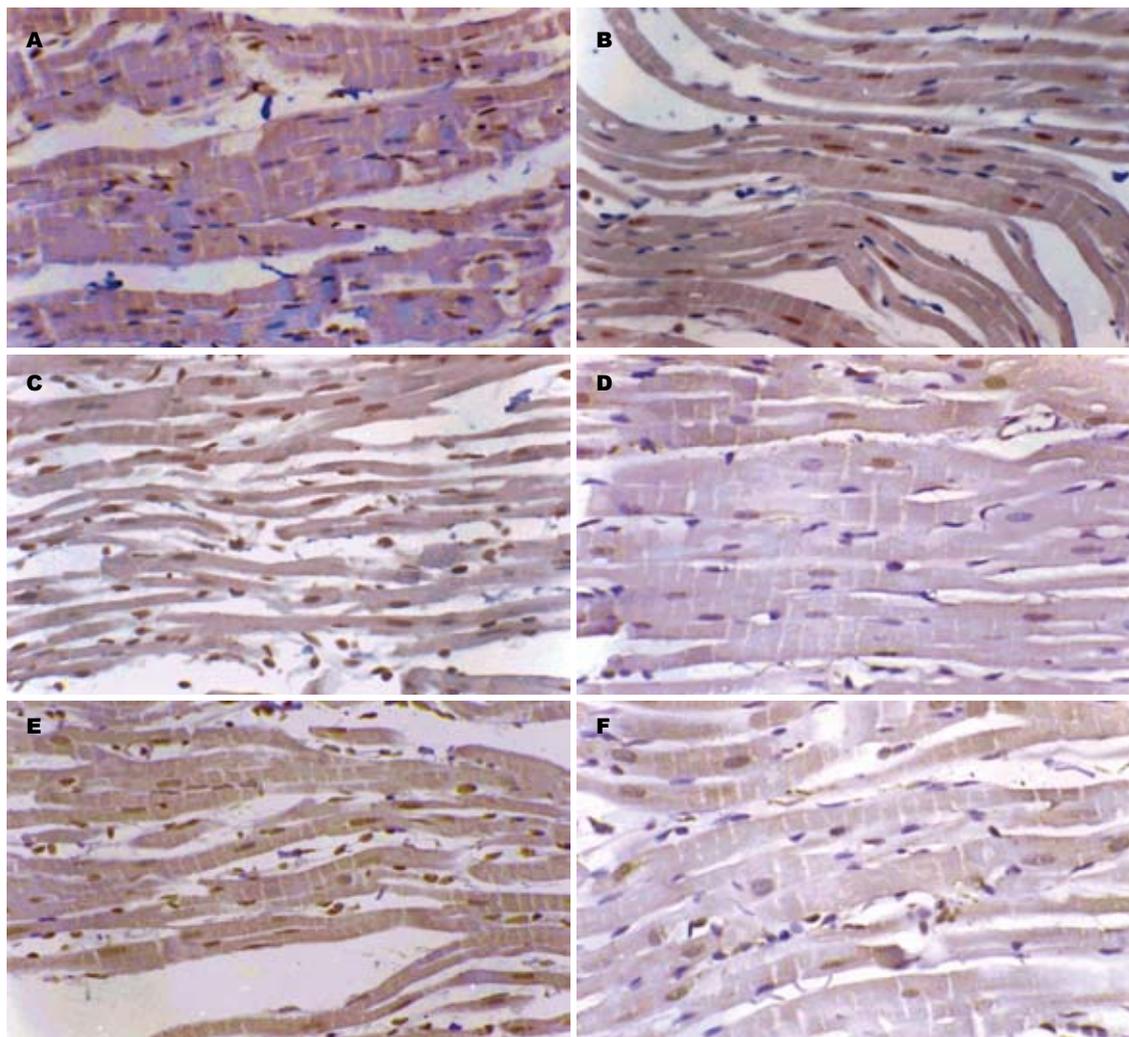


图 4 心肌组织***bcl-2***、***bax***表达产物的变化. A-C: ***bcl-2***表达; D-E: ***bax***表达; A、D: A组; B、E: B组; C、F: C组.

■应用要点

重症急性胰腺炎存在心肌损害,本研究采用中药制剂丹红注射液治疗,用分子生物学手段阐明病理环境中调控SAP时心肌细胞凋亡的精细机制,有助于临床医师采取有效治疗措施.

来越多的Bax-Bax二聚体分开,与Bcl-2蛋白形成比Bax-Bax更稳定的Bax-Bcl-2异源二聚体(heterodimer),抑制了Bax诱导的细胞凋亡,Bcl-2与Bax的比值决定了凋亡的发生与否.蒋建春 *et al*^[10]的研究表明,心肌细胞对***bcl-2***与***bax***基因表达变化尤为敏感,SAP大鼠心肌NF- κ B被激活,导致炎症介质释放,引起***bcl-2***表达减少,***bax***表达增加.本实验的结果显示,大鼠SAP诱导术后6、12和18 h,***bcl-2***轻度表达,细胞凋亡诱导基因***bax***过量表达,表明在一定程度上SAP时的发生的心肌损害与细胞凋亡调节基因异常表达所导致的细胞凋亡有关系.

目前研究认为,急性胰腺炎时胰腺及胰腺外器官都细胞存在凋亡和坏死两种死亡方式,对于胰腺而言,腺泡细胞的凋亡是一个有利的保护性反应,急性胰腺炎时采取不同方式诱导受损的腺泡细胞凋亡而不以坏死方式死亡可以减轻疾病的严重程度^[11-12].在SAP及胰腺外脏

器损害的治疗中,Zhang *et al*^[1-2]研究发现,大剂量地塞米松对胰腺及肺、肝、肾、胸腺等胰腺外脏具有保护作用.Zhang *et al*^[13-14]还研究发现,大剂量糖皮质激素是通过抑制炎症介质的释放,调节凋亡相关基因的***bax/bcl-2***表达,诱导胰腺腺泡细胞凋亡,减少坏死,减轻炎症程度.然而,对于SAP性心肌损害来说,过度凋亡造成的心肌损害可能是心律、心功能不全的病理生理基础^[8],对心脏产生不利的一面,故我们认为大剂量激素并不适合SAP性心肌损害的治疗.目前的动物实验和临床实践表明,中药制剂在SAP性心肌损害时有很大的优越性.沙建平 *et al*研究发现,益活清胰汤 I 号及重组葡激酶加中药益活清胰汤 I 号治疗SAP大鼠时,具有下调心肌组织NF- κ B活化,降低循环中炎症介质TNF- α 、IL-6的水平,对心肌起保护作用^[15-16].Zhang *et al*^[17]研究发现,使用黄芩苷注射剂治疗SAP大鼠时,心肌***bax***基因表达明显下调;同

■同行评价

本文研究内容新颖,对SAP的相关研究有一定的参考价值。

时心肌组织*bcl-2*基因表达明显上调,凋亡指数下降,从而对心肌产生保护作用。丹红注射液是一中药组方,君药丹参具有抑制磷酸二酯酶,升高红细胞、血小板、环腺苷(cAMP)浓度的作用;丹参的水溶成分丹参酮,能增加前列腺素PGI₂合成酶的活性,使PGI₂合成增多、血管扩张;丹参酮还可通过抑制SAP时ET-1 mRNA的过度表达,减少ET-1的生成,消除ET-1引起的不良影响,稳定毛细血管壁通透性,减少液体向组织间隙转移,显著提高胰腺毛细血管血流量,从而发挥其器官保护作用^[18];另外丹参还有强抗氧化作用,能有效清除机体内的氧自由基,抑制脂质过氧化,稳定细胞膜。丹参治疗后能改善血液流变性,提高心肌抗缺氧能力,提高心肌收缩力,从而增加器官组织血流量,改善各脏器的缺血状态^[19]。红花是丹红注射液中的臣药,红花苷经盐酸水解后得葡萄糖和红花素、红花醌苷及新红花苷。红花的活性成分具有扩血管,对二磷酸腺苷(ADP)诱导的血小板聚集有显著的抑制作用,增加纤维蛋白的溶解活性,抑制血栓形成^[20],丹红可以有效保护细胞免受由缺血引发的氧化损伤及内皮屏障完整性^[21]。本实验中观察到,应用丹红注射液干预后,与SAP模型组相比,C组大鼠血清CTnI、CK-MB明显降低,心脏及胰腺的病理损伤明显减轻,C组大鼠心肌组织*bax*基因表达在SAP诱导术后6、12、18 h明显下降;同时心肌组织*bcl-2*基因表达在SAP诱导术后6、12、18 h明显上调。因此,在急性SAP早期临床应用丹红注射液可减少细胞因子的释放、清除氧自由基等作用而下调心肌细胞凋亡基因的表达,对防治SAP及其合并心脏损害的起积极作用,具有较好的临床应用价值。

致谢: 本研究在动物血样采集、心脏分离方面得到了江苏省南通市第二人民医院心胸外科施卫东副主任医师的指导、帮助;在光镜、电镜以及免疫组织化学标本制作、图像分析过程中得到了江苏省南通大学附属医院病理诊断中心章建国副主任医师的指导和帮助,在此特表感谢。

4 参考文献

- Zhang XP, Zhang L, Chen LJ, Cheng QH, Wang JM, Cai W, Shen HP, Cai J. Influence of dexamethasone on inflammatory mediators and NF-kappaB expression in multiple organs of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13:

- 548-556
- Zhang XP, Chen L, Lin M, Tian H. Protecting effects of dexamethasone on thymus of rats with severe acute pancreatitis. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 72361
- Zhang XP, Tian H, Lai YH, Chen L, Zhang L, Cheng QH, Yan W, Li Y, Li QY, He Q, Wang F. Protective effects and mechanisms of Baicalin and octreotide on renal injury of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5079-5089
- Rakoncay Z Jr, Hegyi P, Dósa S, Iványi B, Jármai K, Biczó G, Hracskó Z, Varga IS, Karg E, Kaszaki J, Varró A, Lonovics J, Boros I, Gukovsky I, Gukovskaya AS, Pandol SJ, Takács T. A new severe acute necrotizing pancreatitis model induced by L-ornithine in rats. *Crit Care Med* 2008; 36: 2117-2127
- Szabolcs A, Reiter RJ, Letoha T, Hegyi P, Papai G, Varga I, Jarmay K, Kaszaki J, Sari R, Rakoncay Z Jr, Lonovics J, Takacs T. Effect of melatonin on the severity of L-arginine-induced experimental acute pancreatitis in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 251-258
- 邵明辉, 刘兰梅, 马仁强, 李雪, 庞建新, 徐江平. 丹红注射液一般药理学实验研究. 第一军医大学学报 2005; 25: 335-338
- Rubio-Tapia A, García-Leiva J, Asensio-Lafuente E, Robles-Díaz G, Vargas-Vorácková F. Electrocardiographic abnormalities in patients with acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: 815-818
- 齐书英, 胡丽叶, 杨丽, 李育红, 李信政. 急性胰腺炎后心肌细胞快钠通道的变化. 中华急诊医学杂志 2006; 15: 809-812
- 王成友, 程书榜, 倪勇, 梁浩辉, 徐敏. 急性胰腺炎大鼠心功能和心肌钙蛋白I的改变. 中华实验外科杂志 2004; 21: 321-322
- 蒋建春, 易辉, 沙建平, 刘仕群, 薛耀明, 曾展军, 王玲, 何飞英, 祝彼得, 蒋俊明, 陈卫银. 细胞凋亡调节基因在重症急性胰腺炎大鼠心肌组织中表达及益活清胰汤的干预作用. 成都中医药大学学报 2008; 31: 24-26
- 张桂信, 陈海龙, 宫爱霞, 张利. 胰腺腺泡细胞凋亡与急性胰腺炎及其治疗策略. 世界华人消化杂志 2007; 15: 1115-1120
- 朱明德, 方驰华, 史学深. 重症胰腺炎肾损伤中细胞凋亡相关基因的作用. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2103-2107
- Zhang XP, Tian H, Lu B, Chen L, Xu RJ, Wang KY, Wang ZW, Cheng QH, Shen HP. Tissue microarrays in pathological examination of apoptotic acinar cells induced by dexamethasone in the pancreas of rats with severe acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2007; 6: 527-536
- Zhang XP, Chen L, Hu QF, Tian H, Xu RJ, Wang ZW, Wang KY, Cheng QH, Yan W, Li Y, Li QY, He Q, Wang F. Effects of large dose of dexamethasone on inflammatory mediators and pancreatic cell apoptosis of rats with severe acute pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5506-5511
- 沙建平, 薛耀明, 陈炫, 曾展军, 卓凤婷, 王玲, 何飞英, 祝彼得, 蒋俊明, 叶夏云. 重组葡激酶加中药对重症急性胰腺炎大鼠心肌核转录因子κB的激活作用. 中国中西医结合消化杂志 2008; 16: 4-7
- 陈炫, 沙建平, 赵艳, 胡蓉, 冯本华, 刘芳. 益活清胰1号对大鼠重症急性胰腺炎心肌损伤的保护作用. 中国现代医学杂志 2006; 16: 1345-1348
- Zhang XP, Tian H, Chen HQ, Chen L, Wang ZW,

- Wang KY, Yan W, Li Y, Li QY, He Q, Wang F. The protecting effects and mechanisms of Baicalin and Octreotide on heart injury in rats with SAP. *Mediators Inflamm* 2007; 2007: 19469
- 18 张莹, 石承先, 黄平, 任娟娟, 李玉祥. 丹参对重症急性胰腺炎内皮素-1 mRNA的影响. *世界华人消化杂志* 2006; 14: 35-38
- 19 Zhang XP, Li ZJ, Liu DR. Progress in research into the mechanism of Radix salviae miltiorrhizae in treatment of acute pancreatitis. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int* 2006; 5: 501-504
- 20 陈克永. 丹红注射液对血液流变学影响的临床观察. *中国现代医生* 2008; 46: 91
- 21 满永, 丁莉, 国汉邦, 王蕾, 王抒, 黎健. 丹参红花提取物保护内皮细胞免受氧化损伤的体外实验. *中国临床康复* 2006; 10: 119-122

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第二十一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2009-07-23/26在南宁市召开第二十一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(重点为功能性胃肠病、炎症性肠病和消化内镜新技术临床应用演示)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

功能性胃肠病、炎症性肠病中西医结合基础与临床治疗研究; 幽门螺杆菌相关疾病的中西医结合基础与治疗研究; 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; 消化系统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: 2009-06-30.

3 联系方式

袁海锋, 朱永苹, 530011, 广西壮族自治区南宁市华东路10号广西中医学院瑞康医院, 电话: 0771-2188107; 13597004049; 13077766271, 传真: 0771-2411156, rkxhnk@sina.com或czs.xiaohua@163.com

海洛因依赖对大鼠结肠内分泌细胞表达5-HT及生长抑素的影响

洪艳, 梁文妹

■背景资料

胃肠道已不仅是体内重要的消化器官,也是体内最大的内分泌器官。胃肠激素已构成机体调节系统中一个重要组成成分。许多研究表明,海洛因成瘾者消化系统疾病的发病与胃肠肽类激素的改变密切相关。然而,在海洛因成瘾时机体结肠神经内分泌的形态学和机能学的改变及其关系的研究尚少,形态学方面的研究尤其少见。

洪艳, 梁文妹, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室 贵州省贵阳市 550004

洪艳, 硕士, 副教授, 主要从事神经内分泌方面的研究。

教育部“春晖计划”基金资助项目, No. Z2005-1-52020

贵州省科技攻关基金资助项目, No. 黔科合S字20071048

贵州省优秀科技教育人才省长专项资金资助项目, No. 黔科教办2001-3

作者贡献分布: 制作动物模型、采集/分析/解释数据、起草文章、统计分析由洪艳完成; 酝酿、设计及指导实验由梁文妹完成, 并对文章的知识性内容作批评性审阅。

通讯作者: 梁文妹, 教授, 550004, 贵州省贵阳市, 贵阳医学院组织学与胚胎学教研室. wenmeiliang@126.com

电话: 0851-6908567

收稿日期: 2009-01-19 修回日期: 2009-02-26

接受日期: 2009-03-02 在线出版日期: 2009-04-08

Effect of heroin dependence on expression of 5-hydroxytryptamine and somatostatin in endocrine cells of rat colon

Yan Hong, Wen-Mei Liang

Yan Hong, Wen-Mei Liang, Department of Histology and Embryology, Guiyang Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China

Supported by: the Foundation of Chunhui-Program of Ministry of Education in China, No. Z2005-1-52020; the Foundation of Tackling Key Problems in Science and Technology in Guizhou Province, No. 20071048; and the Nomarch Funds for Excellent Science and Technology Teachers of Guizhou Province, No. 2001-3

Correspondence to: Professor Wen-Mei Liang, Department of Histology and Embryology, Guiyang, Medical University, Guiyang 550004, Guizhou Province, China. wenmeiliang@126.com

Received: 2009-01-19 Revised: 2009-02-26

Accepted: 2009-03-02 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To explore the effect of heroin dependence on expression of 5-hydroxytryptamine and somatostatin in endocrine cells of rat colon.

METHODS: Normal SD rats were divided into normal control group (NCG), saline control group (SCG), and heroin dependence group (HDG). A heroin dependence model of rats was established by subcutaneous injection of heroin, and colonic tissue was excised on the 10th, 17th, 24th, 31st and 38th day. Immunohistochemical

SABC method and image analysis were used to count the number of cells.

RESULTS: Compared with the NCG and SCG, the cell numbers of colon 5-HT, SS-IR cells were increased ($F = 4.373, 5.708$, both $P < 0.01$) during heroin dependence, and especially on the 31st day. The result of image analysis showed that the mean of grey degree of the colon 5-HT-, SS-IR cells declined in HCG as compared with the NCG and SCG ($F = 38.637, 25.091$, both $P < 0.01$). And in 5-HT-, SS-IR cells, the mean grey scales were the lowest on the 31st day.

CONCLUSION: During heroin dependence, endocrine cells of colon were involved in regulation of functional disorder in intestinal tract by enhancing synthesis and secretion of 5-HT and SS.

Key Words: Heroin dependence; 5-hydroxytryptamine; Somatostatin; Colon; Immune response; Immunohistochemistry; Image analysis

Hong Y, Liang WM. Effect of heroin dependence on expression of 5-hydroxytryptamine and somatostatin in endocrine cells of rat colon. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 976-980

摘要

目的: 探讨海洛因依赖对大鼠结肠内分泌细胞表达5-羟色胺(5-HT)和生长抑素(SS)免疫反应(IR)的影响。

方法: 成年SD大鼠,分为海洛因依赖组、盐水对照组和空白对照组。按皮下注射法建立海洛因依赖动物模型,分别于10、17、24、31、38 d取结肠组织。应用免疫组织化学SABC法及图像分析法分析结肠5-HT-及SS-IR细胞的数量及IR强度的改变。

结果: 与空白及盐水对照组比较,海洛因依赖组大鼠结肠5-HT-及SS-IR细胞数量明显增多($F = 4.373, 5.708$, 均 $P < 0.01$),且以31 d最为显著;图像分析法显示海洛因依赖期间大鼠结肠内5-HT-及SS-IR细胞的平均灰度值均低于空白及盐水对照组($F = 38.637, 25.091$, 均 $P < 0.05$),以31 d时间组最低。

结论: 海洛因依赖期间结肠内分泌细胞合成

■同行评议者

杜祥, 教授, 复旦大学附属肿瘤医院病理科

和分泌5-HT及SS增多, 参与了海洛因依赖期间肠道功能紊乱的调节过程。

关键词: 海洛因依赖; 5-羟色胺; 生长抑素; 结肠; 免疫反应; 免疫组织化学; 图像分析

洪艳, 梁文妹. 海洛因依赖对大鼠结肠内分泌细胞表达5-HT及生长抑素的影响. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 976-980
http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/976.asp

0 引言

海洛因滥用及成瘾的社会公害已众所周知. 国内外的研究资料表明, 海洛因成瘾后消化系统出现不同程度的功能紊乱^[1-2]. 海洛因成瘾后对胃肠道的损害也引起国内外学者的广泛关注, 但有关结肠内分泌细胞在海洛因依赖期间形态学的变化尚未见报道. 本实验以海洛因成瘾大鼠为动物模型, 用免疫组织化学方法观察大鼠海洛因依赖期间结肠内5-HT、SS-IR细胞的数量及免疫反应强度的改变, 旨在为探讨海洛因成瘾机制提供形态学资料。

1 材料和方法

1.1 材料 健康成年SD大鼠, 体质量180-220 g, 雌雄各半, 分笼喂养, 贵阳医学院实验动物中心提供. 海洛因纯度为61.48%, 由贵州省公安厅提供。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组: 按配对原则分为实验性海洛因依赖组(HDG)及盐水对照组(SDG)各30只, 正常对照组(NCG)6只. 海洛因依赖实验动物按已建立的方法制作: 依赖组按体质量逐日递增注射海洛因药液. 首日剂量为3 mg/kg, 每日2次(上午8时, 下午3时). 连续皮下注射9 d至成瘾, 第9天剂量为27 mg/kg, 成瘾后的大鼠每日上午8时皮下注射海洛因1次, 剂量27 mg/kg, 维持至取材. 盐水组按体质量每日注射与依赖组相同剂量的生理盐水, 正常组不予任何处理, 按时喂养。

1.2.2 取材及标本制备: 海洛因依赖组和盐水对照组大鼠于模型建立的第10、17、24、31、38天处死, 每次处死6只(雌雄各半), 正常对照组6只. 生理盐水灌洗, 取结肠中段组织, Bouin液固定, 常规石蜡包埋, 制成4 μm厚的连续切片。

1.2.3 免疫组织化学SABC法: 免疫组织化学SABC法, 分别显示5-HT、SS免疫反应细胞. 主要步骤为: 切片常规脱蜡至水, 100 g/L甲醛-H₂O₂ 10 min, 正常山羊血清(1:50)封闭30 min, 依次滴加5-HT(1:200)或SS(1:100)抗血清(北京中杉金桥生物工程有限公司提供), 4℃过夜, 羊抗

兔IgG(1:100)37℃孵育20 min, SABC复合物(1:100)37℃孵育20 min, DAB-H₂O₂液显色, 苏木精复染细胞核, 中性树胶封片. 方法对照: PBS缓冲液代替特异性抗血清, 余步骤同上。

1.2.4 图像分析: 随机选取第10、17、24、31、38天海洛因依赖组和盐水对照组大鼠结肠切片, 各时间点5张, 正常对照组5张. 在40×物镜下, 每张切片随机选取5个视野, 分别计数每个视野内有核阳性5-HT-IR、SS-IR细胞数. 同样的方法选取视野, 用BioMias图像分析系统检测5-HT-IR、SS-IR细胞的平均灰度值。

统计学处理 所得数据应用SPSS11.5统计软件进行单因素方差分析。

2 结果

2.1 5-HT-IR细胞

2.1.1 光镜观察: 结肠5-HT-IR细胞数量较多, 散在分布于上皮内. 免疫反应产物位于细胞的基底部, 染色较深, 呈棕褐色颗粒状, 方法对照切片未见免疫反应阳性细胞. 大鼠结肠内5-HT-IR细胞大小不等, 形态多样(图1A). 与正常对照组比较, 盐水对照组各时间点之间5-HT-IR细胞的数量、分布及染色强度均无明显差别(图1B). 海洛因依赖组各时间大鼠结肠5-HT-IR细胞数量明显增多, 免疫染色有所增强(图1C-D)。

2.1.2 图像分析: 盐水对照组和正常对照组5-HT-IR细胞计数无明显差异($P>0.05$), 盐水对照组各时间点之间5-HT-IR细胞计数的差异也无显著性($P>0.05$). 与正常和盐水对照组比较, 海洛因依赖组5-HT-IR细胞的细胞计数明显增多, 以31 d最多(表1, 图2A). 正常及盐水对照组5-HT-IR细胞的平均灰度值无统计学意义($P>0.05$), 盐水对照组各时间点之间5-HT-IR细胞的平均灰度值也无明显差别($P>0.05$). 而海洛因依赖组5-HT-IR细胞的平均灰度值较空白和盐水对照组显著降低($P<0.05$), 于31 d时达最低(表2, 图3A)。

2.2 SS-IR细胞

2.2.1 光镜观察: 光镜下, 大鼠结肠SS-IR细胞免疫反应产物呈棕黄色颗粒状, 定位于胞质内, 数量少, 散在分布于肠腺上皮细胞之间(图1E). 方法对照未见阳性反应细胞。

与正常对照组比较, 盐水对照组SS-IR细胞的形态、数量、分布及免疫染色强度均无明显差别, 盐水组各时间点之间也无差异(图1F). 海洛因依赖组大鼠结肠SS-IR细胞的形态和分布与盐水及空白对照组大致相同但细胞数增多, 细胞的免疫反应强度增强, 以31 d最强(图1G-H)。

2.2.2 图像分析: 正常对照组与盐水对照组5-HT-

■ 研发前沿

海洛因是目前非法滥用范围最广、危害程度最为严重的阿片类药物, 海洛因滥用及成瘾已成为当今世界范围内的社会公害, 国内外的研究资料表明, 海洛因成瘾后消化系统出现不同程度的功能紊乱, 研究发现, 阿片肽除本身直接作用于消化系引起胃肠道运动减弱或加强括约肌收缩或舒张和影响胃酸分泌外, 还对一些胃肠道肽类激素的分泌有调节作用, 可引起血浆胃动素浓度增高, 对VIP的释放具有持续的抑制作用。

■相关报道

有研究报道阿片类药物在中枢神经系统中通过各种直接或间接作用兴奋5-HT能神经元,促进5-HT的合成和释放. Sáiz *et al*研究证实5-HT(2A)受体基因的表达与海洛因依赖的形成具有相关性. beta-casomorphin-7对大鼠胃黏膜G、D细胞中调节肽的基因表达具有调节作用. 目前大多数学者认为阿片依赖是一种细胞适应性反应,特别是机体各系统发生细胞及分子水平上的适应. 从而导致细胞的生理生化过程及组织结构的代偿性改变,最终达到病理状态的平衡.

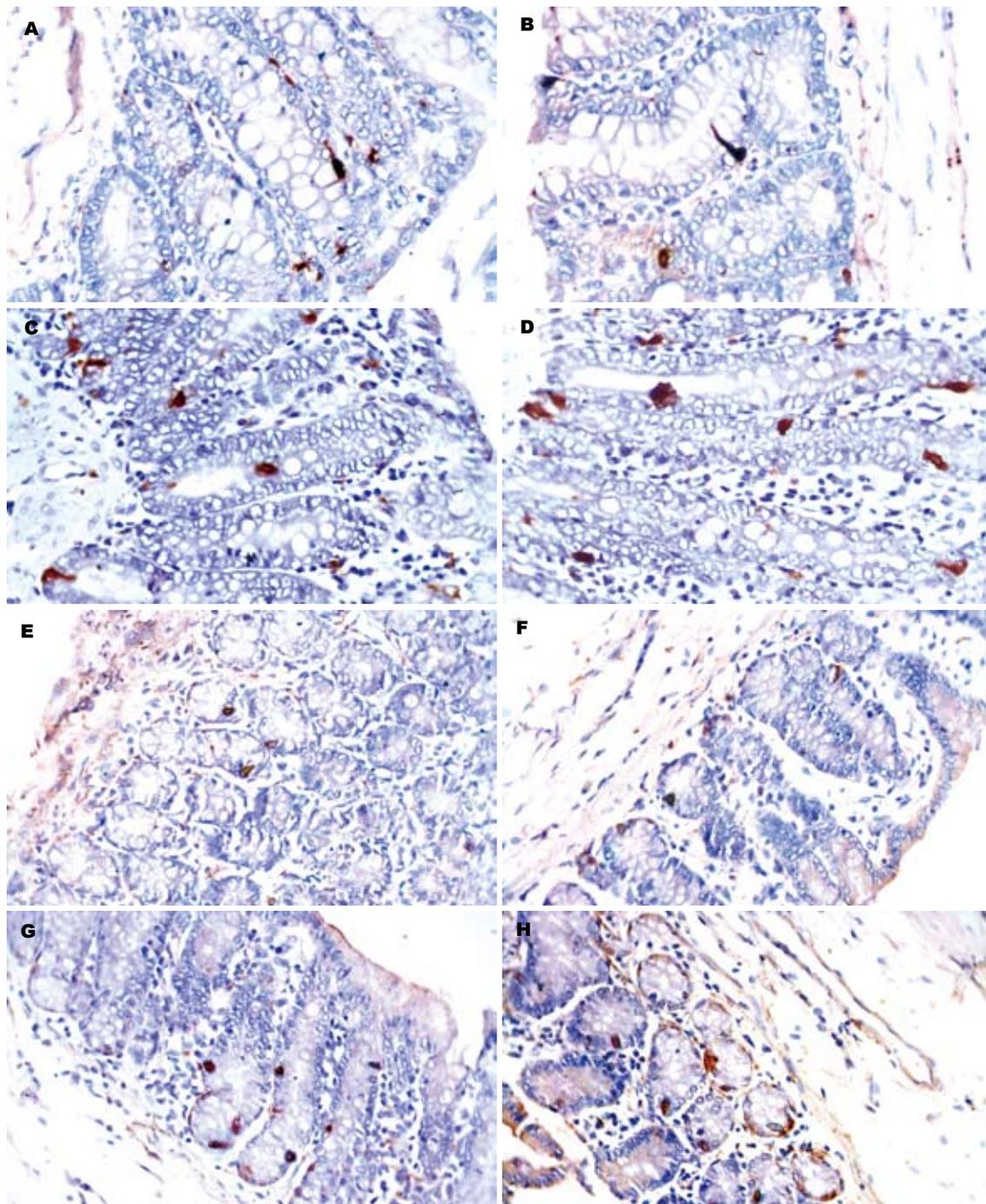


图1 5-HT-IR及SS-IR细胞光镜观(SABC $\times 400$). A: 正常大鼠结肠5-HT-IR细胞; B: 盐水组第31天大鼠结肠5-HT-IR细胞; C: 海洛因依赖组第31天大鼠结肠5-HT-IR细胞; D: 海洛因依赖组第38天大鼠结肠5-HT-IR细胞; E: 正常大鼠结肠SS-IR细胞; F: 盐水组第10天大鼠结肠SS-IR细胞; G: 海洛因依赖组第10天大鼠结肠SS-IR细胞; H: 海洛因依赖组第38天大鼠结肠SS-IR细胞.

IR细胞计数的差异无统计学意义($P>0.05$). 盐水对照组各时间点之间5-HT-IR细胞计数的差异也无显著性($P>0.05$). 而海洛因5-HT-IR细胞计数于10、17、24、31 d明显增多($P<0.05$), 38 d有所下降(表3, 图2B).

正常对照组与盐水对照组5-HT-IR细胞的平均灰度值的差异无显著性($P>0.05$). 盐水对照组各时间点之间5-HT-IR细胞平均灰度值的差异也无统计学意义. 海洛因依赖组5-HT-IR细

胞的平均灰度值较空白和盐水对照组显著降低($P<0.05$), 以31 d的平均灰度值最低(表4, 图3B).

3 讨论

内源性阿片肽是机体许多神经递质和激素的调控剂, 外源性阿片类药物可使内源性阿片肽系统受到抑制, 使阿片类药物依赖者体内众多的神经递质功能发生变化. 海洛因滥用对机体消化系统造成明显损害, 海洛因依赖者消化系溃

表 1 有核5-HT-IR细胞数/视野的比较 (mean ± SD)

分组	10 d	17 d	24 d	31 d	38 d
NCG	2.35 ± 0.125	2.35 ± 0.125	2.35 ± 0.125	2.35 ± 0.125	2.35 ± 0.125
SCG	2.07 ± 0.325	2.30 ± 0.245	2.30 ± 0.311	2.60 ± 0.290	2.23 ± 0.266
HDG	3.50 ± 0.428 ^a	3.70 ± 0.418 ^a	3.73 ± 0.512 ^a	4.13 ± 0.579 ^a	3.87 ± 0.493 ^a

^aP<0.05 vs NCG, SCG; F = 4.373.

表 2 5-HT-IR细胞的平均灰度值 (mean ± SD)

分组	10 d	17 d	24 d	31 d	38 d
NCG	116.90 ± 3.70	116.90 ± 3.70	116.90 ± 3.70	116.90 ± 3.70	116.90 ± 3.70
SCG	118.67 ± 2.9	117.66 ± 2.9	116.94 ± 2.27	117.71 ± 2.67	116.78 ± 2.78
HDG	95.72 ± 1.85 ^a	93.56 ± 3.43 ^a	87.30 ± 3.38 ^a	81.30 ± 4.01 ^a	88.20 ± 3.37 ^a

^aP<0.05 vs NCG, SCG; F = 38.637.

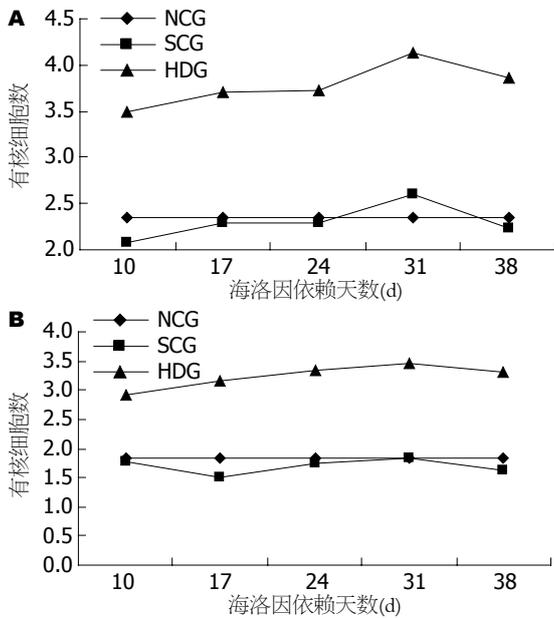


图 2 有核5-HT-IR与SS-IR细胞计数. A: 5-HT-IR细胞; B: SS-IR细胞.

疡、消化系出血、肠易激综合征等发病率呈增高趋势^[1-2], 且与胃肠肽类激素的改变有关^[2].

5-HT是一种在人体内广泛存在的生物活性胺, 哺乳动物体内大约60%-90%的5-HT存在于胃肠道, 主要由EC细胞合成. 5-HT作为一种神经递质, 对机体免疫系统和内分泌系统都有调节作用. 近年来, 5-HT对肠正常动力和分泌的调控作用越来越受到人们关注. 肠蠕动、分泌反射的激发, 首先依赖于肠黏膜EC细胞释放5-HT, 同时, 5-HT又是肠神经系统信号传递时重要的神经递质^[3-5]. 愈来愈多的研究发现, 5-HT信号系统异常与胃肠道功能性疾病密切相关, 如

■应用要点

本文的相关工作将为深入理解阿片类毒品依赖性形成机制提供重要的形态学依据. 并为临床通过调整体内激素、细胞因子、神经肽的水平来治疗海洛因成瘾者奠定理论基础.

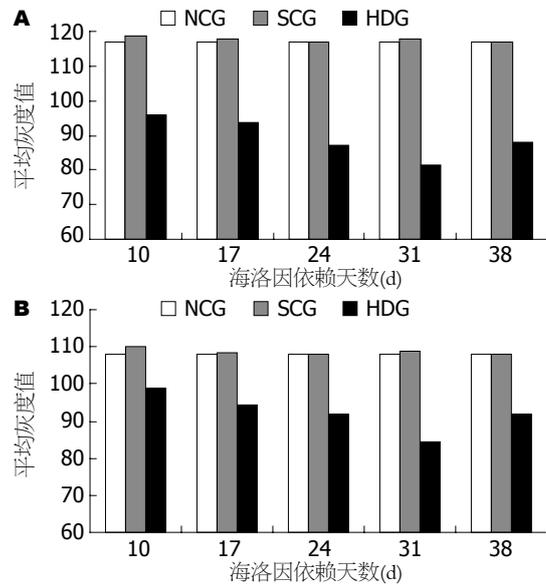


图 3 5-HT-IR与SS-IR细胞平均灰度值. A: 5-HT-IR细胞; B: SS-IR细胞.

慢性便秘、肠易激综合征、腹泻及功能性消化不良等^[6-7]. 在慢性传输型便秘患者的结肠黏膜中, 5-HT阳性细胞的数量明显多于对照组^[8]. 有关5-HT与阿片肽的关系, 有研究报道阿片类物质在中枢神经系统中通过各种直接或间接作用兴奋5-HT能神经元, 促进5-HT的合成和释放^[9]. Sáiz *et al*研究证实5-HT(2A)受体基因的表达与海洛因依赖的形成具有相关性^[10]. 本实验用免疫组织化学及图像分析所得的研究结果更直接反映结肠EC细胞在海洛因依赖过程中的动态变化, 从而为进一步探讨EC细胞参与机体对海洛因依赖的调节机制提供依据. 形态学观察发现海洛因依赖组大鼠结肠EC细胞内5-HT免疫反应

同行评价

本文选题较好, 研究设计合理, 结果可信, 结论可靠, 具有较好的学术价值。

表 3 有核SS-IR细胞数/视野的比较 (mean ± SD)

分组	10 d	17 d	24 d	31 d	38 d
NCG	1.83 ± 0.254	1.83 ± 0.254	1.83 ± 0.254	1.83 ± 0.254	1.83 ± 0.254
SCG	1.77 ± 0.310	1.50 ± 0.302	1.73 ± 0.279	1.83 ± 0.280	1.63 ± 0.265
HDG	2.93 ± 0.386 ^a	3.17 ± 0.329 ^a	3.33 ± 0.430 ^a	3.47 ± 0.452 ^a	3.30 ± 0.378 ^a

^aP<0.05 vs NCG, SCG; F = 5.708.

表 4 SS-IR细胞的平均灰度值 (mean ± SD)

分组	10 d	17 d	24 d	31 d	38 d
NCG	107.93 ± 3.86	107.93 ± 3.86	107.93 ± 3.86	107.93 ± 3.86	107.93 ± 3.86
SCG	110.11 ± 3.60	108.31 ± 3.47	107.95 ± 3.89	108.91 ± 4.63	107.90 ± 3.96
HDG	99.08 ± 3.04 ^a	94.21 ± 4.17 ^a	92.03 ± 5.17 ^a	84.49 ± 5.55 ^a	91.81 ± 4.78 ^a

^aP<0.05 vs NCG, SCG; F = 25.091.

强度增强, 细胞计数结果显示5-HT-IR细胞数量增多, 图像分析结果也表明5-HT-IR细胞的平均灰度值降低; 上述结果说明在海洛因依赖期间, 海洛因可能通过各种作用促进5-HT合成和分泌, 提示5-HT可能参与了海洛因依赖过程中肠道功能紊乱的调节过程。

生长抑素广泛分布于脑、肠道神经细胞及胃肠道D细胞, 是一种典型的脑肠肽。目前证实生长抑素对机体的几乎所有生理性内外分泌反应均起抑制作用, 另外还抑制胃肠道运动及抑制细胞增殖等^[11]。凌东进 *et al*对重症急性胰腺炎的研究表明, 生长抑素对结肠黏膜机械屏障具有明显保护作用^[12]。待普罗芬(beta-casomorphin)-7对大鼠胃黏膜G、D细胞中调节肽的基因表达具有调节作用^[13]。另有报道指出, SS能激活鸦片受体, 而阿片肽通过作用于μ受体, 又可反馈抑制SS的释放, 表明SS与内源性阿片肽有密切关系^[14]。目前大多数学者认为阿片依赖是一种细胞适应性反应, 特别是机体各系统发生细胞及分子水平上的适应。从而导致细胞的生理生化过程及组织结构的代偿性改变, 最终达到病理状态的平衡^[15]。本实验结果表明海洛因依赖期间, 大鼠结肠D细胞内SS的表达较正常及盐水对照组明显增高, 提示海洛因长期作用可能导致肠道细胞发生适应性反应, 使D细胞合成和分泌SS增多, 发挥其对肠黏膜保护作用, 从而对抗海洛因滥用造成的肠道功能损伤。

4 参考文献

1 Thomas J. Opioid-induced bowel dysfunction. *J*

- Pain Symptom Manage* 2008; 35: 103-113
- 2 耿嘉蔚, 郭强, 马德林, 范红, 万苹. 海洛因成瘾者戒毒后部分胃肠肽类激素的测定. *诊断学理论与实践* 2003; 2: 138-139
- 3 De Ponti F. Pharmacology of serotonin: what a clinician should know. *Gut* 2004; 53: 1520-1535
- 4 Tonini M, Pace F. Drugs acting on serotonin receptors for the treatment of functional GI disorders. *Dig Dis* 2006; 24: 59-69
- 5 Hansen MB. The enteric nervous system II: gastrointestinal functions. *Pharmacol Toxicol* 2003; 92: 249-257
- 6 丁建华, 傅传刚, 赵荣华. 五羟色胺在胃肠道功能性疾病中的研究现状. *世界华人消化杂志* 2005; 13: 2405-2408
- 7 Gershon MD. Nerves, reflexes, and the enteric nervous system: pathogenesis of the irritable bowel syndrome. *J Clin Gastroenterol* 2005; 39: S184-S193
- 8 Zhao RH, Baig MK, Mack J, Abramson S, Woodhouse S, Wexner SD. Altered serotonin immunoreactivities in the left colon of patients with colonic inertia. *Colorectal Dis* 2002; 4: 56-60
- 9 Buydens-Branchey L, Branchey M, Ferguson P, Hudson J, McKernin C. Craving for cocaine in addicted users. Role of serotonergic mechanisms. *Am J Addict* 1997; 6: 65-73
- 10 Sáiz PA, García-Portilla MP, Arango C, Morales B, Martínez-Barrondo S, Alvarez C, San Narciso G, Carreño E, Alvarez V, Coto E, Bobes J. Association between heroin dependence and 5-HT_{2A} receptor gene polymorphisms. *Eur Addict Res* 2008; 14: 47-52
- 11 Panteris V, Karamanolis DG. The puzzle of somatostatin: action, receptors, analogues and therapy. *Hepatogastroenterology* 2005; 52: 1771-1781
- 12 凌东进, 傅华群. 生长抑素对大鼠不同肠段黏膜机械屏障损伤的保护作用. *中华肝胆外科杂志* 2005; 11: 137
- 13 Zong YF, Chen WH, Zhang YS, Zou SX. Effects of intra-gastric beta-casomorphin-7 on somatostatin and gastrin gene expression in rat gastric mucosa. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 2094-2099
- 14 Ringel Y, Sperber AD, Drossman DA. Irritable bowel syndrome. *Annu Rev Med* 2001; 52: 319-338
- 15 Koob GF, Le Moal M. Drug addiction, dysregulation of reward, and allostasis. *Neuropsychopharmacology* 2001; 24: 97-129

Fas相关死亡结构域蛋白荧光真核表达载体的构建及其鉴定

印安宁, 江应安, 张险峰

印安宁, 江应安, 张险峰, 武汉大学人民医院消化内科 湖北省消化疾病省重点实验室 湖北省武汉市 430060
印安宁, 武汉大学人民医院在读博士, 主要从事消化系统肿瘤防治的研究。

作者贡献分布: 印安宁与江应安对此文所作贡献均等; 此课题由印安宁、江应安及张险峰设计; 研究过程、数据分析由印安宁与张险峰操作完成; 本论文写作由印安宁与江应安完成。

通讯作者: 江应安, 教授, 430060, 武汉大学人民医院消化内科, 湖北省消化疾病省重点实验室。jiangya_cn@yahoo.com.cn
电话: 027-88041911

收稿日期: 2009-01-15 修回日期: 2009-02-27

接受日期: 2009-03-02 在线出版日期: 2009-04-08

Construction and identification of pEGFP-N1-FADD eukaryotic fluorescent expression vector

An-Ning Yin, Ying-An Jiang, Xian-Feng Zhang

An-Ning Yin, Ying-An Jiang, Xian-Feng Zhang, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University; Hubei Provincial Key Laboratory of Digestive Diseases, Wuhan 430060, Hubei Province, China

Correspondence to: Professor Ying-An Jiang, Department of Gastroenterology, Renmin Hospital of Wuhan University; HuBei Provincial Key Laboratory of Digestive Diseases, Wuhan 430060, Hubei Province, China. jiangyingan@yahoo.com.cn

Received: 2009-01-15 Revised: 2009-02-27

Accepted: 2009-03-02 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To construct the recombinant plasmid pEGFP-N1-FADD with gene recombinant technique and detect its expression in SW480 cells.

METHODS: FADD full length cDNA was amplified by RT-PCR with total RNA extracted from human colon carcinoma SW480 cells as template, and cloned into eukaryotic expression vector pEGFP-N1. Recombinant plasmid of pEGFP-N1-FADD was identified by restriction endonuclease analysis and DNA sequencing. Then the pEGFP-N1-FADD plasmid was transfected into SW480 cells. SW480 cell clones with FADD over-expression was screened by G418 selection. FADD expression was determined by Western blot analysis.

RESULTS: The full-length human FADD cDNA was obtained and identified correct through se-

quencing and enzyme digestion. FADD cDNA was correctly inserted into pEGFP-N1. The expression of EGFP in SW480 cells transfected with pEGFP-N1-FADD was observed by fluorescence microscopy. Western blotting analysis showed that FADD expression significantly increased after pEGFP-N1-FADD transfection in SW480 cells in comparison with that in the controls.

CONCLUSION: The eukaryotic expression vector pEGFP-N1-FADD is successfully constructed, which can stably express FADD in SW480 cells.

Key Words: Fas associated protein with death domain; Eukaryotic expression; Green fluorescent protein; Stable transfection

Yin AN, Jiang YA, Zhang XF. Construction and identification of pEGFP-N1-FADD eukaryotic fluorescent expression vector. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 981-984

摘要

目的: 构建真核表达载体pEGFP-N1-FADD并检测其在结肠癌细胞株SW480中的表达。

方法: 设计人FADD特异性引物, 从人结肠癌细胞SW480细胞提取总RNA, 通过RT-PCR方法获取人FADD全长cDNA, 定向克隆至真核表达载体pEGFP-N1。应用PCR、酶切和DNA测序进行鉴定, 确认后转染人结肠癌细胞SW480。G418抗性筛选获得FADD稳定表达细胞克隆, 应用Western blot检测FADD的表达水平。

结果: 测序及酶切鉴定证明获得人全长FADD基因, FADD基因正确插入pEGFP-N1中, 在荧光显微镜下观察到绿色荧光蛋白在SW480细胞中的稳定表达, Western blot检测结果显示稳定转染pEGFP-N1-FADD的细胞FADD表达水平增高, 是未转染细胞的2.34倍。

结论: 成功构建真核表达载体pEGFP-N1-FADD, 并且在SW480细胞中稳定表达。

关键词: Fas相关死亡结构域蛋白; 真核表达; 绿色

背景资料

结肠癌是最常见的恶性肿瘤之一, 其发生率一直呈上升趋势。目前结肠癌的治疗方案, 多采用手术治疗, 再辅以化疗及其他治疗。手术和化疗虽有一定的疗效, 但术后易复发, 化疗不良反应大且易引起耐药, 对晚期转移患者效果更不理想。因此, 基因治疗是目前研究的热点。FADD是凋亡死亡受体通路中一种重要的凋亡分子, 在肿瘤中的促凋亡作用的现象及其机制的研究正在受到广泛的关注。

同行评议者

曹志成, 英国生物医学科学研究所院士, 香港伊利沙伯医院临床肿瘤科; 潘兴华, 副主任医师, 中国人民解放军成都军区昆明总医院病理实验科

■研发前沿

FADD促进肿瘤凋亡的机制及其上下游相互作用蛋白是本领域的研究热点及重点。FADD促进肿瘤细胞凋亡的机制是亟待解决的问题。

荧光蛋白; 稳定转染

印安宁, 江应安, 张险峰. Fas相关死亡结构域蛋白荧光真核表达载体的构建及其鉴定. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 981-984
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/981.asp>

0 引言

Fas相关死亡结构域蛋白(fas-associated protein with death domain, FADD)于1995年由Chinnaiyan *et al*利用酵母双杂交系统成功克隆^[1], 是广泛存在于多种组织细胞中的一种胞质蛋白质, 也是细胞内凋亡信号传导通路中的一个关键接合蛋白. 因为包含一个与Fas相关死亡结构域(death domain, DD)同源的结构域, 因而得名, 并认为他是一个凋亡蛋白. 为进一步研究FADD基因抑制结肠癌增殖和促凋亡作用. 我们克隆了人FADD基因并构建了真核表达载体pEGFP-N1-FADD并将其转染真核细胞, 观察其表达, 为下一步的工作奠定了基础.

1 材料和方法

1.1 材料 人结肠癌细胞SW480(购自中国科学院上海细胞生物研究所细胞库)置37℃、50 mL/L CO₂孵箱中, 用含100 mL/L胎牛血清以及100 kU/L青霉素和50 g/L链霉素的RPMI 1640培养基培养. 2-3 d换液, 取对数生长期细胞进行后续实验. TRIzol试剂购自Invitrogen公司, RT试剂盒购自ToYoBo公司, PCR试剂盒购自Fermentas公司; AMV逆转录酶购自Promega公司; PrimeSTAR HS DNA高保真酶、限制性内切酶、T4连接酶、标准分子质量DNA Marker、DNA凝胶回收试剂盒和DNA片段纯化试剂盒均购自TaKaRa公司; 质粒小量提取试剂盒购自Omega公司; pEGFP-N1购自Clontech公司; 大肠杆菌DH5α菌株购自Tiangen公司. 兔抗人FADD和Actin多克隆抗体购自Santa Cruz公司.

1.2 方法

1.2.1 引物的设计与合成: 根据FADD基因序列(GenBank Number: NM_003824.2), 依据PCR引物设计原则和PrimeSTAR HS DNA高保真酶的特性, 利用Primer Premier5.0生物软件设计可以特异性扩增人FADD cDNA全长的引物序列, 同时分别在上游引物和下游引物的5'端引入Hind III和EcoR I两酶切位点, 引物由上海英骏生物技术有限公司合成, 序列如下: F: TTTGGATCCGC TAGCAITGGACCCGTTCTGGTGCTG; R: TTT CTCGAGTCAGGACGCTTCGGAGGTAGA.

1.2.2 RT-PCR: 取适量培养的结肠癌细胞SW480, 加入1 mL TRIzol试剂, 提取总RNA. 以1 μg总RNA为模板, 按照RT试剂盒说明书进行85℃逆转录30 min获得cDNA. 以cDNA产物为模板, F和R为引物, PCR扩增约651 bp的片段, 总反应体积为25 μL. 循环参数为: 94℃预变性5 min后, 94℃ 30 s, 64℃ 30 s, 72℃ 30 s, 循环30次, 再72℃充分延伸10 min. 取9 μL PCR产物加1 μL溴酚蓝后, 于15 g/L琼脂糖凝胶上电泳.

1.2.3 pEGFP-N1-FADD真核表达载体的构建: 琼脂糖凝胶DNA纯化试剂盒回收FADD扩增产物, 和空质粒pEGFP-N1用Hind III和EcoR I进行双酶切, 琼脂糖电泳回收载体片段(4.7 kb)和目的片段(651 bp). 连接上述目的片段和载体片段, 构建pEGFP-N1-FADD原核表达载体, 转化DH5α感受态细胞, 用含Kan⁺的LB平板筛选阳性克隆, 少量提取pEGFP-N1-FADD质粒, 经PCR及Hind III和EcoR I双酶切鉴定.

1.2.4 质粒测序鉴定和质粒小量提取: 对pEGFP-N1-FADD质粒进行测序鉴定, 与GenBank序列(NM_003824.2)进行BLAST比对. 按照Omega公司的质粒小量提取试剂盒说明书提取质粒. 具体步骤如下: (1)无菌条件下, 分别取上述菌落扩增的新鲜菌液20 μL, 加入30 mL卡那霉素抗性LB液体培养基中, 37℃摇菌过夜; (2)次日, 室温下, 5000 g离心10 min沉淀细菌; (3)加入1 mL Solution1/RnaseA完全重悬细菌; (4)加入1 mL Solution2, 轻柔混匀, 上下颠倒7-10次, 室温放置2 min; (5)加入500 μL预冷的Buffer N3, 上下颠倒7-10次, 室温下12000 g离心10 min; (6)将上清移至一个新离心管, 加入0.1倍体积ETRsolution, 上下颠倒7-10次, 冰上孵育10 min; (7)将上述裂解液于42℃中静置5 min, 裂解液又出现浑浊, 室温下12000 g离心3 min; (8)将上清移至一个新离心管, 加入0.5倍体积的无水乙醇, 上下颠倒7-10次, 室温放置2 min; (9)将上述混合液放入已经用400 μL Buffer BT平衡的Omega柱子中, 使混合液完全流过柱子进入收集管, 弃去滤液; (10)将1 mL Buffer HB加入柱子中, 室温下10000 g离心1 min, 弃去滤液; (11)将1.4 mL DNA Wash Buffer加入柱子中, 室温下10000 g离心1 min, 弃去滤液; 重复此步骤; (12)空柱室温下13000 g离心3 min甩干乙醇; (13)将柱子置于一个无菌离心管, 将Endotoxin Free Elution Buffer 200 μL加入到柱子中, 室温静置5 min, 室温下13000 g离心1 min, 洗脱出质粒DNA, 并测定浓度.

1.2.5 细胞转染及克隆筛选: 转染前1 d将SW480

■相关报道

Kondo *et al*研究表明FADD过表达可以在体外和体内诱导恶性胶质瘤细胞的凋亡. Kobayashi *et al*研究也表明, 利用FADD腺病毒载体可以从体外和体内促进风湿样滑膜细胞的凋亡, 从而为治疗风湿样关节炎提供一种新的手段.

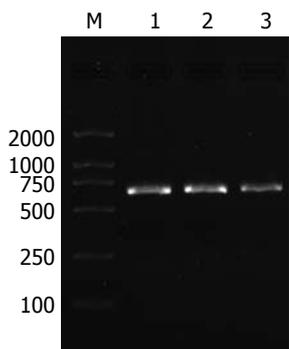


图 1 人FADD全长cDNA克隆. M: DL2000 Marker; 1-3: FADD基因PCR产物.

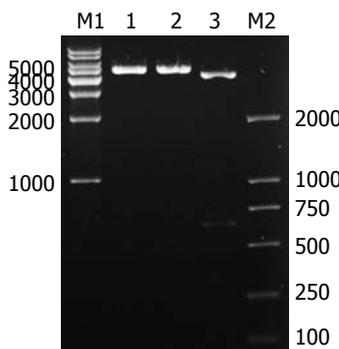


图 2 质粒pEGFP-N1-FADD酶切鉴定. M1: 1000 bp Marker; M2: DL2000 Marker; 1-2: 单酶切; 3: 双酶切(*Hind* III和*Eco*R I).

■应用要点
本研究克隆了人FADD基因并构建了GFP表达载体pEGFP-N1-FADD, 并将其转染真核细胞, 观察其稳定表达情况, 为下一步的工作奠定了基础.

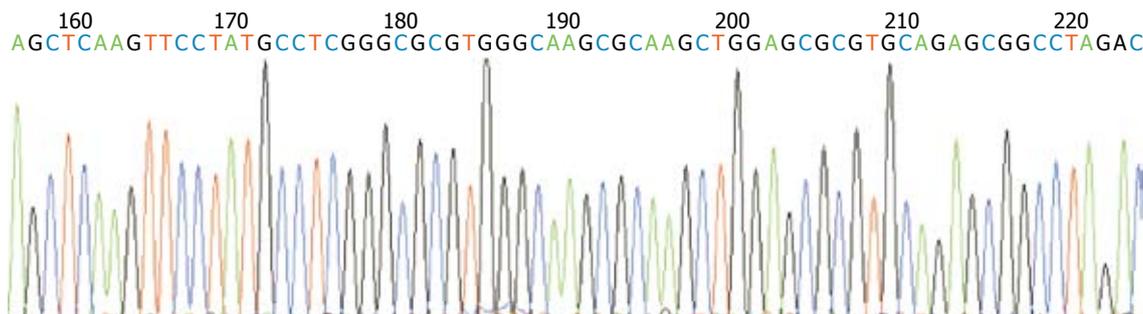


图 3 人FADD全长cDNA克隆部分测序图.

细胞接种至6孔板中, 2×10^5 个细胞/孔, 使细胞达到90%-95%融合. 转染时不含血清和抗生素的培养基. 分别用100 μ L的上述培养基稀释1 μ g质粒DNA和2.5 μ L Lipofectamine™2000, 室温孵育5 min. 将Lipofectamine™2000混合物加入质粒DNA中, 总体积为200 μ L, 轻轻混匀, 室温孵育20 min. 将DNA-Lipofectamine™2000混合物加入800 μ L上述培养基中, 轻轻混匀后, 加到6孔板孔中, 6 h后更换含血清和抗生素的培养基. 37℃孵育24 h后消化细胞到培养瓶中, 等到细胞完全贴壁后, 加入含G418(浓度为250 mg/L)的培养液, 进行筛选. 筛选4 wk后建成抗性单克隆, 挑取单克隆, 扩大培养. 以pEGFP-N1质粒为空白转染对照.

1.2.6 Western blot检测FADD表达: 收集稳定转染pEGFP-N1-FADD和pEGFP-N1的细胞, 提取总蛋白. 上样孔加入45 μ g蛋白进行SDS-PAGE电泳. 分离胶100 g/L, 积层胶50 g/L. 恒压75V电泳至积层胶底部, 恒压100 V电泳至分离胶底部. 200 mA恒流、30 min转移到硝酸纤维素膜上. 100 g/L脱脂牛奶室温封闭2 h. 按1:1000比例稀释加入兔抗人FADD和Actin(内参)多克隆抗体, 4℃摇床过夜. 按1:3000比例稀释加入羊抗兔IgG-HRP, 室温振荡1 h. Millipore ECL试剂显色、曝光并拍照. 扫描后用Quantity One图像分析软件进行吸光度积分值分析, 用FADD/Actin吸光度积分值之比对FADD蛋白表达进行半定量分析.

2 结果

2.1 人FADD cDNA基因的扩增、克隆及测序鉴定 PCR成功扩增出人FADD全长cDNA, FADD基因PCR产物的电泳结果可见大小为651 bp左右的特异性条带(图1).

2.2 真核表达载体pEGFP-N1-FADD的构建及鉴定 构建的质粒用*Hind*III和*Eco*R I双酶切鉴定, 得到约4.7 kb和651 bp的片段, 与预期结果一致(图2). 对pEGFP-N1-FADD质粒进行测序, 结果与GenBank里的人FADD基因序列相一致(图3).

2.3 FADD稳定表达细胞克隆的筛选和鉴定 用pEGFP-N1-FADD转染SW480细胞, 得到稳转细胞系后的荧光图像(图4). 克隆扩大培养后收集细胞进行Western blot检测. 其结果显示(图5), 稳定转染pEGFP-N1-FADD的细胞FADD表达水平增高, 是未转染细胞的2.34倍, 命名为SW480/FADD.

3 讨论

细胞凋亡一般认为有2条基本通路^[2], 一条是线粒体非依赖性, 又叫死亡受体通路, 即是在Fas引导下, FADD以其DD直接与Fas的死亡结构域结合, 相互作用后显露出其死亡效应域(FADD-DED), 随即与无活性的Caspase-8酶原发生同嗜性交联, 使之活化, 进而引起Caspase级联反应, 导致细胞凋亡. 另一条线粒体依赖性的, 即活化的Caspase-8作用于*bcl-2*家族的促凋亡成员bid, 使其催化断裂, 其C端部分活化并转位

■名词解释

Fas相关死亡结构域蛋白(FADD): Chinnaiyan *et al*利用酵母双杂交系统成功克隆, 是广泛存在于多种组织细胞中的一种胞质蛋白质, 也是细胞内凋亡信号传导通路中的一个关键接合蛋白. 因为包含一个与Fas相关死亡结构域(DD)同源的结构域, 因而得名, 并认为他是一个凋亡蛋白.

■同行评价

本研究成功地构建了含人FADD全长的带绿色荧光蛋白的真核表达质粒pEGFP-N1-FADD, 并通过G418抗性筛选获得了稳定表达FADD的细胞株SW480/FADD. 文章内容稍嫌简单, 若能对构建含人FADD全长的细胞株SW480/FADD作深入研究, 将对读者更有裨益.

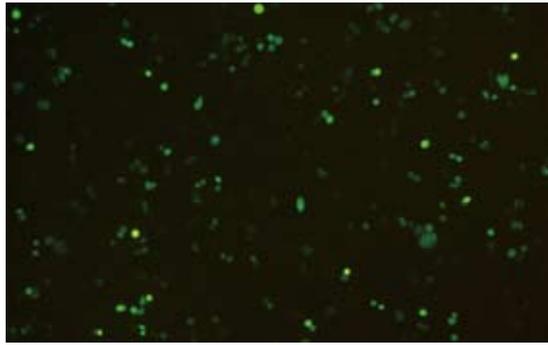


图4 荧光显微镜下稳转pEGFP-N1-FADD的SW480细胞.

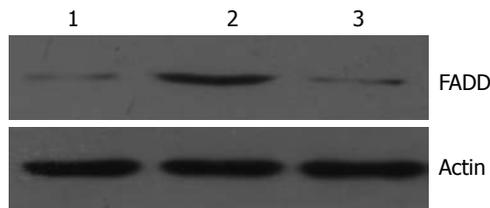


图5 Western blot检测FADD蛋白表达. 1: pEGFP-N1组; 2: pEGFP-N1-FADD组; 3: 空白对照组.

至线粒体膜, 引起线粒体跨膜势能降低或破坏, 释放出膜间腔的cytC和procaspase-9等死亡因子, 在Apaf-1、dATP和cytC参与下, procaspase-9自身催化形成活性Caspase-9, 激活下游靶procaspase-3, 导致细胞凋亡.

FADD在细胞凋亡死亡受体通路中起着非常重要的衔接作用^[3]. FADD的DD域与死亡受体的DD域结合后, 其DED域进行低聚化并激活Caspase-8前体, 形成DISC. 若DED域缺失, 则干扰DISC形成, 抑制其下游的凋亡信号传导, 遏制细胞凋亡的发生^[4]. FADD作为一种凋亡蛋白, 在恶性胶质瘤、类风湿关节炎等疾病中的治疗已有一定的研究^[5-8]. 另外, Imai *et al*^[9]的研究表明在人骨肉瘤中过表达显性负相FADD可以降低凋亡水平. 并且, 对FADD磷酸化的研究也取得一定的进展. Shimada *et al*^[10-11]发现, 磷酸化FADD依赖的JNK/caspase通路的活化在化疗诱导凋亡的过程中起着重要的作用.

绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)是20世纪90年代发展起来的一种全新的报告分子^[12]. GFP分子质量小, 易与其他目的基因形成融合基因, 对细胞无不良反应, 而且其化学性质稳定, 使用方便, 可以在活体细胞中定时观察, 因而连接有GFP的载体pEGFP-N1在分子生物学中被广泛应用.

本实验中我们应用RT-PCR方法, 从培养的结肠癌细胞SW480中提取RNA, 逆转录为cDNA

为模板, 克隆了FADD基因的全序列, 并成功地构建了含人FADD全长的带绿色荧光蛋白的真核表达质粒pEGFP-N1-FADD. 通过G418抗性筛选获得了稳定表达FADD的细胞株SW480/FADD, 为深入研究FADD对结肠癌的抗增殖和促凋亡作用奠定了基础, 为临床治疗结肠癌提供了新思路.

4 参考文献

- Chinnaiyan AM, O'Rourke K, Tewari M, Dixit VM. FADD, a novel death domain-containing protein, interacts with the death domain of Fas and initiates apoptosis. *Cell* 1995; 81: 505-512
- Fesik SW. Promoting apoptosis as a strategy for cancer drug discovery. *Nat Rev Cancer* 2005; 5: 876-885
- Thorburn A. Death receptor-induced cell killing. *Cell Signal* 2004; 16: 139-144
- Kim KS. Multifunctional role of Fas-associated death domain protein in apoptosis. *J Biochem Mol Biol* 2002; 35: 1-6
- Kondo S, Ishizaka Y, Okada T, Kondo Y, Hitomi M, Tanaka Y, Haqqi T, Barnett GH, Barna BP. FADD gene therapy for malignant gliomas in vitro and in vivo. *Hum Gene Ther* 1998; 9: 1599-1608
- Kobayashi T, Okamoto K, Kobata T, Hasunuma T, Kato T, Hamada H, Nishioka K. Novel gene therapy for rheumatoid arthritis by FADD gene transfer: induction of apoptosis of rheumatoid synoviocytes but not chondrocytes. *Gene Ther* 2000; 7: 527-533
- Koga S, Hirohata S, Kondo Y, Komata T, Takakura M, Inoue M, Kyo S, Kondo S. FADD gene therapy using the human telomerase catalytic subunit (hTERT) gene promoter to restrict induction of apoptosis to tumors in vitro and in vivo. *Anticancer Res* 2001; 21: 1937-1943
- Komata T, Koga S, Hirohata S, Takakura M, Germano IM, Inoue M, Kyo S, Kondo S, Kondo Y. A novel treatment of human malignant gliomas in vitro and in vivo: FADD gene transfer under the control of the human telomerase reverse transcriptase gene promoter. *Int J Oncol* 2001; 19: 1015-1020
- Imai T, Adachi S, Nishijo K, Ohgushi M, Okada M, Yasumi T, Watanabe K, Nishikomori R, Nakayama T, Yonehara S, Toguchida J, Nakahata T. FR901228 induces tumor regression associated with induction of Fas ligand and activation of Fas signaling in human osteosarcoma cells. *Oncogene* 2003; 22: 9231-9242
- Shimada K, Nakamura M, Ishida E, Kishi M, Yonehara S, Konishi N. Phosphorylation of Fas-associated death domain contributes to enhancement of etoposide-induced apoptosis in prostate cancer cells. *Jpn J Cancer Res* 2002; 93: 1164-1174
- Shimada K, Matsuyoshi S, Nakamura M, Ishida E, Kishi M, Konishi N. Phosphorylation of FADD is critical for sensitivity to anticancer drug-induced apoptosis. *Carcinogenesis* 2004; 25: 1089-1097
- Chalfie M, Tu Y, Euskirchen G, Ward WW, Prasher DC. Green fluorescent protein as a marker for gene expression. *Science* 1994; 263: 802-805

应用实时荧光定量RT-PCR法建立肝癌分子诊断指数

王伟丽, 高英堂, 杜智, 王毅军, 景丽, 郭华, 杨斌, 白同

王伟丽, 天津医科大学第三中心临床学院 天津市 300170
高英堂, 杜智, 王毅军, 景丽, 郭华, 杨斌, 白同, 天津市第三
中心医院 天津市人工细胞重点实验室 天津市 300170
王伟丽, 天津医科大学硕士, 主要从事多种医学分子技术在肝癌
临床诊断治疗中的应用研究。
天津市科委攻关基金资助项目, No. 05YFSZSF02500
作者贡献分布: 此课题的设计与论文写作由王伟丽与高英堂完
成; 研究过程由王伟丽、郭华和景丽完成; 标本采集由杜智、王
毅军及白同完成; 数据分析由王伟丽、高英堂及杨斌完成。
通讯作者: 高英堂, 300170, 天津市河东区津塘路83号, 天津市
第三中心医院. gaoyt816@163.com
电话: 022-84112148 传真: 022-24382234
收稿日期: 2009-02-03 修回日期: 2009-02-20
接受日期: 2009-02-23 在线出版日期: 2009-04-08

Molecular diagnostic index for hepatocellular carcinoma using real-time fluorescent quantitation RT-PCR: a pilot study

Wei-Li Wang, Ying-Tang Gao, Zhi Du, Yi-Jun Wang,
Li Jing, Hua Guo, Bin Yang, Tong Bai

Wei-Li Wang, the Third Central Hospital Affiliated to Tian-
jin Medical University, Tianjin 300170, China
Ying-Tang Gao, Zhi Du, Yi-Jun Wang, Li Jing, Hua Guo,
Bin Yang, Tong Bai, Artificial Cells Key Laboratory of
Tianjin, the Third Central Hospital, Tianjin 300170, China
Supported by: the Key Program of Tianjin Science Com-
mittee, No. 05YFSZSF02500
Correspondence to: Ying-Tang Gao, Artificial Cells Key
Laboratory of Tianjin, the Third Central Hospital, Tianjin
300170, China. gaoyt816@163.com
Received: 2009-02-03 Revised: 2009-02-20
Accepted: 2009-02-23 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To develop molecular diagnostic indexes to detect hepatocellular carcinoma (HCC) using genes whose expression level differs markedly from the normal tissue.

METHODS: Thirty eight tissue samples were obtained from surgical resection at random including 5 normal liver, 4 hepatitis, 12 liver cirrhosis, 17 HCC and paracancer tissues. Gene expression in 9 cases was detected using real-time fluorescent qualification RT-PCR on the control of G3PDH (housekeeping gene). The method of $2^{-\Delta\Delta CT}$ was used to calculate the relative qualification of target genes, and then the molecular

diagnostic index was estimated according to the gene numbers of abnormal expression.

RESULTS: Six gene expression differed among normal, hepatitis, LC and HCC groups. GPC3 and E2F1 showed an increasing trend, while PTEN, PRDM2, and MGMT showed a decreasing trend. But HGF, CLDN10 expression was elevated in LC, decreased in HCC. For 9 genes as molecular diagnosis index, their average value was 1.58 in LC, 5.24 in HCC, and the difference was significant. GPC3, E2F1 and MMP2 increased gradually from paracancer to cancer. CLDN10, HGF, PTEN, DLC1, PRDM2, and MGMT decreased gradually from paracancer to cancer.

CONCLUSION: The method of molecular diagnostic index can be potentially used to detect and differentiate early HCC effectively by analyzing the combination of more screening genes.

Key Words: Hepatocellular carcinoma; Gene expression; Expression; Real-time fluorescent quantitation polymerase chain reaction; Molecular diagnostic index

Wang WL, Gao YT, Du Z, Wang YJ, Jing L, Guo H, Yang B, Bai T. Molecular diagnostic index for hepatocellular carcinoma using real-time fluorescent quantitation RT-PCR: a pilot study. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 985-991

摘要

目的: 筛选肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)中表达水平较正常肝细胞差异大、特异性好的基因, 建立肝癌分子诊断指数, 以期从分子病因学角度实现对肝癌的早期诊断。

方法: 随机选择38例手术切除组织标本, 其中正常肝5例、肝炎4例、肝硬化(LC)12例、HCC和癌旁组织17例, 实时荧光定量RT-PCR检测9个基因的表达, 以管家基因G3PDH为对照, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法计算目的基因相对表达量, 依据表达异常的基因个数建立分子诊断指数。

结果: GPC3等6个基因在正常肝、肝炎、LC与HCC组的两组或多组间存在差异($P<0.05$); GPC3、E2F1从肝炎组到LC、HCC组呈递增

背景资料

常规病理学技术对某些微小且分化较好的肝癌或交界性病变的诊断具有一定的局限性和挑战性, 随着肿瘤基因组学研究的深入, 分子病因学诊断有望应用于肝癌的早期诊断。

同行评议者

黄志勇, 副教授, 华中科技大学同济医学院普外科; 崔云甫, 教授, 哈尔滨医科大学第二附属医院普外科

■ 研发前沿

随着分子生物学的迅猛发展, 肿瘤基因诊断成为当今研究的重点, 基因诊断结合病理学诊断等方法将实现肝癌的早期诊断、鉴别诊断。

趋势, HGF、CLDN10在LC组表达量升高, 而在HCC组明显下降, PTEN、PRDM2、MGMT从肝炎组到LC、HCC组呈递减趋势; 9个基因在LC组分子诊断指数平均值为1.58, 在HCC组平均值为5.24, 二者差异显著; GPC3、E2F1、MMP2从癌旁到癌呈递增趋势, CLDN10、HGF、PTEN、DLC1、PRDM2、MGMT从癌旁到癌呈递减趋势。

结论: 通过筛选更多基因的组合分析, 分子诊断指数有望成为鉴别诊断早期肝癌的一种有效方法。

关键词: 肝细胞癌; 基因; 表达; 实时荧光定量RT-PCR; 分子诊断指数

王伟丽, 高英堂, 杜智, 王毅军, 景丽, 郭华, 杨斌, 白同. 应用实时荧光定量RT-PCR法建立肝癌分子诊断指数. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 985-991

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/985.asp>

0 引言

原发性肝癌是世界范围内发病率最高的恶性肿瘤之一, 也是我国最常见且恶性程度最高的肿瘤之一, 由于其早期诊断困难, 肝癌的病死率居高不下^[1-2]. 肝癌多数由慢性肝炎、肝硬化演化而来, 是一个多基因、多途径相互作用的过程, 基因表达分析能对早期癌变、微小且分化较好的肿瘤和交界性病变的诊断提供帮助^[3]. 实时荧光定量RT-PCR是一种简便、快速且高敏感性的基因表达检测方法, 能准确分析基因表达水平的改变. 我们利用实时荧光定量RT-PCR法检测9个基因在正常肝、肝炎、肝硬化及肝癌组织中的表达水平, 初步建立肝癌分子诊断指数。

1 材料和方法

1.1 材料 选取2004-12/2006-08天津市第三中心医院肝胆外科手术组织标本38例, 其中17例HCC患者(14例为乙肝, 1例为丙肝, 3例无病毒感染的癌组织(T)、癌旁0 cm(N0)和2 cm(N2)组织, 其中男11例, 女6例, 年龄22-75(平均57)岁, 所有患者经病理诊断均为肝细胞癌, 其中6例高分化, 7例中分化, 4例低分化; 4例乙型肝炎; 12例LC(9例为乙肝, 其中2例合并丙肝; 3例无病毒感染); 5例正常肝(取自手术治疗的肝血管瘤旁组织)作对照. 所有标本取材均通过我院伦理委员会审核, 家属知情签字同意。

1.2 方法

1.2.1 RNA提取和逆转录: 参照Promega公司

RNAagents试剂盒提取总RNA, 每50 mg组织的总RNA溶于50 μ L DEPC水中, 琼脂糖凝胶电泳检测RNA完整性, 紫外分光光度计检测A值, 计算其浓度. 逆转录参照Promega公司的ImRrom-II™使用说明书, 反应体系为2 μ g RNA、0.5 μ g随机引物, 70℃热变性10 min, 迅速冰浴3 min; 再依次加入2.4 μ L 25 mmol/L MgCl₂、4 μ L 5×逆转录缓冲液、1 μ L 10 mmol/L dNTP、20 U RNase inhibitor、1 μ L逆转录酶, 加DEPC水至终体积为20 μ L. 37℃水浴90 min, 然后70℃ 10 min灭活逆转录酶。

1.2.2 引物设计: 依据GenBank中癌基因GPC3、E2F1、MMP2、HGF、CLDN10, 抑癌基因PTEN、DLC1、PRDM2、MGMT和管家基因G3PDH的mRNA序列设计引物, 软件采用Primer Express 2.0设计, 由上海生物工程技术服务有限公司负责合成, 序列见表1。

1.2.3 实时荧光定量PCR检测9个基因的表达水平: 优化反应条件, 如引物浓度、退火温度和延伸时间等, 使目的基因和管家基因的扩增效率保持一致. 按照TaKaRa公司的实时荧光定量PCR反应体系, 组成如下: cDNA模板2 μ L、上下游引物各0.5 μ L、1 U Taq聚合酶、2 μ L 2.5 mmol/L dNTP和2.5 μ L 10×PCR缓冲液, 加超纯水至总体积25 μ L. 采用两步PCR法, 扩增条件为: 94℃预变性2 min, 94℃变性60 s, 各基因退火温度见表1. 根据各基因的实时扩增曲线和熔解曲线进行分析, 取CT值, 按 $2^{-\Delta\Delta CT}$ ^[4]法计算待测目的基因相对表达量, $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值相差3倍认为有表达差异。

统计学处理 通过SPSS13.0软件进行方差分析, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 总RNA提取 肝组织总RNA的 A_{260}/A_{280} 为1.7-2.0, 表明纯度较高. 紫外灯下观察琼脂糖凝胶电泳可见清晰的28S、18S条带, 其亮度之比为1.5-2, 表明完整性好。

2.2 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法检测9个基因的相对表达水平与分子诊断指数的建立 实时荧光定量PCR表明, 各扩增曲线良好, 呈明显的“S”型; 各融解曲线未见杂峰, 也未出现主峰的异常增宽, 说明目的序列扩增的特异性较高. 各基因在不同标本中的 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值如表2所示, 在17个HCC标本中, GPC3、E2F1表达量在HCC中显著升高, 其中分别有15个、10个标本呈3倍量上调; 而

■ 相关报道

Jia *et al* 使用GPC3等5个基因对218例HCC标本进行检测, 结果表明5个基因组合诊断能改善预测的精确性.

表 1 9个基因的引物序列

引物	序列5'→3'片段	大小(bp)	退火温度(°C)
G3PDH	CTC ATG ACC ACA GTC CAT GCC ATC ACT G	140	55
	CAT GAG GTC CAC CAC CCT GTT GCT GTA		
GPC3	TGA CCT GAA AGT ATT TGG GAA TTT CC	427	60
	CAA TAG TGG TGG TCA GCT TTC CTG		
E2F1	GAA CCA CAT CCA GTG GCT GG	520	63
	GGA CAA CAG CGG TTC TTG CT		
MMP2	GAA GGC TGT GTT CTT TGC AGG	325	61
	TCA GGT AAT AGG CAC CCT TGA AG		
CLDN10	TGT CAG GGC TGT GCT CAA TG	150	57
	CCA CCA ATT ATG CAC AGT GAG G		
HGF	GAA AAC AAT GCC TCT GGT TCC	200	57
	TGT GTT CGT GTG GTA TCA TGG A		
PTEN	TAG AGT TCT TCC ACA AAC AGA ACA GA	550	60
	AAT CTG ACA CAA TGT CCT ATT GCC		
DLC1	TTT ACC ACC TGC TGA ATT ACT CAC GCC	300	60
	ACG TCT GTG TAG TGC ACA GGA AAG CC		
PRDM2	GGG ATG GAT GTG CAT TGA TG	350	61
	GCA GAG GTG AAA TCT GGC TCA		
MGMT	GTG CAC AGC CTG GCT GAA T	500	62
	CGC ATC CGA TGC AGT GTT AC		

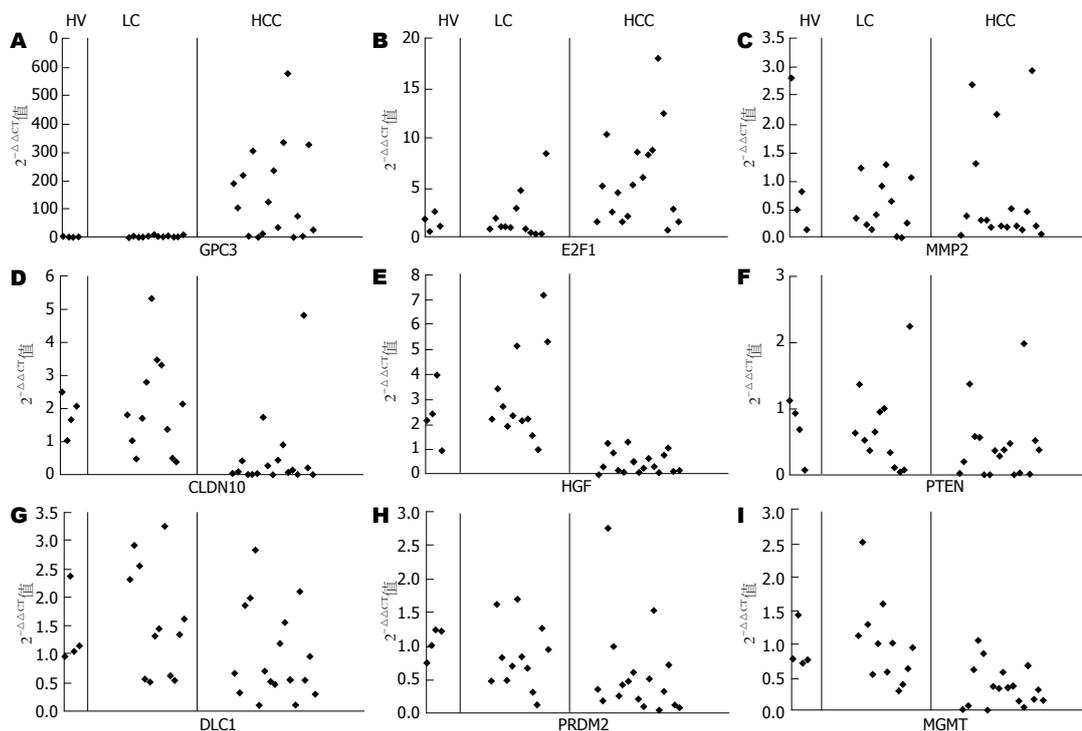


图 1 9个基因在肝炎(HV)组、LC组、HCC组的相对表达量.

CLDN10、MGMT、MMP2、HGF、PTEN和PRDM2在HCC中呈低表达, 分别有13、11、10、9、8和8个标本下调. 各基因在不同组织中的表达差异如表3所示, 除MMP2、DLC1、PRDM2外, 其余6个基因在正常组、肝炎组、肝

硬化组、癌旁与癌组之间存在表达差异.

为进一步区分9个基因在个体中的差异, 以其在肝炎、LC、HCC组的表达量做散点图, 如图1所示GPC3、E2F1在正常组、LC、HCC组 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值递增; MMP2变化不明显, 但散点图可见

■创新盘点

本研究在前期实验基础上,选择GPC3等5个肝癌高表达基因和PTEN等4个低表达基因进行实时荧光定量RT-PCR分析,初步建立肝癌的分子诊断指数,结果表明分子诊断指数在肝癌组织与癌旁组织及肝炎、肝硬化组织中存在明显差异,具有诊断价值。

表 2 基因表达量和分子诊断指数

	GPC3	E2F1	MMP2	CLDN10	HGF	PTEN	DLC1	PRDM2	MGMT	Index
NL1	1.268	1.254	0.575	0.947	1.379	0.600	0.737	0.752	1.652	0
NL2	1.528	1.271	1.406	1.406	1.278	1.268	1.803	0.869	0.322	0
NL3	1.127	1.823	1.008	0.860	0.630	1.638	1.932	1.567	1.408	0
NL4	0.347	0.561	0.836	0.556	1.113	0.629	0.702	0.496	0.982	0
NL5	1.321	0.614	1.466	1.571	0.809	1.276	0.555	1.970	1.360	0
HV219	2.570	1.724	2.813	2.518	2.180	1.134	0.966	0.752	0.798	0
HV229	1.081	0.610	0.508	1.030	2.402	0.928	2.378	1.020	1.448	0
HV238	0.819	2.542	0.836	1.684	3.956	0.694	1.035	1.238	0.729	1
HV239	0.848	1.011	0.154	2.045	0.989	0.092	1.149	1.229	0.781	2
LC224	0.494	0.868	0.369	1.805	2.241	0.638	2.313	0.482	1.136	0
LC232	4.323	1.900	1.241	1.058	3.444	1.368	2.928	1.622	2.539	2(1)
LC241	0.372	1.054	<i>0.247</i>	0.490	2.721	0.544	2.549	0.822	1.287	1
LC243	1.793	1.004	<i>0.162</i>	1.696	1.964	0.377	0.563	0.503	0.552	1
LC247	3.487	0.950	0.421	2.793	2.369	0.656	0.514	0.701	1.024	1
LC248	6.507	2.900	0.928	5.322	5.148	0.961	1.338	1.715	1.607	3(1)
LC250	4.234	4.744	1.285	3.463	2.180	1.008	1.444	0.846	0.580	3(2)
LC253	1.507	0.833	0.656	3.299	2.210	0.342	3.249	0.668	1.010	2(1)
LC254	3.309	0.419	<i>0.037</i>	1.349	1.541	<i>0.114</i>	0.620	0.332	0.347	3
LC255	<i>0.194</i>	0.394	<i>0.027</i>	0.501	1.038	<i>0.067</i>	0.532	<i>0.133</i>	0.416	4
LC256	0.708	0.337	<i>0.259</i>	0.374	7.180	<i>0.080</i>	1.347	1.255	0.639	3(2)
LC259	7.579	8.433	1.073	2.132	5.329	2.238	1.625	0.945	0.942	3(2)
120N2	0.427	<i>0.176</i>	<i>0.181</i>	0.477	1.235	0.385	1.828	0.379	0.576	2
121N2	0.903	1.554	0.616	0.552	2.683	<i>0.286</i>	1.765	0.846	0.416	1
122N2	0.467	<i>0.192</i>	0.629	1.096	3.795	0.412	1.932	0.817	1.003	2(1)
123N2	1.921	1.401	1.250	5.177	2.091	0.548	2.445	1.355	0.709	1(0)
124N2	1.989	2.920	0.934	1.030	1.858	1.111	1.404	1.171	1.120	0
125N2	2.553	0.378	0.754	0.679	1.833	0.430	2.969	1.412	0.885	0
127N2	18.791	1.362	<i>0.183</i>	3.842	2.957	<i>0.091</i>	1.292	0.668	0.787	4(3)
128N2	0.418	0.336	<i>0.162</i>	0.341	0.815	0.401	0.559	<i>0.184</i>	0.560	2
130N2	0.354	<i>0.162</i>	0.490	0.764	1.795	<i>0.247</i>	0.973	0.376	0.501	2
131N2	1.073	0.700	<i>0.182</i>	0.537	0.969	0.401	1.670	<i>0.179</i>	1.090	2
132N2	1.233	0.343	<i>0.245</i>	0.567	1.024	0.334	0.946	0.400	0.666	1
133N2	52.783	5.525	1.397	3.737	4.299	0.334	4.438	1.876	1.053	5(3)
134N2	2.813	12.782	<i>0.169</i>	0.723	0.776	<i>0.016</i>	0.390	0.513	<i>0.185</i>	4
137N2	0.442	0.394	0.415	2.161	1.618	<i>0.094</i>	0.753	0.506	0.455	1
143N2	11.096	2.213	1.073	9.660	2.610	<i>0.097</i>	2.099	1.703	1.541	3(2)
145N2	0.385	<i>0.064</i>	<i>0.110</i>	0.575	1.607	0.342	0.629	0.479	0.367	2
146N2	<i>0.093</i>	<i>0.027</i>	<i>0.079</i>	0.374	0.402	<i>0.069</i>	<i>0.257</i>	<i>0.104</i>	<i>0.194</i>	7
120T	190.283	1.501	<i>0.054</i>	<i>0.039</i>	<i>0.017</i>	<i>0.039</i>	0.655	0.358	<i>0.036</i>	6
121T	107.040	5.155	0.396	<i>0.070</i>	0.331	<i>0.209</i>	<i>0.310</i>	<i>0.181</i>	<i>0.091</i>	7
122T	220.098	10.310	2.698	<i>0.304</i>	1.243	1.368	1.866	2.766	0.613	3
123T	3.345	2.578	1.312	<i>0.004</i>	0.898	0.595	1.986	0.999	1.067	2
124T	306.980	4.488	<i>0.326</i>	<i>0.006</i>	<i>0.171</i>	0.567	2.848	<i>0.266</i>	0.867	6
125T	<i>0.042</i>	1.491	<i>0.315</i>	<i>0.034</i>	<i>0.074</i>	<i>0.019</i>	0.104	0.432	<i>0.021</i>	6
127T	14.143	2.167	<i>0.211</i>	1.731	1.314	<i>0.012</i>	0.702	0.479	<i>0.322</i>	4
128T	127.292	5.263	2.161	<i>0.263</i>	0.512	0.387	0.503	0.602	<i>0.330</i>	4
130T	234.265	8.550	<i>0.213</i>	<i>0.007</i>	<i>0.073</i>	<i>0.296</i>	0.463	<i>0.204</i>	0.588	7
131T	35.555	6.004	<i>0.208</i>	0.467	<i>0.300</i>	0.382	1.189	<i>0.101</i>	0.357	5
132T	333.606	8.374	0.526	0.903	0.657	0.487	1.558	0.513	<i>0.323</i>	3
133T	576.829	8.791	<i>0.229</i>	<i>0.054</i>	<i>0.326</i>	<i>0.012</i>	0.551	1.535	<i>0.155</i>	7
134T	1.571	18.076	<i>0.161</i>	<i>0.146</i>	<i>0.097</i>	<i>0.034</i>	<i>0.111</i>	<i>0.056</i>	<i>0.075</i>	8
137T	71.606	12.519	0.477	<i>0.003</i>	0.771	1.975	2.114	<i>0.325</i>	0.690	4
143T	3.736	0.672	2.932	4.830	1.053	<i>0.010</i>	0.540	0.726	<i>0.197</i>	4
145T	326.740	2.840	<i>0.216</i>	<i>0.219</i>	<i>0.149</i>	0.522	0.959	<i>0.141</i>	<i>0.320</i>	6
146T	29.081	1.554	<i>0.088</i>	<i>0.003</i>	<i>0.186</i>	0.387	<i>0.277</i>	<i>0.088</i>	<i>0.176</i>	7

3倍量上调用粗体表示, 3倍量下调用斜体表示。

表 3 9个基因在各组中的相对表达 (mean ± SD)

组织类型	n	GPC3	E2F1	MMP2	CLDN10	HGF	PTEN	DLC1	PRDM2	MGMT
正常	5	1.12 ± 0.45 ^a	1.10 ± 0.52 ^a	1.06 ± 0.38	1.07 ± 0.41	1.04 ± 0.32 ^c	1.08 ± 0.45 ^{ae}	1.15 ± 0.66	1.13 ± 0.61	1.14 ± 0.52 ^{ae}
肝炎	4	1.33 ± 0.84	1.47 ± 0.85 ^a	1.08 ± 1.19	1.81 ± 0.63	2.38 ± 1.22 ^a	0.71 ± 0.45	1.38 ± 0.67	1.06 ± 0.23	0.94 ± 0.34 ^a
肝硬化	12	2.87 ± 2.46 ^a	1.99 ± 2.40 ^a	0.56 ± 0.46	2.02 ± 1.48 ^a	3.11 ± 1.83 ^a	0.70 ± 0.63	1.59 ± 0.97	0.83 ± 0.49	1.00 ± 0.62 ^{ae}
癌旁 (2 cm)	12	5.33 ± 12.99 ^a	1.67 ± 3.18 ^a	0.50 ± 0.40	1.53 ± 1.55 ^a	1.82 ± 1.08 ^{ac}	0.34 ± 0.25	1.49 ± 1.06	0.69 ± 0.50	0.63 ± 0.32
癌	17	151.84 ± 163.51	5.90 ± 4.71	0.74 ± 0.94	0.54 ± 1.19	0.48 ± 1.43 ^c	0.43 ± 0.52	0.98 ± 0.81	0.57 ± 0.68	0.37 ± 0.30
P值		0.000	0.003	0.359	0.045	0.000	0.024	0.407	0.244	0.000

^aP<0.05 vs 癌组织; ^bP<0.05 vs 肝硬化组织; ^cP<0.05 vs 癌旁组.

其在3例HCC标本中明显上调; CLDN10、HGF在LC上调,但在HCC明显下调; PTEN、DLC1、PRDM2、MGMT在正常、LC、HCC组 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 值递减,虽然MMP2、DLC1、PRDM2方差分析结果差异不显著,但通过散点图可以看出个体标本的差异.

对每个标本,他的分子诊断指数根据各基因相对表达量大于或小于3倍正常组表达量的基因个数确定,即标本中每有一个基因表达量与正常组相差3倍则分子诊断指数增加1,因此分子诊断指数从0到9.由于CLDN10、HGF在HCC组下调,而在LC、癌旁组上调,因此若以HCC表达量的改变为准,则这两个基因在LC、癌旁组将不计入分子诊断指数,其分子诊断指数如表2括号中所示.如表2所示,正常组和肝炎组分子诊断指数接近于0;LC组中除LC255外分子诊断指数介于0-2之间,平均值为1.58;肝癌组中除123T外都大于等于3,分子诊断指数平均值为5.24,与LC组等差异显著.此结果表明应用分子诊断指数明显优于单个基因的诊断,提高了HCC与LC等组织间的鉴别能力.

通过成对比较HCC患者癌组织与癌旁2 cm组织的分子诊断指数,表明癌旁组织的分子诊断指数明显低于前者,17例HCC标本中13例癌旁组织的分子诊断指数小于3,而127N2、133N2为3,134N2为4,146N2为7,提示这4例标本可能混有少量癌细胞,或者这部分细胞已存在基因异常,但形态学上未发生明显改变.进一步比较146T与其N2各个基因的相对表达量,发现尽管分子诊断指数均为7,多数基因的异常表达也一致,但GPC3的表达二者差异显著(300倍),因此,不能

简单将146N2看成癌组织,尚需更深入的分析.

2.3 9个基因从癌旁组织到癌组织中的表达趋势分析 标本来源于9例患者的T、N0、N2组织,依据每个基因在每例患者标本的N2、N0、T相对表达量做柱状图(图2). GPC3在9例患者中7例呈明显递增趋势,且T组中表达量明显高于N组; E2F1在7例中呈递增趋势,2例差异不明显; MMP2在3例呈递增趋势,1例呈递减趋势; CLDN10在6例中呈递减趋势; HGF在7例中呈递减趋势; PTEN在4例中呈递减趋势,1例呈递增趋势; DLC1在5例中呈递减趋势,2例中呈递增趋势; PRDM2在7例中呈递减趋势; MGMT在6例中呈递减趋势,这说明癌组织和癌旁组织基因表达量存在差异,而且从癌旁到癌呈现趋势改变.

3 讨论

病理学诊断对肝病诊断具有重要意义,但对病理学家来说,肝癌的病理学诊断也具有一定的挑战性,特别对于肝硬化伴结节改变、微小且分化较好的肝癌和交界性病变等^[3].随着分子生物学的迅猛发展,肿瘤基因诊断成为当今研究的重点,基因诊断结合病理学诊断等方法将实现肝癌的早期诊断、鉴别诊断.本研究从以往文献和实验基础上选择肝癌中表达水平较正常组织差异大、特异性好的基因进行分子诊断指数的初步研究.

在以往研究中,多数是对单个分子指标进行实时荧光定量RT-PCR或免疫组化分析;即使是同时检测多个指标也是单个进行分析,而没有将这些分子指标进行整合分析.但单个基因容易造成漏诊、误诊,依研究较多的GPC3为例,如

■应用要点

多基因分子诊断指数的运用有望成为鉴别诊断早期肝癌的一种有效方法.

同行评价

本研究利用9个基因进行肝癌分子诊断指数的研究充分表明了肝癌发生的复杂性,也提示临床医师要想准确无误地诊断早期肝癌或癌前病变,必须有效整合多项指标进行综合分析。

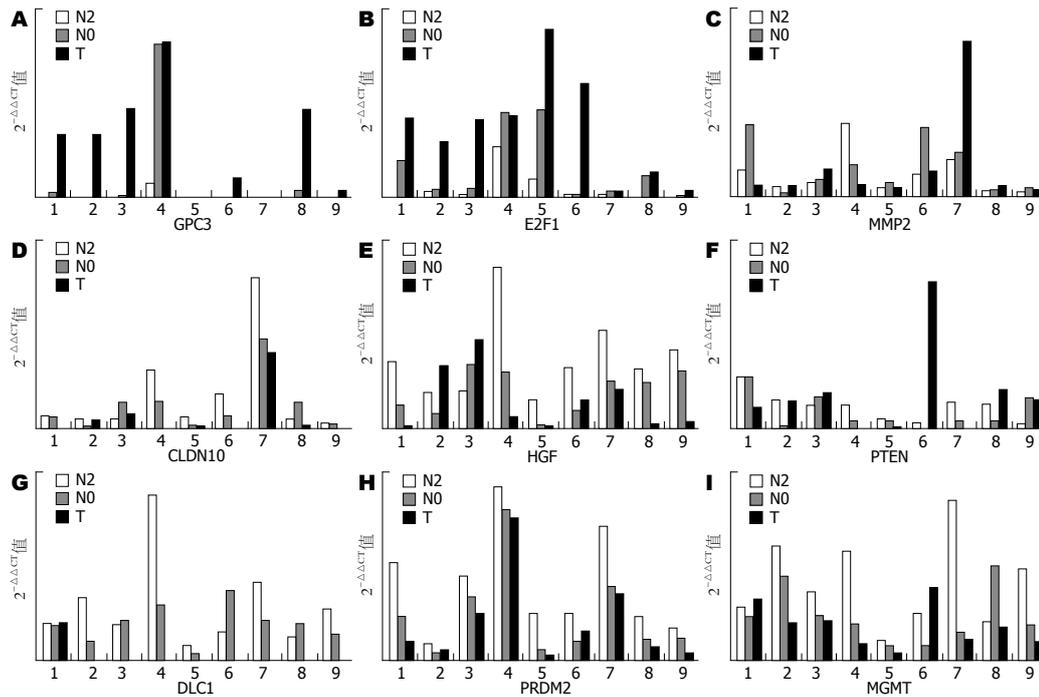


图 2 9个基因在癌旁2 cm处(N2)、癌与癌旁交界处(N0)、癌组织(T)的相对表达量。

本研究所示, GPC3在17例肝癌标本中有15例表达量上调,造成了2例标本漏诊;而12例肝硬化标本有6例标本上调,将会造成肝癌的误诊,由此可见单个基因检测的局限性。应用多个基因进行分子诊断指数研究可提高检测的准确性,在本研究中,正常组、肝炎组诊断指数接近于0,肝硬化组平均值为1.58,明显低于肝癌组的5.24。此结果与Jia *et al*^[2]和Paradis *et al*^[3]相一致, Jia *et al*^[2]使用GPC3等5个基因对218例HCC标本进行检测,结果表明5个基因组合评分能检测出100%的非癌组织,71%的癌组织,说明相对于单个基因检测,5个基因组合诊断能改善预测的精确性,包括对AFP血清水平正常的标本以及微小肿瘤的诊断。Paradis *et al*^[3]对筛选的13个基因做分子诊断指数研究,结果显示25例正常肝和22例肝硬化标本分子诊断指数在1到4内, HCC标本中除2例标本分子诊断指数为2和3外,其余的34例标本分子诊断指数均大于5。以上结果表明分子诊断指数所具有的可行性和优越性。

根据文献选择癌基因GPC3^[5]、E2F1^[6]、MMP2^[7]、HGF、CLDN10和抑癌基因PTEN^[8]、DLC1^[9]、PRDM2^[10]、MGMT^[11]作为分子诊断指数的候选基因,本次实时荧光定量PCR结果表明,癌基因GPC3、E2F1、MMP2和抑癌基因PTEN、DLC1、PRDM2、MGMT的表达与文献相符。但HGF、CLDN10却有独特的表达方式,即在癌组织中下调,而在部分肝硬化及癌旁

组织中上调,均区别于正常肝组织,因此,考虑HGF、CLDN10不但可以作为诊断HCC的指标,也可作为肝硬化的诊断指标,由于本研究例数较少,尚需大样本的数据支持。

关于HGF的报道多数为肝切后血清水平升高。吴福生 *et al*^[12]使用ELISA测定肝癌患者术前术后HGF血清水平,结果显示术后HGF血清水平出现高峰,术后复发转移患者血清水平高于未发生转移者。Efimova *et al*^[13]采集肝切术后患者血清中HGF进行细胞培养,结果显示其促进肝细胞DNA合成,但抑制肝癌细胞系(Hep3B、HepG2)生长。Burr *et al*^[14]在研究二乙基亚硝胺(DEN)诱发小鼠肝癌模型时发现,在10 wk炎症反应时,血清HGF水平升高,但肝组织没有升高;16 wk肝细胞异型增生,血清和组织HGF水平均明显升高;至19 wk小鼠致肝癌时,小鼠血清和组织水平依然升高,但发育不良的肝细胞和肿瘤细胞呈HGF阴性。整合上述文献提示我们,在HCC发生时,确有血清HGF表达升高,但不一定是肝癌细胞高表达,而可能由于部分肝细胞坏死,癌组织周围间质细胞及新生肝细胞的大量增生(包括肝硬化组织)导致HGF分泌增加,这一推论也符合我们观察到的结果,即HGF在肝硬化和癌旁组织有表达量的升高,肝癌中表达量下降。

近年通过肝癌基因组学、蛋白质组学和代谢组学的研究,众多学者筛选了大量与肝癌早期发生、演化密切相关的分子标记,充分表明

了肝癌的异质性和复杂性, 也提示人们要想准确无误地诊断早期肝癌或癌前病变, 单一指标根本行不通, 而是有效整合的多指标进行综合分析. 本研究利用9个基因进行HCC分子诊断指数的研究也是从这一角度进行的尝试, 初步结果表明: 由多基因组成的分子诊断指数比单一基因有更高准确性和鉴别诊断能力; 下一步的工作是筛选更多、更有效的基因, 同时扩大检测样本数, 建立可用于临床早期诊断和预后评估的分子诊断指数.

4 参考文献

- 1 徐海峰, 杨华瑜, 张宏冰, 毛一雷. 改变肝癌早期诊断和治疗现状的新肝癌血清标志物. *基础医学与临床* 2008; 28: 104-108
- 2 Jia HL, Ye QH, Qin LX, Budhu A, Forgues M, Chen Y, Liu YK, Sun HC, Wang L, Lu HZ, Shen F, Tang ZY, Wang XW. Gene expression profiling reveals potential biomarkers of human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2007; 13: 1133-1139
- 3 Paradis V, Bièche I, Dargère D, Laurendeau I, Laurent C, Bioulac Sage P, Degott C, Belghiti J, Vidaud M, Bedossa P. Molecular profiling of hepatocellular carcinomas (HCC) using a large-scale real-time RT-PCR approach: determination of a molecular diagnostic index. *Am J Pathol* 2003; 163: 733-741
- 4 Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2(-Delta Delta C(T)) Method. *Methods* 2001; 25: 402-408
- 5 Wang XY, Degos F, Dubois S, Tessitore S, Allegretta M, Guttman RD, Jothy S, Belghiti J, Bedossa P, Paradis V. Glypican-3 expression in hepatocellular tumors: diagnostic value for preneoplastic lesions and hepatocellular carcinomas. *Hum Pathol* 2006; 37: 1435-1441
- 6 Arakawa Y, Kajino K, Kano S, Tobita H, Hayashi J, Yasen M, Moriyama M, Arakawa Y, Hino O. Transcription of dbpA, a Y box binding protein, is positively regulated by E2F1: implications in hepatocarcinogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2004; 322: 297-302
- 7 Matsunaga Y, Koda M, Murawaki Y. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in hepatocellular carcinoma tissue, compared with the surrounding non-tumor tissue. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 2004; 115-116: 143-150
- 8 Meng F, Henson R, Wehbe-Janek H, Ghoshal K, Jacob ST, Patel T. MicroRNA-21 regulates expression of the PTEN tumor suppressor gene in human hepatocellular cancer. *Gastroenterology* 2007; 133: 647-658
- 9 Kim TY, Lee JW, Kim HP, Jong HS, Kim TY, Jung M, Bang YJ. DLC-1, a GTPase-activating protein for Rho, is associated with cell proliferation, morphology, and migration in human hepatocellular carcinoma. *Biochem Biophys Res Commun* 2007; 355: 72-77
- 10 Chen LB, Xu JY, Yang Z, Wang GB. Silencing SMYD3 in hepatoma demethylates RIZ1 promoter induces apoptosis and inhibits cell proliferation and migration. *World J Gastroenterol* 2007; 13: 5718-5724
- 11 Nomoto S, Kinoshita T, Kato K, Otani S, Kasuya H, Takeda S, Kanazumi N, Sugimoto H, Nakao A. Hypermethylation of multiple genes as clonal markers in multicentric hepatocellular carcinoma. *Br J Cancer* 2007; 97: 1260-1265
- 12 吴福生, 郑树森, 吴灵娇, 丁伟, 马志敏, 王照明, 滕理送, 赵文和. 肝细胞生长因子及其受体c-met在肝细胞癌中的表达与预后价值. *中华外科杂志* 2006; 44: 603-608
- 13 Efimova EA, Glanemann M, Liu L, Schumacher G, Settmacher U, Jonas S, Langrehr JM, Neuhaus P, Nüssler AK. Effects of human hepatocyte growth factor on the proliferation of human hepatocytes and hepatocellular carcinoma cell lines. *Eur Surg Res* 2004; 36: 300-307
- 14 Burr AW, Hillan KJ, McLaughlin KE, Ferrier R, Chapman C, Mathew J, Burt AD. Hepatocyte growth factor levels in liver and serum increase during chemical hepatocarcinogenesis. *Hepatology* 1996; 24: 1282-1287

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志栏目设置

本刊讯 本刊栏目设置包括述评, 基础研究, 临床研究, 焦点论坛, 文献综述, 研究快报, 临床经验, 病例报告, 会议纪要. 文稿应具科学性、先进性、可读性及实用性, 重点突出, 文字简练, 数据可靠, 写作规范, 表达准确. (常务副总编辑: 张海宁 2009-04-08)

原发性肝癌分子靶向治疗研究进展

刘宝瑞, 王婷婷, 钱晓萍

刘宝瑞, 王婷婷, 钱晓萍, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心暨南京大学临床肿瘤研究所 江苏省南京市 210008
通讯作者: 刘宝瑞, 教授, 210008, 江苏省南京市, 南京大学医学院附属鼓楼医院肿瘤中心暨南京大学临床肿瘤研究所.
baoruiliu@nju.edu.cn
电话: 025-83105082 传真: 025-83107081
收稿日期: 2009-01-06 修回日期: 2009-02-18
接受日期: 2009-03-16 在线出版日期: 2009-04-08

Advance in molecular targeted therapy for primary hepatocellular carcinoma

Bao-Rui Liu, Ting-Ting Wang, Xiao-Ping Qian

Bao-Rui Liu, Ting-Ting Wang, Xiao-Ping Qian, Oncology Center, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Clinical Oncology Institute of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Professor Bao-Rui Liu, Oncology Center, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Clinical Oncology Institute of Nanjing University, Nanjing 210008, Jiangsu Province, China. baoruiliu@nju.edu.cn

Received: 2009-01-06 Revised: 2009-02-18

Accepted: 2009-03-16 Published online: 2009-04-08

Abstract

New approaches targeting molecular abnormalities specific to primary hepatocellular carcinoma (PHC) has offered a new method to improve patient outcome. The increasing knowledge in the molecular pathogenesis of PHC as well as the introduction of molecular targeted therapies in oncology has created an encouraging trend in the management of this malignancy. Early studies of targeted therapies for hepatocellular carcinoma, including targeting the EGFR pathway and inhibiting angiogenesis and multikinase inhibitors, have shown effective and great perspective. This review summarizes the basic knowledge of those key aspects of the molecular pathogenesis. Relevant preclinical and clinical information on novel compounds for PHC are also reviewed.

Key Words: Primary hepatocellular carcinoma; Molecular targeted therapy; Multikinase inhibitor

Liu BR, Wang TT, Qian XP. Advance in molecular

targeted therapy for primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 993-997

摘要

分子靶向治疗为肝癌的治疗提供了新的手段, 它能够特异性的作用于肿瘤发生发展中起关键作用的靶分子及其调控的信号传导通路, 从而达到治疗肿瘤的目的. 在肝癌分子靶向治疗的临床试验中, 靶向表皮生长因子受体、血管内皮细胞生长因子和多靶点抑制剂的药物治疗已经显示出了潜在的疗效和良好的发展前景. 本文针对原发性肝癌的分子靶向治疗理论基础及临床研究进展进行综述.

关键词: 原发性肝癌; 分子靶向治疗; 多靶点抑制剂

刘宝瑞, 王婷婷, 钱晓萍. 原发性肝癌分子靶向治疗研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(10): 993-997

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/993.asp>

0 引言

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是恶性程度较高的消化系统肿瘤之一. 随着慢性肝炎、肝硬化、肥胖发生率的升高, 肝癌的发病率也不断上升^[1]. 由于肝癌起病隐匿, 缺乏有效的早期诊断方法, 确诊时往往已到晚期或发生转移. 尽管近年来针对肝癌的局部治疗得到了较快的发展和广泛的应用, 但总体上还未取得令人满意的临床疗效, 探索更为有效的治疗方法是一个亟待解决的世界性问题.

随着分子生物学、基因组学及蛋白质组学的进展, 分子靶向治疗作为现代分子医学的一部分, 受到了整个医学界乃至全世界的广泛关注和高度重视. 分子靶向治疗是以肿瘤细胞过度表达的某些标志性分子为靶点, 选择针对性的阻断剂, 有效地干预受该标志性分子调控和密切相关的信号传导通路, 从而达到抑制肿瘤生长、进展及转移的效果^[2]. 相对于手术、放疗、化疗三大传统治疗手段, 分子靶向治疗具有较好的分子选择性, 能高效并选择性地杀伤肿瘤细胞, 减少对正常组织的损伤. 分子靶向药

■背景资料

随着分子生物学、基因组学及蛋白质组学的进展, 分子靶向治疗作为现代分子医学的一部分, 受到了整个医学界乃至全世界的广泛关注和高度重视. 分子靶向治疗是以肿瘤细胞过度表达的某些标志性分子为靶点, 选择针对性的阻断剂, 有效地干预受该标志性分子调控和密切相关的信号传导通路, 从而达到抑制肿瘤生长、进展及转移的效果.

■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; 肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

如何在治疗前检测相关靶点的表达或突变,如何个体化选择药物来提高疗效,而不是盲目的、泛泛的选择分子靶向药物的问题,尚未有明确定论,仍需进一步研究。

物的选择性高,不易发生耐药,同时安全性优于细胞毒性化疗药物,是目前肿瘤治疗领域发展的新方向。随着肝癌分子病理学的研究深入,分子靶向治疗已经开始成为PHC治疗的新手段。本文就PHC分子靶向治疗的理论基础、相关药物及其临床研究现状作一综述,以期加深对肝癌分子靶向治疗的认识。

1 PHC分子靶向治疗的分子基础

1.1 信号传导途径异常导致细胞异常增生及存活

1.1.1 异常的生长因子激活:表皮生长因子EGFR属ErbB家族的酪氨酸激酶受体,与肿瘤增殖、血管生成、肿瘤转移和抗凋亡密切相关。EGFR在包括非小细胞肺癌在内的多种上皮来源性的肿瘤中过表达,可作为抗肿瘤治疗的靶位。研究表明EGFR在肝癌中也存在过表达,且与肿瘤的侵袭性生长特点关系密切^[3]。尤其在低分化的肝细胞癌中,EGFR与肿瘤早期复发有关,是预后不良因素之一。在PHC中,肝细胞生长因子(hepatocyte growth factor, HGF)、转化生长因子 α 、 β (transforming growth factor α 、 β , TGF- α 、 β)及胰岛素样生长因子(insulin-like growth factor, IGF)等^[4-5]均可激活EGFR,从而促进了肝癌的生长。

1.1.2 细胞分裂信号途径持续活化(如RAF/MAPK/ERK信号传导通路):几乎所有的真核细胞都存在Raf/MAPK/ERK传导通路,其主要功能是通过Ras、Raf、MEK及ERK特异性级联磷酸化将信号由细胞外传入细胞核。作为Raf激酶的下流底物,激活的MEK可使ERK磷酸化,ERK通过作用于多种底物来调节细胞功能。如果该通路被过度激活,就会加速细胞增殖和延长细胞生存期,从而导致肿瘤的形成和发展。实验研究表明,Raf/MAPK-ERK激酶(MEK)和细胞外信号调节激酶(ERK)通路在肝癌中持续激活是一种常见现象^[6],且RAF/MAPK/ERK路径的活化率要高于ras或raf基因单独变异的情况。此外,肝癌细胞系内过度表达的活化MEK1可通过阻止细胞凋亡而促进肿瘤的生长和存活^[7]。HCV核心蛋白也可使肝细胞内Raf-1的基础活性增高,从而增加细胞恶性转化的危险。

1.2 新生血管异常增生 肝癌是一种富血管性肿瘤,大多数肝癌均有血管异常增生的现象。在肝癌细胞及其周边的间质中经常发现多种促血管生成的因子过度表达,血管内皮生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)、碱

性纤维母细胞生长因子(basic fibroblast growth factor, bFGF)、血小板相关生长因子(platelet-associated growth factor, PDGF)、血管生成蛋白和间质金属蛋白酶等^[8]。VEGF及其受体是诱导血管生长的强效因子,其结合后能强有力的诱导内皮细胞增生和管状形成,是血管生成过程中重要的一环^[9]。新生血管的异常增生可促进肝癌的发展和转移。因此VEGF及其受体可能是PHC的有效治疗靶向分子。

2 PHC分子靶向治疗的药物

针对上述肝癌分子生物学特性而研发的分子靶向药物包括表皮生长因子受体抑制剂、血管内皮生长因子受体抑制剂、多靶点激酶抑制剂等。从药物的成分分析,上述药物主要分为mAb和小分子化合物两类。mAb是通过识别受体的胞外可辨区,竞争性地与配体结合,抑制信号传导通路的激活,从而抑制肿瘤的增殖。小分子化合物则能进入胞内,干扰ATP结合,抑制酪氨酸酶的活性,阻断异常酪氨酸激酶的信号传导。常见的药物及分类见表1。其中多靶点药物-索拉非尼是治疗进展期肝癌的最新选择^[10]。索拉非尼是一种选择性的抑制肿瘤细胞增殖和组织中肿瘤血管生成的多靶点抗肿瘤新药。索拉非尼不但可以阻断Raf/MEK/ERK通路介导的信号传导,还可以抑制多种受体酪氨酸激酶,包括与促新生血管有关的VEGFR-2、VEGFR-3与PDGFR- β 以及及与肿瘤生长相关的c-kit与Flt-3等^[11]。索拉非尼可阻断肝癌细胞内的新生血管生成并诱导细胞凋亡。

3 PHC分子靶向治疗的临床研究现状

3.1 埃罗替尼 Philip *et al*^[12]进行了一项埃罗替尼对晚期肝癌的II期临床试验。入组38例无法手术切除或转移性晚期肝癌的患者,允许曾接受全身或者局部治疗1次的患者,中位年龄为69岁,其中63%患者ECOG体力状况为1分,57%曾接受过化疗,88%检测出EGFR/HER1的表达,结果显示3例(9%)获得PR,分别持续了2 mo、10 mo和11 mo,59%的患者得到了疾病控制,12例(32%)无进展生存时间为6 mo,中位生存时间为13 mo。26%因毒性减少剂量,III-IV级毒性为皮肤毒性(5例)和腹泻(3例);Thomas *et al*^[13]在另一项II期临床试验中,对40例无法手术的晚期肝细胞癌患者给予口服埃罗替尼,发现17例患者在持续治疗16 wk中肿瘤无进展,也证实了埃罗替尼对

表 1 肝癌分子靶向治疗的药物分类及相关临床试验

药物种类	药物类型及靶点	药物名称	临床试验
以EGFR为靶点	EGFR酪氨酸激酶抑制剂	吉非替尼(Gefitinib)	
		埃罗替尼(Erlotinib)	II 期结束
以抗血管生成成为靶点	EGFR单克隆抗体 VEGF单克隆抗体 内皮细胞增生抑制剂	西妥昔单抗(Cetuximab)	II 期进行中
		贝伐单抗(Bevacizumab)	II 期结束
		沙利度胺(Thalidomide)	II 期结束
多靶点抑制剂	多激酶抑制剂	索拉非尼(Sorafenib)	III 期阳性结果
		舒尼替尼(Sunitinib)	II 期结束
其他	叶酸类似物 Tubulin抑制剂 蛋白酶抑制剂	洛拉曲克(Nolatrexed)	III 期阴性结果
		T138067	III 期阴性结果
		硼替佐米(Bortezomib)	II 期结束

■ 相关报道

最近的JCO中公布了索拉非尼和贝伐单抗联合应用治疗晚期卵巢癌和肾癌的研究结果,发现两种分子靶向药物联合后疗效增加,单药剂量可降低,相关研究也将在晚期肝癌中进行。

肝癌的有效性。

3.2 吉非替尼 体内外试验结果^[14]均证实吉非替尼可以抑制肝癌细胞系HepG2及小鼠H22肝癌移植瘤的生长,但Press *et al*^[15]报道的吉非替尼治疗晚期肝癌的II期临床试验结果却不令人满意。入组的不能手术的肝癌患者31名,在中位随访了13.2 mo后,中位无进展生存期是2.8 mo,中位生存期是6.5 mo,完全缓解、部分缓解和稳定的患者例数分别是0、1和7。由于没有达到预期目标,该研究已经停止。吉非替尼在肝癌中的应用仍需推敲。

3.3 西妥昔单抗 西妥昔单抗在治疗进展期原发性肝癌患者的II期临床研究中^[16],30例患者无CR、PR,仅5例SD,中位无进展生存期仅为41天,全部患者的中位生存时间是9.6 mo。研究者初步认为西妥昔单抗治疗原发性肝癌效果不佳。然而西妥昔单抗在治疗大肠癌成功的经验是与化疗药物联合使用,因此西妥昔单抗联合化疗药物治疗晚期肝癌将是未来的研究方向。

3.4 贝伐单抗 Schwartz *et al*^[17]使用贝伐单抗单药治疗不能手术的晚期原发性肝癌I期临床研究结果,13例中2例PR,9例稳定维持时间超过4 mo,中位进展时间是6.4 mo。在最新的贝伐单抗治疗晚期肝癌的II期临床试验中^[18],46例患者中6例(13%)缓解,6 mo时的PFS为65%,中位无进展生存期为6.9 mo,1、2、3年的总生存期分别为53%、28%和23%。贝伐单抗联合化疗也是目前研究的热点。Zhu *et al*^[19]一项II期临床试验,对肝细胞癌患者给予健择+草酸铂(GEMOX-B方案)联合贝伐单抗治疗。结果显示,30例患者的缓解率为20%,27%患者SD,总有效率达50%。所有入组患者中位生存期为9.6 mo,中位无进展生存期为5.3 mo,在3 mo和6 mo的无进展生存期分别

为70%和48%。

3.5 沙利度胺 Hsu *et al*^[20]进行了沙利度胺治疗68例肝癌的临床研究,在63个可评价患者中,1例CR,3例PR,反应率为6.3%。10个患者AFP水平明显下降。Wang *et al*^[21]进行的99例晚期肝癌的研究中,6例有效。其他的几个II期临床试验均显示了有限的疗效。

3.6 索拉非尼 在索拉非尼的I期临床试验中^[22],观察到了1例晚期肝癌患者经治疗后部分缓解。试验还证实索拉非尼在种族间无显著药代动力学差异;Child-PughA级和B级间无显著药代动力学差异;200 mg bid和400 mg bid在肝癌患者体内耐受性均良好。

Abou-Alfa *et al*^[23]在一项II期临床试验中,采用索拉非尼(400 mg bid)单药治疗137例无法行手术切除的晚期肝癌患者,结果显示3例(2.2%)和8例(5.8%)患者经治疗后病情分别获部分和少部分缓解;46例(33.6%)患者疾病稳定超过16 wk。中位疾病无进展时间与总生存期分别为4.2 mo和9.2 mo。严重不良反应包括疲乏、腹泻和手足综合征。该试验还发现肿瘤细胞磷酸化细胞外信号调节激酶(pERK)水平高者对索拉非尼治疗反应好,提示pERK可能是索拉非尼治疗有效的一种标志物。

II期临床试验的结果,使人们对国际III期临床试验充满了信心。在美国2007年ASCO年会上Llovet *et al*^[24]报告了多靶点激酶抑制剂索拉非尼单药治疗晚期肝癌的多中心随机对照临床研究(SHARP计划)的结果。该组研究计划纳入约560名晚期肝癌患者,ECOG PS评分均为0-2,Child-Pugh肝功能分级为A级。研究显示,索拉非尼组和对照组的中位生存期分别为10.7 mo和7.9 mo,无症状进展时间无显著差异。索拉非尼单药可

■应用要点

分子靶向治疗为肝癌的治疗提供了新的手段,他能够特异性的作用于肿瘤发生发展中起关键作用的靶分子及其调控的信号传导通路,从而达到治疗肿瘤的目的。

使晚期肝癌患者TTP从12.3 wk延长到24 wk, 总生存期由34.4 wk延长到46.3 wk. 安全性分析结果显示, 索拉非尼组与安慰剂组严重不良事件发生率相似, 分别为52%和54%. 这是全球迄今为止第1个延长晚期肝癌患者生存期的全身方案, 且不良反应小. 因此, 2007-10-30欧洲药品评价局(EMA)批准索拉非尼用于治疗肝细胞癌, 2007-11-19, 美国FDA批准索拉非尼用于治疗不能切除的HCC.

3.7 舒尼替尼 在舒尼替尼单药治疗无法手术切除或局部治疗的晚期肝癌患者的II期临床试验中^[25], 37例患者中1例达到部分缓解, 13例病情稳定超过3 mo, 治疗有效率(包括缓解和病情稳定超过3 mo)为37.8%.

3.8 分子靶向药物之间的联合使用 除了分子靶向药物和化疗药物联合使用的研究外, 分子靶向药物之间的联合使用也是目前的研究热点. Thomas *et al*^[26]开展了贝伐单抗和埃罗替尼联合治疗晚期肝癌的II期临床研究, 使用贝伐单抗10 mg/kg q14 d应用联合埃罗替尼150 mg qd口服, 直至病情进展或出现不可耐受的不良反应. 入组了29例晚期肝癌, 在27例可评价的患者中, 1例为CR, 5例为PR, RR为22%, 9例患者SD超过16 wk. 最近的JCO中公布了索拉非尼和贝伐单抗联合应用治疗晚期卵巢癌和肾癌的研究结果^[27], 发现两种分子靶向药物联合后疗效增加, 单药剂量可降低, 相关研究也将在晚期肝癌中进行.

4 结论

肝癌患者确诊时往往已到晚期, 丧失手术机会, 且肝癌患者大多有肝硬化的疾病基础, 其肝功能和体力状况较差, 化疗和放疗收益很少. 随着对肝癌发病机制的阐明和新的分子靶向药物的研发, 给晚期肝癌患者提供了新的靶向治疗的机会. 分子靶向药物针对性强, 不良反应小, 在晚期肝癌的应用前景很大, 这类药物可能是未来治疗肝癌最有潜力和希望的方法之一. 面对方兴未艾的分子靶向治疗, 我们也必须客观的认识到, 除了索拉非尼以外, 其他所有的分子靶向药物仍处在临床试验阶段; 此外, 如何在治疗前检测相关靶点的表达或突变, 如何个体化选择药物来提高疗效, 而不是盲目的、泛泛的选择分子靶向药物的问题, 尚未有明确定论, 仍需进一步研究.

5 参考文献

1 Llovet JM, Bruix J. Novel advancements in the management of hepatocellular carcinoma in 2008. *J*

- Hepatol* 2008; 48 Suppl 1: S20-S37
- 2 Hamilton SR. Targeted therapy of cancer: new roles for pathologists in colorectal cancer. *Mod Pathol* 2008; 21 Suppl 2: S23-S30
- 3 Daveau M, Scotte M, François A, Coulouarn C, Ros G, Tallet Y, Hiron M, Hellot MF, Salier JP. Hepatocyte growth factor, transforming growth factor alpha, and their receptors as combined markers of prognosis in hepatocellular carcinoma. *Mol Carcinog* 2003; 36: 130-141
- 4 Scharf JG, Brulke T. The role of the IGF axis in hepatocarcinogenesis. *Horm Metab Res* 2003; 35: 685-693
- 5 Breuhahn K, Schirmacher P. Reactivation of the insulin-like growth factor-II signaling pathway in human hepatocellular carcinoma. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1690-1698
- 6 Tommasi S, Pinto R, Pilato B, Paradiso A. Molecular pathways and related target therapies in liver carcinoma. *Curr Pharm Des* 2007; 13: 3279-3287
- 7 Gollob JA, Wilhelm S, Carter C, Kelley SL. Role of Raf kinase in cancer: therapeutic potential of targeting the Raf/MEK/ERK signal transduction pathway. *Semin Oncol* 2006; 33: 392-406
- 8 Yang ZF, Poon RT. Vascular changes in hepatocellular carcinoma. *Anat Rec (Hoboken)* 2008; 291: 721-734
- 9 Tseng PL, Tai MH, Huang CC, Wang CC, Lin JW, Hung CH, Chen CH, Wang JH, Lu SN, Lee CM, Changchien CS, Hu TH. Overexpression of VEGF is associated with positive p53 immunostaining in hepatocellular carcinoma (HCC) and adverse outcome of HCC patients. *J Surg Oncol* 2008; 98: 349-357
- 10 Ng R, Chen EX. Sorafenib (BAY 43-9006): review of clinical development. *Curr Clin Pharmacol* 2006; 1: 223-228
- 11 Méndez-Sánchez N, Vásquez-Fernández F, Zamora-Valdés D, Uribe M. Sorafenib, a systemic therapy for hepatocellular carcinoma. *Ann Hepatol* 2008; 7: 46-51
- 12 Philip PA, Mahoney MR, Allmer C, Thomas J, Pitot HC, Kim G, Donehower RC, Fitch T, Picus J, Erlichman C. Phase II study of Erlotinib (OSI-774) in patients with advanced hepatocellular cancer. *J Clin Oncol* 2005; 23: 6657-6663
- 13 Thomas MB, Chadha R, Glover K, Wang X, Morris J, Brown T, Rashid A, Dancy J, Abbruzzese JL. Phase 2 study of erlotinib in patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2007; 110: 1059-1067
- 14 Höpfner M, Sutter AP, Huether A, Schuppan D, Zeitz M, Scherübl H. Targeting the epidermal growth factor receptor by gefitinib for treatment of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2004; 41: 1008-1016
- 15 Press OW, Unger JM, Brazier RM, Maloney DG, Miller TP, Leblanc M, Fisher RI. Phase II trial of CHOP chemotherapy followed by tositumomab/iodine I-131 tositumomab for previously untreated follicular non-Hodgkin's lymphoma: five-year follow-up of Southwest Oncology Group Protocol S9911. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4143-4149
- 16 Zhu AX, Stuart K, Blaszkowsky LS, Muzikansky A, Reitberg DP, Clark JW, Enzinger PC, Bhargava P, Meyerhardt JA, Horgan K, Fuchs CS, Ryan DP. Phase 2 study of cetuximab in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2007;

- 110: 581-589
- 17 Schwartz JD, Schwartz M, Lehrer D. Bevacizumab in hepatocellular carcinoma (HCC) in patients without metastasis and without invasion of the portal vein. *J Clin Oncol* 2005; 23: 4122
- 18 Siegel AB, Cohen EI, Ocean A, Lehrer D, Goldenberg A, Knox JJ, Chen H, Clark-Garvey S, Weinberg A, Mandeli J, Christos P, Mazumdar M, Popa E, Brown RS Jr, Rafii S, Schwartz JD. Phase II trial evaluating the clinical and biologic effects of bevacizumab in unresectable hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2008; 26: 2992-2998
- 19 Zhu AX, Blaszkowsky LS, Ryan DP, Clark JW, Muzikansky A, Horgan K, Sheehan S, Hale KE, Enzinger PC, Bhargava P, Stuart K. Phase II study of gemcitabine and oxaliplatin in combination with bevacizumab in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 1898-1903
- 20 Hsu C, Chen CN, Chen LT, Wu CY, Yang PM, Lai MY, Lee PH, Cheng AL. Low-dose thalidomide treatment for advanced hepatocellular carcinoma. *Oncology* 2003; 65: 242-249
- 21 Wang TE, Kao CR, Lin SC, Chang WH, Chu CH, Lin J, Hsieh RK. Salvage therapy for hepatocellular carcinoma with thalidomide. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 649-653
- 22 Strumberg D, Richly H, Hilger RA, Schleucher N, Korfee S, Tewes M, Faghni M, Brendel E, Voliotis D, Haase CG, Schwartz B, Awada A, Voigtman R, Scheulen ME, Seeber S. Phase I clinical and pharmacokinetic study of the Novel Raf kinase and vascular endothelial growth factor receptor inhibitor BAY 43-9006 in patients with advanced refractory solid tumors. *J Clin Oncol* 2005; 23: 965-972
- 23 Abou-Alfa GK, Schwartz L, Ricci S, Amadori D, Santoro A, Figer A, De Greve J, Douillard JY, Lathia C, Schwartz B, Taylor I, Moscovici M, Saltz LB. Phase II study of sorafenib in patients with advanced hepatocellular carcinoma. *J Clin Oncol* 2006; 24: 4293-4300
- 24 Llovet JM, Ricci S, Mazzaferro V, Hilgard P, Gane E, Blanc JF, de Oliveira AC, Santoro A, Raoul JL, Forner A, Schwartz M, Porta C, Zeuzem S, Bolondi L, Greten TF, Galle PR, Seitz JF, Borbath I, Häussinger D, Giannaris T, Shan M, Moscovici M, Voliotis D, Bruix J; SHARP Investigators Study Group. Sorafenib in advanced hepatocellular carcinoma. *N Engl J Med* 2008; 359: 378-390
- 25 Morabito A, De Maio E, Di Maio M, Normanno N, Perrone F. Tyrosine kinase inhibitors of vascular endothelial growth factor receptors in clinical trials: current status and future directions. *Oncologist* 2006; 11: 753-764
- 26 Thomas MB, Chadha R, Iwasaki M. The combination of bevacizumab and erlotinib shows significant biological activity in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC). *J Clin Oncol* 2007; 25: 4567
- 27 Azad NS, Posadas EM, Kwitkowski VE, Steinberg SM, Jain L, Annunziata CM, Minasian L, Sarosy G, Kotz HL, Premkumar A, Cao L, McNally D, Chow C, Chen HX, Wright JJ, Figg WD, Kohn EC. Combination targeted therapy with sorafenib and bevacizumab results in enhanced toxicity and antitumor activity. *J Clin Oncol* 2008; 26: 3709-3714

■同行评价

本文就原发性肝癌分子靶向治疗的理论基础及临床研究进展进行较为系统的论述, 尤其是较为详细地介绍了目前临床几种用于肝癌分子靶向治疗的药物及相关临床试验结果, 对正确认识分子靶向治疗在中晚期肝癌治疗中的地位与价值有一定参考意义。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志英文摘要要求

本刊讯 本刊英文摘要包括目的、方法、结果、结论, 书写要求与中文摘要一致. 具体格式要求如下: (1)题名文章的题名应言简意赅, 方便检索, 英文题名以不超过10个实词为宜, 应与中文题名一致; (2)作者 署名一般不超过8人. 作者姓名汉语拼音拼写法规定为: 先名, 后姓; 首字母大写, 双名之间用半字线“-”分开, 多作者时姓名间加逗号. 格式如: “潘伯荣”的汉语拼写法为“Bo-Rong Pan”; (3)单位 先写作者, 后写单位的全称及省市邮政编码. 例如: Xu-Chen Zhang, Li-Xin Mei, Department of Pathology, Chengde Medical College, Chengde 067000, Hebei Province, China; (4)基金资助项目 格式如: Supported by National Natural Science Foundation of China, No.30224801; (5)通讯作者 格式如: Correspondence to: Dr. Lian-Sheng Ma, Taiyuan Research and Treatment Center for Digestive Diseases, 77 Shuangta Xijie, Taiyuan 030001, Shanxi Province, China. wjcd@wjgnet.com; (6)收稿及修回日期 格式如: Received: Revised: . (常务副总编辑: 张海宁 2009-04-08)

原发性肝癌射频消融研究进展

郭峰, 褚朝顺, 陆子鹏, 苗毅

■背景资料

近20年来, 射频组织消融技术(RFA)已广泛的应用于肝癌等实体肿瘤, 并取得了良好的效果, 成为了肝癌微创治疗的一种重要的手段. 本文就近年来有关RFA的研究作一综述.

郭峰, 褚朝顺, 陆子鹏, 苗毅, 南京医科大学第一附属医院普外科 江苏省南京市 210029
通讯作者: 苗毅, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医院普外科. miaoyi@njmu.edu.cn
电话: 025-83718836-6590
收稿日期: 2009-01-06 修回日期: 2009-02-28
接受日期: 2009-03-16 在线出版日期: 2009-04-08

Research progress of radiofrequency ablation in treating primary hepatocellular carcinoma

Feng Guo, Chao-Shun Chu, Zi-Peng Lu, Yi Miao

Feng Guo, Chao-Shun Chu, Zi-Peng Lu, Yi Miao, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Correspondence to: Yi Miao, Department of General Surgery, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. miaoyi@njmu.edu.cn

Received: 2009-01-06 Revised: 2009-02-26

Accepted: 2009-03-16 Published online: 2009-04-08

Abstract

Radiofrequency ablation (RFA) is currently an effective treatment for primary hepatocellular carcinoma (PHC). Judicious case selection and appropriate approaches in combination with other anti-tumor therapies are essential to achieve a favorable outcome. RFA is as effective as open surgery in treating PHC smaller than 3 cm in diameter with less complications and mortalities, shorter admission period and fewer cost. In the future, RFA will play a more and more important role as part of multimodality therapy in treating PHC.

Key Words: Radiofrequency ablation; Primary hepatocellular carcinoma; Multimodality therapy

Guo F, Chu CS, Lu ZP, Miao Y. Research progress of radiofrequency ablation in treating primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 998-1004

摘要

射频组织原位消融技术是目前治疗原发性肝

癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)的一种有效方法. 合理掌握手术适应证, 选择合适的治疗途径, 并辅以其他治疗手段能够使患者获得最好的治疗效果. 射频组织原位消融在治疗3 cm以下肝癌效果与肝切除相当, 而并发症、死亡率、住院时间和费用却大大降低. 今后射频组织原位消融将会成为PHC的综合治疗中一个越来越有力的工具.

关键词: 射频消融; 原发性肝癌; 综合治疗

郭峰, 褚朝顺, 陆子鹏, 苗毅. 原发性肝癌射频消融研究进展. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 998-1004

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/998.asp>

0 引言

近年来随着计算机辅助影像以及腔镜外科技术的发展, 一系列肿瘤原位消融治疗技术应运而生. 其中包括经皮穿刺酒精注射(percutaneous ethanol injection, PEI), 冷冻治疗(cryoablation, CA), 激光(laser ablation, LA), 微波(microwave ablation, MWA), 体外聚焦超声波(focused ultrasound, FUS)以及射频组织消融(radiofrequency ablation, RFA). 这一类技术使用物理或化学的方法使肿瘤组织在体内发生坏死, 从而达到治疗目的. 大多数情况下无需将肿瘤切除, 而仍将已失活的肿瘤留在体内, 机体最终将坏死组织吸收、清除或包裹. 因此这一治疗又称为肿瘤原位消融(tumor ablation *in situ*). 由于不必切除肿瘤, 这类治疗可以在各种微创途径下完成. 为肿瘤患者提供了更多的治疗机会和选择, 尤其使一部分不能耐受切除手术的患者获得了治疗的机会. 射频组织原位消融为近年来发展的肿瘤微创治疗新技术, 现在国内外已广泛运用于肝癌等实体肿瘤的治疗并取得了肯定的治疗效果, 并由于其创伤小, 治疗简便, 患者痛苦少, 恢复快, 安全有效, 越来越受到包括外科在内的许多学科的关注和青睐. 本文就目前RFA技术所面临的主要问题进行了讨论, 对该项技术的发展前景进行了展望和评估.

■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; 肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

1 射频组织原位消融的基本原理和设备

RFA的基本设备由射频发生器、治疗电极和中性电极板所组成. 三者与患者一起构成闭合循环环路. 用于组织热灭活的射频波频率通常在375-500 kHz. RFA治疗过程中, 通过影像导引经皮穿刺、腹腔镜或开腹途径将射频电极插入肿瘤组织中. 交变射频电流从插入电极末端的未绝缘部向周围组织发射, 随着电流方向的改变引起局部组织中离子振动, 相互摩擦产热(又称为电阻产热), 局部温度增高(中心温度可达100℃左右)使肿瘤组织发生凝固性坏死, 直接杀灭肿瘤细胞从而达到治疗目的. 鉴于微创方面因素的考虑, 针状电极的体积受到限制. 然而, 按照电流在组织中随着距离的增加按 $1/2r$ 的方式的衰减的定律 $[J = I/4\pi r^2]$ (J 为电流强度; I 为电流强度; r 为距离). 绝大部分射频电流在紧靠电极1-2 mm狭窄范围的组织中就完全转变成热能, 因此造成局部电流密度过高, 从而导致局部组织温度过高、脱水、碳化 and 气化, 促使电阻增高, 最终使射频电流环路中断, 使产生的坏死病灶不能进一步扩大. 因此在传统技术下RFA有效的范围通常小于1 cm. 其在肿瘤临床实际应用受到了限制. 过去几年里由于一系列新技术特别是改良电极的问世, 使得RFA的有效范围(组织的热凝固性坏死)从以往的数毫米增大到目前的数厘米. 这一进展重新激发了人们对应用RFA治疗肿瘤的兴趣.

射频电极的性能决定RFA的治疗效果, 标准条件下组织消融的体积是评价电极性能的金标准, 这取决于单位时间内电极所能释放到靶组织中的能量(产热). 因此治疗电极是RFA的关键技术. 也正是由于一系列优化电极的问世, 奠定了现代RFA的基础, 此项技术才得到了长足地发展.

第一代电极: 组织消融范围1 cm左右. 为实心金属针状电极. 第二代电极: 组织消融范围3-5 cm. (1)中空冷却电极: 由内、外套针组成, 冷却水经套针在电极内循环降低电极末端及电极-组织界面温度, 延缓组织气化、脱水和碳化, 增强射频电流和热能传导, 从而增大组织消融范围. Livraghi *et al*^[1]治疗了1组瘤体平均直径5.4 cm的HCC患者, 瘤体直径 ≤ 4.0 cm者使用单极自冷却电极针, 直径 > 4.0 cm者使用集束电极针. 肿瘤完全坏死率47.6%, 接近完全坏死率(瘤体坏死90%-99%)达31.7%. 部分坏死率(瘤体坏死50%-89%)达20.6%. (2)双极电极: 为两枚并行的电极针, 工作时射频电流即在两枚电极之间产

生, 无需使用皮肤电极板, 相当于两枚单电极针同时进行治疗. 有关双电极针的试验研究和临床应用报道不多. (3)伞状电极: 由套针和位于其内的可伸缩4-10个子电极组成, 套针进入肿瘤后推动手柄推杆可使子电极呈伞状张开以扩大电极表面积, 降低电流密度, 延缓组织碳化和脱水及电阻升高, 延长治疗时间增大组织消融范围(图1A). Lo *et al*^[2]用伞形电极针治疗的一组瘤体直径2.0-7.0 cm的HCC患者中, 肿瘤完全坏死率达到80%. (4)盐水增强电极(图1B-C): 为中空电极, 可以通过电极向靶组织中输注盐水, 导电的电解质溶液在金属电极周围的组织中形成“液体电极”, 扩大了表面积, 大大降低了电流密度, 盐水本身的冷却作用降低了局部温度, 延缓了组织过高热, 降低了电阻, 加上液体的盐水作为热传导介质有利于热在组织中扩散, 因此在不增加金属电极的体积和创伤性的前提下可以显著地增加组织消融范围. Miao *et al*^[3]用这种电极治疗兔肝脏VX2肿瘤, 其肿瘤的根治率和兔的生存率均高于对照组. 有学者^[4-5]已将该电极用于临床, 能够降低组织炭化, 提高消融的范围, 有效地治疗不能切除的肝癌. Pereira *et al*^[6]比较该电极和伞状电极, 集束冷却电极的组织消融效果, 前者的组织消融范围明显大于后两者. 第三代电极: 复合电极, 组织消融范围7-10 cm. (1)集束中空冷却电极(图2A): 由3根中空冷却电极呈等边排列组成, 每根电极相距5 mm. 由于电极表面积增大了3倍以及电相干(Coherence)作用使消融范围有了较明显的增加. de Baere *et al*^[7]分别用3枚间隔0.5 cm自冷却电极针组成的集束电极针和伞形电极针在正常猪肝进行试验, 集束电极针的凝固性坏死区域平均3.7 cm, 明显大于伞形电极针的3.0 cm. Haemmerich *et al*^[8]将三个集束冷却电极按等边三角形进行组合(图2B), 边长为4 cm. 体外对猪肝进行实验, 最大组织消融体积为 137.5 ± 22.2 cm³. (2)盐水增强-中空冷却复合电极(图2C): 单根电极, 具有输注盐水和中空冷却循环双重功能, 具备两者的优点, 因此组织消融范围有显著地扩大. Miao *et al*^[9]在射频功率50 W和90 W的条件下使用该电极离体牛肝的消融范围分别达 4.90 ± 0.6 cm, 6.6 ± 0.99 cm, 治疗过程中电极尖端温度小于40℃, 阻抗低于50 Ω , 从而可以在较长时间内以较高的射频功率治疗, 而延长的治疗时间更利于热传导, 扩大组织的消融范围. (3)盐水增强-伞状复合电极: 单根伞状电极具有经子电极输注盐水的功能, 即

■ 研发前沿

RFA技术的发展及临床的进一步应用, 关键在于射频电极的组织消融范围的不断扩大. 其决定了RFA的治疗效果. 也正是由于一系列优化电极的问世, 奠定了现代RFA的基础.

■相关报道

Mulier *et al*总结了目前绝大多数射频电极的特点,根据其设计原理将之分成5类:简易实心电极、冷却电极、扩张电极、湿电极、双极电极。同时也对多电极RFA系统进行了阐述。

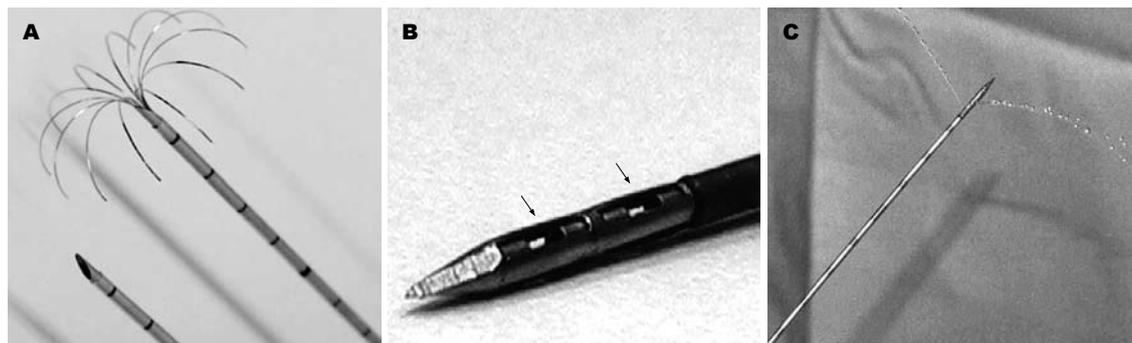


图1 第二代电极. A: 伞状电极; B-C: 盐水增强电极.

增大了金属电极的表面积又具有盐水增强作用,因此组织消融范围有显著地扩大. Miao *et al*^[10]用该电极进行体外牛肝试验,在射频功率50 W和90 W的条件下使用该电极离体牛肝的消融范围分别达 5.3 ± 0.4 cm, 6.0 ± 1.0 cm,明显大于单根伞状电极. (4)双极盐水增强电极(图2D):在双极电极的基础上,通过输注盐水,增加组织的导电性,扩大组织的消融范围. Burdío *et al*^[11]用该电极对猪进行腹腔镜下射频消融治疗,两电极间的距离是4 cm,阻断肝门后,最大组织消融体积为 149.50 ± 34.26 cm³.

此外, RFA组织消融体积还受其他因素影响. 组织血流是一个重要因素,活体组织因为有血流灌注,将带走一部分热,称为“热丢失”. 因此有血流灌注的组织RFA消融的体积较同等条件下无血流灌注的组织小. RFA时阻断血流,如Pringle's肝门血流阻断,肝动脉栓塞化疗(transcatheter arterial chemoembolization, TACE),气囊阻断门静脉,气囊临时阻断肝静脉;使用减少肝脏血流量的药物,如氟烷、加压素、肾上腺素等,甚至全身麻醉下常规降压均不同程度增大了组织消融体积,提高治疗效果. 使用较低的起始功率和缓慢的步升速度,且有利于针周热量的弥散,避免局部积聚,从而使得较大范围的组织共同受热凝固. Goldberg *et al*^[12]最先在射频工作方式方面作了改进,使用脉冲式射频工作方式明显提高消融疗效. 他们用自冷却电极针进行试验,脉冲RFA在人体肝脏的凝固性坏死范围可达到3.7 cm,明显高于普通RFA时的2.4 cm. 三维立体适形技术,是在CT扫描的基础上,利用数字重建方式将平面图像构成立体图像,显示其位置及毗邻关系. 利用三维立体适形技术用于原发性肝癌的定位,可以很好显示肝癌病灶在肝脏内的位置、形状及毗邻关系,可以为射频消融提供进针部位、角度、深度以及电

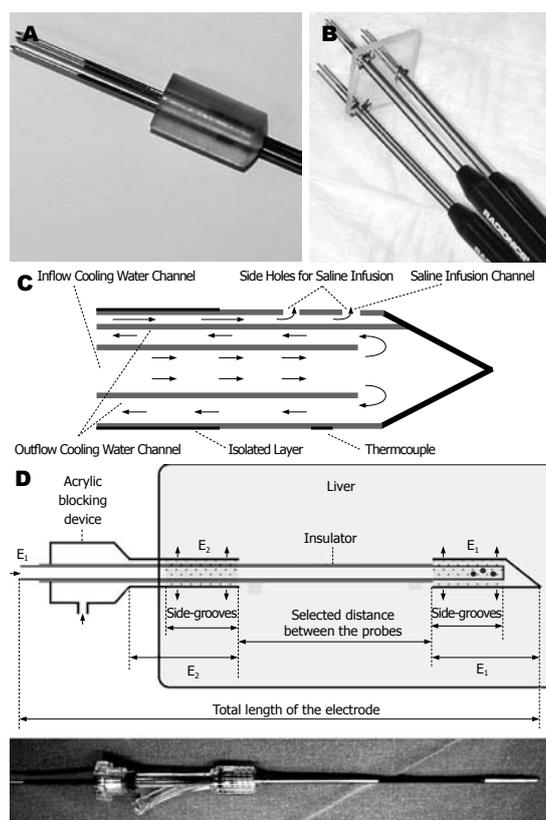


图2 第三代电极. A: 集束中空冷却电极; B: 三个集束冷却电极按等边三角形进行组合; C: 盐水增强-中空冷却复合电极; D: 双极盐水增强电极.

极展开的面积是否和病灶一致,并及时调整进针的方向及深度,以求毁灭肿瘤病灶,最大限度保护邻近正常肝组织^[13].

2 治疗途径

RFA治疗有影像导引经皮穿刺、腹腔镜、开腹三种途径. 最常用的影像导引手段是B超,其次为CT,以及开放式磁共振(MRI),后者存在射频信号相互干扰,还必须使用磁相容性设备,因此较少应用. 肿瘤<3 cm,不邻近其他脏器,有合适的穿刺路径者适合经皮穿刺治疗. 优点是创伤

小, 恢复快. 患者可在局麻清醒状态下接受治疗, 甚至门诊治疗. 如肿瘤较大, 穿刺途径困难或病变邻近十二指肠、结肠、胃、胆囊、膈肌等脏器, RFA有可能伤及上述器官时应选择经腹腔镜或开腹途径. 其优点在于直视下了解病变情况, 及其与邻近脏器的关系, 治疗时予以分离和保护. 这些途径还可以临时阻断第一肝门(Pringle's手法), 减少血流冷却作用增大组织消融范围, 从而改善治疗效果. 因此要根据每个患者的病情选择合适的治疗途径.

3 适应证

患者4 wk内未接受化疗或放疗; 预期存活大于3 mo; 肝功能Child分级A或B级; 血清总胆红素 $51.3 \mu\text{mol/L}$ (3.0 mg/dL)、白蛋白大于 3.0 g/dL 、凝血酶原时间不超过正常对照50%; 血小板 $>40 \times 10^9/\text{L}$; 无肝性脑病史; 无精神病; 无腹水或少量腹水; 无严重感染; 妊娠试验阴性.

外科治疗肿瘤的经验提示, 要达到肿瘤局部根治性切除, 切除范围必须包括整个肿瘤并外加至少1 cm周围正常组织作为安全区. 肝癌原位消融也应该遵循这一标准, 力求根治性治疗. 由于目前技术的限制, 组织消融范围仍局限在5 cm左右, 尚不能满足临床的需要. 实践证明小于3 cm的肝癌治疗效果与肝切除相当, 因此小肝癌更适宜原位消融. 对一些体积较大的肝癌, 特别是使用经皮穿刺途径治疗, 组织消融往往不彻底. 需要重叠消融才能达到上述根治范围. 实践证明“减瘤”并不能延长患者的生存时间, 应该尽可能减少姑息性治疗.

4 联合其他治疗

4.1 TACE+RFA TACE是晚期原发性肝癌常用的非手术治疗方法, 但组织学发现仅有20%-50%的病例在TACE术后肿瘤呈完全坏死, 绝大部分在肿瘤周边、肿瘤包膜下及包膜内显微镜下可见存活的肝癌细胞. 而且TACE对大部分门静脉癌栓治疗无效. 绝大多数中、晚期肝癌均会破坏肝动脉, 侵犯门静脉, 形成肝动脉-门静脉吻合支, 从而增加门静脉对肿瘤的供血. 单纯的肝动脉化疗栓塞术虽然可以闭塞癌灶的动脉血供, 但是不能有效杀伤门静脉供血的癌组织或癌细胞. 另外, 肝癌复发常伴随肝外动脉供血(寄生供血), 特别是肝动脉栓塞后, 将妨碍进一步治疗, 右膈下动脉是最常见的肝外供血动脉. 国内外报道介入栓塞联合射频治疗优于单一的治疗方法, TACE

与RFA结合治疗HCC可以显著提高疗效^[14-15]. 有学者研究报道, RFA联合TACE对控制大肝癌和卫星灶及门静脉癌栓有良好效果, 并能为肝癌二期切除或肝移植起衔接搭桥作用^[16].

4.2 PEI+RFA PEI须多次重复注射, 由于酒精在瘤内分布不均, 对较大的肿瘤难以达到彻底消融的效果, 有些患者感觉治疗部位剧烈疼痛难以忍受而影响治疗. 此外尚可能致患者的免疫功能下降和加重肝功能损坏. 患者如合并肝硬化, 注射治疗量的酒精可能诱发消化系出血、肝功能衰竭等严重并发症. Goldberg *et al*^[17]的动物实验发现射频联合99%酒精注射能够增加肿瘤的消融范围. 有学者对133例肝癌患者随机分为PEI联合RFA治疗组和单纯RFA治疗两组, 结果提示了联合治疗组5年生存率(49.3%)明显好于单纯射频组(35.9%)^[18]. 射频前瘤内注射99%酒精能够减少肿瘤局部血供, 因而加热时肿瘤升温较好, 局部温度的有效升高可使肿瘤坏死更加彻底. 注入肿瘤内的酒精还可能弥散至射频不能有效治疗的部位, 例如大血管边、胆囊旁等, 从而增强治疗效果.

4.3 RFA联合化疗 采取射频治疗前局部注射化疗药物, 一方面可以利用注射入肝癌组织内的液体作为递质将热量向远处传递以扩大治疗范围, 这与文献中报道的利用生理盐水作为导热递质避免组织碳化扩大治疗范围的原理是一致的. 另一方面, 可能由于高温状态下, 癌细胞膜流动性增高, 肿瘤血管通透性增高, 化疗药物进入并蓄积于癌细胞内增多, 延长药物在肿瘤组织内留滞时间, 增强了化疗药物的抗癌作用. 再者, 局部给药能降低抗癌药物的不良反应, 因为局部输注抗癌药物较外周静脉给药能提高治疗脏器的药物浓度, 减少非治疗脏器的药物浓度, 这样对正常肝组织的损坏就较小.

4.4 RFA后切除 Pawlik *et al*^[19]对172位患者737个病灶先行RFA治疗, 再行手术切除, 可以提高他们的生存期. RFA为不能切除的患者提供了再次切除的机会, 同时可以减少术中出血.

5 特殊部位肝癌的处理

邻近大血管的肝癌, 由于血流带走部分热量, 往往达不到完全消融效果, Bowles *et al*^[20]射频治疗76例328个肝脏恶性肿瘤, 大小 $3.0 \pm 2.4 \text{ cm}$, 平均随访时间 $15.0 \pm 10.3 \text{ mo}$, 局部复发率为9%(30/328), 局部复发肿瘤中有血管侵犯占66.7%, 无局部复发肿瘤中血管侵犯占9.1%,

■创新盘点

本文从RFA原理、治疗射频电极的演进、影像监控、组织形态学特点以及临床应用等多方面进行了详细的阐述.

■应用要点

越来越多的证据显示直径3 cm以下的肝癌RFA治疗效果与肝切除相当,而并发症和死亡率远低于手术切除,可以预期,随着RFA技术的进步,其在临床将得到更广泛的应用。

结论为肝癌伴血管侵犯者复发率明显增加($P<0.01$)。Koda *et al*^[21]报道了23例25个肝癌位于膈下,经人造胸水后进行射频消融,结果显示肿瘤完全坏死率为88%,局部复发率4.5%,未发生严重并发症。Rhim *et al*^[22]也报道了以人工腹水辅助肝脏膈面肿瘤的RFA治疗,并取得了良好的效果。邻近大胆管或胆囊的肿瘤,有人用冷却水灌注胆道,预防其损伤。

6 影像监控

6.1 B超 简便、无创、费用低是最常用的影像技术,可以精确地引导电极插入肿瘤内。特别是表面有超声反射涂层的电极,则更容易定位。治疗时通常可以看到围绕电极的强回声区,这种回声改变为组织加热形成的小气泡所致,并不代表实际消融范围。因此治疗过程中超声图像并不能作为监控的依据。治疗以后立即使用微球超声造影剂通过间接观察血供有助于判断残存肝癌组织和无血运的消融坏死组织。

6.2 CT 可以较精确地引导穿刺。增强扫描对评估消融范围很有价值,由于坏死组织没有血液供应,不能被血液中的造影剂增强,表现为无增强的低密度区,而残存的肝癌则有强化。

6.3 MRI 热消融组织近边缘部分常可以看到低密度条带,影像-病理学研究证实该条带与镜下消融病灶病理D区-凝固性坏死区对应,由于该区出血明显,因此在 T_1 加权像和 T_2 加权像上均表现为低密度区。由于该区域为坏死病灶的最外缘,因此代表了消融组织的实际边界^[25]。

6.4 正电子发射计算机断层显像(PET) 可观察到瘤体的代谢情况,可以有效地区分坏死和残余瘤体组织,在治疗后早期,瘤体多不表现为缩小,而且疗后2 wk内,病灶皆表现为增大,由于PET显像主要依据肿瘤组织对 ^{18}F -FDC的摄取情况,所以PET明显优于前几种检查,但设备昂贵,只能在个别医院进行。

7 形态学特征

病灶早期典型的病理特征为以电极为中心的4-5条同心圆条带。可以分为A-E 5个区域^[5,11],位于消融病灶中心的组织,由于温度升高很快,血液以及包括细胞酶在内的蛋白质瞬间凝固,组织来不及发生自溶就被固定,形态结构保存完好,HE染色很难与活体组织区别。因此称之为“鬼影现象”,组织虽已经失活但形态上和活体组织基本一样。通过组化染色如NADH染色,

可以区分坏死组织和活组织。因此病理判断治疗效果时应考虑到上述特点。

8 临床疗效

自1995年Rossi报道PRFA治疗小肝癌取得成功,已有数万例肝癌患者接受了RFA治疗。越来越多的证据显示直径3 cm以下的肝癌治疗效果与肝切除相当,而并发症、死亡率、住院时间和费用却大大降低。

Tateishi *et al*^[23]对1000例患者经皮RFA治疗结果分析,319例HCC初次行RFA治疗后,1、3、5年累积生存率分为94.7%、7.7%、54.3%,而对于曾接受手术切除、肝动脉栓塞或其他非RFA治疗后复发的HCC患者行RFA治疗后,1、3、5年累积生存率也可达到91.8%、62.4%、38.2%。Curley *et al*^[24]报道了110个病例经RFA治疗后19 mo局部复发率仅3.6%。有报道^[25-26]显示,对于伴有肝硬化的HCC患者,手术切除较RFA能显著提高总生存率和无瘤生存率,但对于Child-Pugh B级、多发性HCC或肿瘤直径 ≤ 3 cm的患者手术切除和RFA无显著差异。因此,对于合并肝硬变的Child-Pugh B级的小肝癌患者,射频消融治疗可能替代手术切除。但总的来说转移癌的治疗效果不如HCC;大肝癌的治疗效果不如小肝癌好;RFA治疗效果好优于PEI及冷冻治疗。

9 并发症

Mulier *et al*^[27]总结了3670例RFA治疗病例,总死亡率0.5%,并发症率为8.9%,常见的并发症有腹腔出血(1.6%),腹腔感染(1.1%),胆道损伤(1.0%),肝功能衰竭(0.8%),肺部并发症(0.8%)等。经皮穿刺、经腹腔镜、开腹或联合开腹途径的并发症发生率分别为7.2%、9.5%、9.2%,死亡率分别为0.5%、0%、4.5%。de Baere *et al*^[28]5年中对312例行350次治疗,37例(10.6%)有并发症发生,其中5例(1.4%)死亡;无胆道并发症发生。

为了减少可能出现的并发症,必须根据病灶大小和部位,选择恰当的治疗途径和方案。术中将病灶与正常组织用盐水或纱布隔开,密切观察消融的边界,防止对邻近组织的损伤。电极退出时将针道予以烧灼,防止出血和针道种植。注意尿量和尿的性状,并应密切观察腹部指征。与邻近大血管的肝癌不同,由于没有血流的自身冷却作用,邻近肝门的肝癌消融时损伤大胆管或胆囊风险较高,有人用冰生理盐水胆道内灌注冷却,预防其热损伤。邻近膈肌的病变采用腹

腔或胸腔内注射生理盐水形成人工腹水和胸水可减少热消融对膈肌和肺的损伤。

10 结论

RFA的优点: (1)微创, 经皮穿刺治疗可以在局部麻醉下完成。患者反应轻微, 大多在治疗当天即可下床活动和进食。腹腔镜下治疗的反应较开腹手术轻, 我们治疗一些合并重要脏器功能不全的患者, 如肝肾功能不全、门脉高压出血、糖尿病, 均能很好地耐受RFA治疗。就是开腹途径下RFA治疗也比常规的肝切除手术创伤轻。其住院天数, 并发症率和死亡率都较切除手术明显降低; (2)就目前的技术而言, 直径小于5 cm的肝癌, 治疗效果与手术切除相仿, 可以达到局部根治的标准。随着新一代电极问世, 治疗范围可望进一步扩大; (3)易于反复多次治疗, 对多发和复发性肝癌有其优越性; (4)避免了切除手术过程中挤压和触摸肿瘤引起的医源性转移; (5)高温使肝癌的某些抗原暴露, 在消融的肝癌组织被清除的过程中可能会刺激机体的肿瘤免疫, 产生所谓的“内源性瘤苗”作用。

现代影像技术和腹腔镜技术问世为微创外科的发展提供了先决条件。这些技术“延伸”了外科医生的眼睛和手。使我们拥有了许多前所未有的诊疗手段。以往需要打开腹腔方能看到和触及到的肝癌, 借助上述影像技术使我们在体外就能明确他的部位、大小、与周围脏器、血管的关系以及病变的性质和转移情况; 还可以通过影像导引和监控在微创途径下施行活检或/和治疗。因此而派生出一系列微创外科技术。极大地丰富了肝癌的治疗手段。传统外科已成功地开展了一个多世纪, 取得了辉煌的成就。随着现代技术的发展为我们提供了很多机遇。一个以手术为主, 综合治疗的新的肝癌治疗模式已经来临。RFA治疗无疑将扮演一个重要的角色。

11 参考文献

- 1 Livraghi T, Goldberg SN, Lazzaroni S, Meloni F, Ierace T, Solbiati L, Gazelle GS. Hepatocellular carcinoma: radio-frequency ablation of medium and large lesions. *Radiology* 2000; 214: 761-768
- 2 Lo HW, Tsai YJ, Chen PH, Chen HY, Ker CG, Juan CC. Radiofrequency ablation for treatment of hepatocellular carcinoma with cirrhosis. *Hepatology* 2003; 50: 645-650
- 3 Miao Y, Ni Y, Mulier S, Yu J, De Wever I, Penninckx F, Baert AL, Marchal G. Treatment of VX2 liver tumor in rabbits with "wet" electrode mediated radio-frequency ablation. *Eur Radiol* 2000; 10:

- 188-194
- 4 Kettenbach J, Köstler W, Rücklinger E, Gustorff B, Hüpfel M, Wolf F, Peer K, Weigner M, Lammer J, Müller W, Goldberg SN. Percutaneous saline-enhanced radiofrequency ablation of unresectable hepatic tumors: initial experience in 26 patients. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 180: 1537-1545
- 5 Giorgio A, Tarantino L, de Stefano G, Scala V, Liorre G, Scarano F, Perrotta A, Farella N, Aloisio V, Mariniello N, Coppola C, Francica G, Ferraioli G. Percutaneous sonographically guided saline-enhanced radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 479-484
- 6 Pereira PL, Trübenbach J, Schenk M, Subke J, Kroeber S, Schaefer I, Remy CT, Schmidt D, Brieger J, Claussen CD. Radiofrequency ablation: in vivo comparison of four commercially available devices in pig livers. *Radiology* 2004; 232: 482-490
- 7 de Baere T, Denys A, Wood BJ, Lassau N, Kardache M, Vilgrain V, Menu Y, Roche A. Radiofrequency liver ablation: experimental comparative study of water-cooled versus expandable systems. *AJR Am J Roentgenol* 2001; 176: 187-192
- 8 Haemmerich D, Lee FT Jr, Schutt DJ, Sampson LA, Webster JG, Fine JP, Mahvi DM. Large-volume radiofrequency ablation of ex vivo bovine liver with multiple cooled cluster electrodes. *Radiology* 2005; 234: 563-568
- 9 Miao Y. Experiment research on radiofrequency tissue ablation as an alternative in cancer therapy. Leuven university press. Leuven: Belgium, 2000: 82-83
- 10 Miao Y, Ni Y, Yu J, Zhang H, Baert A, Marchal G. An ex vivo study on radiofrequency tissue ablation: increased lesion size by using an "expandable-wet" electrode. *Eur Radiol* 2001; 11: 1841-1847
- 11 Burdío F, Güemes A, Burdío JM, Navarro A, Sousa R, Castiella T, Cruz I, Burzaco O, Lozano R. Bipolar saline-enhanced electrode for radiofrequency ablation: results of experimental study of in vivo porcine liver. *Radiology* 2003; 229: 447-456
- 12 Goldberg SN, Stein MC, Gazelle GS, Sheiman RG, Kruskal JB, Clouse ME. Percutaneous radiofrequency tissue ablation: optimization of pulsed-radiofrequency technique to increase coagulation necrosis. *J Vasc Interv Radiol* 1999; 10: 907-916
- 13 Chen MH, Yang W, Yan K, Zou MW, Solbiati L, Liu JB, Dai Y. Large liver tumors: protocol for radiofrequency ablation and its clinical application in 110 patients--mathematic model, overlapping mode, and electrode placement process. *Radiology* 2004; 232: 260-271
- 14 高恒军, 梁惠宏, 陈敏山, 彭振维, 张耀军, 黎鹏, 庞雄昊, 张亚奇, 李锦清. 射频消融联合经导管肝动脉栓塞化疗治疗肝癌疗效分析. *中华医学杂志* 2008; 88: 2529-2532
- 15 Liao GS, Yu CY, Shih ML, Chan DC, Liu YC, Yu JC, Chen TW, Hsieh CB. Radiofrequency ablation after transarterial embolization as therapy for patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Eur J Surg Oncol* 2008; 34: 61-66
- 16 Lu DS, Yu NC, Raman SS, Lassman C, Tong MJ, Britten C, Durazo F, Saab S, Han S, Finn R, Hiatt JR, Busuttil RW. Percutaneous radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma as a bridge to liver transplantation. *Hepatology* 2005; 41: 1130-1137
- 17 Goldberg SN, Kruskal JB, Oliver BS, Clouse ME, Gazelle GS. Percutaneous tumor ablation: increased

■名词解释

射频组织消融(RFA): 指将射频电极插入肿瘤组织中, 射频电流引起局部组织中离子振动, 摩擦产热, 局部温度增高(90-100℃)使治疗区域组织瞬间发生凝固性坏死, 直接杀灭肿瘤细胞, 从而达到肿瘤根治目的。

■同行评价

本文对原发性肝癌射频治疗(RFA)的现状作了较为全面的介绍,尤其图文并茂介绍了各种电极的原理与优缺点,并且临床资料详细、具体,评价客观,对系统了解RFA在原发性肝癌综合治疗中的地位与价值,以及未来发展趋势均有着重要参考意义。

- coagulation by combining radio-frequency ablation and ethanol instillation in a rat breast tumor model. *Radiology* 2000; 217: 827-831
- 18 Zhang YJ, Liang HH, Chen MS, Guo RP, Li JQ, Zheng Y, Zhang YQ, Lau WY. Hepatocellular carcinoma treated with radiofrequency ablation with or without ethanol injection: a prospective randomized trial. *Radiology* 2007; 244: 599-607
- 19 Pawlik TM, Izzo F, Cohen DS, Morris JS, Curley SA. Combined resection and radiofrequency ablation for advanced hepatic malignancies: results in 172 patients. *Ann Surg Oncol* 2003; 10: 1059-1069
- 20 Bowles BJ, Machi J, Limm WM, Severino R, Oishi AJ, Furumoto NL, Wong LL, Oishi RH. Safety and efficacy of radiofrequency thermal ablation in advanced liver tumors. *Arch Surg* 2001; 136: 864-869
- 21 Koda M, Ueki M, Maeda Y, Mimura K, Okamoto K, Matsunaga Y, Kawakami M, Hosho K, Murawaki Y. Percutaneous sonographically guided radiofrequency ablation with artificial pleural effusion for hepatocellular carcinoma located under the diaphragm. *AJR Am J Roentgenol* 2004; 183: 583-588
- 22 Rhim H, Lim HK, Kim YS, Choi D. Percutaneous radiofrequency ablation with artificial ascites for hepatocellular carcinoma in the hepatic dome: initial experience. *AJR Am J Roentgenol* 2008; 190: 91-98
- 23 Tateishi R, Shiina S, Teratani T, Obi S, Sato S, Koike Y, Fujishima T, Yoshida H, Kawabe T, Omata M. Percutaneous radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma. An analysis of 1000 cases. *Cancer* 2005; 103: 1201-1209
- 24 Curley SA, Izzo F, Ellis LM, Nicolas Vauthey J, Vallone P. Radiofrequency ablation of hepatocellular cancer in 110 patients with cirrhosis. *Ann Surg* 2000; 232: 381-391
- 25 Vivarelli M, Guglielmi A, Ruzzenente A, Cucchetti A, Bellusci R, Cordiano C, Cavallari A. Surgical resection versus percutaneous radiofrequency ablation in the treatment of hepatocellular carcinoma on cirrhotic liver. *Ann Surg* 2004; 240: 102-107
- 26 Guglielmi A, Ruzzenente A, Valdegamberi A, Pachera S, Campagnaro T, D'Onofrio M, Martone E, Nicoli P, Iacono C. Radiofrequency ablation versus surgical resection for the treatment of hepatocellular carcinoma in cirrhosis. *J Gastrointest Surg* 2008; 12: 192-198
- 27 Mulier S, Mulier P, Ni Y, Miao Y, Dupas B, Marchal G, De Wever I, Michel L. Complications of radiofrequency coagulation of liver tumours. *Br J Surg* 2002; 89: 1206-1222
- 28 de Baère T, Risse O, Kuoch V, Dromain C, Sengel C, Smayra T, Gamal El Din M, Letoublon C, Elias D. Adverse events during radiofrequency treatment of 582 hepatic tumors. *AJR Am J Roentgenol* 2003; 181: 695-700

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界胃肠病学杂志》(英文版) 成功通过评审被 PMC 收录

本刊讯 PubMed Central(PMC)是由美国国家医学图书馆(NLM)下属国家生物技术信息中心(NCBI)创立的开放存取(Open Access)的生物医学和生命科学全文数据库。此数据库只收录采取国际同行评审制度评议的期刊,并对收录期刊有较高的科学、编辑及数据文件质量要求。

截至目前,我国只有两本期刊被PMC收录。《浙江大学学报B》(英文版)(*Journal of Zhejiang University Science B*)是我国第一本通过PMC评审并于2006-03-15被收录的期刊。《世界胃肠病学杂志》(英文版)(*World Journal of Gastroenterology*)第二本通过PMC评审并于2009-03-26被收录,全文免费向公众开放,见: <http://www.pubmedcentral.nih.gov/tocrender.fcgi?journal=818&action=archive> (编辑部主任:程剑侠 2009-03-26)

原发性肝癌的放射治疗

于金明, 李宝生, 闫婧

于金明, 李宝生, 山东省肿瘤防治研究院放疗科 山东省济南市 250117
闫婧, 江苏南京鼓楼医院肿瘤科 江苏省南京市 210008
通讯作者: 于金明, 250117, 山东省济南市, 山东省肿瘤防治研究院放疗科. jn7984729@public.jn.sd.cn
电话: 0531-89784777-82971
收稿日期: 2009-01-06 修回日期: 2009-02-17
接受日期: 2009-03-16 在线出版日期: 2009-04-08

Radiotherapy of primary hepatocellular carcinoma

Jin-Ming Yu, Bao-Sheng Li, Jing Yan

Jin-Ming Yu, Bao-Sheng Li, Department of Radiotherapy, Academy of Tumor Treatment and Prevention, Jinan 250117, Shandong Province, China
Jing Yan, Department of Radiotherapy, Academy of Tumor Treatment and Prevention, Jinan 250117, Shandong Province, China
Correspondence to: Jin-Ming Yu, Department of Radiotherapy, Academy of Tumor Treatment and Prevention, Jinan 250117, Shandong Province, China. jn7984729@public.jn.sd.cn
Received: 2009-01-06 Revised: 2009-02-17
Accepted: 2009-03-06 Published online: 2009-04-08

Abstract

Primary hepatocellular carcinoma (PHC) is one of the common tumors in China, and its predominant pathologic type is hepatocellular carcinoma (HCC). Radiotherapy is now an common and effective treatment method. In this article, the radiosensitization and development of radiotherapeutic technology are reviewed. Recent progress in reducing the radiation-induced hepatic injury is also summarized.

Key Words: Primary hepatocellular carcinoma; Irradiation technology; Radiation induced hepatic injury

Yu JM, Li BS, Yan J. Radiotherapy of primary hepatocellular carcinoma. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1005-1007

摘要

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是我国常见的一种恶性肿瘤,其病理类型中以肝细胞癌最多见。放射治疗是一种常用的有效的治疗手段。本文主要从肝癌放疗敏感

性、放疗技术的发展等方面对PHC的放射治疗作一综述,旨在说明PHC的放射治疗在减少放射性肝损伤等方以取得了可喜的成绩,且仍有较大发展空间。

关键词: 原发性肝癌; 放射治疗; 放射性肝损伤

于金明, 李宝生, 闫婧. 原发性肝癌的放射治疗. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1005-1007
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1005.asp>

0 引言

原发性肝癌(primary hepatocellular carcinoma, PHC)是严重危害人类身体健康的恶性肿瘤,我国是肝癌高发区,其发病率和死亡率均居恶性肿瘤的前三位。PHC包括肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)、肝胆管细胞癌、混合性肝癌及一些少见类型,其中HCC最多见。本文主要介绍HCC的放射治疗。

自1956年Ariel应用外照射治疗肝癌至今已50多年历史,放射治疗技术经历了全肝照射、局部照射、全肝移动条照射等不同的过程。目前全肝移动条照射已弃置不用而逐渐演变为精确放射治疗,其中以三维适形放疗(three dimensional conformal radiotherapy, 3D-CRT)的应用最为广泛。

1 PHC放射治疗的可行性

以往人们对PHC的放射治疗心存疑虑,主要原因如下:(1)正常肝脏组织对放射线较为敏感,而我国的肝癌患者多半合并有病毒性肝炎,在此基础上肝脏肿瘤的放疗可能引起较严重的放射性肝损伤^[1];(2)人们对HCC的放疗敏感性缺乏足够的认识。Zeng *et al*^[2]从放射生物学角度验证了HCC的放射敏感性几乎等同于鼻咽低分化鳞癌。因此,如果采用现代放疗技术尽量减少正常肝脏的损伤,提高肿瘤区的剂量,那将大大提高PHC的放疗可治愈性。

2 放射治疗技术

2.1 3D-CRT 3D-CRT是通过共面或非共面高能

■背景资料

在我国,肝癌是严重影响人们身心健康的一种常见疾病。近年来,肝癌的放射治疗有了长足进步,本文就此内容作一总结。

■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; 肖恩华, 教授, 中南大学湘雅二医院放射教研室

■ 研发前沿

正常肝脏组织对放射线较为敏感,而我国的肝癌患者多半合并有病毒性肝炎,在此基础上肝脏肿瘤的放疗可能引起较严重的放射性肝损伤。

射线束入射形状的调整,形成与靶区三维空间形状相符合的剂量分布.这在减少正常组织损伤的同时提升肿瘤剂量提供了可能.目前该技术在PHC中的应用已逐步得到认可,已被多家肿瘤中心证实是安全、有效的治疗方法^[1,3-6]. Kim *et al*^[7]对70例无法手术切除、TACE无效或无法行TACE治疗的HCC患者施行了3D-CRT治疗,结果显示HCC患者的有效率为54.3%,中位生存期为18 mo;合并门脉癌栓患者的有效率为39%,中位生存期为20.1 mo.

肝脏属于晚反应组织,为减少放射性肝损伤的发生,建议采用常规分割模式,总剂量以40-60 Gy左右为宜,当然若肿瘤体积小,正常肝组织保护好,也不必拘泥于此推荐.由于3D-CRT采用多野照射技术,可能会产生更多的低剂量区,这不利于正常肝细胞的代偿性再生.因此,在优化放疗计划时,务必保留一部分正常肝组织不受照射,而不必刻意追求射野内剂量分布均匀.

2.2 减少因肝脏运动对放疗产生影响的方法 肝脏是随呼吸运动的器官,在放射治疗靶区设计时应将其运动因素考虑在内,这必然会增加照射体积,加重对正常组织的损伤.因此为减少靶区运动对放疗的影响,在临床上常采用以下方法加以解决:主动呼吸控制技术,这种技术的设计思路是使用主动呼吸控制设备,使患者处于屏气状态时实施放射治疗,因此可以认为治疗时肝脏肿瘤基本处于静止状态或活动度非常小.赵建东 *et al*^[8]研究显示,采用主动呼吸控制技术后,正常肝脏的V23由自由呼吸状态下的45%降至30%,放射性肝损伤的发生概率从2.5%下降至1%,因此有利于减少放疗对肝脏功能的影响.

2.3 4D-CT 4D-CT技术是近年来发展起来的一项新的图像采集、重建技术,可配合呼吸门控技术进行CT图像的采集、放疗计划设计及放射治疗.与普通螺旋CT扫描相比,4D-CT扫描包含了器官和肿瘤的运动信息,可反映胸腹部器官的呼吸运动及靶区的真实运动“轨迹”,制定个体化的内靶区.刁勉 *et al*^[9]将4D-CT扫描与3D-CT扫描进行了比较,结果显示应用4D-CT技术可在3D-CRT的基础上准确定位肝癌靶区,进一步减少正常组织的受照剂量并提升靶区剂量.

2.4 图像引导放射治疗 图像引导放射治疗(image-guided radiotherapy, IGRT)指在治疗机房里通过使用影像学技术提高放射治疗准确性的治

疗技术.目前已经开发的系统包括:滑轨CT(CT on rails)、锥形束CT(cone beam CT, CBCT)、兆伏级CT(MV CT)、断层治疗机(tomotherapy)等.本文仅就CBCT作简单的介绍.

CBCT图像是由患者周围不同位置采集得到的一组开野投射图像重建而成,使用二维探测器直接形成三维图像,不需要移动治疗床.在患者摆好体位后,进行CBCT扫描,将计划CT与CBCT图像进行配准,发现摆位误差并进行纠正,其最终目的是保证摆位更精确,重复性更好.如果将4D-CT和IGRT这两项技术结合起来应用,可以更清楚的了解患者的器官运动情况,个体化的制定靶区范围,并尽可能的减少摆位误差,减少正常组织损伤.

3 结论

目前,放射治疗正朝着如何提高靶区内放疗剂量,减少放疗并发症方面发展,相信在不久的将来,肝癌的放射治疗会有飞速发展,为更多患者解除病痛.

4 参考文献

- 1 王中堂,李宝生,闫婧,张自成,尹勇,刘娟.原发性肝癌三维适形放疗后放射性肝病的相关因素分析.中华放射肿瘤学杂志 2007; 16: 281-285
- 2 Zeng ZC, Jiang GL, Wang GM, Tang ZY, Curran WJ, Iliakis G. DNA-PKcs subunits in radiosensitization by hyperthermia on hepatocellular carcinoma hepG2 cell line. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 797-803
- 3 Li B, Yu J, Wang L, Li C, Zhou T, Zhai L, Xing L. Study of local three-dimensional conformal radiotherapy combined with transcatheter arterial chemoembolization for patients with stage III hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Oncol* 2003; 26: e92-e99
- 4 Liu MT, Li SH, Chu TC, Hsieh CY, Wang AY, Chang TH, Pi CP, Huang CC, Lin JP. Three-dimensional conformal radiation therapy for unresectable hepatocellular carcinoma patients who had failed with or were unsuited for transcatheter arterial chemoembolization. *Jpn J Clin Oncol* 2004; 34: 532-539
- 5 Cheng JC, Chuang VP, Cheng SH, Huang AT, Lin YM, Cheng TI, Yang PS, You DL, Jian JJ, Tsai SY, Sung JL, Horng CF. Local radiotherapy with or without transcatheter arterial chemoembolization for patients with unresectable hepatocellular carcinoma. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2000; 47: 435-442
- 6 Liang SX, Zhu XD, Lu HJ, Pan CY, Li FX, Huang QF, Wang AY, Chen L, Fu XL, Jiang GL. Hypofractionated three-dimensional conformal radiation therapy for primary liver carcinoma. *Cancer* 2005; 103: 2181-2188
- 7 Kim TH, Kim DY, Park JW, Kim YI, Kim SH, Park HS, Lee WJ, Park SJ, Hong EK, Kim CM. Three-dimensional conformal radiotherapy of

■ 相关报道

Zeng *et al*从放射生物学角度验证了肝细胞肝癌的放射敏感性几乎等同于鼻咽低分化鳞癌。

- unresectable hepatocellular carcinoma patients for whom transcatheter arterial chemoembolization was ineffective or unsuitable. *Am J Clin Oncol* 2006; 29: 568-575
- 8 Zhao JD, Xu ZY, Zhu J, Qiu JJ, Hu WG, Cheng LF, Zhang XJ, Jiang GL. Application of active breathing

- control in 3-dimensional conformal radiation therapy for hepatocellular carcinoma: the feasibility and benefit. *Radiother Oncol* 2008; 87: 439-444
- 9 习勉, 刘孟忠, 邓小武, 刘慧, 黄晓延, 张黎, 李巧巧, 胡永红, 蔡玲, 崔念基. 应用4D-CT技术确定肝癌内靶体积及相关剂量学研究. *癌症* 2007; 26: 1-8

■同行评价

本综述介绍了原发性肝癌的放射治疗技术进展, 对临床应用有借鉴作用.

编辑 李军亮 电编 吴鹏联

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第十二届全国腹部影像学会议征文通知

本刊讯 由中华医学会放射学分会腹部学组主办, 山西省医学会放射学分会承办, 山西医科大学第一医院协办的第十二届全国腹部影像学学术年会拟定于2009-05-15/18在山西省太原市卡萨国际商务酒店举行. 本届年会将邀请国内、外著名专家做专题讲座, 并进行优秀论文代表发言、英语论文发言、疑难病例讨论及科学论文展板等形式多样的学术交流活动.

1 征文内容

腹部普通X线、CT、MRI、正电子发射计算机断层成像(PET)、腹部介入放射学、超声诊断学、分子影像学、放射学管理、质量控制及放射技术学等方面的论著、讲座、述评、综述、短篇报道、病例讨论等.

2 征文要求

(1)按中华医学会系列杂志稿约要求撰写800字左右标准结构式摘要, 包括目的、材料与方法、结果、结论四要素. (2)已在全国公开发行的刊物上发表的论文不再采用. (3)截稿日期: 2009-04-25.

3 投稿方式

(1)网上投稿: 组委会已开通“网上投稿”主页, 网址为: <http://www.rc-csr.org/ccra12/>或<http://www.chinaradiology.org/ccra12/>. (2)邮寄投稿: 采用Word格式电脑打印并需同时附软盘或光盘(请自留底稿, 恕不退稿). 来稿请在信封上注明“腹部影像征文”. (3)电子邮箱投稿: zrp_7142@163.com, 邮件名称“腹部会议投稿”. 各种方式投稿均请写清楚作者单位、详细通信地址、邮政编码、手机号码及E-mail地址. 邮寄地址: 山西省太原市解放南路85号, 山西医科大学第一医院放射科, 李健丁主任收, 邮政编码: 030001.

4 会议注册

<http://www.chinaradiology.org/csar12/> 进入网页注册, 特别提醒注册优惠及条件.

我们将竭尽全力, 使本次会议成为融学术交流、继续教育和新技术、新产品展示为一体的学术会议. 欢迎广大从事腹部影像诊断和介入的同道踊跃投稿、报名. 参会者将获得国家 I 类继续教育学分6分.

肝脏屏障功能及其损伤的研究进展

张明, 秦环龙

■背景资料

肝脏是人体最大的腺体也是最大的实质性脏器在人体内扮演着去氧化、储存肝糖、分泌性蛋白质的合成、胆汁的分泌等重要作用。其自身的保护作用也受到大家的瞩目, 肝脏屏障的功能即是保护肝脏免受内毒素、氧化应激、胆汁酸的损害。肝脏屏障主要有3部分: 机械屏障、肝细胞-血液屏障、血液-胆汁屏障。

张明, 秦环龙, 上海交通大学附属第六人民医院外科 上海市 200233

作者贡献分布: 本文由张明综述, 秦环龙审校。

通讯作者: 秦环龙, 教授, 200233, 上海市宜山路600号, 上海交通大学附属第六人民医院普外科. hlqin@sytu.edu.cn

电话: 021-64361349 传真: 021-64368920

收稿日期: 2008-12-21 修回日期: 2009-03-09

接受日期: 2009-03-16 在线出版日期: 2009-04-08

Advances in hepatic barrier function and injury

Ming Zhang, Huan-Long Qin

Ming Zhang, Huan-Long Qin, Department of Surgery, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China

Correspondence to: Professor Huan-Long Qin, Department of Surgery, the Sixth People's Hospital Affiliated to Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200233, China. hlqin@sytu.edu.cn

Received: 2008-12-21 Revised: 2009-03-09

Accepted: 2009-03-16 Published online: 2009-04-08

Abstract

Hepatic barrier is a very important structure to protect hepar, and also considerable to protect liver's function. It can prevent endotoxin and virus from entering hepar to damage hepatocyte. The primary aim of this review is to introduce the research status of hepatic barrier and analyze its function and structure. We also introduce several kinds of factors that can induce the failure of the barrier's structure and function and some countermeasures that can resist this factors.

Key Words: Hepatic barrier; Gap junction; Tight junction; Blood-biliary barrier

Zhang M, Qin HL. Advances in hepatic barrier function and injury. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1008-1013

摘要

肝屏障是保护肝脏的非常重要的结构, 对于维护肝脏正常功能有重要意义。其可阻止内毒素、病毒等进入肝脏损伤肝细胞。本文主要阐述肝屏障的概念, 分析肝屏障的结构与功能,

以及介绍导致肝屏障功能和结构破坏的几种因素和对抗这些因素的对策。

关键词: 肝屏障; 紧密连接; 缝隙连接; 血液-胆汁屏障

张明, 秦环龙. 肝脏屏障功能及其损伤的研究进展. *世界华人消化杂志* 2009; 17(10): 1008-1013

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1008.asp>

0 引言

肝脏作为人体的一个最大的解毒器官, 可以通过结合、氧化、保护性合成等方式使进入体内的毒物解毒, 对人体的整个循环系统起保护作用^[1]。而肝脏本身亦会受到体内和外界的各种因素的影响和破坏。肝屏障就是抵御病毒、细菌、内毒素等对肝脏的损伤, 对于维持肝脏的正常功能起重要作用。肝屏障结构功能较为复杂, 包括细胞-细胞屏障、肝细胞-血液屏障和血液-胆汁屏障; 既要维持肝脏分泌功能, 又要维护胆汁转运及血液与肝细胞间物质交换, 这三种屏障的相互协调正常运作维持了肝脏的正常功能。本综述着重阐述其功能及其损伤的研究进展。

1 肝脏的机械屏障

肝细胞为高度极化的多角形细胞, 细胞核居中, 其顶端分泌区只占细胞表面积10%-15%。细胞膜的主要部分包括朝向肝血窦的基底膜和朝向细胞间隙的外侧膜, 单层肝细胞排列成板状, 两侧为充满血液的窦状隙, 其表面覆盖一层内皮细胞, 窦状隙面(基底侧面)上有许多微绒毛, 相邻肝细胞的顶膜由紧密连接密封形成毛细胆管腔, 毛细胆管经融合后引流到门管区的胆管^[2]。紧密连接作为血液和毛细胆管之间的唯一解剖屏障, 他既限定了一个可使原始胆汁形成于此的空间, 又确定了血液和胆汁之间的屏障通透性, 在控制阻塞性黄疸中胆汁的通透性方面起着决定性作用^[3]。

1.1 紧密连接 哺乳动物细胞间的连接(cell junction)方式有四种: 紧密连接(TJ)、缝隙连接

■同行评议者

秦成勇, 教授, 山东省立医院消化内科

(GJ)、黏附连接(AJ)、桥粒(DS), 这些结构都得到了电子显微镜的证实. TJ是肝细胞连接的最重要形式之一, 其孔径大小为0.8-2 nm, 也是维持组织细胞完整性的最重要结构之一^[4], 其吻合点构成了连续的渔网状结构, 并成为一物理性的屏障可阻止水和溶质等自由通过细胞微孔^[5]. 紧密连接的基本结构由Occludin, Claudin和胞质中的ZO-1构成^[6-7], 这些蛋白依赖钙离子保持黏附, 如果去除细胞外钙离子则连接屏障被破坏. 除上述结构蛋白外, 在TJ周围还有一些蛋白质, 如GTP结合蛋白、Rab3b和13、扣带蛋白、sympleskin、7H6、AF-6、ASIP、非典型蛋白激酶C作用蛋白以及非受体酪氨酸激酶等, 这些蛋白(尤其是富含胆固醇的微结构)与细胞膜发生作用, 并受脂质修饰, 这种富含胆固醇的微结构可影响到TJ功能的发挥. 紧密连接对细胞间隙的通透性起主控作用且受多种方式的调控, 包括酪氨酸激酶系统、蛋白激酶C(PKC)、Ca²⁺、cAMP、磷脂酶C和G蛋白^[8-9].

1.2 紧密连接中主要屏障蛋白 Occludin和Claudin都为跨膜蛋白, 在肝脏紧密连接中有特定的集中表达^[10]. Claudin蛋白由多基因家族组成, 包含有24个成员参与TJ的组成^[11]. Van Itallie *et al*^[12]研究发现Claudin蛋白控制着屏障和其选择性. Higashi *et al*^[13]研究发现Claudin-1蛋白的表达减少与肝细胞癌的低分化与浸润有关, 其表达减少可作为肝细胞癌预后不好的潜在指标. ZO蛋白属于膜相关的鸟苷酸激酶(MAGUK)家族, 有三种异构体ZO-1、ZO-2、ZO-3, 这些蛋白可能具有结构和信号传导的双重功能^[14]. ZO-1蛋白的C末端可接合肌动蛋白和应激纤维, 将Occludin蛋白和肌动蛋白骨架系统连接在一起, 构成稳定的连接系统. 最近的研究显示Claudins聚集到紧密连接需要依靠ZO-1和ZO-2^[15], 在胆管结扎(BDL)后肝细胞的ZO-1、ZO-2都有增量调节且ZO-2最为明显, 静脉周围的紧密连接网络系统被彻底改变且至少有部分的ZO-1蛋白被ZO-2蛋白取代, 这些变化的确切原理尚不清楚^[3].

缝隙连接的范围占肝细胞总表面积超过3%, 其中Cx32(缝隙连接蛋白)、Cx43、Cx26是肝细胞缝隙连接的重要组成蛋白, Cx43是最突出的一个^[16]. 同效价基因连接组成的Cx32对cAMP和cGMP都具有通透性, 而非同效价基因组成的Cx32和Cx26对cAMP失去通透性但对cGMP没有变化^[17]. 用蓝菌素破坏高尔基体

后对Cx26运送到质膜的影响很小, 相反却破坏了Cx32的转运作用^[18], 这说明了在胞膜上转运Cx26的通道是在高尔基体系统之外的通路, 而Cx32的转运则是经典的途径(内质网-内囊-高尔基体-质膜)^[19].

2 肝细胞-血液屏障

肝血窦由肝脏的毛细血管组成, 其内有肝非实质细胞、包括肝窦内皮细胞(LSEC), 枯否细胞等, 并通过血管周围淋巴间隙(Disse间隙)^[20]与肝细胞分离. 肝窦表面的内皮细胞构成肝窦的壁并封闭Disse间隙, 具有直径大约150-175 nm的孔隙^[21-22], 整个窗孔面积约占内皮细胞表面积的6%-8%^[23]. 肝窦内皮细胞形成的内皮细胞网络既是肝细胞与血液之间的屏障. 总的来说LSEC有以下功能: (1)当物质从血液到肝实质细胞时作为“选择性筛网”, 反之亦然. (2)作为“净化剂系统”清除血液中不同组织代谢的大分子废弃物^[24].

2.1 LSEC的选择性筛网作用 肝窦内皮细胞无基底膜, 无细胞间的连接, 内皮细胞的孔隙聚集称筛板. LSEC成群的筛孔可视为动态的过滤器^[23], 可在窦状隙和Disse间隙间滤过液体溶质和颗粒物, 且只允许比窗孔小的颗粒到达肝实质细胞或Disse间隙内. 实验中即使是小于15 nm的蛋白包裹的金颗粒, 仍不能自由通过LSEC的窗孔与肝细胞接触^[25]. 由静脉注入的金颗粒仅能在LSEC的表面观察到, 他们绝不会到达Disse间隙和肝窦的细胞侧. LSEC另外一个特征性功能是内含大量的微胞饮小泡, 细胞核周围含有一些溶酶体样空泡, 后者通过受体介导的胞转作用和胞吞作用从血液中摄取多种物质, 说明其具有一定的清除能力^[26].

2.2 LSEC对大分子物质的清除 LSEC具有很高的胞吞能力, 其胞质中含有大量的硬膜包被的微胞饮小泡和微囊泡^[27]. 如静脉内注射二氧化钍颗粒则大部分被微囊泡吸收. LSEC不仅可通过受体介导的胞吞作用从血液循环中清除大量的可溶性废弃物, 而且可吸收非生理修饰的血清蛋白等大分子物质, 包括乙酰化低密度脂蛋白、甲醛处理的血清白蛋白^[24].

细胞外基质的主要成分也主要由LSEC内吞清除. LSEC表面有两种分别为175 kDa和300 kDa的透明质酸受体^[28]. 胶原等细胞外基质成分也通过肝血流而由内皮细胞清除. I型胶原主要通过LSEC的内吞作用清除, 但其受体尚不清

■ 研发前沿

如何增强肝脏的自我保护功能一直是当前研究的热点. 而肝脏所具有的多个屏障通过相互之间的协作保护肝脏, 但目前对肝脏屏障的具体组成仍未有达成共识.

■ 相关报道

Takashi *et al*研究了肝脏中血液和胆汁之间的屏障作用, 包括肝细胞之间的紧密连接和缝隙连接组成及特点, 其共同组成的混合体阻止了胆汁漏出到血液, 维持肝脏正常生理功能.

■创新盘点

本文综述了肝脏屏障的具体组成, 探讨其功能状态, 分析屏障收到损伤的机制及保护屏障功能的几种对策, 重点介绍了屏障的组成成分, 在其他文献中还没有具体的总结出其组成。

楚, 可是LSEC在变性胶原的清除中起的重要作用不容忽视^[29]。

在肝脏、血中的抗原主要由LSEC表面受体介导的内吞清除, 肝窦内皮细胞受体介导的内吞作用中大分子受体有透明质酸受体、 α 链胶原受体、清道夫受体、甘露醇受体, 配体有透明质酸、硫酸盐软骨素、 α 链胶原、氨基末端前胶原(I、II型)、羟基末端前胶原I型。其能表达多种抗原提呈所需的分子如CD54、CD80、CD86、CD40、MHC I类和II类抗原, 并对CD4⁺T和CD8⁺T细胞行使抗原提呈功能。

3 血液-胆汁屏障

肝脏细胞通过紧密连接连接在一起形成细胞板, 值得注意的是紧密连接还作为屏障使胆汁在胆小管内与血液循环分离, 因此视紧密连接为肝脏的血液-胆汁屏障是非常合理的^[16]。但是另一方面肝细胞的缝隙连接可通过其控制细胞间的通讯功能, 有序地收缩肝脏中的胆小管。缝隙连接和紧密连接在肝脏分泌胆汁中起到极其重要的作用, 缝隙连接控制了细胞间的通讯系统, 紧密连接严格密封胆小管确保胆汁无漏出。在肝内胆汁淤积中缝隙和紧密连接的功能都受到影响, 可导致细胞间信号传递受阻^[30]、紧密连接出现漏隙^[31], 肌动肌球蛋白束解聚致小管膜丧失完整性, 皱缩功能出现障碍^[32], 最终导致阻黄时胆管膨胀。因此血液与胆汁间屏障与缝隙连接也息息相关。

肝细胞间的紧密连接围绕在胆小管周围封闭了细胞旁空间, 维持细胞的极性, 紧密连接的功能是在水和溶质进入或漏出胆小管时提供较高的抗性阻碍(这阻力用电流来测量大概有50千欧姆^[33]), 在胆小管周围紧密连接的高表达形成了一个牢固的渗透性屏障, 因此在这个细胞间的区域里允许高浓度的胆汁分泌。胆汁在胆小管内流动需要小管周期性的收缩, 细胞间收缩信号是由缝隙连接通道传递。在实验大鼠肝脏中, 由胰高血糖素和抗利尿激素引起的胆汁分泌可以被缝隙连接的通讯通道调控^[34]。

3.1 缝隙和紧密连接与肌动蛋白丝的相互关系
在肝细胞中缝隙连接与紧密连接是相关的(在冷冻断裂电镜中缝隙连接被观测到密布于紧密连接周围或紧密连接网络的内部), 在大鼠肝细胞的原代培养中Cx32与Occludin和Claudin-1蛋白部分共区域化形成紧密连接的基本结构^[31]。为了检测缝隙连接蛋白对紧密连接表达和结构

的作用, Kojima *et al*将人类的Cx32的cDNA转录到Cx32基因被敲除的小鼠肝细胞基因片段(CHST8细胞)中^[35], 在转染子Cx32中诱导的紧密连接条带和主要的紧密连接蛋白Occludin、Claudin都能被发现。小的缝隙连接也出现在诱导的紧密连接条带内部, 在转染子内诱导的内源性Occludin蛋白与外源性Cx32蛋白相互结合。而且紧密连接的结构及屏障功能在Cx32转染子中都增强了。这说明缝隙连接和紧密连接在肝细胞中是密切相关的, 可见缝隙连接通过调节紧密连接蛋白, 在建立细胞极性中起到了重要作用。更重要的是现在研究证实Occludin和Cx32有直接的联系, 这说明缝隙连接蛋白与紧密连接蛋白间有特异的选择性^[36]。经证实, 通过这些蛋白与细胞支架、信号蛋白间的连接, 不同的缝隙连接蛋白会促进特定的缝隙连接蛋白支架聚集在结合部位, 提供不仅是细胞间还有细胞内部的信号传导^[37]。在电镜中, 肌动蛋白丝集中在近胞质的紧密连接部位, 一些整体的和外周的紧密连接蛋白与肌动蛋白丝相连在电镜中也被观察到^[38]。ZO-1和ZO-2也与肌动蛋白丝相连, 说明紧密连接在形成肌动蛋白细胞骨架中起一定作用。缝隙连接也与肌动蛋白丝相关联。研究证明肝细胞中新的联系通过组建肌动蛋白细胞骨架存在于缝隙连接和细胞形态之间。

3.2 信号传导
在信号传导途径中, 细胞分裂素活化蛋白激酶、磷酸肌醇3激酶信号级联放大系统, 调节多种细胞进程包括增值、分化、转化^[39]。缝隙和紧密连接在细胞间和细胞内的信号传导中起到一定作用。最近研究表明生长因子(表皮生长因子和转化生长因子 β)或致炎性细胞因子(IL-1 β)可通过信号传导途径引起Cx32和Claudin-1的减量调节或Claudin-2的增量调节, 例如细胞分裂素活化蛋白激酶(MAP)、P38MAP激酶、磷酸肌醇3激酶(PI3)。因此在胆汁淤积的肝细胞中损坏的缝隙连接和有漏隙的紧密连接可能由不同的生长因子和促炎性细胞因子通过信号途径引起^[16]。

4 影响屏障结构的因素

4.1 肝外组织损伤对肝脏影响
多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)一种常见的引起患者死亡的疾病, 其产生的全身炎症反应失调最终导致多器官大量的实质细胞功能障碍, 紧密连接结构和功能的破坏可能是导致肝脏等器官损伤的主要因素^[40]。肺

瘤坏死因子(tumor necrosis factor- α , TNF- α)和白介素-10(interleukin-10, IL-10)是非常重要的炎症因子. 肝脏富含TNF- α 受体, 是TNF- α 作用的主要靶器官, TNF- α 的过表达可引起大量肝细胞的炎性坏死, 其通过抑制细胞间紧密连接蛋白ZO-1表达引起紧密连接破坏, 并且通过抑制ZO-1 mRNA引起细胞ZO-1蛋白表达降低. IL-10作为抑炎因子可抑制NF- κ B的作用以及趋化性细胞因子、胞间黏附分子的表达, 减轻肝脏损伤. 临床有很多疾病会导致MODS, 如肝脏缺血再灌注损伤、急性胰腺炎等, 从而引起肝脏损伤导致肝屏障功能的破坏.

肝脏缺血再灌注损伤(hepatic ischemia reperfusion injury, HIRI)是指肝脏缺血重获血流灌注或氧供后, 肝脏损伤会在缺血缺氧损伤的基础上加重^[41]. 其损伤主要有代谢障碍, 氧化应激和炎症介质作用有关. P38信号转导途径的激活可能是导致离体肝缺血再灌注损伤的重要机制^[42], TNF- α 和IL-10是主要致病因素.

急性胰腺炎(acute pancreatitis, AP)^[43]尤其是重症急性胰腺炎临床表现凶险, 并发症多, 早期死亡的主要原因是心、肝、肾、等多器官功能障碍, 许多研究证实胰酶对胰腺组织的损伤并诱导细胞因子的释放是导致MODS的主要原因. AP患者出现MODS时, 肝脏最早受累, 也是常见受累脏器, 重症胰腺炎患者肝功能损害更明显, 与轻症相比差异有显著性.

4.2 肝脏实质细胞病变 脂肪肝目前已成为肝功能异常最常见的病因之一. 一旦肝脏脂肪化, 肝细胞对氧化攻击非常敏感, 研究认为, 氧化攻击是脂肪肝转变为肝细胞脂肪变性肝炎的重要因素^[44]. 在脂肪氧化代谢过程中, 产生大量活泼氧自由基(ROS), 为防止氧化攻击的发生, 通常肝细胞内存在大量抗氧化剂与之维持平衡, 一旦平衡被打破, ROS可引发脂质过氧化诱导产生并释放各种细胞因子, 例如核转录因子NF- κ B、TNF- α 等导致细胞屏障的破坏或引起凋亡坏死. 肝纤维化, 是在各种慢性肝病进展中肝内纤维生成和降解失去平衡, 使过多的胶原在肝内沉积所致, 常伴有炎症, 并可发展为肝硬化. 其形成的病因有病毒性肝炎、酒精性肝病、血吸虫病等. 在肝纤维化的发展中窦状隙会获得体循环毛细血管的一些解剖特点, 即Disse间隙变宽并有胶原基底膜物质沉淀、内皮孔隙变小且少、肝细胞微绒毛变得不明显^[45], 这些改变称为肝窦毛细血管化破坏了肝细胞-血液屏障, 直接

影响到肝细胞摄取物质降低肝脏的功能. 肝窦毛细血管化减弱了肝细胞和血液之间的氧和营养物质的交换, 最终导致肝细胞萎缩和肝窦塌陷, 而肝细胞的损伤会促使Disse间隙细胞外基质进一步沉积, 加重肝纤维化向肝硬化转变, 从而造成恶性循环^[46].

4.3 肝外胆管病变 肝外胆管病变有很多种类, 如胆道结石、胆管肿瘤、胆管炎等, 引起肝脏最常见的病变即为阻塞性黄疸(obstructive jaundice, OJ). 胆汁酸的毒性是导致肝脏损伤和肝功能受损的主要因素, 这与细胞能量衰竭及氧自由基的作用有关. 实验中阻黄大鼠模型肠道内丙二醛水平升高, 超氧化物歧化酶水平降低, 肠黏膜厚度及肠绒毛高度均降低, 说明阻黄时大鼠肠道存在过氧化损伤引起组织结构破坏削弱了屏障功能. 阻黄时肠黏膜屏障产生破坏导致细菌和内毒素进入到门脉系统和肠系膜淋巴结, 肝脏网状内皮系统和免疫系统受损允许细菌和内毒素“漏出”到体循环即产生细菌移位(BT)^[47]. 随着BT而产生的多种细胞因子和炎症介质的释放会导致败血症, 多器官功能衰竭. 阻黄时胆汁酸进入细胞, 抑制线粒体的氧化磷酸化, 细胞内ATP合成下降, 钙泵失活; 同时细胞膜对钙离子的通透性增加^[48], 在钙离子和钙调蛋白存在下, 肌球蛋白轻链激酶对肌球蛋白轻链进行磷酸化作用, 诱导连接周围的肌动蛋白和肌球蛋白丝收缩, 对紧密连接和细胞表面产生张力, 开放紧密连接. 同时紧密连接蛋白ZO-1和Occludin表达下降, 且分布紊乱破坏了紧密连接的屏障功能.

5 保护屏障功能对策

对肝屏障造成损害的因素很多, 目前对其治疗和保护的措施也有很大的进展, 现简要论述一下.

鉴于外科感染是引起MODS的重要原因, 防治感染对预防MODS有非常重要的作用. 在感染控制的情况下在进行不同器官的对症治疗. n-3脂肪酸可以抑制肝脏及肝外组织TNF- α 的释放并可以减轻预防大鼠MODS的发生.

脂肪肝, 生活方式干预是成功治疗的主要方法, 包括减少碳水化合物和饱和脂肪酸的摄入, 有规律进行减轻体质量的物理锻炼. 重度肥胖的脂肪肝患者通过胃成形术后引起适度或过度减重改善了糖尿病、肝功能和肝脏组织学改变(炎症反应和纤维化), 但外科手术应个体化. 降脂药物阿伐他汀等治疗也有显著效果.

■应用要点

本文对肝脏屏障的结构、功能、损伤机制及保护措施进行了全面的论述, 为进一步加强对肝脏保护提供了一个新的研究方向.

■名词解释

肝屏障:是保护肝脏的重要结构包括机械屏障、肝细胞-血液屏障、血液-胆汁屏障几个部分,可阻止内毒素、病毒等进入肝脏损伤肝细胞。

肝纤维化在我国主要是由慢性肝炎造成.干扰素(Interferon, IFN)- α 、拉米夫定、阿德福韦等是目前临床上广泛应用的抗肝炎病毒药物.用拉米夫定治疗3年后,大多数患者肝脏炎症活动度下降,肝纤维化发生逆转^[49]. IFN-B、血管紧张素转换酶抑制剂、18 β -甘草次酸的靶向治疗、转化生长因子- β 1、血小板源生长因子等细胞因子的受体阻断剂等均可显著减轻实验性肝纤维化,但这些治疗策略仍处于实验阶段,距离临床应用还有较长的过程.

阻塞性黄疸对肝细胞造成的损害有多种方法可以治疗,目前最直接也是最主要的是解除胆道梗阻.经皮肝胆管引流术(percutaneous transhepatic biliary drainage, PTBD)用来减轻恶性阻塞的胆道梗阻已经被证明是安全有效的方法^[50]. Vassilios *et al*给阻黄大鼠口服谷氨酰胺作为主要营养剂发现其在全身循环系统中显著的减少了细菌移位和内毒素水平,且降低了肝细胞的凋亡,说明在实验水平谷氨酰胺对肝脏的恢复有很大帮助^[51]. N-乙酰半胱氨酸(NAC)谷胱苷肽的前体,别嘌呤醇,维生素E等都具有一定的保肝抗氧化作用. Kilicoglu *et al*^[52]发现蜂蜜在阻黄患者中也具有抗组织氧化的能力还可以通过增强免疫功能来抵抗炎症因子引起的肝组织损伤.

6 结论

本文总结了关于肝屏障的一些结构特点和功能作用,在掌握其结构的基础上分析引起屏障损伤的因素及治疗方法可以更好的保护屏障功能.在以后的工作中还要加深对屏障保护方法的研究,从而为肝脏疾病的治疗提出新的观点和方法.

7 参考文献

- Gao B, Jeong WI, Tian Z. Liver: An organ with predominant innate immunity. *Hepatology* 2008; 47: 729-736
- Theise ND, Saxena R, Portmann BC, Thung SN, Yee H, Chiriboga L, Kumar A, Crawford JM. The canals of Hering and hepatic stem cells in humans. *Hepatology* 1999; 30: 1425-1433
- Maly IP, Landmann L. Bile duct ligation in the rat causes upregulation of ZO-2 and decreased colocalization of claudins with ZO-1 and occludin. *Histochem Cell Biol* 2008; 129: 289-299
- Mitic LL, Anderson JM. Molecular architecture of tight junctions. *Annu Rev Physiol* 1998; 60: 121-142
- Anderson JM, Van Itallie CM. Tight junctions and the molecular basis for regulation of paracellular permeability. *Am J Physiol* 1995; 269: G467-G475
- Kojima T, Murata M, Go M, Spray DC, Sawada N. Connexins induce and maintain tight junctions in epithelial cells. *J Membr Biol* 2007; 217: 13-19
- Mitic LL, Van Itallie CM, Anderson JM. Molecular

- physiology and pathophysiology of tight junctions I. Tight junction structure and function: lessons from mutant animals and proteins. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2000; 279: G250-G254
- Balda MS, Gonzalez-Mariscal L, Matter K, Cerejido M, Anderson JM. Assembly of the tight junction: the role of diacylglycerol. *J Cell Biol* 1993; 123: 293-302
 - Madara JL, Parkos C, Colgan S, Nusrat A, Atisook K, Kaoutzani P. The movement of solutes and cells across tight junctions. *Ann N Y Acad Sci* 1992; 664: 47-60
 - Furuse M, Fujita K, Hiragi T, Fujimoto K, Tsukita S. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. *J Cell Biol* 1998; 141: 1539-1550
 - Morita K, Furuse M, Fujimoto K, Tsukita S. Claudin multigene family encoding four-transmembrane domain protein components of tight junction strands. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 511-516
 - Van Itallie CM, Anderson JM. Claudins and epithelial paracellular transport. *Annu Rev Physiol* 2006; 68: 403-429
 - Higashi Y, Suzuki S, Sakaguchi T, Nakamura T, Baba S, Reinecker HC, Nakamura S, Konno H. Loss of claudin-1 expression correlates with malignancy of hepatocellular carcinoma. *J Surg Res* 2007; 139: 68-76
 - Fanning AS, Mitic LL, Anderson JM. Transmembrane proteins in the tight junction barrier. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1337-1345
 - Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, Furuse K, Sasaki H, Nakayama M, Matsui T, Tsukita S, Furuse M, Tsukita S. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation. *Cell* 2006; 126: 741-754
 - Kojima T, Yamamoto T, Murata M, Chiba H, Kokai Y, Sawada N. Regulation of the blood-biliary barrier: interaction between gap and tight junctions in hepatocytes. *Med Electron Microsc* 2003; 36: 157-164
 - Bevans CG, Kordel M, Rhee SK, Harris AL. Isoform composition of connexin channels determines selectivity among second messengers and uncharged molecules. *J Biol Chem* 1998; 273: 2808-2816
 - Evans WH, Ahmad S, Diez J, George CH, Kendall JM, Martin PE. Trafficking pathways leading to the formation of gap junctions. *Novartis Found Symp* 1999; 219: 44-54; discussion 54-59
 - Lee SW, Tomasetto C, Paul D, Keyomarsi K, Sager R. Transcriptional downregulation of gap-junction proteins blocks junctional communication in human mammary tumor cell lines. *J Cell Biol* 1992; 118: 1213-1221
 - Wisse E, De Zanger RB, Charels K, Van Der Smissen P, McCuskey RS. The liver sieve: considerations concerning the structure and function of endothelial fenestrae, the sinusoidal wall and the space of Disse. *Hepatology* 1985; 5: 683-692
 - Braet F, Spector I, De Zanger R, Wisse E. A novel structure involved in the formation of liver endothelial cell fenestrae revealed by using the actin inhibitor misakinolide. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998; 95: 13635-13640
 - Braet F, Spector I, Shochet N, Crews P, Higa T, Menu E, de Zanger R, Wisse E. The new anti-actin agent dihydrohalichondramide reveals fenestrae-forming centers in hepatic endothelial cells. *BMC*

- Cell Biol* 2002; 3: 7
- 23 Braet F, Wisse E. Structural and functional aspects of liver sinusoidal endothelial cell fenestrae: a review. *Comp Hepatol* 2002; 1: 1
- 24 Smedsrød B, De Bleser PJ, Braet F, Loviseti P, Vanderkerken K, Wisse E, Geerts A. Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut* 1994; 35: 1509-1516
- 25 Fraser R, Dobbs BR, Rogers GW. Lipoproteins and the liver sieve: the role of the fenestrated sinusoidal endothelium in lipoprotein metabolism, atherosclerosis, and cirrhosis. *Hepatology* 1995; 21: 863-874
- 26 Smedsrød B, De Bleser PJ, Braet F, Loviseti P, Vanderkerken K, Wisse E, Geerts A. Cell biology of liver endothelial and Kupffer cells. *Gut* 1994; 35: 1509-1516
- 27 Smedsrød B, Pertoft H, Gustafson S, Laurent TC. Scavenger functions of the liver endothelial cell. *Biochem J* 1990; 266: 313-327
- 28 Weigel JA, Weigel PH. Characterization of the recombinant rat 175-kDa hyaluronan receptor for endocytosis (HARE). *J Biol Chem* 2003; 278: 42802-42811
- 29 Seternes T, Sørensen K, Smedsrød B. Scavenger endothelial cells of vertebrates: a nonperipheral leukocyte system for high-capacity elimination of waste macromolecules. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002; 99: 7594-7597
- 30 Fallon MB, Nathanson MH, Mennone A, Sáez JC, Burgstahler AD, Anderson JM. Altered expression and function of hepatocyte gap junctions after common bile duct ligation in the rat. *Am J Physiol* 1995; 268: C1186-C1194
- 31 Takakuwa Y, Kokai Y, Sasaki K, Chiba H, Tobioka H, Mori M, Sawada N. Bile canalicular barrier function and expression of tight-junctional molecules in rat hepatocytes during common bile duct ligation. *Cell Tissue Res* 2002; 307: 181-189
- 32 Song JY, Van Noorden CJ, Frederiks WM. Rearrangement of hepatocellular F-actin precedes the formation of rosette-like structures in parenchyma of cholestatic rat liver. *Hepatology* 1998; 27: 765-771
- 33 Graf J, Gautam A, Boyer JL. Isolated rat hepatocyte couplets: a primary secretory unit for electrophysiologic studies of bile secretory function. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1984; 81: 6516-6520
- 34 Nathanson MH, Rios-Velez L, Burgstahler AD, Mennone A. Communication via gap junctions modulates bile secretion in the isolated perfused rat liver. *Gastroenterology* 1999; 116: 1176-1183
- 35 Kojima T, Spray DC, Kokai Y, Chiba H, Mochizuki Y, Sawada N. Cx32 formation and/or Cx32-mediated intercellular communication induces expression and function of tight junctions in hepatocytic cell line. *Exp Cell Res* 2002; 276: 40-51
- 36 Giepmans BN, Moolenaar WH. The gap junction protein connexin43 interacts with the second PDZ domain of the zona occludens-1 protein. *Curr Biol* 1998; 8: 931-934
- 37 Spray DC, Duffy HS, Scemes E. Gap junctions in glia. Types, roles, and plasticity. *Adv Exp Med Biol* 1999; 468: 339-359
- 38 Tsukita S, Furuse M, Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 2001; 2: 285-293
- 39 Cobb MH, Hepler JE, Cheng M, Robbins D. The mitogen-activated protein kinases, ERK1 and ERK2. *Semin Cancer Biol* 1994; 5: 261-268
- 40 Fink MP, Delude RL. Epithelial barrier dysfunction: a unifying theme to explain the pathogenesis of multiple organ dysfunction at the cellular level. *Crit Care Clin* 2005; 21: 177-196
- 41 Serafín A, Fernández-Zabalegui L, Prats N, Wu ZY, Roselló-Catafau J, Peralta C. Ischemic preconditioning: tolerance to hepatic ischemia-reperfusion injury. *Histol Histopathol* 2004; 19: 281-289
- 42 Jiang Y, Gram H, Zhao M, New L, Gu J, Feng L, Di Padova F, Ulevitch RJ, Han J. Characterization of the structure and function of the fourth member of p38 group mitogen-activated protein kinases, p38delta. *J Biol Chem* 1997; 272: 30122-30128
- 43 Kingsnorth A. Role of cytokines and their inhibitors in acute pancreatitis. *Gut* 1997; 40: 1-4
- 44 Angulo P, Lindor KD. Non-alcoholic fatty liver disease. *J Gastroenterol Hepatol* 2002; 17 Suppl: S186-S190
- 45 Cogger VC, Warren A, Fraser R, Ngu M, McLean AJ, Le Couteur DG. Hepatic sinusoidal pseudocapillarization with aging in the non-human primate. *Exp Gerontol* 2003; 38: 1101-1107
- 46 Lu X, Liu P, Liu C, Xu G, Wang X, Chen W, Li F. [Role of hepatic sinusoidal endothelium injury in hepatic fibrogenesis induced by dimethylnitrosamine in rats] *Zhonghua Ganzhangbing Zazhi* 2002; 10: 441-444
- 47 Deitch EA, Sittig K, Li M, Berg R, Specian RD. Obstructive jaundice promotes bacterial translocation from the gut. *Am J Surg* 1990; 159: 79-84
- 48 Rolo AP, Palmeira CM, Wallace KB. Mitochondrially mediated synergistic cell killing by bile acids. *Biochim Biophys Acta* 2003; 1637: 127-132
- 49 van Zonneveld M, Zondervan PE, Cakaloglu Y, Simon C, Akarca US, So TM, Flink HJ, de Man RA, Schalm SW, Janssen HL. Peg-interferon improves liver histology in patients with HBeAg-positive chronic hepatitis B: no additional benefit of combination with lamivudine. *Liver Int* 2006; 26: 399-405
- 50 van Delden OM, Laméris JS. Percutaneous drainage and stenting for palliation of malignant bile duct obstruction. *Eur Radiol* 2008; 18: 448-456
- 51 Margaritis VG, Filos KS, Michalaki MA, Scopa CD, Spiliopoulou I, Nikolopoulou VN, Vagianos CE. Effect of oral glutamine administration on bacterial translocation, endotoxemia, liver and ileal morphology, and apoptosis in rats with obstructive jaundice. *World J Surg* 2005; 29: 1329-1334
- 52 Kilicoglu B, Gencay C, Kismet K, Serin Kilicoglu S, Erguder I, Erel S, Sunay AE, Erdemli E, Durak I, Akkus MA. The ultrastructural research of liver in experimental obstructive jaundice and effect of honey. *Am J Surg* 2008; 195: 249-256

■同行评价

本文选题尚可, 内容丰富, 参考文献引用合理, 具有一定的可读性。

编辑 李军亮 电编 何基才

天晴甘平减轻急性肝衰竭小鼠肝细胞损伤的机制

刘凤超, 贺永文, 喻佛定

■背景资料

急性肝衰竭死亡率
率高, 治疗效果不
够理想, 这与其肝
细胞损伤机制未
被阐明有关. 研究
急性肝衰竭肝细
胞的损伤机制及
一些有效药物的
作用机制对寻找
到更有效的治疗
手段具有非常重
要的意义.

刘凤超, 贺永文, 喻佛定, 华中科技大学同济医学院附属协和
和医院感染科 湖北省武汉市 430022

作者贡献分布: 此课题由贺永文指导, 刘凤超设计; 研究过程由
刘凤超与喻佛定共同完成; 数据分析由刘凤超完成; 本文写作由
刘凤超完成.

通讯作者: 贺永文, 教授, 430022, 湖北省武汉市解放大道1277
号, 武汉市协和医院感染科. hyw581441@yahoo.com.cn
电话: 027-85726760

收稿日期: 2009-03-19 修回日期: 2009-03-25

接受日期: 2009-03-30 在线出版日期: 2009-04-08

Mechanism of diammonium glycyrrhizinate enteric-coated capsules in alleviating hepatocytic injury in mice with acute liver failure

Feng-Chao Liu, Yong-Wen He, Fo-Ding Yu

Feng-Chao Liu, Yong-Wen He, Fo-Ding Yu, Department of
Infectious Diseases, Union Hospital, Tongji Medical
College, Huazhong University of Science and Technology,
Wuhan 430030, Hubei Province, China

Correspondence to: Professor Yong-Wen He, Department
of Infectious Diseases, Wuhan Union Hospital, 1277 Jiefang
Avenue, Wuhan 430030, China. hyw581441@yahoo.com.cn
Received: 2009-03-19 Revised: 2009-03-25

Accepted: 2009-03-30 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To investigate the mechanism of Diammonium Glycyrrhizinate Enteric-coated Capsules in alleviating hepatocytic injury in mice with acute liver failure.

METHODS: Fifty-four healthy female Kunming white mice were randomly divided into 3 groups: experimental group, control group, normal control group ($n = 18$ in each group). The mice were injected intraperitoneally with D-Galactosamine (D-galn) and lipopolysaccharide (LPS) to create the mouse model of acute liver failure. Three hours prior to the injection, the experimental group were intragastrically administered Diammonium Glycyrrhizinate Enteric-coated Capsules. Comet assay was performed to detect DNA damages of hepatocytes of the mice at different time points after injection.

RESULTS: Oliver tail moment values of both

experimental group and control group began to increase over time 0.5 h after the injection and they were significantly greater than that of the normal control group (0.5 h: 3.95 ± 1.42 , 4.79 ± 1.62 vs 0.95 ± 0.56 , both $P < 0.05$). The Oliver tail moment of the experimental group was significantly less than that of control group (0.5-8 h: 10.81 ± 2.85 vs 19.36 ± 3.95 , $P < 0.05$).

CONCLUSION: One cause for the damages of hepatocytes of mice with acute liver failure may be the DNA damage of their nuclei, and Diammonium Glycyrrhizinate Enteric-coated Capsules can alleviate the damage to hepatocyte nuclear DNA in mice with acute liver failure.

Key Words: Acute liver failure; Diammonium Glycyrrhizinate Enteric-coated Capsules; Comet assay; Oliver tail moment

Liu FC, He YW, Yu FD. Mechanism of diammonium glycyrrhizinate enteric-coated capsules in alleviating hepatocytic injury in mice with acute liver failure. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1014-1017

摘要

目的: 探讨天晴甘平减轻急性肝衰竭肝细胞损伤的机制.

方法: 54只健康雌性昆明小白鼠随机分为实验组、对照组、正常对照组3组, 每组18只. 腹腔注射D-氨基半乳糖(D-galn)和脂多糖(LPS)制作急性肝衰竭模型. 注射前3 h, 实验组给予天晴甘平灌胃, 分别于注射后不同时间点用彗星实验检测肝细胞核DNA的损伤.

结果: 实验组和对照组的Olive尾矩值在0.5 h即开始增大, 且随时间延伸逐渐增加, 与正常对照组比较, 差异均具显著意义(0.5 h: 3.95 ± 1.42 , 4.79 ± 1.62 vs 0.95 ± 0.56 , 均 $P < 0.05$); 实验组与对照组比较, 实验组Olive尾矩值明显变小, 差异亦具显著意义(0.5-8 h: 10.81 ± 2.85 vs 19.36 ± 3.95 , $P < 0.05$).

结论: 急性肝衰竭小鼠肝细胞损伤的发生机制之一为肝细胞核DNA的损伤, 天晴甘平具

■同行评议者

党双锁, 教授, 西安交通大学第二医院感染科; 陈耀凯, 副教授, 中国人民解放军第三军医大学西南医院全军感染病研究所

有减轻急性肝衰竭小鼠肝细胞核DNA损伤的作用.

关键词: 急性肝衰竭; 天晴甘平; 彗星实验; Olive尾矩值

刘凤超, 贺永文, 喻佛定. 天晴甘平减轻急性肝衰竭小鼠肝细胞损伤的机制. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1014-1017
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1014.asp>

0 引言

天晴甘平为甘草酸二铵肠溶胶囊, 是中药甘草有效成分的第3代提取物与卵磷脂的混合物, 具有较强的抗炎护肝作用, 可用于急性肝衰竭的治疗^[1]. 急性肝衰竭的主要病理变化之一是肝细胞的大量凋亡^[2-4], 而细胞凋亡可以由细胞核内DNA的损伤诱发^[5]. 急性肝衰竭早期是否存在肝细胞核的DNA损伤, 及天晴甘平是否具有减轻急性肝衰竭肝细胞核DNA损伤并进而起到护肝的作用尚无相关研究报道.

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级健康昆明小白鼠54只, ♀, 体质量 25 ± 3 g, 由华中科技大学同济医学院实验动物中心提供. 甘草酸二铵(商品名: 天晴甘平, 胶囊, 批号080322)系江苏正大天晴药业股份有限公司生产; DYY-III 7型电泳仪系北京市六一仪器厂产品; 荧光显微镜和荧光数码显微成像系统系日本Olympus公司产品; 脂多糖(LPS)、D-氨基半乳糖(D-galn)、正常熔点琼脂糖(NMPA)、低熔点琼脂糖(LMPA)、溴化乙锭(EB)购于武汉凌飞生物技术有限公司; CASP软件系从www.casp.of.pl下载(网络免费使用).

1.2 方法

1.2.1 分组: 将昆明小白鼠54只随即分为实验组、对照组、正常对照组3组, 每组18只, 全部饲养于室温、湿润、通风良好的状态下, 普通饲料喂养2 d. 实验前动物禁食12 h, 不禁水.

1.2.2 造模及给药: 实验组每只按50 mg/kg灌胃给予生理盐水溶解的天晴甘平, 对照组、正常对照组灌胃给予相同体积的生理盐水. 至灌胃后3 h, 实验组、对照组于清醒状态下按600 mg/kg ip D-Galn的生理盐水溶液后再按20 μ g/kg ip LPS生理盐水溶液; 正常对照组每只ip同等量生理盐水. 注射后小鼠放回笼中继续饲养, 并开始计时.

1.2.3 标本采集及处理: 分别于注射后0.5、1、

2、4、6、8 h每组各3只经颈椎脱臼法处死, 固定于解剖板上, 碘酒消毒后沿腹中线打开腹腔, 每只取重约1.5 g的中央肝组织1块, 尽量剔除结缔组织后放入置于冰块上的培养皿内, PBS冲洗2次, 眼科剪剪碎, 加入2.5 g/L胰酶4.5 mL后, 将培养皿放入37℃温箱内消化30 min. 取出培养皿, 加入100 g/L的小牛血清4.5 mL终止消化, 再将已消化的细胞悬液倾入垫有4层纱布的玻璃漏斗, 过滤入15 mL的离心管内, 4℃, 1000 r/min, 离心10 min, 弃上清, 加入PBS 5 mL后, 将离心管置于旋涡式混悬器上将沉淀的细胞经振荡溶解成细胞悬液. 取100 μ L细胞悬液与100 μ L 0.4% 胎盼蓝液混匀后注入细胞计数板, 显微镜下计数细胞. 将细胞悬液用PBS按比例稀释成 1.0×10^{10} 个细胞/L. 取1 mL上述稀释后的细胞悬液注入EP管, 1000 r/min, 离心10 min, 弃上清. 迅速注入37℃的0.7% LMPA PBS溶液200 μ L, 混匀, 制备成细胞悬液, 立即进行细胞核DNA损伤检测.

1.2.4 DNA损伤的检测: 肝细胞核DNA损伤的检测采用彗星实验, 按文献报道的方法进行并加以改进^[6]. 滴加80 μ L 50℃的1% NMPA PBS溶液于磨砂玻片的一端, 将胶迅速铺开、晾干后, 滴加80 μ L 37℃的0.5% LMPA PBS溶液于第一层胶上, 4℃, 放置约10 min, 再滴加80 μ L上述细胞悬液于第二层胶上, 4℃, 放置15 min. 将玻片放入染缸中, 加入100 mL pH值为10的细胞裂解液, 4℃, 暗处放置1 h, 弃去细胞裂解液, 洗涤后加入100 mL新鲜配制的300 mmol/L NaOH、1 mmol/L EDTANa₂、pH值为13的解旋液, 4℃, 暗处放置20 min. 洗涤后取出玻片, 平放于电泳槽, 25 V, 300 mA, 电泳25 min. 洗涤后将玻片移入染缸, 加入0.4 mol/L Tris-HCl、pH值为7.5的中和缓冲液100 mL, 4℃, 暗处放置10 min, 三蒸水洗3次, 滴加溴化乙锭应用液染色. 选用激发波长549 nm、发射波长590 nm的荧光显微镜观察. 每张玻片随机观察计数50个细胞核并拍照. 用CASP软件分析彗星图片, 用Olive尾矩值表示细胞核DNA损伤程度.

统计学处理 实验结果以mean \pm SD表示, 所有数据均运用SPSS11.5软件处理. 组间的比较采用单因素方差分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

未受损的细胞核表现为一圆形荧光核心, 即彗星头部, 没有拖尾; 而受损的细胞核则有彗尾从核中伸向阳极, 形成一个亮的荧光头部和尾

■ 研发前沿
急性肝衰竭肝细胞发生大量凋亡及一些有效药物作用机制为现阶段的研究热点.

■创新盘点

本研究在国际上率先发现,急性肝衰竭肝细胞核的DNA损伤较早发生,并可能最终诱发了大量的肝细胞凋亡,并从减轻DNA损伤的角度研究了甘草提取物对急性肝衰竭治疗作用的机制。

表 1 各组彗星实验检测结果 (mean ± SD)

分组	不同时间点Olive尾矩值						平均
	0.5	1	2	4	6	8	
实验组	3.95 ± 1.42 ^a	5.35 ± 1.88 ^a	8.90 ± 2.31 ^a	13.68 ± 3.01 ^a	15.21 ± 3.81 ^a	17.67 ± 3.92 ^a	10.81 ± 2.85 ^c
对照组	4.79 ± 1.62 ^a	9.51 ± 2.40 ^a	15.01 ± 3.12 ^a	22.55 ± 4.37 ^a	29.01 ± 5.11 ^a	35.22 ± 4.94 ^a	19.36 ± 3.95
正常对照组	0.95 ± 0.56	0.55 ± 0.32	0.73 ± 0.21	0.81 ± 0.35	0.92 ± 0.43	0.65 ± 0.31	0.77 ± 0.29

^a $P < 0.05$ vs 正常对照组; ^c $P < 0.05$ vs 对照组。

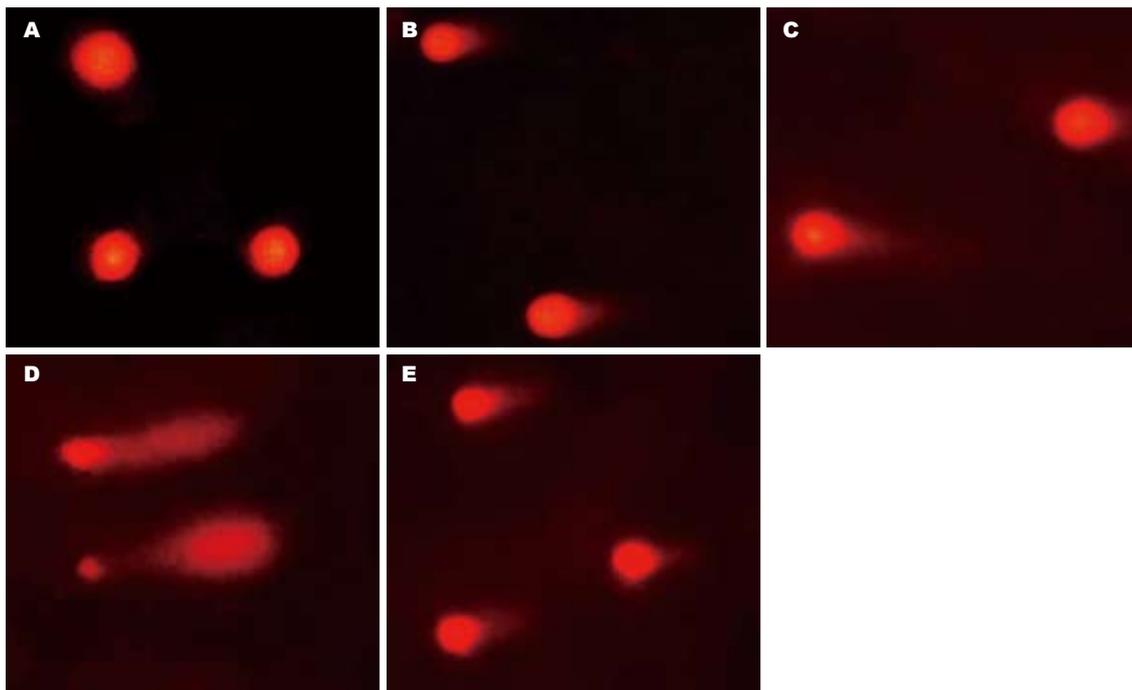


图 1 DNA损伤彗星实验检测结果($\times 400$)。A: 正常对照组; B: 注药2 h对照组; C: 注药2 h实验组; D: 注药6 h对照组; E: 注药6 h实验组。

部。实验组和对照组均出现细胞核DNA的损伤(图1)。Olive尾矩值检测结果见表1。腹腔注射D-Galn和LPS 0.5 h,实验组和对照组的肝细胞核DNA的Olive尾矩值与正常对照组相比明显增大(3.95 ± 1.42 , 4.79 ± 1.62 vs 0.95 ± 0.56 , $P < 0.05$),且随时间延伸逐渐增加,至8 h,分别为 17.67 ± 3.92 、 35.22 ± 4.94 ,与正常对照组(0.65 ± 0.31)比较差异均具显著意义($P < 0.05$),且实验组的较对照组的明显减小,两组之间比较,差异亦具显著意义($P < 0.05$)。

3 讨论

急性肝衰竭(acute liver failure, ALF)时肝细胞在短期内出现大量死亡,从而导致肝功能严重受损,其临床特点是肝功能迅速恶化,可引起肝性脑病及凝血功能障碍,病情进展迅速,死亡率高。

ALF病因复杂,常由药物损伤和嗜肝病毒感染引起,目前对其发病机制尚缺乏足够认识。有研究表明,急性肝衰竭肝细胞的主要死亡方式之一为凋亡^[2-4],而细胞凋亡的发生存在不同的机制,其中细胞核内DNA的损伤即可诱发细胞的凋亡^[5]。本研究采用彗星实验检测急性肝衰竭模型小鼠肝细胞核DNA的损伤及演变,结果发现,小鼠腹腔注射D-Galn和LPS 0.5 h,肝细胞核DNA的损伤就已发生,且随时间延伸,逐渐加重,至注药后8 h, DNA损伤达到最大,而此前有研究显示,在注药后7 h细胞开始出现大量凋亡^[4],即急性肝衰竭模型小鼠在细胞发生大量凋亡前即已出现了肝细胞核的DNA损伤,且此后发生的肝细胞凋亡与这种肝细胞核的DNA损伤程度相关,即当肝细胞核的DNA损伤到一定程度时可能诱发了大量的肝细胞凋亡。

急性肝衰竭的临床治疗方面, 一些药物被证明是有效的, 其中中药干草的提取物即为常用的治疗药物之一^[1]. 天晴甘平即为甘草有效成分的第3代提取物与卵磷脂的混合物, 主要成分为干草酸二铵. 但对这类药物的作用机制尚缺乏足够了解. 传统观点认为^[1], 这类药物结构与泼尼松相似, 易与类固醇激素的靶细胞受体结合, 具有抗炎作用, 其减轻肝炎肝损伤的机制可能与其具有保护和修复肝细胞膜的作用有关, 但是否还有其他作用机制尚无相关研究报道. 本研究发现, 接受天晴甘平治疗的实验组小鼠肝细胞核DNA的Olive尾矩值较对照组的明显变小, 表明其细胞核DNA的损伤明显减轻, 即天晴甘平具有减轻急性肝衰竭肝细胞核DNA损伤的作用, 提示, 天晴甘平对急性肝衰竭产生治疗效果的机制之一即可能是通过减轻肝细胞核DNA的损伤而发挥作用的.

4 参考文献

- 1 刘惠媛, 石裕明. 早期大剂量甘利欣治疗重型肝炎26例临床观察. 中西医结合肝病杂志 2000; 10: 11
- 2 Kasahara I, Saitoh K, Nakamura K. Apoptosis in acute hepatic failure: histopathological study of human liver tissue using the tunel method and immunohistochemistry. *J Med Dent Sci* 2000; 47: 167-175
- 3 Liu DX. A new hypothesis of pathogenetic mechanism of viral hepatitis B and C. *Med Hypotheses* 2001; 56: 405-408
- 4 Morikawa, A, Sugiyama T, Kato Y, Koide N, Jiang GZ, Takahashi K, Tamada Y, Yokochi T. Apoptotic cell death in the response of D-galactosamine-sensitized mice to lipopolysaccharide as an experimental endotoxic shock model. *Infect Immun* 1996; 64: 734-738
- 5 Roos WP, Kaina B. DNA damage-induced cell death by apoptosis. *Trends Mol Med* 2006; 12: 440-450
- 6 Zegura B, Volcic M, Lah TT, Filipic M. Different sensitivities of human colon adenocarcinoma (CaCo-2), astrocytoma (IPDDC-A2) and lymphoblastoid (NCNC) cell lines to microcystin-LR induced reactive oxygen species and DNA damage. *Toxicol* 2008; 52: 518-525

■同行评价

本文从DNA损伤的角度研究天晴甘平对急性肝损伤小鼠模型的治疗作用, 有助于阐明甘草酸制剂对于肝细胞损伤的治疗机制, 有一定学术价值.

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

第九次全国消化系疾病学术会议征文通知

本刊讯 中华医学会消化病学分会定于2009-12-04/06在广州市召开第九次全国消化系疾病学术会议. 现将会议的征文内容及有关事项通知如下:

1 征文内容

与消化系统疾病有关的流行病学、基础及临床研究. (1)功能性胃肠疾病及动力障碍性胃肠病(包括胃食管反流病); (2)幽门螺杆菌及其相关疾病; (3)胰腺疾病; (4)肝胆疾病; (5)胃肠道肿瘤; (6)炎症性肠病; (7)胃肠激素; (8)消化疾病介入治疗; (9)青年委员会专场(全部用英文交流).

2 征文要求

(1)报送的论文要求800字左右的中文摘要一份, 摘要内容包括: 目的、方法、结果、结论, 注明作者姓名、单位及邮编, 论文文责自负. 投青年会专场的论文必须附相应的英文摘要, 第一作者年龄须在45周岁以下(1964-11后出生). (2)凡已在全国性学术会议上或全国公开发行的刊物上发表过的论文不予受理. (3)通过本次会议专用网站报送电子文稿及报名注册, 会议不接受书面投稿. 要求作者本人通过会议网站上传稿件并留下联系方式, 会议网址: <http://www.csgd.org.cn>. (4)截稿日期: 2009-09-15.

希望各地委员积极、认真组织所在地区医生踊跃投稿并参会.

大黄素对大鼠胰腺星状细胞TGF-β1含量的影响

梁晓强, 章学林, 顾宏刚, 张静喆

■背景资料

胰腺纤维化是慢性胰腺炎的典型病理表现, 细胞外基质合成和降解在纤维化过程中起重要作用。以往研究认为大黄素对肝肾纤维化及急性胰腺炎有良好的治疗作用, 用于慢性胰腺炎的治疗研究较少, 同时较多研究认为胰腺星状细胞可能是胰腺纤维化的始动细胞和主要效应细胞。因此, 以胰腺星状细胞为体外实验研究靶点, 观察药物对其干预的影响显得尤为重要。

梁晓强, 上海中医药大学附属龙华医院中医外科研究所 上海市 200032
章学林, 顾宏刚, 张静喆, 上海中医药大学附属龙华医院普外科 上海市 200032
上海市重点学科基金资助项目, No. T0304
上海市医学领军人才基金资助项目, No. LJ06048
上海市教育委员会科研创新基金资助项目, No. 09YZ131
作者贡献分布: 所有作者对此文所作贡献均等; 此课题由梁晓强、章学林及顾宏刚设计; 研究过程由梁晓强操作完成; 数据分析由梁晓强完成; 本论文写作由梁晓强与章学林完成。
通讯作者: 张静喆, 200032, 上海市宛平南路725号, 上海中医药大学附属龙华医院普外科. zjzzq@sina.com
电话: 021-64385700-3815
收稿日期: 2009-01-09 修回日期: 2009-02-15
接受日期: 2009-02-16 在线出版日期: 2009-04-08

Effect of emodin on transforming growth factor-β1 in rat pancreatic stellate cells

Xiao-Qiang Liang, Xue-Lin Zhang, Hong-Gang Gu, Jing-Zhe Zhang

Xiao-Qiang Liang, Institute of Chinese Traditional Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Xue-Lin Zhang, Hong-Gang Gu, Jing-Zhe Zhang, Department of General Surgery, Longhua Hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, Shanghai 200032, China

Supported by: the Key Subject Foundation of Shanghai, No. T0304; the Medical Leading Talents Foundation of Shanghai, No. LJ06048; and the Science Research Innovation Project of Shanghai Education Commission, No. 09YZ131

Correspondence to: Jing-Zhe Zhang, Institute of Chinese Traditional Surgery, Longhua hospital, Shanghai University of Traditional Chinese Medicine, 725 Wanping South Road, Shanghai 200032, China. zjzzq@sina.com

Received: 2009-01-09 Revised: 2009-02-15

Accepted: 2009-02-16 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To observe effect of emodin on TGF-β1 in rat pancreatic stellate cells.

METHODS: We used SD male rats to identify, isolate, and culture pancreatic stellate shaped cells in vitro, and after passage, we used ELASA to observe effect of emodin on TGF-beta1 in rat pancreatic stellate cells.

RESULTS: The TGF-beta1 content of pancreatic stellate cell of emodin in different concentrations was lower than that of control group (258.90 ±

54.46 ng/L, 118.24 ± 36.51 ng/L, 58.22 ± 2.00 ng/L vs 694.36 ± 712.08 ng/L, $P < 0.05$ or 0.01). As the concentration of emodin increased, TGF-β1 content was reduced accordingly. However, no significant difference was observed.

CONCLUSION: Emodin can cut down TGF-β1 content of pancreatic stellate cells, which confirms emodin can prevent and cure pancreatic fibrosis by inhibiting expression of TGF-β1.

Key Words: Pancreatic fibrosis; Emodin; Transforming growth factor-β1

Liang XQ, Zhang XL, Gu HG, Zhang JZ. Effect of emodin on transforming growth factor-β1 in rat pancreatic stellate cells. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1018-1020

摘要

目的: 观察大黄素对大鼠胰腺星状细胞TGF-β1含量的影响。

方法: 取SD雄性大鼠胰腺进行胰腺星状细胞分离、鉴定及体外培养, 传代后用不同浓度大黄素(20、40、60 μmol/L)对其进行干预, 用ELASA法观察胰腺星状细胞内TGF-β1含量的变化。

结果: 不同浓度大黄素TGF-β1含量明显低于对照组(258.90 ± 54.46 ng/L, 118.24 ± 36.51 ng/L, 58.22 ± 2.00 ng/L vs 694.36 ± 712.08 ng/L $P < 0.05$ 或 0.01), 并且随着大黄素浓度的升高, 其TGF-β1的含量逐渐降低, 但其差异无统计学意义。

结论: 大黄素可降低PSC中TGF-β1的含量, 说明大黄素可以通过抑制TGF-β1的表达发挥防治胰腺纤维化的作用。

关键词: 胰腺纤维化; 大黄素; 转化生长因子-β1

梁晓强, 章学林, 顾宏刚, 张静喆. 大黄素对大鼠胰腺星状细胞TGF-β1含量的影响. *世界华人消化杂志* 2009; 17(10): 1018-1020

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1018.asp>

0 引言

慢性胰腺炎的典型病理表现是胰腺纤维化, 细

■同行评议者

姚希贤, 教授, 河北医科大学附属医院第二医院消化内科

胞外基质合成和降解在纤维化过程中起重要作用。较多研究认为胰腺星状细胞(pancreatic stellate cell, PSC)可能是胰腺纤维化的始动细胞和主要效应细胞^[1-5]。转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)调节细胞生长分化, 刺激细胞外基质的合成并抑制其降解, 在组织的修复和纤维化形成中起到非常重要的作用。近年有一些动物实验研究表明大黄素具有抗胰腺纤维化的作用^[6], 本研究即从体外实验的角度, 以 δ SD大鼠的胰腺分离、培养的PSC作为靶细胞, 研究大黄素对其TGF- β 1含量的影响。

1 材料和方法

1.1 材料 δ SD大鼠, 清洁级, 体质量 350 ± 20 g, 由上海第二医科大学实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK(沪2008-0031)。Forma series II型细胞培养箱为美国Thermal公司生产。HS-840-U型细胞培养用超净工作台为江苏苏净集团安泰公司制造。LD4-2A型低速离心机为北京医用离心机制造厂产品。倒置生物显微镜(Olympus, CX31)、胰蛋白酶(批号: 08071101)和DMEM高糖培养液(批号: 08041601)由杭州吉诺生物有限公司提供。胎牛血清(批号: 080428)由杭州四季青公司提供。胶原酶(批号: C5138-10)、链酶蛋白酶(批号: 459643)由美国Sigma公司提供。 α -SMA试剂盒(批号: 080425)由南京建成生物工程研究所提供。TGF- β 1测定ELASA试剂盒(批号: 080926)由南京建成生物工程研究所提供。大黄素(Emodin, EM, 批号8283C)20 mg, 纯度98%, 上海君创生物技术有限公司提供, 置于4℃冰箱中保存备用。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养和处理: 依据大鼠PSC分离与培养的参考文献[7-9], 取新鲜分离的细胞、原代培养7 d的细胞及传代的细胞分别采用细胞免疫化学染色观察 α -SMA, 新鲜分离的细胞 α -SMA染色阴性, 提示无平滑肌细胞污染。在培养第7天时, 95%以上细胞 α -SMA表达阳性, 传代后 α -SMA阳性率>99%。取传代的细胞备用。

1.2.2 TGF- β 1含量的测定: 取传代的PSC接种到96孔细胞培养板, 每孔接种100 μ L, 置于37℃, 50 mL/L CO₂培养箱中孵育培养72 h后, 加不同浓度的大黄素, 分为对照组(不含大黄素, 含DMSO浓度与各实验组相同的培养液)、大黄素20、40、60 μ mol/L共4组, 每个浓度设6个复孔, 继续置于

37℃, 50 mL/L CO₂培养箱中孵育培养。培养72 h后, 取上清液采用ELASA法测定TGF- β 1含量, 操作按试剂盒进行(试剂盒由南京建成生物有限公司提供)。

统计学处理 计量资料用mean \pm SD表示, 多组间均数比较采用单因素方差分析方法。运算程序运用SPSS11.5统计软件包进行。

2 结果

对照组TGF- β 1含量明显高于大黄素治疗各组(258.90 ± 54.46 , 118.24 ± 36.51 , 58.22 ± 2.00 ng/L vs 694.36 ± 712.08 ng/L $P < 0.05$ or 0.01), 并且随着大黄素浓度的升高, 其TGF- β 1的含量逐渐降低, 但其差异无统计学意义。

3 讨论

转化生长因子- β 1(transforming growth factor- β 1, TGF- β 1)是一种多肽类细胞生长因子, 可来源于血小板、炎症细胞、胰腺腺泡细胞、导管上皮细胞及PSC等, 通过与细胞表面高亲和力受体结合, 调节细胞生长分化, 能刺激间质细胞增生、抑制上皮类细胞生长、促进细胞外基质合成并抑制其降解, 在组织的修复和纤维化形成中起关键作用, 是重要的促纤维化因子之一。其具体促纤维化作用包括: 增加PSC合成分泌ECM; 抑制PSC分泌金属基质蛋白酶(MMP)并刺激PSC分泌蛋白酶抑制剂(TIMPs)而减少ECM降解; 上调PSC表达TGF- β 及TGF- β 受体, 产生自身放大效应; 调节其他细胞因子生成^[10]。

大黄素(emodin, EMD)为三羟甲基蒽醌衍生物, 是中药大黄的主要有效成分, 其药理作用与大黄有许多相似之处, 具有抗菌、抗肿瘤、抗病毒等多种生物学活性, 对于急性胰腺炎有良好的治疗作用。同时较多报道证实大黄素有良好的抗肝纤维化作用^[11]。有实验用大黄素干预大鼠肝纤维化模型, 发现大黄素能抑制大鼠肝组织 α -肌动蛋白表达, 提示大黄素能抑制HSC活化从而发挥抗肝纤维化的作用; 同时与模型组比较, 大黄素组TGF- β 1染色面积明显减少, 提示大黄素可能是通过抑制TGF- β 1来发挥抗纤维化作用^[12]。实验研究还显示, 大黄素剂量依赖性增加TGF- β 1表达和TGF- β 1含量, 提示大黄素可能通过调节TGF- β 1信号传导通路来发挥抗纤维化作用^[13]。

本实验首先成功地分离了大鼠胰腺星状细胞, 新鲜分离的PSC在倒置相差显微镜下呈球

■ 研发前沿

目前对于胰腺纤维化体外研究的热点主要集中在胰腺星状细胞的分离、鉴定及体外培养, 研究重点在于如何在以胰腺星状细胞为靶点的基础上, 深入开展药物对其干预及其作用机制的研究, 这也是亟待进一步研究的问题。

■ 相关报道

目前, 已有动物实验研究发现大黄素可以降低胰腺纤维化模型大鼠血清透明质酸及血清层黏蛋白的含量, 可抑制胰腺组织TGF- β 1的表达, 从而发挥抗胰腺纤维化的作用。这为将大黄素应用于胰腺纤维化的体外实验研究奠定了基础。

■应用要点

目前对于慢性胰腺炎的体外实验研究愈来愈受到重视,本文以胰腺星状细胞作为靶点,深入研究药物对其干预作用为胰腺纤维化的防治提供了新的途径。

形,直径约为胰腺腺泡细胞的1/3-1/2,或红细胞的2-3倍,细胞核与胞质比例较大,胞质脂滴围绕在核周围,在328 nm紫外光激发下可见蓝绿色自发荧光现象, α -SMA染色阴性,提示无平滑肌细胞污染。72 h细胞向四周伸出突起,呈明显星形外观,似体内形态。7 d时细胞约40%融合,14 d时细胞已80%融合。在培养第7天时,95%以上细胞 α -SMA表达阳性,传代后 α -SMA阳性率>99%,提示此时的PSC已经活化,可以进行后续的实验。

本实验进一步用不同浓度的大黄素对活化的PSC进行干预,结果表明大黄素可以降低PSC上清液中的TGF- β 1的含量($P<0.05$, $P<0.01$),并且随着大黄素浓度的升高,其TGF- β 1的含量逐渐降低,但其差异无统计学意义。提示大黄素可以通过抑制TGF- β 1的表达,从而发挥抑制胰腺纤维化的作用。

■同行评价

本文选题较好,研究方法先进,结论明确,分析论证合乎逻辑,具有良好科学性和一定创新性。

4 参考文献

- 1 Yoo BM, Yeo M, Oh TY, Choi JH, Kim WW, Kim JH, Cho SW, Kim SJ, Hahm KB. Amelioration of pancreatic fibrosis in mice with defective TGF-beta signaling. *Pancreas* 2005; 30: e71-e79
- 2 马晶晶, 王兴鹏. 胰腺星状细胞与胰腺纤维化. 国外医学·消化系疾病分册 2005; 25: 215-217
- 3 万远太, 王天才. 胰星状细胞与胰纤维化发生机制的研究进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 376-380
- 4 Apte MV, Phillips PA, Fahmy RG, Darby SJ, Rodgers SC, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Naidoo D, Wilson JS. Does alcohol directly stimulate pancreatic fibrogenesis? Studies with rat pancreatic stellate cells. *Gastroenterology* 2000; 118: 780-794
- 5 郑永青, 王昱良, 夏时海. 胰腺星状细胞在慢性胰腺炎胰腺纤维化中的作用机制. 胰腺病学 2007; 7: 415-416
- 6 王彩花, 高志强, 叶斌, 谢传高, 钱可大, 蔡建庭, 杜勤. 大黄素干预大鼠慢性胰腺炎胰腺纤维化进展的研究. 中华医学杂志 2006; 86: 2552-2555
- 7 Apte MV, Haber PS, Applegate TL, Norton ID, McCaughan GW, Korsten MA, Pirola RC, Wilson JS. Periacinar stellate shaped cells in rat pancreas: identification, isolation, and culture. *Gut* 1998; 43: 128-133
- 8 贾一韬, 李兆申. 大鼠胰星状细胞的分离与培养. 胰腺病学 2003; 3: 158-161
- 9 万远太, 赵秋, 王天才, 王波, 李德明. 大鼠胰星状细胞体外分离培养的实验研究. 华中科技大学学报(医学版) 2005; 34: 125-127
- 10 Talukdar R, Tandon RK. Pancreatic stellate cells: new target in the treatment of chronic pancreatitis. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 34-41
- 11 李元, 郭顺根, 吴宇泽, 庞奕晖, 戚红丹. 大黄素抗肝纤维化作用机制研究进展. 中国组织化学与细胞化学杂志 2007; 16: 378-381
- 12 展玉涛, 刘宾, 李定国, 毕春山. 大黄素抗肝纤维化的作用机制. 中华肝脏病杂志 2004; 12: 245-246
- 13 唐甜, 杨静. 大黄素对家兔实验性皮肤创伤的促愈合作用及其机制. 中国药理学与毒理学杂志 2006; 20: 112-119

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

《世界华人消化杂志》入选北京大学图书馆 2008年版《中文核心期刊要目总览》

本刊讯 《中文核心期刊要目总览》(2008年版)采用了被索量、被摘量、被引量、他引量、被摘率、影响因子、获国家奖或被国内外重要检索工具收录、基金论文比、Web下载量等9个评价指标,选作评价指标统计源的数据库及文摘刊物达80余种,统计文献量达32400余万篇次(2003-2005年),涉及期刊12400余种。本版还加大了专家评审力度,5500多位学科专家参加了核心期刊评审工作。经过定量评价和定性评审,从我国正在出版的中文期刊中评选出1980余种核心期刊,分属七大编73个学科类目。《世界华人消化杂志》入选本版核心期刊库(见R5内科学类核心期刊表,第66页)。(常务副总编辑:张海宁 2009-04-08)

生长抑素联合丹参对实验性重症急性胰腺炎的治疗作用

张国顺, 王玉兰, 张超, 马利转, 徐晓平

张国顺, 王玉兰, 张超, 马利转, 徐晓平, 华北煤炭医学院附属医院消化内科 河北省唐山市 063000

作者贡献分布: 此课题由张国顺设计; 研究过程由张国顺、王玉兰、张超、马利转及徐晓平操作完成; 研究所用新试剂及分析工具由马利转提供; 数据分析由张国顺、王玉兰及张超完成; 本论文写作由张国顺、王玉兰、张超及马利转完成。

通讯作者: 张国顺, 063000, 河北省唐山市路北区建设南路73号, 华北煤炭医学院附属医院消化内科. zguoshun@sina.com.cn
电话: 0315-3725948

收稿日期: 2009-01-03 修回日期: 2009-03-04

接受日期: 2009-03-09 在线出版日期: 2009-04-08

Therapeutic effect of sandostatin with salviae miltiorrhizae on experimental severe acute pancreatitis

Guo-Shun Zhang, Yu-Lan Wang, Chao Zhang, Li-Zhuan Ma, Xiao-Ping Xu

Guo-Shun Zhang, Yu-Lan Wang, Chao Zhang, Li-Zhuan Ma, Xiao-Ping Xu, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of North China Coal Medical College, Tangshan 063000, Hebei Province, China

Correspondence to: Guo-Shun Zhang, Department of Gastroenterology, the Affiliated Hospital of North China Coal Medical College, 73 Jianshe South Road, Lubei District, Tangshan 063000, Hebei Province, China. zguoshun@sina.com.cn

Received: 2009-01-03 Revised: 2009-03-04

Accepted: 2009-03-09 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To study therapeutic effects of sandostatin (SS) with salviae miltiorrhizae (SM) on experimental acute necrotizing pancreatitis (ANP).

METHODS: ANP models were induced by retrograde injection of 15 g/L sodium deoxycholate. Forty rats and one hundred fifty mice were randomly divided into five groups: ANP group, sham group, SS group, SM group and combination group with fifty mice and eight rats in each group respectively. Three-day mortality rate of mice was estimated. Serum amylase, NO, endotoxin, TNF- α and IL-6 24 h after the injection were measured and pancreatic histological changes were examined using light microscopy.

RESULTS: Compared with sham group, 3-d

mortality rate in mice, amylase, NO, endotoxin, TNF- α and IL-6 of rats in 24 h ANP group were significantly higher (83.3% vs 0.0%, 1521.3 \pm 57.9 U/dL vs 659.5 \pm 58.7 U/dL, 115.2 \pm 9.7 mmol/L vs 34.3 \pm 2.1 mmol/L, 0.438 \pm 0.137 EU/mL vs 0.029 \pm 0.012 EU/mL, 191.7 \pm 14.1 ng/L vs 47.5 \pm 5.8 ng/L, 152.4 \pm 14.7 ng/L vs 41.7 \pm 5.8 ng/L, all $P < 0.01$), and the damage to pancreatic tissue observed by light microscopy was more severe. Compared with ANP group, the above-mentioned indexes of SM group, SS group and combination group were obviously improved ($P < 0.05$), especially in combination group ($P < 0.05$).

CONCLUSION: The therapeutic effect of sandostatin with salviae miltiorrhizae in oidesellis on ANP is superior to western medicine or traditional Chinese medicine used alone.

Key Words: Pancreatitis; Acute necrotizing; Somatostatin; Salviae miltiorrhizae; Integrated

Zhang GS, Wang YL, Zhang C, Ma LZ, Xu XP. Therapeutic effect of sandostatin with salviae miltiorrhizae on experimental severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1021-1024

摘要

目的: 探讨生长抑素联合丹参对实验性急性坏死性胰腺炎(ANP)的治疗作用。

方法: 经胰胆管逆行注射15 g/L去氧胆酸钠0.05 mL/100 g体质量建立大鼠ANP模型。实验动物大鼠40只、小鼠150只随机各分为5组: 对照组、ANP组、善宁组、丹参组、联合组(善宁+丹参), 每组大鼠8只, 小鼠30只。观察各组小鼠3 d死亡率; 检测大鼠24 h血清淀粉酶、NO、内毒素、TNF- α 、IL-6含量的变化, 并对大鼠胰腺组织进行病理学检查。

结果: 与对照组比较, ANP组小鼠3 d死亡率、大鼠24 h血清淀粉酶、NO、内毒素、TNF- α 、IL-6均明显升高(83.3% vs 0.0%, 1521.3 \pm 57.9 U/dL vs 659.5 \pm 58.7 U/dL, 115.2 \pm 9.7 mmol/L vs 34.3 \pm 2.1 mmol/L, 0.438 \pm

背景资料

急性胰腺炎(AP)尤其是急性重症胰腺炎(SAP)是临床上常见并非罕见的十分凶险的急腹症, 并发症多, 死亡率高达50%以上。迄今为止, 对于AP的发病确切机制仍不十分清楚。目前比较公认的四大机制是: 胰酶自身消化学说、白细胞过度激活学说、胰腺微循环障碍学说和肠道细菌移居胰腺组织学说。四者相互影响、相互作用, 胰腺缺血和白细胞过度激活释放炎症介质是急性胰腺炎的发生、加重因素, 胰酶细胞内激活致胰腺自身消化是急性胰腺炎进展的关键因素。

同行评议者

樊晓明, 主任医师, 复旦大学附属金山医院消化科; 潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化研究室

■ 研发前沿

改善胰腺炎微循环成为了治疗研究的热点,已有研究证实内皮素/一氧化氮(ET/NO)比值维持或趋于正常可以影响胰腺炎的发病进展,因此改善胰腺微血管收缩-舒张因子的平衡状态也成为研究的热点。

0.137 EU/mL vs 0.029±0.012 EU/mL, 191.7±14.1 ng/L vs 47.5±5.8 ng/L, 152.4±14.7 ng/L vs 41.7±5.8 ng/L, 均 $P<0.01$), 光镜下胰腺组织病理损害明显;丹参组、善宁组及联合组上述各检测指标均较ANP组明显改善($P<0.05$),但以联合组降低最明显($P<0.05$)。

结论: 联合应用善宁和丹参治疗ANP有协同作用,疗效优于单一西药或中药治疗。

关键词: 胰腺炎;急性坏死性;生长抑素;丹参

张国顺, 王玉兰, 张超, 马利转, 徐晓平. 生长抑素联合丹参对实验性重症急性胰腺炎的治疗作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1021-1024

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1021.asp>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)是胰腺水肿、出血、坏死引起的全身严重感染性疾病,临床表现凶险,病死率高达20%-25%^[1]。研究证实,其病理过程突出地表现为以组织缺血为特征的胰腺血液循环障碍,持续的局部组织的血液循环障碍可使胰腺水肿转化为坏死^[2-5]。国内学者对SAP中药治疗方面已有一些研究,如利用柴胡、丹参、大黄、大承气汤以及清胰汤等治疗SAP均取得一定疗效^[6-7]。中西医结合在SAP治疗中已显示出更加广阔的应用前景。本研究对比单纯西药、单纯中药、中西医结合对实验性急性坏死性胰腺炎(acute necrotizing pancreatitis, ANP)大鼠的防治作用,以寻求SAP的最佳治疗手段。

1 材料和方法

1.1 材料 清洁级SD大鼠40只,体质量180-220 g,雌雄不限;清洁级昆明种小白鼠150只(用于3 d死亡率的测定),体质量25-35 g,性别不限。丹参产于贵州赤水,经贵州省中医研究所鉴定。淀粉酶试剂盒:晶美生物工程有限公司。NO试剂盒:晶美生物工程有限公司。内毒素试剂盒:上海伊华临床医学科技公司。血浆TNF- α 、IL-6试剂盒:晶美生物工程有限公司。

1.2 方法

1.2.1 造模及分组: 动物实验前12 h禁食不禁水。乙醚麻醉,无菌条件下剖腹,经十二指肠乳头向胰胆管内逆行注入15 g/L去氧胆酸钠0.05 mL/100 g体质量,在4 kPa压力下缓慢推注,注射时阻断胆总管,以免药液进入肝脏和胆囊。对

照组向胰胆管内注射等量生理盐水。实验动物大鼠40只、小鼠150只随机分为对照组、ANP组、丹参组、善宁组和丹参、善宁组(联合组);大鼠每组8只,小鼠每组30只。

1.2.2 丹参煎剂的制备: 丹参煎前打碎,用蒸馏水浸泡1 h,文火煮沸30 min,煮成50%煎剂。

1.2.3 给药: 对照组手术后不予治疗,其余4组分别于制模后即刻、6 h及23 h给药治疗。ANP组给予1 mL/100 g体质量盐水灌胃,丹参组给予1 mL/100 g体质量丹参煎剂灌胃,善宁组背部皮下注射善宁1.35 μ g/100 g体质量(诺华制药有限公司,批号为505400),联合组每个时间点同时给予丹参和善宁,剂量同上。全部大鼠于制模后24 h经内眦采血测各项指标,然后处死动物取胰腺。

1.2.4 测定3 d死亡率: 150只昆明种小白鼠,随机分为上述5组,各组均给予上述相应的治疗,每天2次。观察动物在手术后3 d的死亡率。

1.2.5 淀粉酶、NO、内毒素、TNF- α 、IL-6的测定: 血清淀粉酶活性的测定采用碘比色法;NO的测定采用硝酸还原酶法;内毒素的测定采用鲎试剂偶氮显色法作定量测定;血浆TNF- α 、IL-6的测定,采用ELISA法。

1.2.6 胰腺组织病理学检查: 取十二指肠区胰腺组织经100 g/L甲醛溶液常规固定,石蜡包埋,HE染色制片后进行组织学观察。

统计学处理 结果以mean±SD表示,用SPSS 12.0软件包进行统计学处理。以 $P<0.05$ 为显著性检验界限。

2 结果

2.1 小鼠3 d死亡率 对照组小鼠长期存活;ANP组3 d死亡率为83.3%(25/30),丹参组、善宁组、联合组的死亡率分别为60.0%(18/30)、46.7%(14/30)、30.0%(9/30),与ANP组比较均有显著差异($P<0.01$),丹参组和善宁组间无明显差异,但两组与联合组比较均存在明显差异($P<0.05$),提示丹参、善宁均能降低ANP小鼠的早期死亡率,但两种联合用药更优。

2.2 各组大鼠血清淀粉酶、NO、内毒素、TNF- α 、IL-6的变化 ANP组血清淀粉酶、NO、内毒素、TNF- α 、IL-6升高,与对照组比较有统计学意义($P<0.01$),各治疗组上述指标均较ANP组明显降低($P<0.01$),以联合组降低最为明显,与丹参组和善宁组比较也有统计学差异($P<0.05$,表1)。表明丹参、善宁均能降低ANP时血中上述各因子,但联合用药优于单独用药。

表 1 各组大鼠血清淀粉酶、NO、内毒素、TNF-α、IL-6的含量变化 (mean ± SD)

分组	淀粉酶(U/dl)	NO(mmol/L)	内毒素(EU/ml)	TNF-α(ng/L)	IL-6 (ng/L)
对照组	659.5 ± 58.7	34.3 ± 2.1	0.029 ± 0.012	47.5 ± 5.8	41.7 ± 5.8
ANP组	1521.3 ± 57.9 ^b	115.2 ± 9.7 ^b	0.438 ± 0.137 ^b	191.7 ± 14.1 ^b	152.4 ± 14.7 ^b
丹参组	989.7 ± 47.2 ^c	63.37 ± 6.76 ^c	0.195 ± 0.049 ^c	117.8 ± 10.4 ^c	97.1 ± 7.4 ^c
善宁组	935.7 ± 72.4 ^c	51.27 ± 6.01 ^c	0.137 ± 0.027 ^c	86.9 ± 9.7 ^c	85.6 ± 7.3 ^c
联合组	712.8 ± 49.6 ^{ce}	30.26 ± 5.17 ^{ce}	0.051 ± 0.014 ^{ce}	50.6 ± 5.2 ^{ce}	45.6 ± 4.3 ^{ce}

^bP<0.01 vs 其他4组; ^cP<0.05 vs 对照组; ^eP<0.05 vs 丹参组和善宁组.

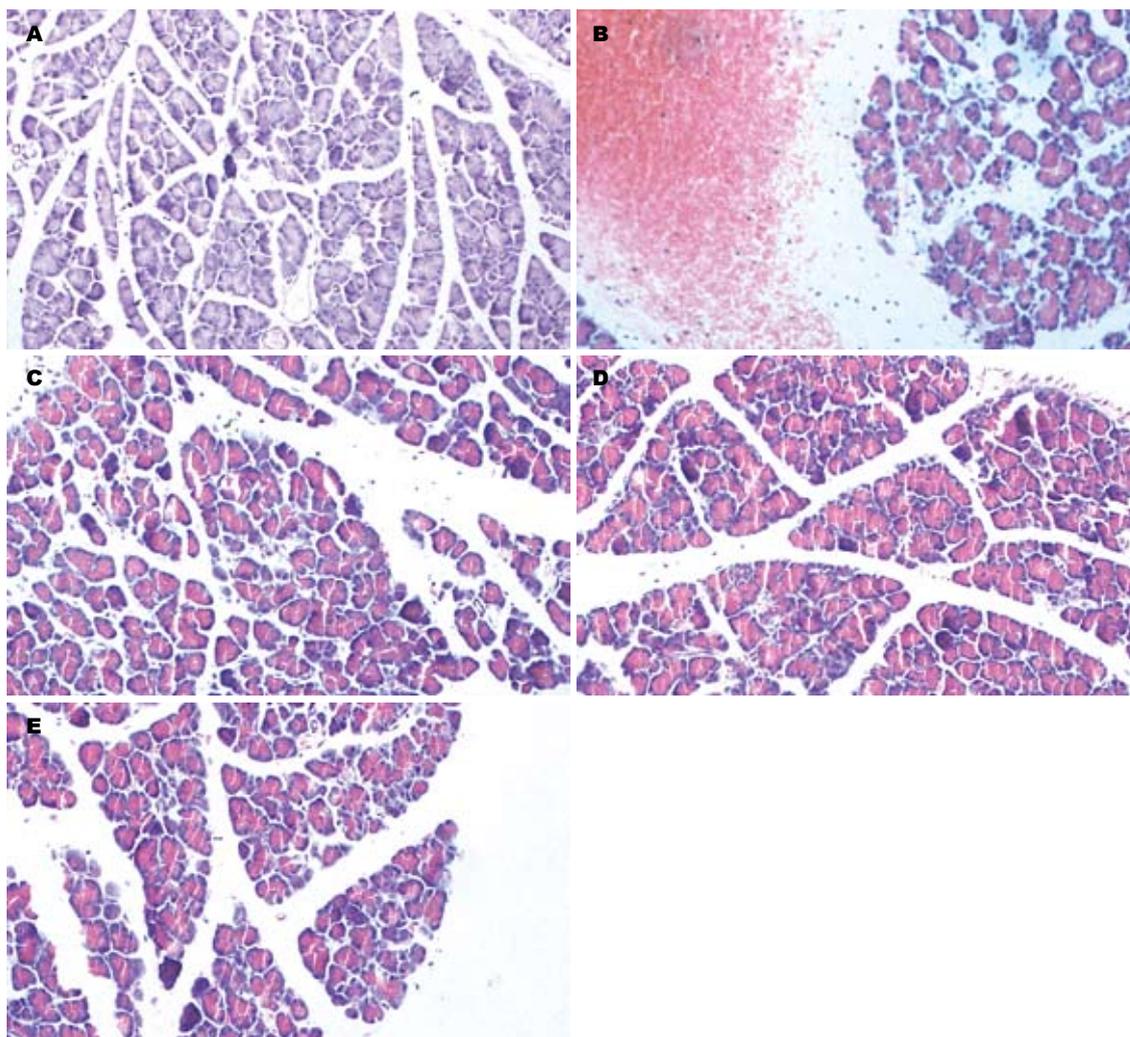


图 1 胰腺组织病理学改变(HE × 100). A: 正常对照组; B: 模型组; C: 丹参组; D: 善宁组; E: 联合组.

2.3 胰腺组织病理学改变 ANP组胰腺小叶轮廓破坏, 呈大面积坏死, 间质水肿, 炎细胞浸润, 血管充血伴有红细胞渗出; 善宁组、丹参组和联合组胰腺组织损伤程度明显轻于ANP组, 仅有部分胰腺小叶轮廓破坏, 未见明显炎细胞浸润, 其中联合组损伤最轻(图1).

3 讨论

胰酶活化、炎症介质、细胞因子和氧自由基诱

生引发机体超强的炎症反应, 是造成SAP早期病理损害的主要原因^[8]. 随后肠源性细菌易位导致严重感染、内毒素血症、细胞因子诱生造成后期病理生理的恶性循环^[9]. 各国学者虽对SAP的病理生理特点有了较深刻的了解, 但尚未寻找到特异性的治疗方法. SAP是始于局部胰腺坏死继而波及全身各器官系统的炎症病理过程. 近年来, 中西医结合治疗在SAP的治疗中具有重要作用.

善宁为人工合成的八肽生长抑素, 他不仅

■ 相关报道

Plusczyk在应用牛胆磺酸钠诱导的大鼠急性胰腺炎模型研究中认为: 生长抑素可通过减少血流多项性, 增加功能血管密度及血细胞速度的提高来改善胰腺微循环. 殷保兵的动物实验研究表明: 生长抑素通过降低大鼠急性重症胰腺炎炎症介质、NO、ET的浓度, 调节ET/NO使之达到新的平衡从而改善血管通透性, 改善脑水肿, 减轻急性重症胰腺炎并发的脑损害. 此外, 传统的中医中药对急性重症胰腺炎的治疗也取得令人满意的效果.

■同行评价

本研究立意依据充分,实验设计严谨,实验动物和材料规范,技术流程合理,结果可信,讨论简洁,观点明确,有利于重症急性胰腺炎的理论研究和临床参考。

抑制胰酶的活性,还能改善胰腺微循环,抑制细胞因子的释放,降低细菌易位率和内毒素血症,抑制NO的产生以及抗氧化自由基等作用,我们的实验同样证实了善宁对ANP的疗效。但这类药物药效广泛,不仅可以抑制胰腺的外分泌,还可抑制生长抑素、甲状腺素、胰岛素、胰高血糖素等多种激素的释放,因此在治疗SAP的过程中可能会发生一些非期待的“副效应”。丹参是我国具有代表性的活血化瘀中药,具有扩张血管、改善血液循环的作用,价格低廉、应用广泛。据文献报道,丹参有效成分丹参酮IIA、丹参素和丹酚酸,经体内外试验证明均是有效的抗氧化剂,尤其以丹酚酸的抗氧化作用最强^[10-11]。丹参水溶性成分能显著抑制动物的心、脑、肝、肾、睾丸的脂质过氧化^[4-5]。本研究结果显示,丹参能在SAP时扩张内脏血管,增加内脏血流量^[6-7],减轻胰腺的病理损害,阻止病变的继续发展。本实验应用丹参来治疗SAP,是第1次系统的在微循环系统变化上了解丹参对SAP的影响。研究证实丹参可明显改善胰、肝、胃、小肠血流状况,降低胰腺组织毛细血管壁通透性,稳定胰腺细胞膜泵功能,保护亚细胞器的结构和功能,降低内毒素血症,防止氧自由基的过氧化损伤和NO的毒性作用。本结果表明,善宁和丹参联合用药能明显降低ANP小鼠的死亡率,而且血中淀粉酶、NO、内毒素、TNF- α 、IL-6的含量降低,胰腺组织病理损害减轻,与单独应用善宁和丹参组比较差异显著。表明中西医联合用药能明显提高治疗SAP的疗效。丹参药效虽稍逊于善宁,但药源广泛,价格便宜,且无明显不良反应,适于长期治疗。因此将二者联合应用,可取长补短,发挥各自的优势,提高疗效,减少并发

症的发生,降低病死率,减少费用,减轻西药的不良反应。

4 参考文献

- 1 Bank S, Singh P, Pooran N, Stark B. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years. *J Clin Gastroenterol* 2002; 35: 50-60
- 2 Besselink MG, van Santvoort HC, Witteman BJ, Gooszen HG. Management of severe acute pancreatitis: it's all about timing. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13: 200-206
- 3 Vege SS, Chari ST, Petersen BT, Baron TH, Munukuti N, Bollineni S, Rea JR. Endoscopic retrograde cholangiopancreatography-induced severe acute pancreatitis. *Pancreatol* 2006; 6: 527-530
- 4 Pastor CM, Matthay MA, Frossard JL. Pancreatitis-associated acute lung injury: new insights. *Chest* 2003; 124: 2341-2351
- 5 Sawa H, Ueda T, Takeyama Y, Yasuda T, Shinzaki M, Nakajima T, Kuroda Y. Role of toll-like receptor 4 in the pathophysiology of severe acute pancreatitis in mice. *Surg Today* 2007; 37: 867-873
- 6 冷建春. 中医药治疗重症急性胰腺炎研究进展. *中国中医药信息杂志* 2005; 12: 99-101
- 7 李永渝, 高占峰, 兑丹华, 张红, 罗蕾华, 李莉娟, 魏玉, 刘佳云. 清胰汤和汉防己甲素对香猪重症急性胰腺炎的治疗作用及血药浓度测定. *中国中西医结合杂志* 2003; 23: 832-836
- 8 Giamarellos-Bourboulis EJ, Nikou GC, Matsaggoura M, Toumpanakis C, Grecka P, Giannikopoulos G, Katsilambros N. Alterations of systemic endotoxemia over the course of acute edematous pancreatitis. correlation to the advent of an infection? *Pancreatol* 2003; 3: 323-328
- 9 Gray KD, Simovic MO, Chapman WC, Blackwell TS, Christman JW, May AK, Parman KS, Stain SC. Endotoxin potentiates lung injury in cerulein-induced pancreatitis. *Am J Surg* 2003; 186: 526-530
- 10 许继文, 付春梅. 丹参的药理作用研究进展. *医学综述* 2006; 12: 1467-1468
- 11 李琛, 刘晓辉, 裴少伟. 老年慢性阻塞性肺疾病血液流变学特性及复方丹参的作用. *中国厂矿医学* 2006; 19: 368-369

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

中国科技期刊引证报告(核心版)发布世界华人消化杂志 2007年影响因子0.568

本刊讯 2007年世界华人消化杂志的总被引频次为2353, 位居全部1723种中国科技论文统计源期刊的第86位, 内科医学类28种期刊的第5位。2007年世界华人消化杂志的影响因子为0.568, 内科医学类28种期刊的第15位。即年指标0.082, 他引率0.69, 引用刊数372种, 扩散因子15.81, 学科影响指标0.54。(编辑: 程剑侠 2009-04-08)

化学改性壳聚糖膜及透明质酸钠对缺血性腹膜粘连的预防作用

江素君, 周卸来, 倪有娣, 茹金泉, 杜红英, 郑婷, 胡巧玲

江素君, 杭州师范大学医学实验中心 浙江省杭州市 310036
周卸来, 倪有娣, 茹金泉, 杜红英, 郑婷, 杭州师范大学临床医学院 浙江省杭州市 310036
胡巧玲, 浙江大学高分子复合材料研究所 浙江省杭州市 310027
国家自然科学基金资助项目, No. 50173023
作者贡献分布: 此课题由江素君、周卸来及胡巧玲设计; 研究过程由江素君、周卸来、倪有娣、茹金泉、杜红英、郑婷及胡巧玲操作完成; 数据分析由江素君与周卸来完成; 本论文写作由江素君与周卸来完成。
通讯作者: 江素君, 310036, 浙江省杭州市, 杭州师范大学医学实验中心. hzjsj@yahoo.com.cn
电话: 0571-28865696
收稿日期: 2009-02-19 修回日期: 2009-03-26
接受日期: 2009-03-30 在线出版日期: 2009-04-08

Preventive effects of chemically-modified chitosan film with sodium hyalurate on the ischemia-induced peritoneal adhesion

Su-Jun Jiang, Xie-Lai Zhou, You-Di Ni, Jin-Quan Ru, Hong-Ying Du, Ting Zheng, Qiao-Ling Hu

Su-Jun Jiang, Medical Experimental Center, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, Zhejiang Province, China
Xie-Lai Zhou, You-Di Ni, Jin-Quan Ru, Hong-Ying Du, Ting Zheng, Clinical Medical College, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, Zhejiang Province, China
Qiao-Ling Hu, Institute of Polymer Composites, Zhejiang University, Hangzhou 310027, Zhejiang Province, China
Supported by: National Natural Science Foundation of China, No. 50173023
Correspondence to: Su-Jun Jiang, Medical Experimental Center, Hangzhou Normal University, Hangzhou 310036, Zhejiang Province, China. hzjsj@yahoo.com.cn
Received: 2009-02-19 Revised: 2009-03-26
Accepted: 2009-03-30 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To comparatively study the preventive effects of chemically-modified chitosan film with sodium hyalurate on the ischemia-induced peritoneal adhesion in rats.

METHODS: Sixty Sprague-Dawley rats were randomly divided into saline-control group (Group A), chemically-modified chitosan film group (Group B) and sodium hyalurate group

(Group C), respectively. The ischemia-induced peritoneal adhesive model was established in the caecums of vermiform processes of the rats, and the ischemia surfaces were correspondingly treated with saline, chemically-modified chitosan film and sodium hyalurate in Group A, B and C. After two and four weeks of the treatments, the abdominal cavities were reopened and the adhesive severity was graded blindly according to the Phillips' method. The caecums of vermiform processes were resected for hydroxyproline (OHP) measurement.

RESULTS: After two and four weeks of the treatments in group B and C, the adhesions were significantly lighter (2 wk: $U = 3.000, 8.500, P < 0.001, P = 0.001$; 4 wk: $U = 2.000, 14.000, P < 0.001, P = 0.003$) and the OHP levels were significantly lower (2 wk: $0.193 \pm 0.029 \mu\text{g}/\text{mg pr}$, $0.253 \pm 0.028 \mu\text{g}/\text{mg pr}$ vs $0.296 \pm 0.031 \mu\text{g}/\text{mg pr}$, both $P < 0.01$; 4 wk: $0.179 \pm 0.034 \mu\text{g}/\text{mg pr}$, $0.237 \pm 0.035 \mu\text{g}/\text{mg pr}$ vs $0.286 \pm 0.036 \mu\text{g}/\text{mg pr}$, both $P < 0.01$) than those of Group A, respectively. When group B was compared with group C, the former's adhesions were significantly lighter ($P = 0.038, P = 0.015$) and the OHP levels were significantly lower ($P < 0.001, P = 0.001$).

CONCLUSION: The chemically-modified chitosan film is more effective in preventing peritoneal adhesion induced by ischemia than that of sodium hyalurate.

Key Words: Chitosan; Chemical modification; Sodium hyalurate; Peritoneum adhesion

Jiang SJ, Zhou XL, Ni YD, Ru JQ, Du HY, Zheng T, Hu QL. Preventive effects of chemically-modified chitosan film with sodium hyalurate on the ischemia-induced peritoneal adhesion. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1025-1029

摘要

目的: 探讨化学改性壳聚糖膜和透明质酸钠对缺血性腹膜粘连的预防作用。

背景资料

在施行腹腔内手术后, 90%以上的患者可发生腹膜粘连。术后粘连不仅会影响手术效果, 还可导致严重的术后并发症。因此防止术后腹膜粘连是一个亟待解决的问题。但到目前为止, 腹膜粘连发生机制尚未完全阐明, 给临床防治带来困难。目前已在临床上得以应用的, 包括局部抗菌消炎、酶降解、机械隔离等方法, 预防腹膜粘连的效果均不甚理想。壳聚糖具有止血、杀菌、促进上皮修复、抑制成纤维细胞生长的作用, 从理论上推理其可分别从腹膜粘连形成机制的不同水平来预防粘连的形成, 并得到大量的研究证实。

同行评议者

梅林, 教授, 北京大学医学部生理学与病理生理学系神经调节和消化内分泌研究室

■研发前沿

针对腹膜粘连的预防,其研究重点在于进一步深入阐明腹膜粘连形成的机制,研究热点是研发既能预防腹膜粘连,又不干扰组织正常愈合的药物和材料,特别是生物性、可吸收材料。

方法: SD大鼠60只,随机分成3组:生理盐水对照组(A组)、化学改性壳聚糖膜组(B组)和透明质酸钠组(C组)。利用大鼠幽门盲端制作缺血性腹膜粘连模型,然后每组分别用相应的方法处理创面,处理后2、4 wk打开腹腔,以Phillips五级分类法评定幽门盲端的粘连程度,并对盲端组织行羟脯氨酸(OHP)水平测定。

结果: 术后2、4 wk, B、C组的粘连程度均显著轻于A组(2 wk: $U = 3.000, 8.500, P < 0.001, P = 0.001$; 4 wk: $U = 2.000, 14.000, P < 0.001, P = 0.003$), OHP水平显著低于A组(2 wk: $0.193 \pm 0.029 \mu\text{g}/\text{mg pr}, 0.253 \pm 0.028 \mu\text{g}/\text{mg pr vs } 0.296 \pm 0.031 \mu\text{g}/\text{mg pr}$, 均 $P < 0.01$; 4 wk: $0.179 \pm 0.034 \mu\text{g}/\text{mg pr}, 0.237 \pm 0.035 \mu\text{g}/\text{mg pr vs } 0.286 \pm 0.036 \mu\text{g}/\text{mg pr}$, 均 $P < 0.01$); B组和C组比较,前者的粘连程度显著轻于后者($P = 0.038, 0.015$), OHP含量显著低于后者($P < 0.001, P = 0.001$)。

结论: 化学改性壳聚糖膜具有明显的抗腹膜粘连作用,且此作用较透明质酸钠具有优势。

关键词: 壳聚糖; 化学改性; 透明质酸; 腹膜粘连

江素君, 周卸来, 倪有娣, 茹金泉, 杜红英, 郑婷, 胡巧玲. 化学改性壳聚糖膜及透明质酸钠对缺血性腹膜粘连的预防作用. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1025-1029

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1025.asp>

0 引言

腹膜粘连是腹膜遭受损伤后机体的一种防御性反应,但也是肠梗阻、女性不孕不育等的主要原因之一,因此预防粘连形成显得非常重要。但到目前为止,腹膜粘连发生机制尚未完全阐明,给临床防治带来困难。壳聚糖(chitosan)是甲壳素脱乙酰基的衍生物,多项研究表明,壳聚糖具有止血、杀菌、促进上皮修复、抑制成纤维细胞生长的作用^[1-3],已被开发应用于预防组织粘连,如腹膜粘连、肌腱粘连、关节粘连等^[4-6]。透明质酸(hyaluronic acid, HA)是由N-乙酰氨基葡萄糖和葡萄糖醛酸组成的双糖重复连接而构成的直链多聚糖,具有高度的亲水性和粘弹性,其钠盐-透明质酸钠(sodium hyalurate)也具有明显的抗组织粘连作用,并在临床上得到实际应用^[7-9]。本课题组的前期工作已将壳聚糖进行化学改性,然后制成固态膜,结果显示其对大鼠创伤性、缺血性、感染性腹膜粘连具有明显的预防作用^[10];同时证实其在预防创伤性腹膜粘连上较透明质酸钠具有明显优势^[11]。本研究以大鼠

缺血性腹膜粘连模型作为对象,进一步比较研究化学改性壳聚糖膜和透明质酸钠预防缺血性腹膜粘连的效果。

1 材料和方法

1.1 材料 SD大鼠60只,体质量200-250 g,雌雄各半,由浙江省实验动物中心提供。壳聚糖为浙江省玉环澳星甲壳素有限公司生产。

1.2 方法

1.2.1 分组: 将所有大鼠随机分成3组,即生理盐水对照组(A组);应用化学改性壳聚糖膜组(B组);应用透明质酸钠组(C组),每组20只,雌雄各半。大鼠饲养环境温度20-25℃,湿度约40%,每天亮/暗交替各12 h,自由饮食、饮水。

1.2.2 壳聚糖膜的制备: 将壳聚糖溶解,纯化,化学改性,过滤,成膜,干燥,制成10 cm×10 cm,厚60 μm的膜,钴-60放射消毒后备用。

1.2.3 手术方法: 采用30 g/L异戊巴比妥钠(60-90) mg/kg腹腔内注射麻醉,麻醉成功后仰卧位固定大鼠,常规消毒铺单后下腹部正中切口2-3 cm逐层进腹,找到幽门后将提至切口外,按文献[12]对各组大鼠距盲端3 cm内的幽门突作如下处理以制作缺血性腹膜粘连模型:自盲端至根部逐束结扎幽门动脉主干和小肠之间的侧支血管,在距盲端3 cm水平部分结扎幽门动脉主干,即在抽紧结扎线第1个扣前在扣内穿一根和幽门动脉粗细相当的丝线,在打好第2个扣后抽去第1个扣内的丝线,这样使幽门动脉在被结扎处只造成血管狭窄,而不完全闭锁,从而使结扎远侧幽门组织发生缺血。然后,A组用生理盐水0.5 mL喷洒于幽门浆膜面,B组用单层化学改性壳聚糖膜覆盖幽门浆膜面,C组用10 g/L透明质酸钠凝胶0.5 mL均匀涂布于幽门浆膜面,关腹。每只大鼠从进腹到关腹的时间都控制在5 min,以使肠管暴露在空气中的时间相等。手术后2 wk及4 wk,每组分别随机取10只大鼠,麻醉后打开腹腔,先肉眼观察并评定幽门盲端被处理部位同周围肠管、系膜及腹壁的粘连程度,再切取此部位幽门组织,-80℃保存,备行肠壁组织总蛋白、羟脯氨酸(hydroxyproline, OHP)的测定。

1.2.4 腹膜粘连程度分级标准: 参考Phillips *et al*^[13] 五级分类法,结合本模型大鼠腹膜粘连特点,确定如下标准:0级-无粘连;I级-自幽门动脉被结扎处远侧的幽门浆膜面同周围的肠壁、系膜、腹壁间发生粘连的面积/该处幽门总面积≤20%;II级-上述比例为20%-40%;III级-上述比例为

表 1 各组间腹膜粘连程度的比较 (分, $n = 10$)

分组	2 wk					4 wk				
	0-	I-	II-	III-	IV	0-	I-	II-	III-	IV
A组	0	1	2	5	2	0	2	4	3	1
B组	7	2	1	0	0	8	2	0	0	0
C组	2	5	3	0	0	3	6	2	0	0

40%-60%; IV-上述比例>60%. 每只大鼠由3人分别进行评分, 取其平均值为该样本的粘连分值.

1.2.5 总蛋白和OHP的测定: 组织中总蛋白和OHP测定采用南京建成生物工程研究所生产的试剂盒, 测定完全按试剂盒说明书操作, 组织中OHP含量用每毫克蛋白中所含OHP的微克数表示, 即 $\mu\text{g}/\text{mg pr}$.

统计学处理 所有数据采用SPSS10.0统计软件进行处理, 组间粘连程度比较采用非参数检验中的Kruskal-Kallis检验(三组间比较)和Mann-Whitney U检验(两两比较), 三组间OHP水平比较采用One-way ANOVA, 组间两两比较采用最小显著差异法(LSD法).

2 结果

2.1 大体所见 各组中所有大鼠术后均未见腹腔内有明显的感染存在, 腹部切口均为甲级愈合. 术后2 wk和4 wk, 化学改性壳聚糖膜组植入大鼠腹腔内的壳聚糖膜完全降解无残留.

2.2 腹膜粘连程度比较 术后2 wk和4 wk, B、C组的粘连程度均显著轻于A组(2 wk: 三组间比较, $\chi^2 = 18.276, P < 0.001$; A vs B, $U = 3.000, P < 0.001$; A vs C, $U = 8.500, P = 0.001$; 4 wk: 三组间比较, $\chi^2 = 18.853, P < 0.001$; A vs B, $U = 2.000, P < 0.001$; A vs C, $U = 14.000, P = 0.003$); 而B组和C组比较, B组粘连程度显著轻于C组(2 wk: B vs C, $U = 24.500, P = 0.038$; 4 wk: B vs C, $U = 24.000, P = 0.015$, 表1).

2.3 肠壁组织OHP含量比较 术后2 wk和4 wk, B、C组OHP水平均显著低于A组(2 wk: 三组间比较, $F = 30.672, P < 0.001$; LSD法组间两两比较, A vs B, $P < 0.001$; A vs C, $P = 0.003$; 4 wk: 三组间比较, $F = 23.745, P < 0.001$; LSD法组间两两比较, A vs B, $P < 0.001$; A vs C, $P = 0.004$); B、C组间比较, 前者两时间点的OHP含量显著低于后者(2 wk: LSD法组间两两比较, B vs C, $P < 0.001$; 4 wk: LSD法组间两两比较, B vs C, $P = 0.001$, 表2).

3 讨论

到目前为止, 腹膜粘连发生机制尚未完全阐明.

表 2 各组OHP含量的比较 (mean \pm SD, $\mu\text{g}/\text{mg pr}$, $n = 10$)

分组	2 wk	4 wk
A组	0.296 \pm 0.031	0.286 \pm 0.036
B组	0.193 \pm 0.029 ^{bd}	0.179 \pm 0.034 ^{bd}
C组	0.253 \pm 0.028 ^b	0.237 \pm 0.035 ^b

^b $P < 0.01$ vs A组; ^d $P < 0.01$ vs C组.

现有的研究结果显示, 当腹膜受到机械损伤、局部缺血、感染、异物等刺激后, 发生炎症反应, 炎症因子被活化, 纤维蛋白渗出. 此时如腹膜间皮细胞纤维蛋白溶酶原和纤维蛋白溶酶原抑制物间的平衡关系被打破, 纤维蛋白溶酶原活化物分泌减少, 纤维蛋白溶酶原抑制物分泌增加, 纤维蛋白溶解受到抑制, 纤维蛋白发生沉积, 随后导致纤维组织增生, 则形成粘连^[14]. 根据上述粘连形成机制, 预防粘连主要从减少对腹膜的刺激、抑制腹膜发生炎症反应、抑制纤维蛋白沉积、促进纤维蛋白溶解、机械隔离腹膜等几方面入手.

本研究应用的化学改性壳聚糖膜, 其植入腹腔后一方面可起局部机械隔离作用, 阻止受损腹膜和周围组织直接接触而形成粘连; 另一方面此化学改性壳聚糖膜可缓慢水溶, 溶解后的壳聚糖具有止血、杀菌、促进上皮修复、抑制成纤维细胞生长的作用, 分别从腹膜粘连形成机制的不同水平来预防粘连的形成; 同时, 通过化学改性后制成的壳聚糖膜, 其在2 wk内即可完全溶解, 克服了未经改性制成的壳聚糖膜在体内长时间难以溶解的缺点^[15]. 因为腹膜粘连在术后数小时即开始形成, 起初由浆液性渗出物中的纤维蛋白原转变为纤维蛋白发生凝固而形成膜性粘连, 随后纤维蛋白溶解系统被激活, 纤维蛋白被溶解, 膜性粘连被清除. 但如纤维蛋白未被完全溶解, 则发生机化而形成纤维性粘连, 此粘连一般在术后2 wk即可形成^[16]. 所以预防腹膜粘连药物发挥作用的最佳时间应该在腹膜受损

■应用要点

本研究所应用的化学改性壳聚糖膜为生物性材料, 可水溶, 在体内易降解成单糖而被机体吸收, 对机体无毒、无不良反应. 本课题组的系列研究发现其对创伤、缺血及感染所致的腹膜粘连有明显的预防作用, 且在预防创伤、缺血所致的腹膜粘连上较透明质酸钠具有明显优势.

■名词解释

壳聚糖: 又称几丁糖, 是甲壳素脱乙酰基的衍生物, 无毒性、无刺激性、无免疫抗原性、无热原性、不溶血、无致突变及致死性反应, 具有止血、杀菌、促进上皮修复、抑制成纤维细胞生长等作用, 是一种组织相容性良好的可吸收降解的生物性材料。

后2 wk以内. 此前本课题组对比研究该化学改性壳聚糖膜对四种不同原因所致的大鼠腹膜粘连的预防作用, 结果显示其对创伤、缺血及感染所致的腹膜粘连有明显的预防作用, 而对滑石粉所致的腹膜粘连则作用不明显^[10]; 进一步对比研究此化学改性壳聚糖膜和透明质酸钠在预防大鼠创伤性腹膜粘连上的疗效, 结果证实其较透明质酸钠具有明显优势^[11].

组织缺血也是腹膜粘连的主要原因之一, 本课题进一步比较研究化学改性壳聚糖膜和透明质酸钠在预防大鼠缺血性腹膜粘连上的疗效, 结果显示: 术后2 wk和4 wk, 应用化学改性壳聚糖膜组大鼠的腹膜粘连程度均显著轻于应用透明质酸钠组, 说明化学改性壳聚糖膜预防大鼠缺血性腹膜粘连的作用明显优于透明质酸钠凝胶. Ozoğul *et al*^[17]报道粘连程度分级与组织OHP水平呈线性正相关, 认为组织OHP水平是衡量粘连程度的有效指标, 他比粘连程度的分级更敏感、更客观. 本课题组进一步阐明以OHP水平衡量腹膜粘连程度时, 以创伤性和缺血性腹膜粘连相关性最好, 且以粘连发生的早期较可靠^[18]. 本研究结果显示: 术后2 wk和4 wk, 应用化学改性壳聚糖膜组的OHP水平均显著低于透明质酸钠组, 此结果和粘连程度评定结果相吻合, 进一步说明化学改性壳聚糖膜对缺血性腹膜粘连的预防作用明显优于透明质酸钠凝胶.

透明质酸钠是透明质酸的钠盐, 其预防腹膜粘连的机制主要为: (1)在溶液中形成三维网络结构, 在小肠浆膜上形成保护膜, 起到隔离屏障作用; (2)黏稠的透明质酸钠凝胶具有润滑作用, 可以减少纤维蛋白原的渗出和沉积; (3)能抑制白细胞的迁移和吞噬, 抑制血小板的沉积, 具有抗炎的特性^[19]. 本研究每只大鼠透明质酸钠凝胶的用量是0.5 mL, 此用量已足以覆盖蚓突的整个创面且达到了凝胶状物在局部停留所能达到的最大厚度, 即透明质酸钠凝胶的用量已达到局部用药所能达到的最大剂量. 然而, 比较透明质酸钠凝胶和化学改性壳聚糖膜的抗粘连作用效果显示: 化学改性壳聚糖膜的抗腹膜粘连作用强于透明质酸钠凝胶. 考虑原因可能有: 化学改性壳聚糖膜以固形状态覆盖于蚓突创面, 机械隔离作用优于透明质酸钠凝胶; 化学改性壳聚糖膜不能流动, 在局部停留时间长; 化学改性壳聚糖膜除具有抗炎作用外, 还有止血、抑制成纤维细胞生长、促进上皮修复的作用, 均有利

于抑制腹膜粘连的形成.

总之, 化学改性壳聚糖膜对创伤、缺血及感染所致的腹膜粘连有明显的预防作用, 其在预防创伤、缺血所致的腹膜粘连上较透明质酸钠具有明显优势. 至于两者对感染性腹膜粘连的作用何者具有优势, 需进一步研究; 同时, 对化学改性壳聚糖膜和其他预防腹膜粘连材料之间的对比研究, 需进一步完善; 还有, 对各种预防腹膜粘连的材料, 其不良反应的对比研究, 如对肠管吻合口和手术切口愈合的影响, 也有待进一步展开.

4 参考文献

- 1 Rao SB, Sharma CP. Use of chitosan as a biomaterial: studies on its safety and hemostatic potential. *J Biomed Mater Res* 1997; 34: 21-28
- 2 Liu H, Du Y, Wang X, Sun L. Chitosan kills bacteria through cell membrane damage. *Int J Food Microbiol* 2004; 95: 147-155
- 3 Risbud M, Hardikar A, Bhonde R. Growth modulation of fibroblasts by chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogel: implications for wound management? *J Biosci* 2000; 25: 25-31
- 4 徐瑞生, 侯春林, 尹承慧, 王永胜, 陈爱民. 几丁糖预防髌骨骨折术后膝关节粘连的临床观察. *中国修复重建外科杂志* 2002; 16: 240-241
- 5 Zhou J, Elson C, Lee TD. Reduction in postoperative adhesion formation and re-formation after an abdominal operation with the use of N, O-carboxymethyl chitosan. *Surgery* 2004; 135: 307-312
- 6 Krause TJ, Zazanis G, Malatesta P, Solina A. Prevention of pericardial adhesions with N-O carboxymethylchitosan in the rabbit model. *J Invest Surg* 2001; 14: 93-97
- 7 Kutlay J, Ozer Y, Isik B, Kargici H. Comparative effectiveness of several agents for preventing postoperative adhesions. *World J Surg* 2004; 28: 662-665
- 8 Ghellai AM, Stucchi AF, Lynch DJ, Skinner KC, Colt MJ, Becker JM. Role of a hyaluronate-based membrane in the prevention of peritonitis-induced adhesions. *J Gastrointest Surg* 2000; 4: 310-315
- 9 Hooker GD, Taylor BM, Driman DK. Prevention of adhesion formation with use of sodium hyaluronate-based bioresorbable membrane in a rat model of ventral hernia repair with polypropylene mesh--a randomized, controlled study. *Surgery* 1999; 125: 211-216
- 10 江素君, 周卸来, 倪有娣, 茹金泉, 杜红英, 胡巧玲. 化学改性壳聚糖膜预防不同类型腹膜粘连的实验研究. *肝胆胰外科杂志* 2008; 20: 307-311
- 11 章志量, 周卸来, 倪有娣, 江素君, 茹金泉, 杜红英, 胡巧玲. 凝胶化改性壳聚糖膜预防腹膜粘连的效果研究. *肝胆胰外科杂志* 2005; 17: 199-202
- 12 周海金, 章志量, 杜红英, 戴一帆, 茹金泉. 缺血性大鼠腹膜粘连模型的建立. *杭州师范学院学报(自然科学版)* 2005; 4: 428-430
- 13 Phillips RK, Dudley HA. The effect of tetracycline lavage and trauma on visceral and parietal peritoneal ultrastructure and adhesion formation. *Br J Surg* 1984; 71: 537-539
- 14 田易军, 胡森. 腹腔粘连机制和防治研究进展. 感染、

- 炎症、修复 2008; 9: 126-128
- 15 Zhang ZL, Xu SW, Zhou XL. Preventive effects of chitosan on peritoneal adhesion in rats. *World J Gastroenterol* 2006; 12: 4572-4577
- 16 Liakakos T, Thomakos N, Fine PM, Dervenis C, Young RL. Peritoneal adhesions: etiology, pathophysiology, and clinical significance. Recent advances in prevention and management. *Dig Surg* 2001; 18: 260-273
- 17 Ozoğul Y, Baykal A, Onat D, Renda N, Sayek I. An experimental study of the effect of aprotinin on intestinal adhesion formation. *Am J Surg* 1998; 175: 137-141
- 18 章志量, 周卸来, 茹金泉, 江素君, 杜红英, 倪有娣, 胡巧玲. 不同原因所致大鼠腹膜粘连的实验研究. *中华医学杂志* 2006; 86: 3285-3289
- 19 Goldberg EP, Burns JW, Yaacobi Y. Prevention of postoperative adhesions by precoating tissues with dilute sodium hyaluronate solutions. *Prog Clin Biol Res* 1993; 381: 191-204

■同行评价

本研究选题较好, 内容有意义, 实用性较强, 具有较好的临床参考价值。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志性质、刊登内容及目标

本刊讯 《世界华人消化杂志(国际标准刊号ISSN 1009-3079, 国内统一刊号CN 14-1260/R, *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi/World Chinese Journal of Digestology*)》, 是一本由来自国内23个省、市、自治区、特别行政区的496位胃肠病学和肝病专家支持的开放存取的同行评议的旬刊杂志, 旨在推广国内各地的胃肠病学和肝病领域临床实践和基础研究相结合的最具有临床意义的原创性及各类评论性的文章, 使其成为一种公众资源, 同时科学家、医生、患者和学生可以通过这样一个不受限制的平台来免费获取全文, 了解其领域的所有的关键的进展, 更重要的是这些进展会为本领域的医务工作者和研究者服务, 为他们的患者及基础研究提供进一步的帮助。

除了公开存取之外, 《世界华人消化杂志》的另一大特色是对普通读者的充分照顾, 即每篇论文都会附带有一组供非专业人士阅读的通俗易懂的介绍大纲, 包括背景资料、研发前沿、相关报道、创新盘点、应用要点、名词解释、同行评价。

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

《世界华人消化杂志》的目标是出版高质量的胃肠病学和肝病领域的专家评论及临床实践和基础研究相结合具有实践意义的文章, 为内科学、外科学、感染病学、中医中药学、肿瘤学、中西医结合学、影像学、内镜学、介入治疗学、病理学、基础研究等医生和研究人员提供转换平台, 更新知识, 为患者康复服务。(常务副总编辑: 张海宁 2009-04-08)

慢性胃炎伴低级别上皮内瘤的临床特点及转归

孙圣斌, 吴杰, 王萍, 张姮

■背景资料

2000年WHO肿瘤分类《消化系统肿瘤病理学与遗传学》,将胃上皮组织形态学上具有一定异型性,在浸润前的肿瘤性改变,称为胃上皮内瘤,取代了以往异型增生、不典型增生和原位癌等术语。国内有关胃低级别上皮内瘤临床特点的报道甚少。

孙圣斌, 吴杰, 王萍, 张姮, 武汉市中心医院消化内科 湖北省武汉市 430014

作者贡献分布: 孙圣斌和吴杰对本文贡献均等; 本研究由孙圣斌和吴杰设计; 研究过程由孙圣斌、吴杰、王萍及张姮完成操作; 数据分析由孙圣斌完成; 论文写作由孙圣斌和吴杰完成。

通讯作者: 吴杰, 430014, 湖北省武汉市, 武汉市中心医院消化内科. wujie988@sina.com

收稿日期: 2009-02-03 修回日期: 2009-02-26

接受日期: 2009-03-02 在线出版日期: 2009-04-08

Clinical features and outcome of chronic gastritis accompanying low-grade intraepithelial neoplasia

Sheng-Bin Sun, Jie Wu, Ping Wang, Heng Zhang

Sheng-Bin Sun, Jie Wu, Ping Wang, Heng Zhang, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China

Correspondence to: Dr. Jie Wu, Department of Gastroenterology, the Central Hospital of Wuhan, Wuhan 430014, Hubei Province, China. wujie988@sina.com

Received: 2009-02-03 Revised: 2009-02-26

Accepted: 2009-03-02 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To explore the clinic features and turnover of chronic gastritis accompanying low-grade gastric intraepithelial neoplasia (LGIN).

METHODS: One hundred and five patients were pathologically diagnosed with LGIN by endoscopy and gastric biopsy. Pathological inflammation degree was determined. Intestinal metaplasia, endoscopic presentation, endoscopic grading of chronic gastritis and *H pylori* infection were investigated. Thirty one patients who joined in follow-up study underwent a follow-up gastroscopy examination 60 days later.

RESULTS: All patients were diagnosed with chronic gastritis accompanied with LGIN, including 38 patients with mild inflammation, 55 patients with moderate inflammation, 9 patients with severe inflammation and 3 patients with atrophic inflammation. Among them, 30 patients had intestinal metaplasia. In endoscopic diagnosis, there were 23 patients with superficial gastritis, 72 with erosive gastritis, 5 with hemorrhagic

gastritis and 5 with atrophic inflammation. In grading diagnosis of chronic gastritis, there were 21 patients of one-grade, 28 of second-grade and 56 of third-grade. There were 31 patients who underwent a follow-up biopsy. Of them, 9 patients retained pathological diagnosis, 7 patients were adenomatoid hyperplasia and 15 patients were only chronic gastritis. *H pylori* infection ratio was 72.4%.

CONCLUSION: Many types of chronic gastritis and a lot of endoscopic appearances can occur in LGIN. LGIN is more common in patients who have more severe inflammation in endoscopic appearance. LGIN is reversible by therapy.

Key Words: Chronic gastritis; Intraepithelial neoplasia; Turnover

Sun SB, Wu J, Wang P, Zhang H. Clinical features and outcome of chronic gastritis accompanying low-grade intraepithelial neoplasia. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1030-1032

摘要

目的: 探索慢性胃炎伴低级别上皮内瘤的临床特点及转归。

方法: 收集我院胃镜及黏膜活检诊断为慢性胃炎伴低级别上皮内瘤变的患者105例,分析其病理炎症程度分级、是否合并肠化,同时分析其内镜特征及内镜下慢性胃炎分级,*H pylori*感染等。31例患者于60 d后随访并复查胃镜。

结果: 105例患者的病理诊断中,轻度炎38例,中度炎55例,重度炎9例,萎缩性炎3例,伴肠化30例。105例患者内镜诊断中,浅表性胃炎23例,糜烂性胃炎72例,出血性胃炎5例,萎缩性胃炎5例。慢性胃炎内镜分级诊断,1级21例,2级28例,3级56例。31例患者行重复胃镜及活检,其中15例仅为慢性胃炎,9例维持原诊断,7例为慢性胃炎伴腺瘤样增生。所有患者的*H pylori*感染率为72.4%(76/105)。

结论: 内镜下各种类型的慢性胃炎均可合并

■同行评议者

潘秀珍, 教授, 福建省立医院消化研究室; 郑鹏远, 教授, 郑州大学第二附属医院消化科

低级别上皮内瘤变, 内镜下炎症较重者发生率较高. 经治疗低级别上皮内瘤变具有可逆性.

关键词: 慢性胃炎; 上皮内瘤; 转归

孙圣斌, 吴杰, 王萍, 张姮. 慢性胃炎伴低级别上皮内瘤的临床特点及转归. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1030-1032
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1030.asp>

0 引言

2000年国际癌症研究机构出版的WHO肿瘤分类《消化系统肿瘤病理学与遗传学》^[1], 将胃上皮组织形态学上具有一定异型性, 在浸润前的肿瘤性改变, 即胃上皮恶性肿瘤的前驱病变, 称为胃上皮内瘤(gastric intraepithelial neoplasia, GIN), 取代了以往异型增生、不典型增生和原位癌等术语. 胃上皮内瘤分为低级别和高级别2类, 王晓颖 *et al*报道胃高级别上皮内瘤实际上大部分为腺癌, 应引起足够重视, 但国内有关胃低级别上皮内瘤的报道甚少^[2-3]. 本文从临床角度出发, 对慢性胃炎伴低级别上皮内瘤作了初步研究.

1 材料和方法

1.1 材料 收集本院2007-05/2008-12胃镜诊断为慢性胃炎, 同时钳取黏膜组织病理检查诊断为慢性胃炎伴低级别GIN患者105例, 男61例, 女44例, 年龄29-77(平均53.28)岁. 排除胃镜和/或病理诊断有上消化系溃疡、食管癌、胃癌及其他上消化系非上皮性肿瘤者. 研究中所有胃镜及活检取材均由同一操作者完成.

1.2 方法

1.2.1 胃镜下分型分级: 采用2003年中华消化内镜学会大连会议^[4]制定的慢性胃炎分型分级标准. 还按镜下特征^[5]将浅表性胃炎分为红斑型和胆汁反流型, 将糜烂性胃炎分为平坦糜烂型、孤立的隆起糜烂型和多发隆起糜烂型, 同时存在多种病变时以主要病变计算. 活检时在病灶明显的部位取材3-4次.

1.2.2 炎症的病理分级: 根据慢性炎症细胞的密集程度和浸润深度分级^[6]. 轻度炎: 慢性炎症细胞较少并局限于黏膜浅层, 不超过黏膜层的1/3; 中度炎: 慢性炎症细胞较密集, 超过黏膜层的1/3, 达到2/3; 重度炎: 慢性炎症细胞密集, 占据黏膜全层.

1.2.3 病理诊断低级别上皮内瘤: 按2000版WHO标准^[1]进行诊断, 低级别GIN指结构和细胞学异

常多发生于上皮下半部; 细胞核紧密排列在基底, 核染色质密集深染, 核增大, 分裂相较少, 可保持一定极性; 腺体结构较不规则, 形态较紊乱, 可出现背靠背及共壁.

1.2.4 *H pylori*感染的诊断: 采用胃镜下钳取组织快速尿素酶试验(试纸法), 于胃窦和胃体各钳取一小块组织进行试验, 两者均为阳性时结果判为阳性, 否则为阴性.

1.2.5 随访方案: 31例患者加入随访, 其中*H pylori*阳性者18例, 阴性者13例. *H pylori*阳性者给予口服^[7]埃索美拉唑片20 mg, 阿莫西林1.0 g, 克拉霉素0.5 g, 均每日2次, 共7 d, 随后服用埃索美拉唑20 mg, 每日1次, 多潘立酮片10 mg, 每日3次, 共7 d. *H pylori*阴性者给予口服埃索美拉唑片20 mg, 每日1次, 多潘立酮片10 mg, 每日3次, 共14 d. 随访患者于初次诊断60 d后复查胃镜, 均尽量在原取材部位或附近重复活检3-4次.

2 结果

2.1 内镜诊断 105例患者初次胃镜诊断全部为慢性胃炎, 其中浅表性胃炎23例, 糜烂性胃炎72例, 出血性胃炎5例, 萎缩性胃炎5例; 病变镜下特征中, 红斑型20例, 胆汁反流型3例, 平坦糜烂型24例, 孤立的隆起糜烂型14例, 多发隆起糜烂型34例. 慢性胃炎分级诊断, 1级21例, 2级28例, 3级56例.

2.2 病理诊断 105例患者初次病理诊断全部为慢性胃炎伴低级别GIN; 慢性胃炎病理分级中, 轻度炎38例, 中度炎55例, 重度炎9例, 萎缩性炎3例; 合并肠上皮化生者30例.

2.3 *H pylori*感染 全部患者中初次检查时*H pylori*阳性率为72.4%(76/105).

2.4 随访 31例患者复查胃镜及活检, 结果病理诊断15例上皮内瘤消失仅为慢性胃炎, 9例仍为慢性胃炎伴低级别上皮内瘤变, 7例诊断为慢性胃炎伴腺瘤样增生. 其中3例初次病理诊断为萎缩性胃炎伴低级别GIN者, 复查结果上皮内瘤均消失, 并且2例转变为浅表性胃炎, 1例仍为萎缩性胃炎. 9例重度炎患者中有4例复查, 结果病理上均有不同程度好转, 2例为中度炎症伴低级别GIN; 2例GIN消失, 为中度炎症和轻度炎症各1例.

3 讨论

GIN是一种肿瘤性、非浸润性改变^[1], 是癌的前驱病变, 并非炎症性、增生性改变, 可在炎症时伴发, 不排除同时存在癌的可能. 低级别GIN包

■ 研究前沿

胃上皮内瘤概念的提出, 使探索各种类型慢性胃炎的病理表现、内镜表现、*H pylori*感染等和上皮内瘤的关系成为一个热点. 大规模的随访研究是亟待解决的问题.

■同行评价

本文探索慢性胃炎伴低级别上皮内瘤的临床特点及转归,选题新颖,结合临床,具有一定的理论意义和临床实用价值。

括原轻度和中度不典型增生,但以往的不典型增生,既包含肿瘤性改变,也包含反应性、增生性改变,这是两者的区别所在。以往的异型增生强调形态学改变,而上皮内瘤着重肿瘤的演进过程,范围比异型增生更广泛。本研究中轻、中度炎者共占88.6%(93/105),重度炎仅9例,说明低级别GIN并不一定伴随较重的病理炎症表现。研究中,低级别GIN合并肠上皮化生的比例较高,为28.6%(30/105),佐证了GIN可以源自^[1]胃上皮自身或肠化的胃上皮。全部病检中,萎缩性炎仅3例,说明低级别GIN并非萎缩性胃炎所特有或高危的病理变化。3例内镜诊断萎缩性胃炎而病理上并没有萎缩,1例内镜诊断为浅表性胃炎而病理上有萎缩,2例患者内镜和病理诊断萎缩是相符的,提示我们作萎缩性胃炎的内镜诊断时应保持谨慎,并以病理来确诊。

在所有病例的初次胃镜诊断中,糜烂性胃炎占68.6%(72/105),浅表性胃炎、出血性胃炎和萎缩性胃炎共占31.4%(33/105),说明多种类型的胃炎均可能发生GIN,以糜烂性胃炎居多。内镜下特征中红斑型、胆汁反流型、平坦糜烂型、隆起糜烂型包括孤立和多发型各占一定比例,以隆起糜烂最多,占45.7%(48/105),说明多种镜下表现均可能合并低级别GIN。慢性胃炎分级中1级和2级共占46.7%(49/105),3级占53.3%(56/105),说明低级别GIN常伴随较重的内镜下炎症表现。全部病例中,*H pylori*阳性率达72.4%,推测*H pylori*可能参与胃上皮内瘤的发病。有动物实验显示^[8-9]*H pylori*感染和高盐饮食为胃上皮内瘤的致病因素,这与胃癌的发病机制和肿瘤演进过程是一致的。

31例患者随访时重复胃镜检查并活检,结果15例GIN消失,9例维持原诊断,7例伴腺瘤样增生。在WHO新的消化系统肿瘤分类中,腺瘤是根据病变存在上皮内瘤变来定义的^[10],为一种由管状和/或绒毛状结构组成,显示上皮内瘤变的境界清楚的良性病变。腺瘤可呈息肉状,也可以为非息肉状,即所谓的扁平腺瘤^[11-12];无论形态如何,腺瘤均为癌前病变。由于上皮内瘤和腺瘤之间关系密切,而钳取组织存在局限性,可能在临床与病理诊断之间造成混乱。我们在工作中,加强了相互沟通,在病理检查发现GIN时,将大体上境界不清,钳取组织活检发现腺体增生合并GIN的病变,诊断为腺瘤样增生;将大

体上境界清楚的病变或内镜下行黏膜切除后病检,显示完整的腺瘤结构者,诊断为腺瘤;其他不符合上述情况的则诊断为上皮内瘤变。15例患者复查时GIN消失,同时病理上的萎缩和重度炎症亦可好转,证实萎缩性炎症和上皮内瘤均存在可逆性。我们粗略的随访结果上皮内瘤复原率达到48.4%(15/31)。文献^[13]报道,低级别胃上皮内瘤的复原率是38%-40%,持续不变率是19%-28%,0%-15%的病例进展到高级别胃上皮内瘤。本研究中未发现进展至高级别上皮内瘤,可能与药物治疗和随访时间较短有关。

总之,胃上皮内瘤的内镜表现多种多样,和腺瘤关系密切,内镜和病理医师应对其加强认识,规范诊断,争取早期发现、及时治疗和追踪随访,从而提高胃癌前病变的诊治水平。

4 参考文献

- 1 虞积耀,崔全才. 消化系统肿瘤病理学和遗传学. 第1版. 北京: 人民卫生出版社, 2006: 1-53
- 2 王晓颖,袁平,吴云林,燕敏. 胃镜活检病理诊断上皮内瘤变高级别的意义. 上海交通大学学报(医学版) 2007; 27: 591-593
- 3 吴云林,吴巍,郭滢,蔚青,江凤翔,胡伟国,燕敏,朱正纲. 胃黏膜高级别上皮内瘤变的内镜识别与手术病理的结果. 上海交通大学学报(医学版) 2007; 27: 552-554
- 4 中华医学会消化内镜学分会. 慢性胃炎的内镜分型分级标准及治疗的试行意见. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 77-78
- 5 巴图,牧骑. 慢性胃炎的内镜分类与胃黏膜炎症演变过程的关系. 世界华人消化杂志 2007; 15: 387-389
- 6 于中麟,李鹏,张澍田,于永征,吴咏冬,冀明,俞力,梁晓梅,牛应林,王海燕,张长淮,陈光勇,刘学宗. 慢性胃炎内镜表现和病理的相关性研究. 中华消化内镜杂志 2004; 21: 79-82
- 7 周殿元,陈焯. 幽门螺杆菌感染的药物治疗新进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 157-159
- 8 Rogers AB, Taylor NS, Whary MT, Stefanich ED, Wang TC, Fox JG. *Helicobacter pylori* but not high salt induces gastric intraepithelial neoplasia in B6129 mice. *Cancer Res* 2005; 65: 10709-10715
- 9 Kato S, Tsukamoto T, Mizoshita T, Tanaka H, Kumagai T, Ota H, Katsuyama T, Asaka M, Tatematsu M. High salt diets dose-dependently promote gastric chemical carcinogenesis in *Helicobacter pylori*-infected Mongolian gerbils associated with a shift in mucin production from glandular to surface mucous cells. *Int J Cancer* 2006; 119: 1558-1566
- 10 毛荣军,房慧琳,杨继清. 胃肠道上皮内瘤变. 临床肿瘤学杂志 2005; 10: 552-553
- 11 来茂德. 上皮内瘤变在消化道病理诊断中的应用. 临床与实验病理学杂志 2006; 22: 386-387
- 12 王鲁平,虞积耀. 胃肠道活检标本诊断中病理诊断术语与认识的进展. 世界华人消化杂志 2005; 13: 2007-2009
- 13 Dixon MF. Gastrointestinal epithelial neoplasia: Vienna revisited. *Gut* 2002; 51: 130-131

编辑 李军亮 电编 何基才

不同状态糖尿病患者胃电活动的特点

陈维娜, 蓝宇, 柯美云

陈维娜, 蓝宇, 北京积水潭医院消化科 北京大学医学部第四临床医学院 北京市 100035

柯美云, 北京协和医院消化科 北京市 100730

作者贡献分布: 此课题由陈维娜、蓝宇及柯美云共同设计; 研究过程、数据分析及文章撰写由陈维娜完成; 文章的指导及审阅由蓝宇及柯美云完成。

通讯作者: 蓝宇, 教授, 100035, 北京市西城区新街口东街31号, 北京积水潭医院消化科, 北京大学医学部第四临床医学院。

lanyu-mail@sohu.com

电话: 010-58517177

收稿日期: 2009-01-10 修回日期: 2009-02-26

接受日期: 2009-03-02 在线出版日期: 2009-04-08

Characteristics of gastric myoelectrical activity in diabetic patients

Wei-Na Chen, Yu Lan, Mei-Yun Ke

Wei-Na Chen, Yu Lan, Department of Gastroenterology, Jishuitan Hospital of Beijing, the Fourth Clinical Medical College of Peking University, Beijing 100035, China

Mei-Yun Ke, Department of Gastroenterology, Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730, China

Correspondence to: Professor Yu Lan, Department of Gastroenterology, Jishuitan Hospital of Beijing, the Fourth Clinical Medical College of Peking University, 31 Xinjiekou Eastern Street, Xicheng District, Beijing 100035, China. lanyu-mail@sohu.com

Received: 2009-01-10 Revised: 2009-02-26

Accepted: 2009-03-02 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To investigate the gastric myoelectrical activity in diabetic patients in different stages.

METHODS: Fifty-four patients with DM were included in this study, 24 males and 30 females, with a mean age of 59.9 ± 11.6 years. The patients were divided into three groups: group I without both complications and upper gastrointestinal symptoms, group II with complications but without severe upper gastrointestinal symptoms, group III with both complications and severe upper gastrointestinal symptoms. EGG were performed 30 minutes preprandial and 60 minutes postprandial.

RESULTS: A total of 74.1% diabetic patients had dysrhythmia. In the fasting state, 46.3% had normogastria, 31.5% had bradygastria, and 14.8%

had arrhythmia. In postprandial, 46.3% had normogastria, 31.5% had bradygastria, and 14.8% arrhythmia. The power ratio of postprandial and preprandial was elevated in group III compared to group I (1.07 ± 1.17 vs 0.93 ± 0.14 , $P = 0.022$). There was a negative correlation between PR and satiety in group III ($r = -0.535$, $P = 0.040$).

CONCLUSION: Bradygastria is significantly more common during the entire period of recording. Different EGG presentations are seen in patients with DM in different conditions.

Key Words: Diabetes mellitus; Gastric electrical activity; Gastric electrical rhythm; Bradygastria; Tachygastria

Chen WN, Lan Y, Ke MY. Characteristics of gastric myoelectrical activity in diabetic patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1033-1037

摘要

目的: 观察不同状态糖尿病患者的胃电活动特征, 探讨糖尿病胃电紊乱的发展规律。

方法: 2005-11/2006-05北京协和医院就诊的糖尿病患者54例, 根据糖尿病并发症及上消化道症状的有无分为3组: 无并发症及上消化道症状组, 有并发症而无明显上消化道症状组, 有并发症及明显上消化道症状组。记录空腹30 min和餐后60 min的体表胃电活动。

结果: 糖尿病患者胃电节律异常发生率为74.1%。餐前胃电活动表现为: 正常节律(46.3%)、胃动过缓(31.5%)、无节律(14.8%)、胃动过速(7.4%); 餐后胃电活动表现为: 胃动过缓(37%)、正常节律(35.2%)、无节律(20.4%)、胃动过速(7.4%)。有并发症及上消化道症状组的PR值显著高于无并发症及上消化道症状组(1.07 ± 1.17 vs 0.93 ± 0.14 , $P = 0.022$)。有并发症及上消化道症状者早饱症状的严重程度和PR值负相关($r = -0.535$, $P = 0.040$)。

结论: 糖尿病患者胃电节律紊乱以胃动过缓最常见, 不同状态糖尿病患者的胃电活动存在差异。

背景资料

糖尿病胃病是糖尿病的一个较常见并发症, 同时基础和临床研究均发现, 糖尿病患者胃电异常多见, 可表现为胃电节律紊乱(胃动过缓、胃动过速、无节律)或餐后/餐前动态异常。

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

■研究前沿

从糖尿病发生到其出现各系统并发症的进程中胃电异常是否有规律可循, 以及和糖尿病胃病的关系如何, 目前尚未明确. 对糖尿病患者进行分组研究有助于探讨糖尿病上胃肠道症状的发生、发展.

关键词: 糖尿病; 胃电活动; 胃电节律; 胃动过缓; 胃动过速

陈维娜, 蓝宇, 柯美云. 不同状态糖尿病患者胃电活动的特点. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1033-1037

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1033.asp>

0 引言

随着研究的深入, 已经发现不同状态糖尿病患者(diabetes mellitus)患者的胃排空不同, 发病初期胃排空正常或有近端胃排空加速, 而后期则以排空延迟为主要形式^[1-2]. 由于胃的排空是建立在胃的慢波(slow wave)节律基础上发生, 不同状态糖尿病患者胃电活动(gastric electrical activity)是否和排空一样也存在差异, 从糖尿病发生到其出现各系统并发症的进程中胃电异常是否有规律可循, 目前少有报道. 本研究旨在观察不同状态(无并发症及上消化道症状; 有并发症及/或上消化道症状)糖尿病患者胃电活动特征, 从而探讨糖尿病胃电紊乱的发展规律.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-11/2006-05北京协和医院就诊的糖尿病患者54例, 男24例, 女30例, 年龄35-78(平均 59.9 ± 11.6)岁. 合并有明显胃肠道症状的糖尿病患者, 需进行内镜或消化系造影检查除外上消化道溃疡、活动性炎症、梗阻、肿瘤等器质性疾病, 并除外全身系统性疾病(如系统性硬化症等)或药物因素(如拜唐平等)引起胃肠道不适, 除外糖尿病肾病肾功能不全引起的胃肠道不适.

1.2 方法 所有患者据有无消化系统外其他系统并发症(糖尿病眼底病变、糖尿病肾病等微血管病变及周围神经病变)及上消化道症状分为三组: 第I组: 无糖尿病并发症, 无上消化道症状, 共15例; 第II组: 有糖尿病并发症, 无或仅有轻度上消化道症状(症状评分 <6 分), 共24例; 第III组: 有糖尿病并发症, 有明显上消化道症状(症状评分 ≥ 6 分), 共15例. 应用单导胃电记录仪(Sweden, Synectics Medical)分别记录餐前30 min和餐后1 h的胃电活动. 本研究的标准餐为80 g方便面+50 g火腿肠+400 mL水, 总热量为1925 kJ(碳水化合物: 脂肪: 蛋白 = 3.9: 3.4: 1)^[3]. 所有的受试者要按日常口服降糖药物或皮下注射胰岛素种类及剂量使用药物或针剂控制血糖, 三组糖尿病患者之间的血糖水平无统计学差异. 观察指标有: (1)症状积分: 糖尿病患者的上胃肠

道症状包括上腹不适、上腹胀、上腹痛、暖气、早饱、恶心、反酸, 分别对上述症状的严重程度和发作频度进行4分法评分, 胃肠症状总分由每项不适症状发生的严重程度和频度之和确定. (2)与胃电活动有关的参数: 餐后及餐前胃动过缓(bradycardia)百分比(B%)、正常胃电节律(normogastria)百分比(N%)、胃动过速(tachycardia)百分比(T%)、主频(dominant frequency, DF)、主功率(dominant power, DP)、餐后/餐前功率比(power ratio, PR). 根据北京协和医院胃肠动力中心对50名健康中国人进行的胃电图检查, 定义正常胃电图标准为^[3-4]: 餐前、餐后正常胃电节律百分比 $>65\%$, 餐后/餐前功率比 >1 . 胃动过缓百分比 $>50\%$, 为胃动过缓; 胃动过速百分比 $>50\%$, 为胃动过速.

统计学处理 采用统计软件SPSS11.5进行统计分析. 所有计量资料结果均采用 $\text{mean} \pm \text{SD}$ 表示; 各组间胃电参数之间差异性比较采用单因素方差分析法; 各观察指标的相关性研究采用Spearman相关分析法; 各组间胃电节律分布差异性比较采用 $R \times C$ 表检验. 所有统计学结果以 $P < 0.05$ 为具有统计学意义.

2 结果

2.1 胃电节律异常发生率 患者胃电节律异常发生率为74.1%, 第I、II、III组糖尿病胃电节律正常例数分别为5、5、4例, 三组糖尿病患者胃电异常发生率分别为66.7%、79.2%、73.3%, 三组间胃电节律异常发生率比较无统计学差异($P = 0.685$).

2.2 餐前、餐后胃电节律异常的发生率 54例糖尿病患者餐前、后胃电节律异常的发生率分别为53.7%、64.8%. 餐前胃电节律按其发生率由高至低依次为: 正常节律(46.3%)、胃动过缓(31.5%)、无节律(14.8%)、胃动过速(7.4%). 餐后胃电节律按其发生率由高至低依次为: 胃动过缓(37%)、正常节律(35.2%)、无节律(20.4%)、胃动过速(7.4%). 故糖尿病患者餐前、餐后其胃电节律异常均表现胃动过缓最常见, 其次为无节律、胃动过速.

2.3 三组糖尿病餐前、后胃电参数比较 三组糖尿病患者进餐后正常胃电节律百分比餐前均有下降趋势, 但二者并无统计学意义. 与另外两组不同, 有消化系症状及并发症组糖尿病患者餐前胃电节律紊乱主要表现为无节律, 且餐后胃动过缓百分比餐前呈现增加趋势(表1, 图1).

■ 创新盘点

本研究通过对不同状态的糖尿病患者进行分组研究, 发现不同状态糖尿病患者的胃电活动存在差异, 揭示糖尿病胃电发展规律。

表 1 三组糖尿病餐前、餐后胃电参数比较

		B%	N%	T%	DF	DP
餐前	第 I 组	40.6 ± 32.4	51.4 ± 37.7	6.9 ± 9.8	2.6 ± 0.6	36.9 ± 4.9
	第 II 组	33.2 ± 29.2	47.8 ± 32.9	17.6 ± 26.7	2.9 ± 0.8	34.0 ± 6.4
	第 III 组	22.5 ± 26.4	63.2 ± 27.2	18.5 ± 4.8	3.1 ± 0.8	33.0 ± 6.6
餐后	第 I 组	34.6 ± 25.1	48.1 ± 31.6	13.8 ± 10.6	3.0 ± 0.7	34.1 ± 5.8
	第 II 组	33.8 ± 29.6	44.6 ± 30.6	18.7 ± 23.7	3.1 ± 0.7	34.6 ± 6.1
	第 III 组	31.5 ± 31.0	46.1 ± 28.2	15.8 ± 17.7	2.9 ± 0.8	34.9 ± 7.1

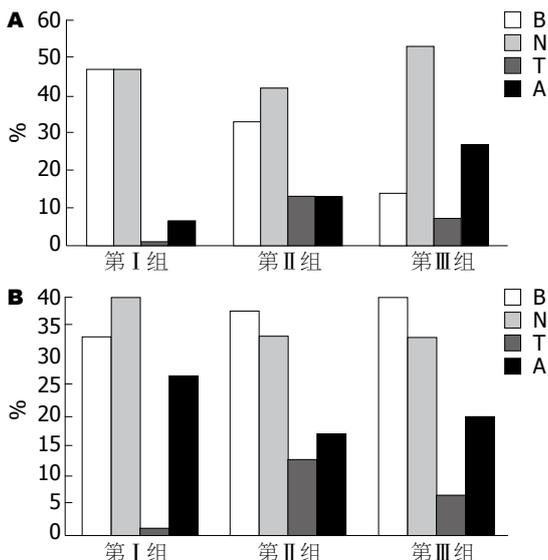


图 1 三组患者餐前、后胃电节律分布. A: 餐前; B: 餐后.

2.4 三组糖尿病患者之间PR值比较 有上消化道症状有并发症组PR值(1.07 ± 1.17)显著高于无上消化道症状无并发症组(0.93 ± 0.14), 二者之间存在显著性差异($P = 0.022$), 显示在糖尿病发展的较早期, 进餐后功率较低, 而当合并有明显并发症和消化系症状时, 进餐后功率非但没有进一步降低, 反而升高; 而餐前、餐后B%、N%、T%、DF、DP均未发现统计学差异. 有上消化道症状的15例糖尿病患者中, 9例PR值>1, 其中3例餐后正常胃电节律百分比增加, 6例PR值<1, 其中1例餐后正常胃电节律百分比增加, PR值>1组和PR值<1组餐后正常节律百分比改变无统计学差异($P = 0.604$). 有上消化道症状及并发症的糖尿病患者, 早饱症状的严重程度和PR值负相关($r = -0.535, P = 0.040$), 表明有上消化道症状及有并发症的糖尿病患者, PR值越低, 早饱症状越重; PR值越高, 早饱症状越轻(图2).

3 讨论

胃电图是应用腹部体表电极记录胃肌电活动的

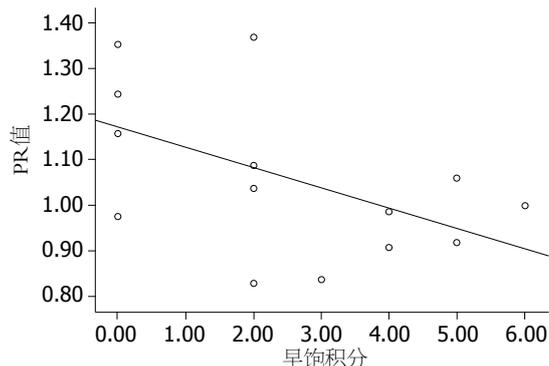


图 2 早饱症状和PR之间的关系. $P < 0.05$.

一种无创性检测方法, 正常的胃电图反映了由位于胃体肌间Cajal间质细胞起源的每分钟3次的胃肌电活动^[3,5-7]. 通过胃电图诊断胃的节律紊乱, 有助于识别胃的神经肌肉病变. 以往研究发现糖尿病患者中胃电异常的发生率较健康人显著增高^[5,8-9], 糖尿病时Cajal间质细胞数量减少, 结构破坏^[10-11], 胃电图可表现为3 cpm的正常胃电活动的规律性消失, 而代之以胃动过速、胃动过缓或无节律^[12].

在本研究中, 我们对54例明确诊断的糖尿病患者进行空腹30 min及餐后1 h的胃电记录, 发现在糖尿患者中胃电异常发生率高达74.1%. 研究显示, 无论是空腹还是餐后, 胃电节律紊乱均表现为胃动过缓最常见, 其次分别为无节律、胃动过速, 这与既往研究报道一致^[13-16].

近年来随着研究的深入, 已经发现不同状态糖尿病患者的胃排空功能状态不同, 发病之初胃排空正常或有近端胃排空加速, 后期则以排空延迟为主要形式^[1,17]. 由于胃的运动是建立在胃电节律的基础上发生的, 不同状态糖尿病患者的胃电活动是否有规律可循, 其影响因素、以及胃电节律和胃排空之间有无关联, 仍不十分清楚.

在本研究中, 我们将54例明确诊断的糖尿病患者根据并发症及上消化道症状的有无进行分

■应用要点

本研究发现不同状态糖尿病患者胃电活动存在差异,有助于临床上糖尿病胃肠道并发症的早期诊断及指导治疗。

级后观察发现,三组糖尿病患者胃电异常发生率比较无统计学差异,在糖尿病发展的早期,尚未出现并发症和上消化道症状时,胃电节律异常的发生率即已高达66.7%,说明糖尿病患者胃电节律异常发生较早,胃电节律异常可先于糖尿病其他系统并发症和消化系症状的发生而出现。分析三组糖尿病患者的胃电节律特征,无上消化道症状的糖尿病患者空腹时胃电节律紊乱以胃动过缓为主,而有上消化道症状的糖尿病患者空腹时胃电节律紊乱以无节律为主要表现,但是三组患者餐后胃电节律紊乱的形式均以胃动过缓所占比例大。因此,胃动过缓是糖尿病患者胃电节律紊乱最主要的表现形式,而空腹时胃电无节律有可能与上消化道症状的出现有关。根据以往研究结果,合并上消化道症状的糖尿病患者多表现为胃排空延缓^[1-2],我们推测空腹时胃电无节律,基本电节律缺乏,不能产生动作电位,则胃平滑肌不能产生有效收缩,影响胃的排空功能,从而导致消化系症状的出现。但由于观察例数较少,胃电紊乱表现形式多样,尚需进一步研究证实。

PR反映了进餐引起的胃电功率改变^[3]。有文章报道,健康人PR增加,而糖尿患者PR没有明显升高,反而下降。Jebbink *et al*对30例1型糖尿病患者和12名健康人进行胃电频谱研究发现健康人PR均>2,而糖尿患者的PR仅为0.65^[18]。但近年来我国蓝宇 *et al*对不同阶段糖尿病胃运动障碍的研究发现,部分糖尿病患者的PR非但不下降,反而增加^[1,19],与先前报道结果不同。在本研究中,我们将糖尿病患者进行分组后比较三组糖尿病患者之间PR值,结果发现有并发症有上消化道症状组PR值显著高于无并发症无上消化道症状组,二者之间存在显著性差异,说明在糖尿病合并有明显并发症和消化系症状时,进餐后功率非但没有进一步降低,反而升高。我们推测,有上消化道症状的糖尿病患者仅餐后PR值升高可能是对其自身胃排空障碍的一种代偿机制,机体通过进餐后胃电活动功率的升高试图增强正向排空,从而减轻症状。

糖尿病可并发一系列上胃肠道症状,包括上腹不适、上腹胀、上腹痛、嗝气、早饱、恶心等等,严重者称之为胃轻瘫(diabetic gastroparesis)^[20-21]。现有研究发现,早饱症状和糖尿病患者的胃排空延缓有关^[22],对合并有上消化道症状的糖尿病患者的胃电和症状的进一步研究发现,早饱症状的严重程度和PR值负相关,即

有上消化道症状的糖尿病患者,早饱症状越轻,PR值越高,进一步说明当糖尿病患者开始合并上消化道症状时,PR值的升高是可能对早饱症状及胃排空延缓的代偿作用。本研究中,存在上消化道症状的15例糖尿病患者中有9例PR值升高,而在这9例PR值升高的患者中,6例表现为进餐后胃动过缓百分比增加,只有3例进餐后正常节律百分比增加,提示有上消化道症状的糖尿病患者进餐后胃电功率在一定程度上增加,而正常节律百分比只有少部分得到改善,对胃排空延缓的代偿机制主要是通过增加胃电功率来实现的。

本研究结果显示,胃动过缓是糖尿病患者胃电节律紊乱最主要的表现形式,而有上消化道症状的糖尿病患者餐后胃动过缓虽呈现增加趋势,但餐后功率非但没有进一步降低,反而升高。我们推测,糖尿病胃电异常首先是起搏点功能异常,表现为胃动过缓,进餐后起搏点冲动发放频率不能得到改善,对开始合并有上消化道症状的糖尿病患者,机体则试图以通过增加餐后胃电功率的形式来改善胃动过缓所致的胃运动异常,但随着早饱症状的逐渐加重,这种调节已趋于失代偿,餐后功率进而逐渐下降,胃排空进一步延缓,最终可进展为胃轻瘫。

4 参考文献

- 柯美云, 蓝宇, 朱朝晖. 不同阶段糖尿病胃运动障碍及其发病机制探讨. 中国医学科学院中国协和医科大学科学年会学术论文集. 北京: 北京医科大学中国协和医科大学联合出版社, 2000: 129-137
- Tomi S, Płazińska M, Zagórowicz E, Ziółkowski B, Muszynski J. [Gastric emptying disorders in diabetes mellitus] *Pol Arch Med Wewn* 2002; 108: 879-886
- 柯美云, 蓝宇. 胃电图基础研究及其临床应用. 基础医学与临床 1999; 19: 6-10
- 陈艳敏, 柯美云, 王智凤, 张秀兰, 潘国宗. 50名健康人胃电参数及其影响因素的研究. 中华消化杂志 2000; 20: 227-229
- 蓝宇, 柯美云, 陈艳敏. 糖尿病患者的体表胃电变化及其影响因素的观察. 基础医学与临床 1999; 19: 35-36
- 侯晓华, 陈建德. Cajal间质细胞在胃肠运动中的作用. 中华消化杂志 2001; 21: 360-362
- Camborová P, Hubka P, Sulková I, Hulín I. The pacemaker activity of interstitial cells of Cajal and gastric electrical activity. *Physiol Res* 2003; 52: 275-284
- 方玲, 卞晓红, 王红. 糖尿病胃轻瘫患者的空腹胃电改变. 西北国防医学杂志 2000; 21: 128-130
- Defilippi C, Madrid AM, Defilippi C. [Cutaneous electrogastrography: a new incorporated technique for the study of gastric motility] *Rev Med Chil* 2002; 130: 1209-1216
- 穆标, 刘之武, 崔海沫, 秦怡男. Cajal间质细胞在糖尿病胃轻瘫发病机制中的作用. 天津医药 2008; 36:

- 616-618
- 11 李卫东, 张书征, 连至诚. 实验性糖尿病大鼠胃电活动和胃壁NOS及胃动力基本功能单位改变的研究. *解剖学研究* 2005; 27: 100-107
- 12 Koch KL. Electrogastrography: physiological basis and clinical application in diabetic gastropathy. *Diabetes Technol Ther* 2001; 3: 51-62
- 13 Mantides A, Stefanides G, Kioulanis J, Tzovaras G, Epanomeritakis E, Xynos E. Cutaneous electrogastrography for the assessment of gastric myoelectrical activity in type I diabetes mellitus. *Am J Gastroenterol* 1997; 92: 1190-1193
- 14 Soykan I, Lin Z, Sarosiek I, McCallum RW. Gastric myoelectrical activity, gastric emptying, and correlations with symptoms and fasting blood glucose levels in diabetic patients. *Am J Med Sci* 1999; 317: 226-231
- 15 Qi HB, Luo JY, Zhu YL, Wang XQ. Gastric myoelectrical activity and gastric emptying in diabetic patients with dyspeptic symptoms. *World J Gastroenterol* 2002; 8: 180-182
- 16 Mayaudon H, Bauduceau B, Dupuy O, Cariou B, Ceccaldi B, Farret O, Molinie C. Assessment of gastric neuropathy using electrogastrography in asymptomatic diabetic patients. Correlation with cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes Metab* 1999; 25: 138-142
- 17 Choi KM, Zhu J, Stoltz GJ, Vernino S, Camilleri M, Szurszewski JH, Gibbons SJ, Farrugia G. Determination of gastric emptying in nonobese diabetic mice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2007; 293: G1039-G1045
- 18 Jebbink HJ, Bruijjs PP, Bravenboer B, Akkermans LM, vanBerge-Henegouwen GP, Smout AJ. Gastric myoelectrical activity in patients with type I diabetes mellitus and autonomic neuropathy. *Dig Dis Sci* 1994; 39: 2376-2383
- 19 蓝宇, 柯美云, 朱朝晖, 李方, 谷成明. 糖尿病不同阶段胃运动功能的临床研究. *中华消化杂志* 2001; 21: 716-719
- 20 Smith DS, Ferris CD. Current concepts in diabetic gastroparesis. *Drugs* 2003; 63: 1339-1358
- 21 Mukhopadhyay P, Basu AK. Management of diabetic gastroparesis. *J Indian Med Assoc* 2005; 103: 184, 186
- 22 Kojecky V, Bernatek J, Horowitz M, Zemek S, Bakala J, Hep A. Prevalence and determinants of delayed gastric emptying in hospitalised Type 2 diabetic patients. *World J Gastroenterol* 2008; 14: 1564-1569

■同行评价
糖尿病发病率日
渐升高,胃轻瘫是
糖尿病病程中常
见的并发症,本研
究采用无创的方
法研究糖尿病并
发症胃轻瘫的发
病机制有一定的
临床意义。

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

全国消化疾病诊治进展学习班在京举办

本刊讯 由《中华内科杂志》主办的“全国消化疾病诊治进展学习班”拟定于2009-08-08/10在北京举办。主要内容涉及: 肠易激综合征、功能性消化不良、缺血性肠病、炎症性肠病、胃食管反流病、不明原因消化道出血、慢性胰腺炎、食管胃底静脉曲张、经鼻胃镜的临床应用、食管源性胸痛及胃食管反流病与内脏高敏感、肝脏疾病的肠屏障功能改变。授课教师: 林三仁、刘新光、柯美云、钱家鸣、张澍田、周丽雅、杨云生、谢鹏雁、刘玉兰、丁士刚、吕愈敏等国内消化领域著名专家。学习期满授予学员国家级 I 类继续教育学分6分[项目编号: 2009-03-03-085(国)]。可来电、来函或电子邮件索取正式通知(请注明消化学习班)。注册费900元, 资料费100元, 食宿统一办理, 费用自理。

欢迎全国广大消化科及内科医师参加。

联系方式: 沈志伟, 100710, 北京东四西大街42号中华医学会《中华内科杂志》编辑部, shenzhw@163.com. 电话: 010-85158275, 85158280; 传真: 010-85158275.

脂肪肝相关危险因素的评估

向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元

■背景资料

脂肪肝肝病是与代谢综合征密切相关的一组临床病理综合征, 随着人们生活水平及生活方式的改变, 其发病率呈逐年上升的趋势, 而且趋于年轻化, 脂肪肝肝病与心血管疾病的密切关系目前已经得到了证实, 探讨脂肪肝的危险因素, 寻求有效干预措施有重要的临床意义。

向国卿, 孟晓丹, 王炳元, 中国医科大学附属一院消化内科
辽宁省沈阳市 110001

孟宪云, 张浩, 台文霞, 中国医科大学附属一院体检中心
辽宁省沈阳市 110001

辽宁省教育厅科技攻关基金资助项目, No.2007225011-1

作者贡献分布: 向国卿与王炳元对此文的贡献均等; 本研究资料由向国卿、孟宪云、张浩、台文霞及孟晓丹收集整理; 数据分析由向国卿与孟晓丹完成; 本文写作由向国卿与王炳元完成。

通讯作者: 王炳元, 教授, 110001, 辽宁省沈阳市, 中国医科大学附属一院消化内科, wangby@medmail.com.cn

电话: 024-83282554

收稿日期: 2009-02-04 修回日期: 2009-02-25

接受日期: 2009-03-02 在线出版日期: 2009-04-08

Assessment of risk factors associated with fatty liver disease

Guo-Qing Xiang, Xian-Yun Meng, Hao Zhang,
Wen-Xia Tai, Xiao-Dan Meng, Bing-Yuan Wang

Guo-Qing Xiang, Xiao-Dan Meng, Bing-Yuan Wang,
Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Xian-Yun Meng, Hao Zhang, Wen-Xia Tai, Department of Centre for Health Examination, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China

Supported by: the Research Key Foundation of Education Bureau of Liaoning Province, No. 2007225011-1

Correspondence to: Professor Bing-Yuan Wang, Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, Liaoning Province, China. wangby@medmail.com.cn

Received: 2009-02-04 Revised: 2009-02-25

Accepted: 2009-03-02 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To investigate the risk factors for fatty liver disease, and to explore a simple and practical screening method for epidemiological investigation of fatty liver disease.

METHODS: A total of 1654 healthy adults, with cancer, viral hepatitis markers positive, chronic pancreatitis, serious renal injury, acute infections or trauma, and long-term use of steroid ruled out, underwent human body measurement (height, weight, blood pressure), biochemical and immunological inspection (liver function, blood glucose, blood lipids, blood uric acid (UA), renal function, the virus markers) and ul-

trasound examination. The data were input into database with SPSS11.0 software, which was confirmed by χ^2 test, logistic regression analysis and analysis of covariance.

RESULTS: Of 1654 cases, 901 cases were men (54.5%), 753 cases were women (45.5%), and age ranged from 22 to 90 years old with an average age of 51.34 ± 14.14 years. Fatty liver disease was detected in 624 cases (37.7%). Multiple regression analysis showed that age, triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), fasting glucose, UA, body mass index (BMI), systolic blood pressure (SBP) were the risk factors for fatty liver disease, but high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) is a protective factor for fatty liver. Compared with normal group, risk of fatty liver disease was increased by 1.6 and 2.8 times in IFG(impaired fasting glycaemia) group and diabetes group respectively ($P < 0.001$); the risks for fatty liver disease in overweight, obesity and severe obesity groups were increased by 1.7, 1.9, 9.1 times, respectively ($P < 0.001$).

CONCLUSION: The metabolic disorder of blood glucose, hyperuricemia, hypertension, obesity and hyperlipidemia increase the risk for fatty liver disease. Further research is needed to confirm the applicability of the fatty liver index (FLI) for forecasting fatty liver.

Key Words: Fatty liver; Obesity; Risk factors

Xiang GQ, Meng XY, Zhang H, Tai WX, Meng XD, Wang BY. Assessment of risk factors associated with fatty liver disease. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1038-1041

摘要

目的: 探讨脂肪肝的危险因素, 寻求简洁适用的脂肪性肝病流行病学调查的筛查方法。

方法: 收集成人健康体检者1654例, 排除恶性肿瘤、病毒性肝炎标志物阳性、慢性胰腺炎、严重肾功损伤、急性感染或创伤、长期激素应用者, 均接受人体学测量(身高、体质量、血压)、生化及免疫学检查(肝功、血糖、血脂、血尿酸、肾功、病毒标志物)及超

■同行评议者

高泽立, 主任医师, 上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

声检查. 将资料建立SPSS13.0数据库, 进行 χ^2 检验、Logistic回归分析及协变量分析.

结果: 1654例研究对象中, 男性901例(54.5%), 女性753例(45.5%), 年龄22-90(平均年龄 51.34 ± 14.14)岁, 其中超声检出脂肪肝624例(37.7%). 多元回归分析显示年龄、甘油三酯、低密度脂蛋白胆固醇、血糖、UA、体质指数、收缩压是脂肪肝的危险因素, 其中高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)是脂肪肝的保护因素. 空腹血糖调节受损(IFG)组及糖尿病组较血糖正常组相比脂肪肝患病风险分别增加了1.6、2.8倍($P < 0.001$); 超质量、I度肥胖、II度肥胖组与正常体质量组相比脂肪肝患病风险分别增加了1.7、1.9、9.1倍($P < 0.001$).

结论: 糖代谢紊乱、高尿酸血症、高血压、肥胖及血脂异常增加了脂肪肝的患病风险. 脂肪肝指数的适用性还需要进一步的研究证实.

关键词: 脂肪肝; 肥胖; 危险因素

向国卿, 孟宪云, 张浩, 台文霞, 孟晓丹, 王炳元. 脂肪肝相关危险因素的评估. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1038-1041
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1038.asp>

0 引言

脂肪性肝病(fatty liver disease, FLD)是一系列病理性肝脏损伤的总称, 包括单纯脂肪性肝病、脂肪性肝炎、肝纤维化或肝硬化^[1]. 引起FLD的原因有多种, 主要分为两大类: 非酒精性脂肪肝及酒精性脂肪肝. 随着人们生活水平的提高以及生活习惯的改变, 脂肪性肝病的发病率有逐年增加的趋势, 而且逐渐趋于年轻化. 有研究表明, NAFLD在儿童中的检出率在2.6%-9.6%之间, 而且肥胖儿童中可达38%-53%^[2]. 据Inter ASIA合作组的最新统计数据, 根据BMI标准, 中国35-74岁的人群中肥胖者的数量达1.19亿. 如果以腰围为标准的话, 1.26亿人为向心性肥胖者, 这个数量比1991年翻了一番^[3]. 如此庞大的人群基数, 脂肪性肝病不容忽视. 真正因为脂肪性肝病而导致的终末期肝病致死者所占的比例相当小, 而大量研究表明脂肪性肝病随之而来的心脑血管疾病的患病风险增加^[4]. 因此, 探讨脂肪性肝病的主要危险因素, 从而采取行之有效的干预措施不仅可以减少终末期肝病的发生, 而且可以对心脑血管疾病有一定的预防作用, 从而减少经济负担.

1 材料和方法

1.1 材料 选取2007-09/2007-12具有完整资料的中

国医科大学附属第一医院体检中心的健康体检者1654例, 其中男901例(54.5%), 女753例(45.5%), 年龄22-90(平均 51.34 ± 14.14)岁.

1.2 方法

1.2.1 临床资料收集标准: 由经过专业培训的医师按统一标准进行体格检查, 并详细记录. 身高体质量采用日本全自动身高体质量测量仪, 测量时空腹、赤脚、双足并拢、挺胸直立, 体质量精确到0.1 kg, 身高精确到0.1 cm. BMI = 体质量(kg)/身高²(m²); 全自动电子血压计测量静息10 min以上的血压; 所有研究对象均禁食水8 h以上后接受肝、胆、脾超声波检查(美国惠普公司生产的Agilent Image Point HX彩色多普勒超声诊断仪)及肝功、血糖、血脂、UA、肾功、肝炎病毒标志物.

1.2.2 排除标准: 恶性肿瘤、病毒性肝炎标志物阳性、慢性胰腺炎、严重肾功损伤、急性感染或创伤、长期激素应用史.

1.2.3 诊断标准: 脂肪性肝病诊断标准参照中华肝脏病学学会脂肪肝及酒精性肝病学组制定的非酒精性脂肪性肝病诊疗指南^[5]. 体质量分级参考2000年WHO西太平洋地区肥胖症特别工作组提出的亚洲成人人体质量分级建议: BMI 18.6-22.9 kg/m²为正常体质量, BMI 23.0-24.9 kg/m²为超质量, BMI 25.0-29.9 kg/m²为I度肥胖, BMI ≥ 30 kg/m²为II度肥胖^[6]. 血糖分级参照1999年WHO专家委员会报告及2003年国际糖尿病专家委员会建议: 空腹血浆血糖(FPG)3.9-5.5 mmol/L为正常, FPG 5.6-6.9 mmol/L为IFG, FPG ≥ 7.0 为糖尿病. 高血压病判定参照1999年WHO标准: 收缩压(SBP) ≥ 140 mmHg或舒张压(DBP) ≥ 90 mmHg. 血脂异常参照2007年中华心血管学会制定的血脂异常防治指南^[7].

统计学处理 用SPSS13.0软件包对资料进行 χ^2 检验及二项分类变量Logistic回归模型进行逐步回归分析.

2 结果

2.1 一般资料 在1654例研究对象中, 男女之间年龄差异无显著性. 根据诊断标准脂肪肝检出率为37.7%(624例), 其中高血压、高尿酸血症、超质量、I度肥胖、II度肥胖、IFG、糖尿病分别占脂肪肝患者的45.0%、24.0%、17.3%、60.4%、13.6%、21.2%、15.9%, 均显著高于非脂肪肝组($P < 0.05$).

2.2 多因素logistic回归分析结果 对年龄、性

■ 研发前沿

有关脂肪肝与代谢综合征(MS)的关系仍存在一些的争议, 部分学者认为脂肪肝是MS的组分, 是MS的肝脏表现, 两者之间相互关系的研究逐渐被认识和关注.

■ 相关报道

Bedogni *et al*提出了一个简洁而准确的脂肪肝指数(FI), 能够预测普通人群是否患有脂肪肝; Misra *et al*总结了NAFLD与心血管疾病的关系; Khashab *et al*探讨了NAFLD与代谢综合征的关系.

■创新盘点

本研究探讨了脂肪性肝病的主要危险因素,并对相关因素进行了分层分析.引入脂肪肝指数预测普通人群脂肪肝在流行病学调查中的价值.

表 1 多因素Logistic回归分析结果

	B	SE	Wald	P	OR	95%CI
年龄	-0.012	0.005	6.167	0.013	0.988	0.979-0.997
TG	0.235	0.052	20.152	0.000	1.264	1.141-1.401
HDL-C	-0.776	0.209	13.808	0.000	0.460	0.306-0.693
LDL-C	0.333	0.101	10.763	0.001	1.395	1.143-1.701
UA	0.004	0.001	20.443	0.000	1.004	1.002-1.006
血糖	0.107	0.054	3.911	0.048	1.113	1.001-1.237
BMI	0.233	0.022	110.584	0.000	1.263	1.209-1.319
SBP	0.351	0.147	5.727	0.017	1.420	1.066-1.892

表 2 不同血糖、BMI水平脂肪肝患病危险性的比较

危险因素分层	患病率(%)	OR	95%CI
血糖水平			
<5.6	32.50	1.000	
5.6-6.9	46.61	1.610	1.308-1.982
≥7.0	61.11	2.807	2.088-3.774
BMI			
正常	11.80	1.000	
超质量	29.81	1.718	1.486-1.986
I度肥胖	52.31	1.897	1.742-2.066
II度肥胖	74.61	9.088	6.242-13.232

别、BMI、SBP、DBP、血脂、UA、血糖以及胆石症等13项相关因素采用二项分类变量Logistic回归模型进行逐步回归分析.其中年龄、TG、HDL-C、LDL-C、血糖、UA、BMI、SBP 8项指标与脂肪肝的发病密切相关($P<0.05$,表1).

2.3 不同分层脂肪肝患者危险度对比分析结果 定义各危险因素不同分层中正常组的患病风险为1,对不同分层脂肪肝的患病危险性进行对比分析. IFG组及糖尿病组较血糖正常组相比,脂肪肝患病风险分别增加了1.6($OR = 1.610$, 95%CI 1.308-1.982)、2.8倍($OR = 2.807$, 95%CI 2.088-3.774), P 值均 <0.001);超质量、I肥胖、II肥胖组与正常体质量组相比,脂肪肝患病风险分别增加了1.7($OR = 1.718$, 95%CI 1.486-1.986)、1.9($OR = 1.897$, 95%CI 1.742-2.066)、9.1倍($OR = 9.088$, 95%CI 6.242-13.232), P 值均 <0.001 . SBP、DBP、UA、TG、TC、LDL-C增高及HDL-C降低组较正常组相比,脂肪肝患病风险分别增加了1.9、2.1、2.3、4.7、1.8、2.9倍,差异具有显著性,其中以TG及HDL-C异常的危险性增加最为明显(表2-3).

3 讨论

随着人民生活水平的提高和生活方式的转变,

表 3 脂肪肝患病危险因素危险性的比较

	患病率(%)	OR	95%CI
SBP < 140 mmHg	33.00	1.000	
SBP ≥ 140 mmHg	48.91	1.937	1.561-2.403
DBP < 90 mmHg	36.10	1.000	
DBP ≥ 90 mmHg	53.71	2.053	1.463-2.881
UA正常	34.00	1.000	
高尿酸血症	60.11	2.292	2.215-3.855
TG正常	28.80	1.000	
高甘油三酯血症	65.61	4.700	3.698-5.975
TC正常	36.30	1.000	
TC增高	49.11	1.694	1.235-2.325
LDL-C正常	34.70	1.000	
LDL-C增高	48.61	1.775	1.399-2.252
HDL-C正常	34.50	1.000	
HDL-C减低	60.11	2.858	2.122-3.850

代谢相关性疾病的患病率也逐渐升高,从而影响人民的生活质量.脂肪肝是一种常见的肝脏良性疾病,有学者认为其是代谢综合征的肝脏表现,但是也有学者认为脂肪肝是代谢综合征的重要组成部分^[8].总之,脂肪肝与代谢综合征密切相关,但是两者之间的具体关系尚不清楚.此外,脂肪肝常常与地域、人种、民族以及生活习惯有密切的关系.

单因素分析显示:IFG、糖尿病、肥胖、高血压、血脂异常、高尿酸血症使脂肪肝患病风险明显增加,其中以肥胖和糖尿病为著.对11项指标进行多元回归分析显示,年龄、TG、LDL-C、UA、SBP、BMI、及血糖增高是脂肪肝的危险因素,而HDL-C是脂肪肝的保护因素,与范建高 *et al*的研究结果基本一致^[9].

脂肪肝的总的检出率为37.7%,高于我国上海及重庆等地的检出率^[9-10].可能与我国南北方的生活习惯差异有一定的关系.随着血糖水平的升高,脂肪肝的检出率逐渐增高,脂肪肝的患病风险亦相应的增加.由此可见脂肪肝与血糖水平有直接的关系.糖尿病是脂肪肝的独立危险因素,而且胰岛素抵抗是糖代谢紊乱及脂肪肝发病重要机制,有研究表明胰岛素抵抗是脂肪肝发病的始动环节并贯穿于始终^[11-12].关于糖尿病患者脂肪肝的报道患病率在28%-55%之间,本研究中的糖尿病患者脂肪肝患病率亦高达61.1%. IFG及糖尿病患者都有胰岛素抵抗的表现,因此脂肪肝的患病风险也相应地增加.然而,非酒精性脂肪肝(nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)患者中,糖代谢紊乱的发

■应用要点

本研究进一步证实脂肪肝与糖代谢紊乱、血脂异常、肥胖、高血压、高尿酸血症等的密切关系,样本量较大,可靠性较好.

生率亦较正常人群高, 张炜 *et al*^[13]的研究显示NAFLD患者中糖代谢紊乱的发生率高达53.4%。因而, 糖代谢紊乱与NAFLD两者孰因孰果还有待于进一步的前瞻性研究证实。空腹血糖的水平是衡量胰岛素反应的最简洁的指标, 而且与脂肪性肝病的严重程度相关。因此, 空腹血糖对于大规模的流行病学调查具有成本-经济效应。

肥胖是脂肪肝的最常见和较肯定的危险因素, 肥胖症患者中脂肪肝的患病率在57.5%-74%, 而BMI是肥胖的替代指数。本研究显示: 随着体质量指数的升高脂肪肝的检出率及危险性明显增加。超质量、I度肥胖、II度肥胖者与体质量指数正常组相比脂肪肝的患病率之间差异有显著性, 而且脂肪肝组较非脂肪肝组超质量或肥胖检出率显著增高。但是经多分类协变量分析并无显著性差异, 其原因可能是肥胖的程度与脂肪肝无密切关系, 但肥胖相关代谢紊乱的程度与脂肪肝的发生密切相关。适度减轻体质量, 可以逆转2型糖尿病患者脂肪性肝炎^[14], 表明控制体质量是脂肪性肝病治疗的基本措施。

高脂血症患者中高甘油三酯血症较高胆固醇血症患脂肪肝的危险性更大^[15]。经多因素分析, 高胆固醇血症与脂肪肝发病无显著关系。血脂异常中, TG异常者患脂肪肝的危险性最大, 是TG正常的4.7倍(95%CI 3.698-5.975)。而HDL-C降低能将脂肪肝患病的危险性增加2.9倍(95%CI 2.122-3.850), 可见HDL-C是脂肪肝的保护因素。

由于肝活检常规用于脂肪肝的诊断还存在争议, 而脂肪肝与血糖、TG、BMI以及腰围存在密切关系, 最近有学者提出了一个与这些因素相关的简洁的指数, 即所谓的脂肪肝指数(FLI)^[16]。FLI<30的被排除(敏感度 = 87%; 阴性似然比 = 0.2), FLI≥60为肝脏脂肪变性(特异性 = 86%; 阳性似然比 = 4.3)。其计算公式如下:

$$FLI = \frac{(e^{0.953 \times \log_e(\text{甘油三酯}) + 0.139 \times \text{体重指数} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{腹围} - 15.745})}{(1 + e^{0.953 \times \log_e(\text{甘油三酯}) + 0.139 \times \text{体重指数} + 0.718 \times \log_e(\text{GGT}) + 0.053 \times \text{腹围} - 15.745})} \times 100.$$

上述指标简便易得, 从而可以在脂肪肝的流行病学调查中普及应用, 但是该指数是否适用与我国, 还有待于进一步研究证实。

4 参考文献

1 Grant LM, Lisker-Melman M. Nonalcoholic fatty

- liver disease. *Ann Hepatol* 2004; 3: 93-99
- 2 Angulo P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2007; 25: 883-889
- 3 Hu D, Xie J, Fu P, Zhou J, Yu D, Whelton PK, He J, Gu D. Central rather than overall obesity is related to diabetes in the Chinese population: the InterASIA study. *Obesity (Silver Spring)* 2007; 15: 2809-2816
- 4 Targher G, Arcaro G. Non-alcoholic fatty liver disease and increased risk of cardiovascular disease. *Atherosclerosis* 2007; 191: 235-240
- 5 Fatty Liver and Alcoholic Liver Disease Study Group of the Chinese Liver Disease Association. [Guidelines for diagnosis and treatment of nonalcoholic fatty liver diseases] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2006; 14: 161-163
- 6 Regional Office for the Western Pacific (World Health Organization), International Association for the Study of Obesity, International Obesity Task Force. *The Asia-Pacific Perspective: Redefining Obesity and Its Treatment*. Melbourne, Australia: Health Communications Australia; 2000
- 7 中国成人血脂异常防治指南制定联合委员会. 中国成人血脂异常防治指南. *中华心血管病杂志* 2007; 35: 390-409
- 8 Nannipieri M, Gonzales C, Baldi S, Posadas R, Williams K, Haffner SM, Stern MP, Ferrannini E. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes: the Mexico City diabetes study. *Diabetes Care* 2005; 28: 1757-1762
- 9 Fang JG, Zhu J, Li XJ, Li R, Dai F, Song XM, Chen L, Li F, Chen SY. [Epidemiological survey of prevalence of fatty liver and its risk factors in a general adult population of Shanghai] *Zhonghua Ganzangbing Zazhi* 2005; 13: 83-88
- 10 程朝英, 卢仙娥, 钟朝晖. 重庆市不同职业人群中脂肪肝现状调查与分析. *重庆医学* 2005; 34: 1807-1809
- 11 Hanley AJ, Williams K, Festa A, Wagenknecht LE, D'Agostino RB Jr, Haffner SM. Liver markers and development of the metabolic syndrome: the insulin resistance atherosclerosis study. *Diabetes* 2005; 54: 3140-3147
- 12 Marchesini G, Bugianesi E, Forlani G, Cerrelli F, Lenzi M, Manini R, Natale S, Vanni E, Villanova N, Melchionda N, Rizzetto M. Nonalcoholic fatty liver, steatohepatitis, and the metabolic syndrome. *Hepatology* 2003; 37: 917-923
- 13 张炜, 范钰, 朱立群, 程兆明. 非酒精性脂肪肝糖代谢异常与超敏C反应蛋白的关系. *世界华人消化杂志* 2008; 16: 319-321
- 14 Petersen KF, Dufour S, Befroy D, Lehrke M, Hendler RE, Shulman GI. Reversal of nonalcoholic hepatic steatosis, hepatic insulin resistance, and hyperglycemia by moderate weight reduction in patients with type 2 diabetes. *Diabetes* 2005; 54: 603-608
- 15 Assy N, Kaita K, Mymin D, Levy C, Rosser B, Minuk G. Fatty infiltration of liver in hyperlipidemic patients. *Dig Dis Sci* 2000; 45: 1929-1934
- 16 Bedogni G, Bellentani S, Miglioli L, Masutti F, Passalacqua M, Castiglione A, Tiribelli C. The Fatty Liver Index: a simple and accurate predictor of hepatic steatosis in the general population. *BMC Gastroenterol* 2006; 6: 33

■名词解释

空腹血糖调节受损(IFG): 是指一类非糖尿病性空腹高血糖, 其血糖浓度高于正常, 但低于糖尿病的诊断值。

■同行评价

本文选题很好, 为该领域热点问题, 内容真实可靠, 具有很好的学术价值。

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

早期通里攻下法对重症急性胰腺炎结局影响的系统评价

苗彬, 崔乃强, 李忠廉, 马涛, 赵光, 王心

■背景资料

重症急性胰腺炎(SAP)以实热或湿热蕴结, 腑气不通为主要证候, 针对SAP的痞、满、燥、实、坚的阳明腑实证的特点, 中医常将通里攻下法作为SAP早期的主要治则。随着循证医学理念在中医药界的推广, 近几年来国内很多单位采用随机对照临床试验来评价中西医结合治疗SAP的疗效。

苗彬, 崔乃强, 李忠廉, 马涛, 赵光, 王心, 天津医科大学南开临床学院 南开医院 全国胆胰疾病诊疗中心 天津市 300100 十一五国家科技支撑计划基金资助项目, No. 2006BAI04A15 作者贡献分布: 此论文由崔乃强与苗彬设计; 研究过程由苗彬与李忠廉操作完成; 文献检索由马涛与赵光完成; 数据分析由王心完成; 本论文写作由苗彬完成; 崔乃强为课题负责人。
通讯作者: 崔乃强, 主任医师, 300100, 天津市, 天津医科大学南开临床学院, 南开医院, 全国胆胰疾病诊疗中心。
miaobin0105@126.com
电话: 022-27435296
收稿日期: 2009-03-10 修回日期: 2009-03-28
接受日期: 2009-03-30 在线出版日期: 2009-04-08

Systematic evaluation of the therapeutic efficacy of Tongli Gongxia herbs on severe acute pancreatitis

Bin Miao, Nai-Qiang Cui, Zhong-Lian Li, Tao Ma, Guang Zhao, Xin Wang

Bin Miao, Nai-Qiang Cui, Zhong-Lian Li, Tao Ma, Guang Zhao, Xin Wang, Nankai Clinical School, Tianjin Medical University, Nankai Hospital National Medical Center of Biliopancreatic Diseases, Tianjin 300100, China
Supported by: the National Science and Technology Support Plan during the 11th Five-Year Plan Period, No. 2006BAI04A15
Correspondence to: Nai-Qiang Cui, Nankai Clinical School, Tianjin Medical University, Nankai Hospital National Medical Center of Biliopancreatic Diseases, Tianjin 300100, China. miaobin0105@126.com
Received: 2009-03-10 Revised: 2009-03-28
Accepted: 2009-03-30 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To evaluate therapeutic efficiency of Tongli Gongxia treatments for severe acute pancreatitis.

METHODS: Tongli Gongxia treatment for severe acute pancreatitis (SAP) of randomized clinical trial (RCT) literature was retrieved in domestic biological medicine journals during 2004-01 and 2008-12. According to selection and exclusion standard, eight clinical trials (a total 628 cases of SAP, 293 cases of Chinese medicine treatment group and 335 cases of the control group) were enrolled in the study. First defecation time, hospitalization, mortality, complication rate and operability were analyzed using Meta Analysis. Results analysis was performed using RevMan

4.2 software.

RESULTS: First defecation time and days of hospitalization were significantly shorter in Chinese medicine treatment group than control group (SMD = -2.34, -1.91, both $P < 0.01$). Operability, complication rate and mortality rate were significantly lower in Chinese medicine treatment group than the control group (OR = 0.36, 0.41, 0.31, all $P < 0.01$).

CONCLUSION: Tongli Gongxia treatment can shorten first defecation time, hospitalization and reduce the operability, complication rate, and mortality in the patients with severe acute pancreatitis.

Key Words: Severe acute pancreatitis; Chinese herb; Efficacy evaluation; Mortality; System evaluation

Miao B, Cui NQ, Li ZL, Ma T, Zhao G, Wang X. Systematic evaluation of the therapeutic efficacy of Tongli Gongxia herbs on severe acute pancreatitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1042-1047

摘要

目的: 评价通里攻下法治疗重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)的疗效。

方法: 检索2004-01/2008-12国内生物医学期刊发表的有关中医通里攻下法治疗SAP的随机对照临床试验(RCT)文献。根据入选及排除标准, 有8项临床试验, 628例SAP患者(中药治疗组335例, 对照组293例)纳入本研究。使用RevMan 4.2软件合并分析纳入研究的SAP患者的首次排便时间、住院时间、并发症发生率、手术率及病死率等结局指标。

结果: 中药治疗组的首次排便时间, 住院天数的标准化均数差均明显低于对照组, 且差异有显著性(SMD = -2.34, -1.91, 均 $P < 0.01$)。中药治疗组的并发症发生率、手术率、病死率的优势比均明显低于对照组, 且差异有显著性(OR = 0.36, 0.41, 0.31, 均 $P < 0.01$)。

结论: 应用通里攻下治疗能显著缩短重症急

■同行评议者

陈建杰, 主任医师, 上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

性胰腺炎患者的首次排便时间、住院时间, 明显降低手术率、并发症发生率、病死率。

关键词: 重症急性胰腺炎; 中药; 疗效评价; 病死率; 系统评价

苗彬, 崔乃强, 李忠廉, 马涛, 赵光, 王心. 早期通里攻下法对重症急性胰腺炎结局影响的系统评价. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1042-1047

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1042.asp>

0 引言

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)以实热或湿热蕴结, 腑气不通为主要证候, “六腑以通为用”, 这与西医病理学中对机能失调、梗阻、炎症、血运障碍及中毒性休克等变化的认识基本一致. 针对SAP的痞、满、燥、实、坚的阳明腑实证的特点, 中医常将通里攻下法作为SAP早期的主要治则^[1]. 随着循证医学理念在中医药界的推广, 近几年来国内很多单位采用随机对照临床试验来评价中西医结合治疗SAP的疗效. 我们运用荟萃分析的方法研究中医学通里攻下法对SAP结局指标如病死率、并发症发生率、住院时间等的影响, 为临床选择治疗方法提供参考.

1 材料和方法

1.1 材料 检索2004-01/2008-12国内生物医学期刊发表的有关中医通里攻下法治疗SAP的随机对照临床试验(RCT)文献, 得到符合纳入标准的中文文献28篇, 其中机检16篇, 手检12篇. 根据排除标准排除20篇文献, 最终入选文献8篇. 纳入研究的文献质量不等. 所有文献均未采用盲法, 都未详细描述随机化方法.

1.2 方法

1.2.1 文献检索策略: 以“重症急性胰腺炎”或“急性出血坏死性胰腺炎”为主题词, 以“通里攻下”、“中药”为关键词, 检索途径: (1)CNKI全文数据库; (2)中国生物医学文献数据库(CBMdisc, CBM); (3)维普资讯; 采取电脑与手工检索并用. 检索多种关于SAP的期刊论文集. 其中以CNKI全文数据库列为首选数据库. 由两名作者独立检索分析并提取资料, 交叉核对数据, 意见不一致时, 通过讨论解决分歧.

1.2.2 纳入标准: (1)研究设计为随机对照临床试验; (2)诊断标准采纳中华医学会外科分会胰腺学组标准或中华医学会消化病分会胰腺病学组标准, 即急性胰腺炎伴有脏器功能障碍, 或出

现坏死、脓肿或假性囊肿等局部并发症者, 或两者兼有. Ranson标准符合三项或三项以上、APACHE II评分在8分或8分以上. Balthazar CT分级在II级或II级以上或者为D、E级; (3)干预措施为早期通里攻下的中西医结合治疗, 对照组为常规治疗; (4)结局指标: 首次排便时间、并发症发生率、手术率、病死率、住院天数等至少提供三项.

1.2.3 排除标准: (1)Jadad积分<2分; (2)数据不完整、信息少、对照设置不合理.

1.2.4 资料分析与质量评价: 参照Jadad量表, 主要从受试者分组是否真正随机、研究过程中是否使用盲法、对失访者是否记录等对入选文献进行质量评价^[2]. Jadad积分 ≥ 3 为高质量研究. 本文8项研究中6项研究积分为2分, 2篇文献Jadad积分达到3分.

统计学处理 采用RevMan4.2进行随机效应模型的Meta分析. 以 χ^2 检验分析研究间的异质性, $P>0.05$ 表示差异无显著性, 多个研究间无异质性存在采用固定效应模型; $P<0.01$ 表示差异有显著性, 表示多个研究间有异质性存在采用随机效应模型. 对两组之间首次排便时间、住院天数的标准化均数差(standardized mean difference, SMD)采用随机效应模型计量资料进行分析; 病死率、并发症发生率、手术率的优势比(odds ratio, OR)采用计数资料的固定效应模型, SMD和OR均以95%CI表示, $P<0.05$ 表示差异有显著性. 各研究结果均采用95%CI表示. OR = 1时试验效应无效, 此时其95%CI若包含了1, 等价于 $P>0.05$, 即无统计学意义; 若95%CI上下限不包含1(均 >1 或均 <1), 等价于 $P<0.05$, 即有统计意义.

2 结果

2.1 纳入文献病例资料 在纳入的8篇文献中共有病例数628例(治疗组335例, 对照组293例)^[3-11]. 纳入文献的数据分析见表1和表2.

2.1 首次排便时间 入选资料中有6项研究提供了患者首次排便时间. 异质性检验有明显异质性($P<0.01$), 故采用随机效应模型; 合并数据分析, 差异有显著性(SMD = -2.34, 95%CI: -3.30, -1.380, $P<0.01$). 中药治疗组的首次排便时间显著短于对照组(表3).

2.2 住院时间 入选资料中有7项研究提供了患者住院时间, 异质性检验有明显异质性($P<0.01$), 故改用随机效应模型; 合并数据分析, 差异

■ 研究前沿

目前国内将通里攻下法广泛应用于SAP早期治疗, 积累了大量临床经验, 但是缺乏严格、规范的循证医学证据.

■ 相关报道

崔乃强 *et al* 报道早期应用通里攻下法治疗SAP145例, 病死率降为16.6%。刘续宝 *et al* 报道关于中西医结合治疗SAP 1161例, 病死率为10.77%, 手术率为19.38%。

表 1 纳入文献的首次排便时间、住院时间相关数据分析

年份	作者	<i>n</i>		首次排便时间(d)		住院时间(d)	
		中药组	对照组	中药组	对照组	中药组	对照组
2008	刘剑文 <i>et al</i> ^[31]	28	28	2.84 ± 0.7	4.68 ± 0.66	15.6 ± 3.7	27.5 ± 8.4
2008	蔡安和 <i>et al</i> ^[41]	32	31			24.3 ± 8.5	32.5 ± 7.5
2008	李红玲 <i>et al</i> ^[51]	30	30	3.07 ± 0.42	5.01 ± 0.78	14.07 ± 3.6	17.9 ± 5.32
2007	冯志松 <i>et al</i> ^[61]	32	32	2.56 ± 1.96	9.25 ± 1.46	19.2 ± 3.73	28.6 ± 5.96
2007	廖继全 ^[7]	23	23	3.5 ± 1.5	5.6 ± 2.5	18 ± 2.5	28 ± 3.5
2006	赵珂 <i>et al</i> ^[81]	34	34	2.2 ± 1.5	4.6 ± 2.9	21 ± 3.0	30 ± 3.5
2004	幸军 <i>et al</i> ^[91]	16	15	1.6 ± 1.0	6.3 ± 2.3	23 ± 3.5	32 ± 4.5

表 2 纳入文献的并发症发生率、手术率、病死率相关数据分析

年份	作者	<i>n</i>		并发症发生率(%)		手术率(%)		病死率(%)	
		中药组	对照组	中药组	对照组	中药组	对照组	中药组	对照组
2008	刘剑文 <i>et al</i> ^[31]	28	28	7.1	25				
2008	蔡安和 <i>et al</i> ^[41]	32	31	25	38.7	15.6	29	6.3	12.9
2008	李红玲 <i>et al</i> ^[51]	30	30			3.3	27	3.3	27
2007	冯志松 <i>et al</i> ^[61]	32	32	0	15.62	6.25	21.88	6.25	18.75
2007	廖继全 ^[7]	23	23	33.2	40.3	3.04	13.04	0	0
2007	陈勇 <i>et al</i> ^[101]	140	100	12.86	55	4.29	10	8.57	27
2006	赵珂 <i>et al</i> ^[81]	34	34	30.1	41.9	2.94	2.94	2.94	2.94
2004	幸军 <i>et al</i> ^[91]	16	15	31	42	6.25	6.67	6.25	6.67

表 3 中药组与对照组间排便时间Meta分析结果

Study or Sub-category	<i>n</i>	中药组(d) mean ± SD	<i>n</i>	对照组(d) mean ± SD	SMD(random) 95%CI	Weight %	SMD(random) 95%CI
幸军	16	1.60 ± 1.00	15	6.30 ± 2.30	■	15.49	-2.61 [-3.60, -1.62]
赵珂	34	2.20 ± 1.50	34	4.60 ± 2.90	■	17.65	-1.03 [-1.54, -0.52]
冯志松	32	2.56 ± 1.96	32	9.25 ± 1.46	■	16.24	-3.82 [-4.67, -2.98]
廖继全	23	3.50 ± 1.50	23	5.60 ± 2.50	■	17.24	-1.00 [-1.62, -0.38]
李红玲	30	3.06 ± 0.42	30	5.01 ± 0.78	■	16.62	-3.07 [-3.83, -2.31]
刘剑文	28	2.84 ± 0.70	28	4.68 ± 0.66	■	16.75	-2.67 [-3.40, -1.93]
Total (95%CI)	163		162		◆	100.00	-2.34 [-3.30, -1.38]

Test for heterogeneity: $\chi^2 = 54.52$, $df = 5$ ($P < 0.00001$), $I^2 = 90.8\%$
 Test for overall effect: $Z = 4.78$ ($P < 0.00001$)

-10 -5 0 5 10
Favours 中药组 Favours 对照组

有显著性(SMD = -1.91, 95%CI: -2.53, -1.29, $P < 0.01$)。中药治疗治疗组住院天数显著短于对照组(表4)。

2.3 并发症发生率 入选资料中有7项研究提供了并发症发生率, 异质性检验有明显异质性($P = 0.01$), 故改用随机效应模型; 合并数据分析, 差异有显著性($OR = 0.36$, 95%CI: 0.17, 0.76,

$P < 0.01$)。中药治疗治疗组并发症发生率显著低于对照组(表5)。

2.4 手术率 入选资料中有7项研究提供了手术率, 异质性检验无明显异质性($P = 0.65$), 合并数据分析, 差异有显著性($OR = 0.41$, 95%CI: 0.23-0.73, $P < 0.01$)。中药治疗组手术率显著低于对照组(表6)。

表 4 中药组与对照组间住院时间Meta分析结果

Study or Sub-category	n	中药组(d) mean ± SD	n	对照组(d) mean ± SD	SMD(random) 95%CI	Weight %	SMD(random) 95%CI
幸军	16	23.00 ± 3.50	15	32.00 ± 4.50	■	12.58	-2.18 [-3.10, -1.27]
赵珂	34	21.00 ± 3.00	34	30.00 ± 3.50	■	14.38	-2.73 [-3.40, -2.06]
冯志松	32	19.20 ± 3.73	32	28.60 ± 5.96	■	14.93	-1.87 [-2.46, -1.27]
廖继全	23	18.00 ± 2.50	23	28.00 ± 3.50	■	12.68	-3.23 [-4.13, -2.33]
蔡安和	32	24.30 ± 8.50	32	32.50 ± 7.50	■	15.40	-1.01 [-1.53, -0.49]
李红玲	30	14.06 ± 3.43	30	17.90 ± 5.32	■	15.35	-0.85 [-1.38, -0.32]
刘剑文	28	15.60 ± 3.70	28	27.50 ± 8.40	■	14.68	-1.81 [-2.44, -1.18]
Total (95%CI)	195		194		◆	100.00	-1.91 [-2.53, -1.29]
Test for heterogeneity: $\chi^2 = 38.33$, $df = 6$ ($P < 0.00001$), $I^2 = 84.3\%$							
Test for overall effect: $Z = 6.01$ ($P < 0.00001$)							

-10 -5 0 5 10
Favours中药组 Favours对照组

■ 创新盘点

本文筛选了8篇质量较高的RCT试验, 合并分析628例SAP患者的临床结局指标, 以标准化均数差为研究的合并统计量, 不仅消除了多个研究间的绝对值大小的影响, 还消除了多个研究测量单位不同的影响。

表 5 中药组与对照组间并发症发生率Meta分析结果 (n/n)

Study or Sub-category	中药组	对照组	OR(random) 95%CI	Weight %	OR(random) 95%CI
幸军	5/16	6/15	■	12.66	0.68 [0.16, 2.99]
赵珂	10/34	14/34	■	17.27	0.60 [0.22, 1.63]
陈勇	18/140	55/100	◀	21.31	0.12 [0.06, 0.23]
冯志松	0/32	5/32	◀	5.13	0.08 [0.00, 1.45]
廖继全	8/23	12/31	■	16.04	0.84 [0.28, 2.59]
蔡安和	8/32	12/31	■	16.49	0.53 [0.18, 1.55]
刘剑文	2/28	7/28	◀	11.10	0.23 [0.04, 1.23]
Total (95%CI)	305	271	◆	100.00	0.36 [0.17, 0.76]
Total events: 51(中药组), 111(对照组)					
Test for heterogeneity: $\chi^2 = 16.16$, $df = 6$ ($P = 0.01$), $I^2 = 62.9\%$					
Test for overall effect: $Z = 2.67$ ($P = 0.008$)					

0.1 0.2 0.5 1 2 5 10
Favours中药组 Favours对照组

2.5 住院期间病死率 入选资料中有7项研究提供了病死率, 差异有显著性($OR = 0.31$, $95\%CI: 0.18, 0.53$, $P < 0.01$), 异质性检验无明显异质性($P = 0.53$). 中药治疗组病死率显著低于对照组(表7).

3 讨论

我国开展中西医结合治疗SAP的工作已经有近50年的历史, 临床观察发现中西医结合治疗疗效明显优于单纯西医治疗. 崔乃强 *et al*报道早期应用通里攻下法治疗SAP145例, 病死率降为16.6%^[1]. 刘续宝 *et al*报道关于中西医结合治疗SAP 1161例, 病死率为10.77%, 手术率为19.38%^[11]. 但是关于中西医结合治疗SAP的RCT

试验只是近几年才开始逐渐增多. 本文采用系统评价分析的方法来研究通里攻下法在早期SAP治疗疗效, 由于系统评价再分析整合了多项研究结果, 增加了统计功效, 从而有效地降低甚至排除单一研究结果中存在的测量误差、抽样误差等, 提高结论的论证强度.

本研究以标准化均数差为首次排便时间和住院时间的合并统计量, 他不仅消除了多个研究间的绝对值大小的影响, 还消除了多个研究测量单位不同的影响. 在本组资料中, 通过合并分析6项RCT试验结果, 发现通里攻下法可以明显缩短SAP患者的首次排便时间. SAP的首次排便时间能够粗略反应胃肠道功能恢复时间, 由

■同行评价

本研究统计学分析结果可靠, 文章的科学性和可读性均能较好地反映中医早期通里攻下法对于重症急性胰腺炎治疗的胃肠病学临床和基础研究的先进水平.

表 6 中药组与对照组间手术率Meta分析结果 (n/n)

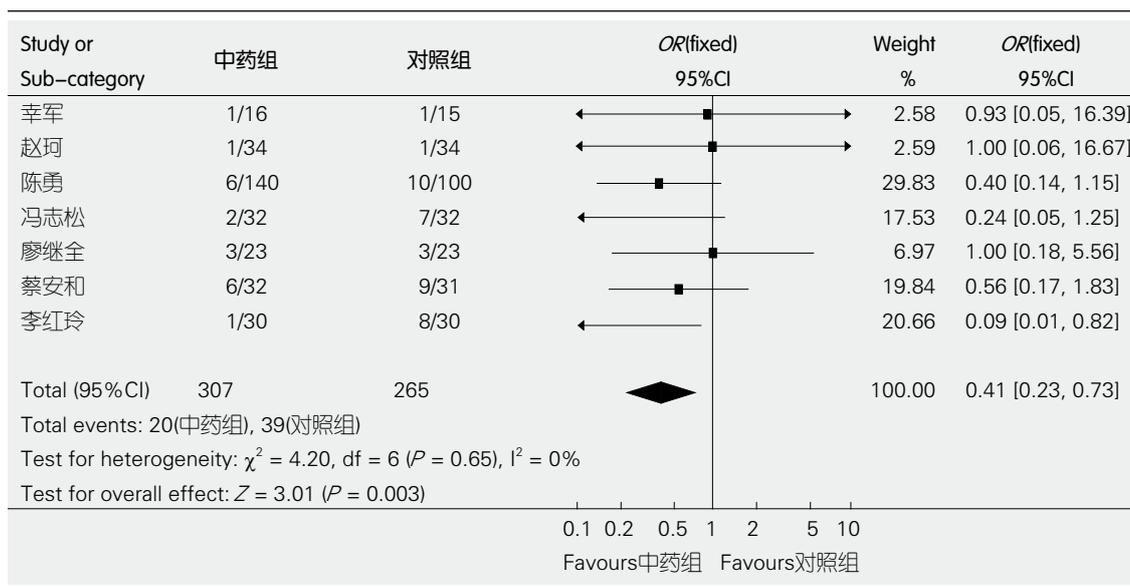
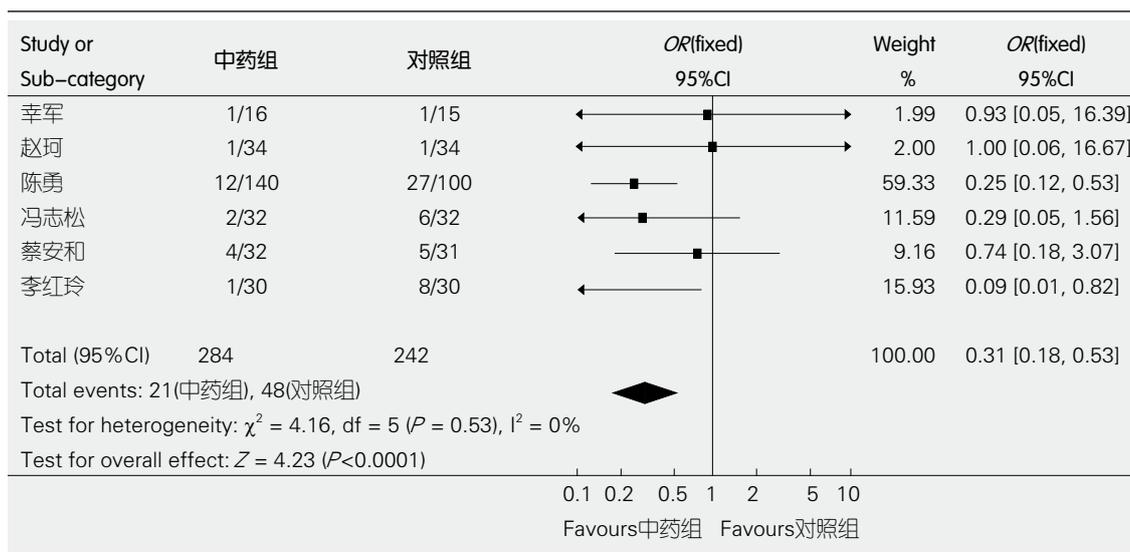


表 7 中药组与对照组间病死率Meta分析结果 (n/n)



于简便易测为国内学界广泛采用, 有研究发现其与SAP的预后相关^[12]. SAP早期的肠麻痹造成的腹内压增高、肠腔扩张可以造成腹腔脏器血供减少, 肠屏障功能损伤. 及时有效解除肠麻痹是SAP早期治疗的重点, 研究发现通里攻下法具有促进肠蠕动、改善肠壁血供、维护肠道正常菌群、促进内毒素排泄等药理作用^[13].

在本组资料中, 通过合并分析7项RCT试验, 发现通里攻下法可以明显减少SAP的并发症发生率和手术率和住院时间. 有研究发现通里攻下法的代表方剂大承气汤不仅通过减少脂多糖刺激和直接抑制基因表达达到减少炎性介质释放, 调节免疫功能的目的, 而且对多种器官具有

保护作用, 如降低肺毛细血管通透性、保护肺泡上皮、减轻急性肺损伤; 抑制胰酶分泌, 保护胰腺; 减轻肝细胞损伤、增加肝脏解毒功能; 增加肾血流量、改善肾小球滤过率和肾脏代谢以及心肌保护作用等^[14].

很多动物实验已经证实, 通里攻下的代表方剂大承气汤能保护肠屏障, 抑制肠道细菌移位^[15]. 从而缩短了SAP的病程, 降低了手术率. 由于炎性细胞被过度激活而造成促炎因子与抗炎因子的平衡失调所致的全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)是SAP发病1-2 wk

内的主要死因。有报道认为, 通里攻下法提示对全身炎症反应有明显治疗作用并能降低血清内毒素水平。其机制可能与通里攻下法对肠源性内毒素直接清除作用, 和对肠屏障的保护减少细菌和内毒素移位, 减轻器官组织的脂质过氧化反应等作用有关^[16]。在本次评价中, 对7个RCT试验结果进行汇总分析, 显示SAP早期应用通里攻下法中药相对于单纯西医治疗能降低SAP的病死率。

本文筛选了8篇质量较高的中医通里攻下法治疗SAP的RCT试验, 合并分析628例SAP患者的临床结局指标, 以标准化均数差和优势比作为研究的合并统计量。依据统计结果, SAP患者早期应用通里攻下治疗能降低SAP的病死率、并发症发生率、手术率并缩短住院时间。

4 参考文献

- 1 崔乃强, 齐清会, 孔棣, 周振理, 吴咸中. 重型急性胰腺炎的中西医结合治疗-附145例报告. 中国中西医结合外科杂志 1999; 4: 5-8
- 2 Jadad AR, Moore RA, Carroll D, Jenkinson C, Reynolds DJ, Gavaghan DJ, McQuay HJ. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary? *Control Clin Trials* 1996; 17: 1-12
- 3 刘剑文, 陈平湖, 黄元熹. 乌司他丁联合大黄治疗重症胰腺炎疗效观察. 河北医药 2008; 14: 45-47
- 4 蔡安和, 林益群. 奥曲肽联合大柴胡汤治疗重症胰腺炎疗效观察. 广东医学 2008; 29: 1567-1568
- 5 李红玲. 大承气汤治疗重症胰腺炎并发麻痹性肠梗阻30例. 陕西中医 2008; 29: 1127-1128
- 6 冯志松, 黄涛, 任权, 冯迎春, 黄日文, 廖娟. 中药泻下法治疗重症急性胰腺炎的临床观察. 中国中西医结合急救杂志 2007; 14: 11-13
- 7 廖继全. 善得定联合中药大黄治疗重症急性胰腺炎. 中国现代药物应用 2007; 1: 25-26
- 8 赵珂, 李楠. 生大黄粉生长抑素八肽治疗重症急性胰腺炎. 医药论坛杂志 2006; 27: 32-33
- 9 幸军, 冯青青, 李春安, 樊拖迎. 善得定和生大黄联合应用治疗重症急性胰腺炎. 中华急诊医学杂志 2004; 13: 468-469
- 10 陈勇, 张福鑫, 李金龙, 陈生贵, 王俊, 张乙川, 李劲. 中西医结合治疗重症急性胰腺炎的临床研究. 中国普通外科杂志 2007; 16: 994-996
- 11 刘续宝, 张肇达, 严律南, 蒋俊明, 黄宗文, 夏庆, 胡伟明, 田伯乐, 陈光远, 李全生, 袁朝新, 罗传新. 重症急性胰腺炎的中西医结合治疗研究. 中国实用外科杂志 2005; 25: 165-166
- 12 肖国辉, 单铁莲, 欧艳, 陈辉. 急性重症胰腺炎首次排便时间与预后的相关性分析. 现代医药卫生 2008; 24: 3653-3654
- 13 陈亚峰, 奉典旭, 韩峰. 通里攻下法治疗急性胰腺炎的机制研究进展. 上海中医药杂志 2008; 24: 75-77
- 14 崔乃强, 傅强, 邱奇, 崔云峰, 曹书华, 金鸿斌, 邓诗林, 吴咸中. 通里攻下法对SIRS/MODS的治疗价值-多中心临床分析. 中国中西医结合外科杂志 2007; 13: 3-7
- 15 刘瑞林, 刘牧林, 马良龙. 大黄素对重症胰腺炎大鼠核转录因子- κ B表达变化的影响. 中国中西医结合急救杂志 2005; 12: 230-232
- 16 Xia Q, Jiang JM, Gong X, Chen GY, Li L, Huang ZW. Experimental study of Tong Xia purgative method in ameliorating lung injury in acute necrotizing pancreatitis. *World J Gastroenterol* 2000; 6: 115-118

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

世界华人消化杂志标点符号用法

本刊讯 遵照国家标准GB/T 15834-1995标点符号用法的要求, 本刊论文中的句号都采用黑圆点; 数字间的起止号采用“-”字线, 并列的汉语词间用顿号分开, 而并列的外文词、阿拉伯数字、外文缩略词及汉语拼音字母拼写词间改用逗号分开, 参考文献中作者间一律用逗号分开; 表示终了的标点符号, 如句号、逗号、顿号、分号、括号及书名号的后一半, 通常不用于一行之首; 而表示开头的标点符号, 如括号及书名号的前一半, 不宜用于一行之末。标点符号通常占一格, 如顿号、逗号、分号、句号等; 破折号应占两格; 英文连字符只占一个英文字符的宽度, 不宜过长, 如5-FU。外文字符下划一横线表示用斜体, 两横线表示用小写, 三横线表示用大写, 波纹线表示用黑体。(常务副总编辑: 张海宁 2009-04-08)

医源性上消化道大出血的选择性血管造影诊断及栓塞治疗

段旭华, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 黄锐, 任建庄

■背景资料

以急诊就诊的医源性上消化道大出血患者, 常涉及的病种较多, 临床诊断及内科止血困难。多数患者体质虚弱、生命体征不平稳、病情危重, 难以接受二次手术治疗。随着选择性血管造影技术及介入治疗器械的迅速发展, 不仅能明确诊断还可获得理想的止血效果。

段旭华, 郑传胜, 冯敢生, 梁惠民, 黄锐, 任建庄, 华中科技大学同济医学院附属协和医院放射科 湖北省武汉市 430022

作者贡献分布: 课题设计由段旭华、郑传胜、冯敢生及梁惠民共同完成; 文章涉及的病例手术操作分别由郑传胜与梁惠民完成; 图片收集由任建庄协助完成; 论文写作及修改由段旭华、郑传胜、冯敢生及黄锐完成。

通讯作者: 郑传胜, 430022, 湖北省武汉市, 华中科技大学同济医学院附属协和医院介入放射科. hqzcsxh@sina.com
电话: 027-87526807

收稿日期: 2009-01-12 修回日期: 2009-03-04

接受日期: 2009-03-09 在线出版日期: 2009-04-08

Selective angiographic diagnosis and transcatheter arterial embolization of iatrogenic massive upper gastrointestinal bleeding

Xu-Hua Duan, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Hui-Min Liang, Rui Huang, Jian-Zhuang Ren

Xu-Hua Duan, Chuan-Sheng Zheng, Gan-Sheng Feng, Hui-Min Liang, Rui Huang, Jian-Zhuang Ren, Department of Radiology, the Affiliated Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China

Correspondence to: Chuan-Sheng Zheng, Department of Radiology, the Affiliated Wuhan Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, Hubei Province, China. hqzcsxh@sina.com

Received: 2009-01-12 Revised: 2009-03-04

Accepted: 2009-03-09 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To study the clinical value of angiography and transcatheter arterial embolization (TAE) for the iatrogenic upper gastrointestinal hemorrhage.

METHODS: Thirty seven cases with iatrogenic hemorrhage in the upper digestive tract received emergency selective angiography. According to the interval from bleeding onset to angiographic time, patients were divided into two groups, that is, the emergency group ($n = 28$ cases) and non-emergency group ($n = 9$ cases). According to find out positions and causes of bleeding during angiography, all patients underwent arterial embolization with different embolic agents.

RESULTS: DSA revealed positive result in 33 cases of 37 cases with a total positive rate of 89.2% (33/37). The positive rate for the emergency group was 96.4% (27/28) and 66.7% (6/9) for non-emergency group. Positive rate of angiography was significantly higher in emergency group than in non-emergency group ($P < 0.05$). Arterial embolization was successfully carried out in 31 positive cases; 2 severe pancreatitis cases rebled 1 week after embolization and was treated successfully with re-embolization. One severe pancreatitis case had no bleeding, but died of multi-organ function failure 13 days later. Of four cases with negative angiography who undertook trial embolizing therapy, bleeding ceased in 3 cases; 1 case who failed bleeding was given surgery to stop bleeding. During the 3-12 month-follow-up, there were no relapse or complications.

CONCLUSION: Emergency selective angiography improves positive rate and plays an important role in detecting the sites of iatrogenic upper gastrointestinal massive bleeding. Selective arterial embolization is a safe and effective hemostatic measure.

Key Words: Iatrogenic; Upper gastrointestinal bleeding; Angiography; Arterial embolization

Duan XH, Zheng CS, Feng GS, Liang HM, Huang R, Ren JZ. Selective angiographic diagnosis and transcatheter arterial embolization of iatrogenic massive upper gastrointestinal bleeding. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1048-1052

摘要

目的: 探讨医源性上消化道大出血的选择性血管造影诊断及栓塞治疗的临床应用价值。

方法: 对37例医源性上消化道大出血行选择性血管造影, 根据消化道出血至血管造影的时间分为急诊组(28例)、非急诊组(9例), 对比分析。术中根据不同出血原因和出血部位, 采用不同栓塞材料栓塞。

结果: 本组血管造影阳性33例, 总阳性率

■同行评议者

韩新巍, 教授, 郑州大学第一附属医院放射科

89.2%(33/37). 急诊组阳性率96.4%(27/28), 非急诊组阳性率66.7%(6/9); 急诊组选择性血管造影检出阳性率明显高于非急诊组, 两组差异有统计学意义($P < 0.05$). 造影阳性33例病例中31例栓塞后立刻止血; 2例重症胰腺炎栓塞治疗1 wk后再出血, 再次栓塞后止血; 1例重症胰腺炎栓塞术后立刻止血, 术后13 d死于多器官功能衰竭. 造影阴性4例行试验性栓塞, 3例成功止血, 1例无效, 外科手术止血. 术后随访3-12 mo, 患者无再出血及肠坏死等严重并发症.

结论: 急诊选择性血管造影能提高医源性上消化道大出血的造影阳性率, 对出血部位的诊断具有重要意义. 经导管栓塞治疗是安全有效的止血措施.

关键词: 医源性; 上消化道大出血; 血管造影; 动脉栓塞

段旭华, 郑传胜, 冯敏生, 梁惠民, 黄锐, 任建庄. 医源性上消化道大出血的选择性血管造影诊断及栓塞治疗. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1048-1052

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1048.asp>

0 引言

医源性上消化道大出血, 常病情危重, 外科再次手术探查危险性大, 保守治疗止血效果不佳. 经导管栓塞(transcatheter arterial embolization, TAE)对于上消化道出血治疗效果显著, 已成为安全有效治疗方式^[1]. 我科2005-07/2008-08对医源性上消化道大出血患者37例行血管造影诊断及选择性动脉栓塞治疗, 取得满意的临床效果, 现总结如下.

1 材料和方法

1.1 材料 2005-07/2008-08我科行血管造影诊断及选择性动脉栓塞治疗的医源性上消化道大出血患者37例, 男25例, 女12例, 年龄23-79(平均46)岁. 出血量1000-2300 mL, 平均1400 mL. 主要临床表现为腹痛、黑便、血压下降、呕血或经胃管内引流出大量的血性物质、腹腔或胆道引流管出血, 其中7例伴有早期失血性休克的征象. 输血900-3000 mL, 平均1600 mL. 自消化系出血至血管造影的时间最短为2 h, 最长为3 d. 按时间间隔分为: 急诊检查组(≤ 8 h, $n = 29$), 非急诊检查组(8-72 h, $n = 8$). 将两组造影结果作对比分析.

1.2 方法

1.2.1 DSA造影及栓塞方法: 采用Seldinger技术

穿刺股动脉, 引入5F导管, 常规行腹腔干、肠系膜上动脉、肠系膜下动脉造影, 发现可疑或异常血管超选择肝总动脉、胃十二指肠动脉、胃左动脉、脾动脉造影. 造影阳性病例, 确定出血动脉后, 行大小适宜的弹簧圈、明胶海绵、PVA颗粒选择组合栓塞; 对于造影未发现异常者可根据病史, 行试验性栓塞.

1.2.2 介入治疗的疗效评价: 介入治疗后出血停止为即刻止血, 3 mo无再出血征象者为完全止血; 介入治疗后1 wk内完全止血, 3 mo内再出血者为复发; 介入治疗后仍有出血为止血不彻底. 复发率为复发+止血不彻底病例数的百分比.

统计学处理 采用SPSS15.0统计软件进行统计学分析, 组间差异比较采用精确概率法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

2 结果

2.1 造影 本组37例患者中, 血管造影33例有阳性表现, 阳性率为89.2%(33/37). 其中直接征象24例, 占72.7%; 间接征象9例, 占27.3%. 患者的出血原因、造影表现、出血动脉情况, 见表1. 本组37例中急诊组28例, 阳性率为96.4%(27/28); 非急诊组9例, 阳性率为66.7%(6/9). 经统计学分析, 对上消化道大出血的血管造影急诊检查组阳性率与非急诊检查组差异有统计学意义.

2.2 栓塞治疗 栓塞动脉及栓塞方式见表2. 栓塞17例胃十二指肠动脉, 其中对7例胃十二指肠动脉主干及分支造影剂外溢者, 先用明胶海绵后用弹簧圈栓塞(图1A-B); 7例胃十二指肠动脉假性动脉瘤形成(图1C-D), 行弹簧圈荷包动脉近端远端双重栓塞. 4例造影阴性, 行试验性栓塞: 采用明胶海绵先行栓塞胃十二指肠动脉残根样分支, 后用弹簧圈栓塞主干. 脾动脉假性动脉瘤栓塞6例, 其中重症胰腺炎坏死灶清除术后脾动脉假性动脉瘤形成2例, 行假性动脉瘤旷置栓塞术后1 wk再出血, 造影示新生假性动脉瘤形成, 再行假性动脉瘤旷置栓塞术; 胰腺癌切除术后脾动脉近脾门处可见不规则假性动脉瘤2例, 行明胶海绵+弹簧圈行栓塞. 1例重症胰腺炎患者栓塞胰大动脉栓塞后虽未再出血, 栓塞术后13 d死于多脏器衰竭(图1E-F). 胆囊切除术后胆囊动脉出血1例, 栓塞近端和远端肝右动脉, 旷置胆囊动脉(图1G-H). 余11例行出血动脉明胶海绵、PVA颗粒与弹簧圈组合栓塞后, 均即刻止血. 除死亡病例外, 其他病例随访3 mo至1年, 随访期间无再出血.

■ 相关报道

周国锋 *et al*报道8例慢性胰腺炎假性脾动脉瘤患者, 8例患者均栓塞成功, 7例出血者成功止血, 1例急性胰腺炎患者术后70 d死亡, 死因是严重的胰腺坏死感染未能控制, 引起多器官衰竭.

■ 创新盘点

本文回顾分析医源性上消化道大出血选择性血管造影诊断及栓塞治疗, 侧重评价针对不同部位及不同医源性因素的上消化道出血, 根据具体情况采用不同栓塞治疗方法的临床应用价值.

■应用要点

选择性血管造影及栓塞治疗因其快捷、有效、微创等独特的优越性,在各种出血性疾病的诊断与治疗中发挥着越来越大的作用。

表 1 患者出血部位及造影表现 (n)

病因	n	出血动脉	造影表现		
			直接征象	间接征象	阴性
十二指肠溃疡毕Ⅱ式胃大部切除术后	16	造影无异常			4
		胃十二指肠动脉主干	6	6	
		胃十二指肠动脉假性动脉瘤	4	2	2
		胰十二指肠上动脉	1	1	
		胰十二指肠下动脉	1	1	
胃全切术后	4	胃十二指肠动脉假性动脉瘤	3		3
		胃网膜右动脉	1	1	
重症胰腺炎坏死灶清除术后	3	脾动脉假性动脉瘤	2		2
		胰大动脉	1	1	
胰腺癌切除术后	3	脾动脉假性动脉瘤	2		2
		脾动脉	1	1	
贲门癌术后	3	胃左动脉	3	3	
肝癌切除术后	2	肝右动脉分支	2	2	
内镜取石术后	2	胆囊动脉	1	1	
		胰十二指肠上动脉	1	1	
十二指肠溃疡修补术后	1	胰十二指肠下动脉	1	1	
脾部分切除术后	1	脾动脉	1	1	
胆囊切除术后	1	胆囊动脉	1	1	
肝门胆管癌切除并左、右肝管空肠吻合术后	1	胆囊动脉	1	1	

表 2 栓塞动脉及栓塞方式 (n)

栓塞动脉	n	明胶海绵	弹簧圈	明胶海绵+弹簧圈	PVA+弹簧圈	微弹簧圈+明胶海绵
胃十二指肠动脉	17		8	6	2	1
脾动脉假性动脉瘤	6		4	2		
胆囊动脉	3		1	2		
胃左动脉	3	1		2		
肝右动脉分支	2	2				
胰十二指肠下动脉	2					2
胰十二指肠上动脉	2					2
脾动脉	2			2		
胃网膜右动脉	1					1
胰大动脉	1	1				
合计	39	4	13	14	2	6

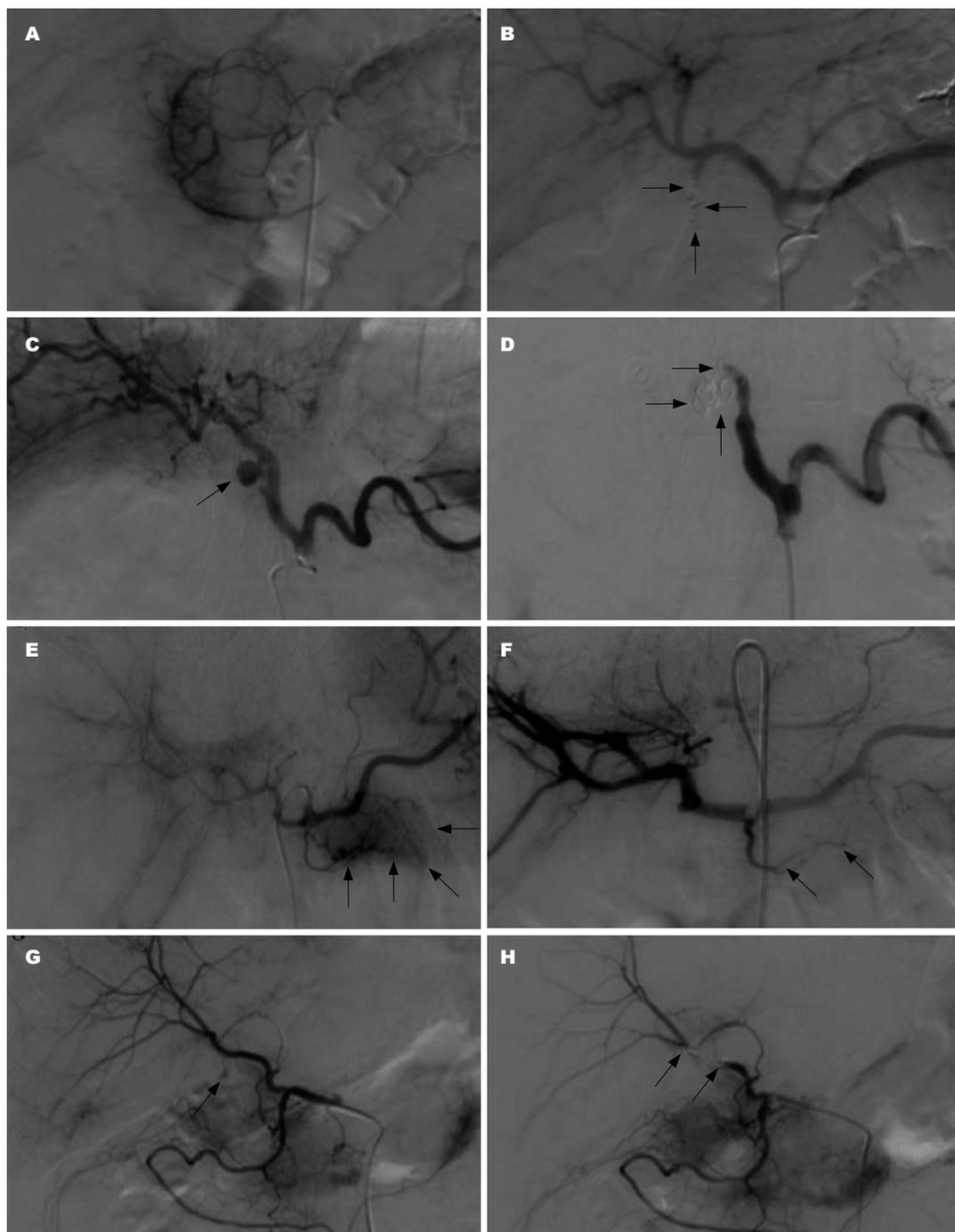
除1例实验性栓塞失败,余36例均达到立刻止血目的,即刻栓塞成功率为97.3%(36/37)。2例栓塞后再出血及1例术后死亡,复发率为8.1%(3/37)。

3 讨论

医源性动脉性上消化道大出血多数由吻合口小动脉破裂、假性动脉瘤破裂入消化系内、肠痿腐蚀临近血管、旷置溃疡继续出血、应激性溃疡出血及残胃黏膜损伤等原因引起。医源性创

伤引起的继发性出血,由于炎性粘连和血管的侵蚀,手术风险大,且效果也不理想。血管造影可通过显示造影剂外溢的直接征象及间接征象及分析医源性因素,对出血部位的供血动脉进行定位。上消化道各供血动脉之间侧支交通多,明确了出血部位后,栓塞治疗,一般不存在胃肠壁坏死的危险^[2]。故TAE成为治疗上消化道大出血的首选,能起到立竿见影的治疗效果^[3]。

消化系出血在0.5 mL/min以上时,血管造影才能发现出血征象;当出血量减少,出血停止或



■名词解释

双重栓塞: 胃十二指肠、肝、脾动脉瘤形成或分支小动脉出血, 可栓塞上述动脉病变血管的近端、远端, 阻断血流或减轻病变血管处血流压力, 以达到止血的目的。因胃十二指肠、肝、脾动脉侧枝循环丰富, 栓塞后其所供血器官和组织无缺血坏死发生。

图 1 栓塞治疗. A-D: 十二指肠溃疡毕 II 式胃大部切除术后; E-F: 重症胰腺炎坏死灶清除术后; G-H: 胆囊切除术后. A: 胃十二指肠动脉分支增多、紊乱; B: 胃十二指肠动脉主干栓塞, 主干残段显影; C: 胃十二指肠动脉开口部可见 1 假性动脉瘤; D: 双重栓塞后造影示瘤腔完全闭塞; E: 胰大动脉中远段造影剂外溢; F: 明胶海绵颗粒栓塞后无造影剂溢出. G: 胆囊动脉痉挛并可见造影剂溢出; H: 双重栓塞肝右动脉旷置胆囊动脉后, 肝右动脉局部中断, 胆囊动脉未见显影。

由于动脉反复痉挛时, 血管造影阳性率较低^[4]. 医源性动脉性上消化道出血患者血容量低, 内脏血管处于收缩痉挛状态, 只有超选择血管造影时, 血流量和血管内压力明显增高, 能提高消化系出血病灶检出阳性率. 在常规行腹腔干、肠系膜上动脉、肠系膜下动脉造影时, 本组 9 例造影阴性, 超选择肝总动脉、胃十二指肠动

脉、胃左动脉、脾动脉造影, 发现直接征象 3 例间接征象 6 例. 本组病例出血 8 h 内行血管造影阳性率明显高于 8 h 后造影阳性率, 并具有统计学意义. 因此应尽早行血管造影以提高病变检出率^[5], 医源性上消化道大出血者尽早血管造影的同时应超选择血管造影, 为下一步的栓塞治疗提供明确诊断.

■同行评价

本文内容新颖, 科学性较强, 具有较强的实用价值。

对于医源性上消化道大出血的介入治疗方案选择, 应根据血管造影的出血部位、医源性因素综合考虑。

双重栓塞的应用价值. DSA是假性动脉瘤定位(起源动脉)和定性诊断的可靠手段^[6], TAE能较理想地治疗假性动脉瘤^[7]. 对于胰腺炎引起的假性脾动脉瘤, 周国锋 *et al*^[8]认为载瘤动脉的近端、远端双重栓塞是有效和必要的. 脾动脉主干闭塞后, 胃短动脉、胃左动脉、胰大动脉等分支可形成侧支循环给脾脏供血, 不会引起全脾的缺血性坏死^[9]. 本组病例中胰腺炎坏死组织清除术后假性脾动脉瘤形成3例, 对脾动脉假性动脉瘤行近端及远端栓塞术后, 造影复查可见脾脏有丰富侧支循环供血. 2例术后1 wk再出血血管造影时, 并未发现原栓塞血管再出血, 均示新假性脾动脉瘤形成, 行双重栓塞后止血. 其出血原因与胰腺炎的持续存在和发展继续腐蚀破坏血管有关, 而并非已栓塞血管再通. 对于7例胃十二指肠动脉假性动脉瘤的形成, 我们也采用荷瘤动脉近端及远端双重栓塞的方法, 均取得满意效果. 对于1例胆囊切除术后病例, 因出血胆囊动脉细小并为终末动脉, 据肝内动脉侧支交通丰富特点, 双重栓塞近端及远端肝右动脉, 阻断出血动脉血供减轻出血动脉压力, 达到止血的目的。

胃十二指肠动脉及其分支出血的三明治栓塞. 胃十二指肠动脉侧支循环丰富, 栓塞后即使不能有效止血, 也不至于造成被栓塞胃和肠黏膜的缺血坏死^[10]. Aina *et al*^[11]研究表明: 在治疗上消化道出血中采用直径较小的明胶海绵颗粒或是PVA颗粒将口径小的出血动脉主干远心端栓塞, 再用直径大的不锈钢圈将动脉主干的近心端栓塞的三明治栓塞方法较单一材料栓塞更为有效. 本组37例病例中16例十二指肠溃疡术后出血, 采用上述栓塞方法, 取得满意止血效果。

试验性栓塞的应用. 对于造影阴性病例, 可结合病史对高度可疑出血部位的供血动脉进行试验性栓塞. 减少供应出血灶的动脉血流、降低压力, 减慢其血流速度, 并借助于内科相关的止血措施, 依赖患者本身的凝血功能, 在出血血管表面上形成凝血块而达到止血的目的^[10]. 试验性栓塞后即使有时不能达到止血的目的, 可以

减低出血灶血流压力为手术止血争取时间. 本组造影阴性4例, 试验性栓塞胃十二指肠动脉主干, 3例出血停止; 1例栓塞后出血减少, 3 d后剖腹探查证实出血来源于十二指肠溃疡面被侵蚀破裂的静脉, 缝扎止血, 出血停止。

3F SP微导管的应用的临床价值. 微导管能到达出血动脉的末级动脉分支进行栓塞治疗, 对于上消化道出血安全有效^[1]. 本组8例使用微导管超选择进入进管难度较大的血管, 并通过微导管行微弹簧圈及明胶海绵组合栓塞, 均完全止血。

医源性消化系大出血在积极预防和纠正休克的同时行尽早行血管造影, 并根据病因及造影所示出血部位进行迅速有效的介入栓塞治疗。

4 参考文献

- 1 Schenker MP, Duszak R Jr, Soulen MC, Smith KP, Baum RA, Cope C, Freiman DB, Roberts DA, Shlansky-Goldberg RD. Upper gastrointestinal hemorrhage and transcatheter embolotherapy: clinical and technical factors impacting success and survival. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12: 1263-1271
- 2 Funaki B. Microcatheter embolization of lower gastrointestinal hemorrhage: an old idea whose time has come. *Cardiovasc Intervent Radiol* 2004; 27: 591-599
- 3 Burke SJ, Golzarian J, Weldon D, Sun S. Nonvariceal upper gastrointestinal bleeding. *Eur Radiol* 2007; 17: 1714-1726
- 4 Malden ES, Hicks ME, Royal HD, Aliperti G, Allen BT, Picus D. Recurrent gastrointestinal bleeding: use of thrombolysis with anticoagulation in diagnosis. *Radiology* 1998; 207: 147-151
- 5 何仕诚, 滕皋军, 郭金和, 方文, 邓钢, 朱光宇. 消化道出血的选择性动脉造影诊断与介入治疗. *临床放射学杂志* 2002; 21: 976-980
- 6 Frush DP, Paulson EK, O'Laughlin MP. Successful sonographically guided thrombin injection in an infant with a femoral artery pseudoaneurysm. *AJR Am J Roentgenol* 2000; 175: 485-487
- 7 晁明, 陆志熊, 陈力, 陆志熊, 陈力, 陈毅军, 焦剑秋. 创伤性假性动脉瘤的影像诊断及介入治疗. *中华急诊医学杂志* 2003; 12: 40-41
- 8 周国锋, 冯敢生, 梁惠明, 郑传胜, 柳曦. 脾动脉栓塞治疗胰源性假性脾动脉瘤. *中华放射学杂志* 2005; 39: 387-389
- 9 赵廷常, 张强, 夏宝枢. 脾动脉近端栓塞术治疗脾破裂(附24例报道). *医学影像学杂志* 2002; 12: 258-260
- 10 曾庆乐, 李彦豪, 陈勇, 何晓峰, 赵剑波, 许小丽. 动脉造影阴性的消化道大出血的试验性栓塞治疗指征和疗效. *临床放射学杂志* 2002; 21: 643-645
- 11 Aina R, Oliva VL, Therasse E, Perreault P, Bui BT, Dufresne MP, Soulez G. Arterial embolotherapy for upper gastrointestinal hemorrhage: outcome assessment. *J Vasc Interv Radiol* 2001; 12: 195-200

编辑 李军亮 电编 吴鹏朕

第二代氩离子凝固疗法治疗消化系疾病患者260例

张莉, 董蕾, 柳嘉, 张军, 万晓龙, 王进海

张莉, 董蕾, 张军, 万晓龙, 王进海, 西安交通大学医学院第二附属医院消化科 陕西省西安市 710004

柳嘉, 西安交通大学医学院第二附属医院骨科 陕西省西安市 710004

卫生部2007-2009年度部属医院临床学科重点基金资助项目, No. 2007353

作者贡献分布: 此课题由张莉与董蕾设计; 张莉、董蕾、张军、万晓龙及王进海实施完成; 柳嘉进行临床资料的总结及数据分析; 张莉与柳嘉完成论文的写作。

通讯作者: 董蕾, 教授, 710004, 陕西省西安市, 西安交通大学医学院第二附属医院消化科, donglei4488@sina.com

收稿日期: 2009-01-13 修回日期: 2009-03-13

接受日期: 2009-03-16 在线出版日期: 2009-04-08

Treatment of gastrointestinal diseases with second-generation argon plasma coagulation: an analysis of 260 cases

Li Zhang, Lei Dong, Jia Liu, Jun Zhang, Xiao-Long Wan, Jin-Hai Wang

Li Zhang, Lei Dong, Jun Zhang, Xiao-Long Wan, Jin-Hai Wang, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 71004, Shaanxi Province, China

Jia Liu, Department of Orthopedics, the Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 71004, Shaanxi Province, China

Supported by: the 2007-2009 Major Project of Clinical Subjects of Hospitals Affiliated to the Ministry of Health, No. 2007353

Correspondence to: Professor Lei Dong, Department of Gastroenterology, the Second Affiliated Hospital, School of Medicine, Xi'an Jiaotong University, Xi'an 71004, Shaanxi Province, China. donglei4488@sina.com

Received: 2009-01-13 Revised: 2009-03-13

Accepted: 2009-03-16 Published online: 2009-04-08

Abstract

AIM: To investigate the safety and efficacy of the second-generation argon plasma coagulation (VIO APC) for gastrointestinal diseases.

METHODS: During 2007-09-14/2008-10-22, 260 patients were treated using VIO APC in a total of 289 sessions. For various indications, the new VIO APC device was used. Safety and efficacy of VIO APC were recorded after each individual treatment session.

RESULTS: The mean number of treatment ses-

sions required using VIO APC in various indications was 1.11 ± 0.31 . In the palliative treatment of gastric adenocarcinoma, it was 2.50; in endoscopic hemostasis, it was 1.23; in the treatment of colorectal polypi, it was 1.15, in the treatment of upper gastrointestinal polypi, it was 1.03, in the management of self-expand stent overgrowth or tumor stenosis, it was 1.17; in the ablation of Barrett's esophagus, it was 1.13; in the ablation of gastric dysplasia, gastritis verrucosa, gastric xanthelasma and gastric or duodenal lip-
aromphalus, only 1 session was needed. Minor complications (pain, dysphagia/odynophagia, asymptomatic gas accumulation in the intestinal wall) were observed in 10.1%-20% sessions, but no major complications (hemorrhage, perforation, stenosis) were observed.

CONCLUSION: VIO APC is effective and safe for various gastrointestinal conditions. It can be widely applied to daily endoscopic treatment.

Key Words: Second-generation argon plasma coagulation; Gastrointestinal endoscopy; Safety; Efficacy

Zhang L, Dong L, Liu J, Zhang J, Wan XL, Wang JH. Treatment of gastrointestinal diseases with second-generation argon plasma coagulation: an analysis of 260 cases. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2009; 17(10): 1053-1059

摘要

目的: 分析第二代氩离子凝固疗法(VIO APC)在各种消化系疾病内镜治疗中的安全性和有效性。

方法: 2007-09-14/2008-10-22西安交通大学第二医院消化科内镜室接受VIO APC治疗的260患者, 共接受VIO APC治疗289次。对各种不同的疾病, 均使用了VIO APC系统。每次治疗后对VIO APC的安全性和有效性进行记录。

结果: 各种疾病, 平均需要接受VIO APC 1.11 ± 0.31 次。其中胃癌的姑息治疗, 平均需要接受2.50次; 用于止血治疗, 需要1.23次; 治疗结肠直肠息肉, 需要1.15次; 治疗上消化系息肉, 需要1.03次; 治疗食管支架置入后再狭窄, 需

背景资料

多种消化系疾病, 如息肉、黏膜不典型增生、肿瘤、消化系出血等都可以通过内镜治疗而得到治愈或缓解。氩离子凝固疗法(APC)是近年来新出现的一种内镜消融疗

同行评议者

万军, 主任医师, 中国人民解放军总医院南楼老年消化科

■ 研发前沿

第二代氩离子凝固疗法(VIO APC)具有模式多样、频率范围广等特点。但在世界范围内,关于VIO APC临床应用的资料仍较缺乏。

1.17次;用于Barrett食管的消融治疗,需1.13次;治疗胃不典型增生、疣状胃炎、胃黄色瘤及胃和十二指肠脂肪瘤,均仅需1次治疗。10.1%-20%的患者轻微并发症(疼痛、吞咽困难/吞咽痛、腹胀、无症状性肠壁积气);没有患者出现严重并发症(出血、穿孔、狭窄)。

结论: VIO APC可以安全、有效地用于各种消化系疾病,并可以广泛用于内镜治疗。

关键词: 第二代氩离子凝固疗法; 消化系内镜; 安全性; 有效性

张莉, 董蕾, 柳嘉, 张军, 万晓龙, 王进海. 第二代氩离子凝固疗法治疗消化系疾病患者260例. 世界华人消化杂志 2009; 17(10): 1053-1059
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/17/1053.asp>

0 引言

氩离子凝固术(argon plasma coagulation, APC)是近年来新兴的一种内镜消融疗法。他不需要接触组织表面,通过高频电激发的氩离子气体,使组织高温失活,同时周围的组织凝固、干燥、收缩。这时组织就失去导电性,氩气就会改变方向,这样就限制了组织损伤的深度,因此不易发生穿孔等并发症^[1]。VIO APC系统为第二代APC系统,是在ICC/APC 300系统(第一代APC,标准APC)的基础发展起来的。他主要包括以下组成部分:一个APC2单位(氩气源和泵),一个可伸缩的特福龙涂层探头、一个高频电发生器(VIO 300D; Erbe Elektromedizin, Tuebingen, Germany)。与第一代APC不同的是,VIO APC具有“强力、脉冲、精细”3种作用模式,消融功率设定范围更广,为1-120 W。

第一代APC以被广泛用于多种消化系疾病的治疗,然而,有关VIO APC的资料在世界范围内,仍是较为稀少的。VIO APC作为新一代APC疗法具有消融模式多样,功率设定范围广的特点,然而,各种模式分别适用于哪种消化系疾病,该使用多大的消融功率,与第一代APC疗法有哪些不同,仍缺少足够的临床资料来说明。仅Manner在Erbe公司的资助下进行了一系列试验。Manner *et al*^[2]于2006年曾对215名上消化道疾病患者,采用VIO APC治疗,使用“脉冲电凝”模式,消融频率20-120 W,发现轻微并发症(吞咽痛、胸痛、发热)的发生率为8.7%,有3名患者(1.1%)发生食管狭窄,这3名患者的消融功率均在50 W以上,平均每名患者的治疗次数为1.47

次。2007年216名接受胃镜和推进式气囊肠镜的患者接受VIO APC治疗,采用不同的消融模式,消融频率15-120 W,13.4%(29/216)患者发生轻微并发症(疼痛、吞咽困难、神经肌肉刺激症状、无症状性肠壁积气),2名(0.9%)患者发生严重并发症(穿孔和狭窄),平均每名患者需接受1.7次治疗^[3]。Manner *et al*^[4]2008年对2个内镜中心600名患者的资料进行总结,发现轻微并发症的发生率为9%-21%,严重并发症的发生率为1%-7%。

“强力电凝”模式的特点为持续的能量输出,根据治疗功率的设定,输出不同功率的高频电流,来激发离子化的氩气。在本次研究中我们均采用了不同功率的“强力电凝”模式,分析其治疗不同消化系疾病的有效性及其安全性。

1 材料和方法

1.1 材料 2007-09-14/2008-10-22西安交通大学第二医院消化科内镜室接受VIO APC治疗的260患者例,平均年龄65±13.6(6-83)岁,男135例(51.92%),女125例(48.08%)。这些患者分别患有消化系息肉、疣状胃炎、Barrett食管、食管癌支架植入术后狭窄、肿瘤(要求保守治疗)、黏膜不典型增生、胃黄色瘤,另部分患者是因为各种原因需要接受APC止血治疗。

1.2 方法

1.2.1 VIO APC治疗方案: 所有内镜治疗均在患者清醒状态下进行,进行胃镜治疗前,给与喉部利多卡因制剂喷洒;接受肠镜治疗的患者,前1 d起应用聚乙二醇口服进行肠道准备。内镜治疗均由熟练的内镜医师进行,使用Pantax EG2931、EG2930、EC3360内镜(HOYA Corporation, Tokyo, Japan)。所有患者治疗前进行心电图、血常规及凝血功能检查,治疗后要求最少住院3 d,常规预防性给与抗生素,记录所有与治疗有关的并发症:发热、吞咽困难/吞咽痛、胸痛、上腹不适、腹胀、肠壁间积气等为轻微不良反应,狭窄、出血与穿孔为严重不良反应。

VIO APC包括一个APC探头(直径2.3 mm),一个氩气瓶和一个高频手术装置(The hp-APC VIO 300 D with APC2, Erbe Elektromedizin, Tübingen, Germany)。氩气流量按照厂家推荐设定为1.0-2.0 L/min。治疗功率根据治疗部位穿孔等并发症发生的危险程度,设定为30-80 W不等。使用VIO APC治疗时,直到出现肉眼可见的凝固反应。

1.2.2 具体适应证治疗: (1)消化系息肉:直接使用VIO APC治疗,或先进行高频电圈套器切除,

表 1 260名消化系统疾病患者接受289次VIO APC治疗

适应证	n	治疗目的	平均治疗次数	平均治疗功率	并发症
上消化道息肉	94	完全消融	1.03(1-2)	38(30-50)	15.5%(15/97)上腹痛
下消化道息肉	121	完全消融	1.15(1-7)	45(35-80)	10.1%(14/139)无症状性肠壁积气, 15.1%(21/139)腹胀
食管癌术后狭窄	6	恢复/保持 食管通畅	1.17(1-2)	42(30-45)	14.2%(1/7)胸骨后疼痛
Barrett食管	8	完全消融	1.13(1-2)	38(35-40)	22.2%(2/9)轻微胸骨后疼痛
疣状胃炎	7	完全消融	1.00	30	无
胃黄色瘤	5	完全消融	1.00	30	无
不典型增生	2	完全消融	1.00	45(40-50)	无
胃、十二指肠 的脂肪瘤	2	完全消融	1.00	47.5(30-45)	无
肿瘤	2	抑制肿瘤生长	2.50(1-4)	53(45-60)	20.0%(1/5)上腹痛
止血治疗	13	止血, 维持 血红蛋白水平	1.23(1-3)	33(30-35)	18.8(3/16)腹胀, 12.5%(2/16) 直肠痛

■ 相关报道

目前有关VIO APC资料主要包括关于其热损伤效应的动物实验和少量的临床资料总结。后者主要包括Manner *et al* 在Erbe公司的资助下进行的一些试验, 探讨了VIO APC的临床应用范围及并发症的发生。

再换用氩气探头进行进一步处理。上消化道息肉患者治疗后, 4 h起可以开始进少许流食, 24 h后进普通饮食。给予质子泵抑制剂常规剂量治疗2-4 wk, 1 mo后复查胃镜。结、直肠息肉术后进少渣饮食3 d, 3 mo后复查结肠镜。其他内镜治疗, 均进行同样的饮食管理。(2)食管癌术后支架狭窄: 对于狭窄明显患者, 先行球囊扩张, 再应用VIO APC消融过度生长的组织。(3)Barrett食管: 从胃食管连接处到齿状线, 纵行烧灼, 消融肉眼可见的Barrett黏膜, 术后给予质子泵抑制剂常规剂量, 每日2次治疗, 4-6 wk后复查胃镜, 如有残存的Barrett黏膜, 再次予以消融治疗, 直到消除所有肉眼可见的Barrett黏膜, 或治疗次数已达5次。(4)疣状胃炎: VIO APC消融明显的疣状增生黏膜, 予质子泵抑制剂常规剂量治疗4 wk后复查胃镜。(5)不典型增生: 对于不典型增生, 靛胭脂染色确定范围后, VIO APC消融治疗, 或黏膜切除术(endoscopic mucosectomy, EMR)后, VIO APC补充治疗。(6)肿瘤: 超声内镜确定病变局限于黏膜层的良性肿瘤的消融治疗, 恶性肿瘤的保守治疗。(7)止血治疗: 包括放射性食管炎、直、结肠炎的治疗和结肠血管畸形的治疗。每次治疗消融肉眼可见的出血点及扩张的毛细血管, 如仍有症状1-2 wk后再次治疗, 直到症状消失。

2 结果

2.1 胃肠道息肉的VIO APC消融治疗 患者260例共接受289次治疗, 平均每例患者的治疗次数为 $1.11 \pm 0.31(1-7)$ 次。在所有接受消融治疗的患者

中人数最多的是消化系息肉的患者, 共有215例(82.6%), 其中包括食管息肉4例(1.5%), 胃息肉85例(32.7%), 十二指肠息肉5例(1.9%), 结直肠息肉121例(46.5%), 78例患者单纯接受VIO APC治疗, 127例患者为高频电圈套器切除结合VIO APC治疗, 201例患者仅需1次治疗即达到治疗目的, 单个患者最多一次消融30余枚息肉。单人接受治疗次数最多的为7次, 是一名直肠腺瘤样息肉的患者, 在圈套器治疗后, 接受7次VIO APC治疗, 最终息肉完全消失(表1, 图1)。

2.2 其他疾病的VIO APC消融治疗 有6例患者为食管癌支架置入后再狭窄, 球囊扩张, 并应用VIO APC消融支架上方过度生长的组织, 以达到再通的目的(图2), 其中1例患者接受2次治疗, 但该名患者后因肿瘤转移, 在最后1次治疗2 mo后死亡。2例胃中度不典型增生, 1例为EMR后进行补充治疗, 1例单纯应用VIO APC治疗。2例患者分别患胃、十二指肠脂肪瘤, 超声胃镜确定病变仅限于黏膜层后, 各接受1次治疗后病变消失。2例胃恶性肿瘤患者, 1例胃大部切除术后, 吻合口发现复发病变, 予1次VIO APC治疗, 1例贲门癌患者不愿接受外科手术, 先后接受4次VIO APC消融术及1次圈套器电切术, 随访6 mo, 肿瘤生长基本控制(图3)。

2.3 VIO APC的止血治疗 共有13例患者接受氩气止血治疗, 占总人数的5%, 其中包括1名放射性食管炎患者, 2名放射性直肠炎患者, 1名内痔出血的患者, 2名结肠毛细血管扩张的患者, 2名胃大部切除术后吻合口炎患者, 1名为食管炎患者, 其中最多1名放射性直肠炎患者接受3次VIO

■创新盘点

本研究在国内首次采用不同功率的VIO APC“强力电凝”模式,内镜下对多种消化系统疾病进行治疗,并对其有效性及安全性进行了分析。

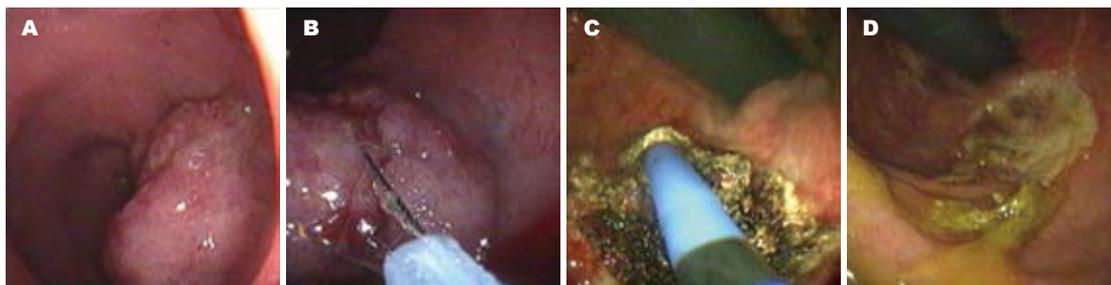


图1 直肠腺瘤样息肉的内镜治疗. A: 1枚2.5 cm × 3.0 cm的半球样隆起,表面黏膜呈分叶状; B: 圈套器息肉切除; C: VIO APC对残余组织进行消融; D: 1 mo后复查,息肉消失,可见覆白苔的溃疡面。

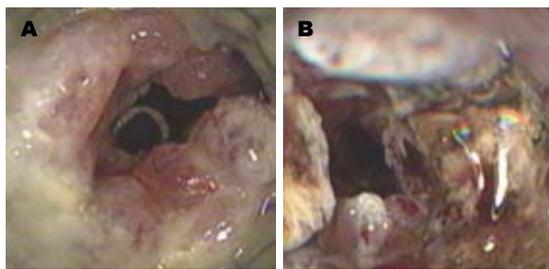


图2 VIO APC治疗食管支架置入术后再狭窄. A: 支架上方可见炎症组织过度增生; B: VIO APC消融掉部分增生组织。

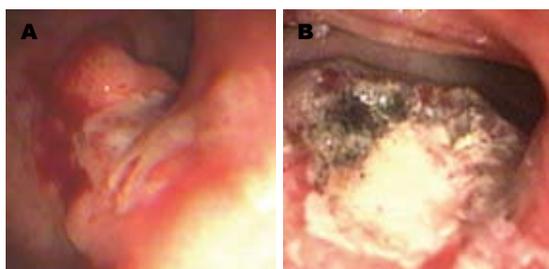


图3 贛门癌的内镜VIO APC治疗. A: 贛门左侧壁可见一不规则白色溃疡面,周围黏膜呈结节样隆起(病理证实为腺癌); B: VIO APC对病变部位进行消融,遗留凝固坏死组织。

APC治疗(图4)。

2.4 不良反应 289次治疗未发生穿孔、术后出血及狭窄。接受上消化道VIO APC治疗的病例,最常见的不良反应依次为上腹部或胸骨后疼痛,吞咽困难/吞咽痛,接受肠镜治疗的患者常见并发症依次为轻微腹胀、无症状性肠壁积气;无发热、转氨酶增高全身不良反应。所有患者的症状均较轻微,无需药物治疗。

3 讨论

息肉是消化系的常见病变,因为其具有癌变的潜能,常常需接受内镜治疗。本研究中病例最多的疾病也是消化系息肉。在Neneman *et al*^[5]的研究中,应用APC处理圈套器治疗后残余组织,胃息肉的有效率为90.9%,结肠息肉为96.4%。对直径超过2 cm的大息肉的治疗,存在着一定的

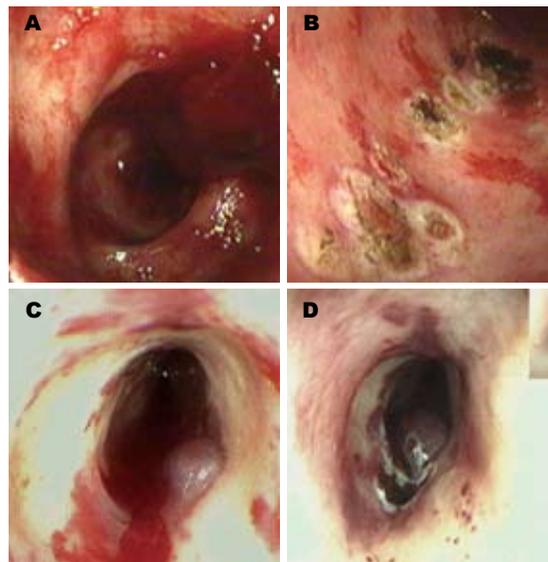


图4 VIO APC的止血治疗. A: 放射性直肠炎,直肠黏膜毛细血管扩张出血; B: VIO APC治疗后出血停止; C: 放射性食管炎,食管黏膜糜烂出血; D: VIO APC治疗后出血停止。

争议。Church *et al*^[6]认为大于3 cm的息肉恶变的可能性大,且内镜处理难度较大是内镜治疗的相对禁忌证。Pérez Roldán *et al*^[7]在8年内切除了147个大息肉,方法为先黏膜下注射生理盐水,再用圈套器电切,再用APC处理残基,96.6%的息肉被成功切除。Zlatanic *et al*^[8]对77例大息肉的比较研究也证明在内镜息肉切除的基础上应用APC处理残余组织可以安全、有效地预防复发。Brooker *et al*^[9]就APC处理大息肉残余组织,预防复发的有效性还进行了随机对照试验,APC治疗组显著低于对照组($P = 0.02$)。在本研究中对病理证实无恶变的大息肉采取了内镜治疗。其中1例79岁男性患者,直肠可见1枚3.0 cm × 2.5 cm的广基息肉,圈套器电切联合VIO APC治疗,共治疗7次,达到了完全消融。

对失去手术机会、不愿手术或不能耐受手术食管癌患者,内镜下置入金属支架是治疗食管狭窄的有效方法,不带膜的支架,肿瘤组织

可从支架的网眼向内生长, 带膜支架肿瘤会从支架的两端生长, 带膜支架两端的裸露部分还会刺激肉芽组织增生突入食管腔, 造成再狭窄. Grund *et al*^[10]在1995年就开始用APC来消融向支架内生长的肿瘤组织. 姜辉 *et al*^[11]应用APC治疗36例支架置入后再狭窄患者, 共治疗40次, 有效率为100%. 在本研究中, 6例支架置入术后再狭窄的患者应用的都是带膜支架, 接受VIO APC治疗, 达到了维持管腔通畅的治疗目的. 疣状胃炎, 又称隆起糜烂性胃炎, 内镜表现为胃腔内疣状黏膜隆起, 顶端凹陷、糜烂. 其发生与胃酸、胃蛋白酶及幽门螺杆菌(*H pylori*)感染有关. 部分患者经抑酸、根除*H pylori*后, 疣状隆起可以消失, 部分患者则长期存在. 国内有许多关于APC治疗疣状胃炎的报道^[12-14], 治愈率均在90%以上, 在本研究中有7例疣状胃炎, 仅一次治疗即达到痊愈. 胃黄色瘤在内镜下呈淡黄色斑片状, 也被称为胃黄斑瘤或脂质岛, 发病机制尚不清楚, 目前认为与慢性炎症刺激、血脂过高, *H pylori*感染等有关. 崔荣丽 *et al*^[15]对312例胃黄色瘤进行病理分析, 认为胃黏膜的炎症在黄色瘤的发生上起着主要的作用. 张正坤 *et al*^[16]应用微波治疗胃黄色瘤37例, 1次治疗消失率100%, 复发率3%. 本研究有5例患者因为黄色瘤接受VIO APC治疗, 1次治疗全部消失.

对于轻-中度的不典型增生内镜治疗的疗效已得到普遍的得认可; 对于APC治疗上消化道重度不典型增生及早期肿瘤的安全性和有效性, 也有大量的报道^[17-21]. Kawada *et al*^[22]还报道了治疗食管浅表肿瘤的新APC疗法-上皮下APC消融术, 即初次消融后, 应用透明帽剥除消融过的黏膜, 再在未达到均匀消融的区域进行二次消融. 此外, APC还可以用于进展期肿瘤的姑息治疗. Neneman *et al*^[23]应用APC治疗食管和贲门的进展期肿瘤, 发现APC疗法作为姑息治疗效果显著且安全, 并且对腺癌的效果好于鳞癌. Baumhoer *et al*^[24]应用圈套器和APC疗法治疗IV期结肠直肠癌4例, 随访24 mo达到了原发肿瘤消退, 无结肠肿瘤相关症状的效果. 本研究中涉及的4例患者, 2例为黏膜良性肿瘤, 2例为上消化道进展期恶性肿瘤. 其中1例贲门腺癌患者, 开始表现为溃疡浸润型, 予以4次VIO APC(40 W, 1.5 L/min)治疗4 mo后, 转化为隆起型肿瘤, 换用圈套器治疗. 发生这种变化考虑除与肿瘤的恶性行为有关外, 可能还与消融功率选择较低有关.

APC近年来广泛应用于内镜止血治疗. 其适

应证有消化性溃疡出血^[25]、Dieulafoy溃疡^[26]、胃窦静脉扩张^[27-28]、血管畸形^[29]、放射性直肠结肠炎等^[30-31]. 在我们的研究中, 以放射性直肠结肠炎的患者最多. 在Villavicencio *et al*^[30]的研究中, 21例放射性直肠结肠炎出血的患者, 平均治疗1.7次, 短期不良反应的发生率为14%, 长期并发症的发生率为19%; 在Rotondano *et al*^[31]的研究中, 平均接受2.5(1-6)次治疗, 所有患者均得到临床改善.

目前Barrett食管的内镜消融治疗仍存在一定的争议. 在Mörk *et al*^[32]的研究中, 84%的患者通过APC治疗达到完全消融, 然而随访51 mo, 在完全消融的患者中有66%出现复发. 在Ackroyd *et al*^[33]和Bright *et al*^[34]的随机对照实验中, 1年APC组的完全消融率为63%, 5年APC组的消融率为40%; 均显著高于内镜检测组. Pereira-Lima *et al*^[35]应用较高的功率消融(65-70 W), 消融率为100%, 但中到重度的胸痛和吞咽困难/吞咽痛的发生率高达57.5%, 9%的患者出现严重并发症. 本研究中, 有8例患者接受较低功率的VIO APC治疗, 达到内镜上的完全消融, 仅2例患者有轻微的胸骨后疼痛, 其疗效的持久性仍在随访中.

Manner *et al*^[2]的研究发现“脉冲电凝”模式下, VIO APC的热凝作用强于第一代APC. 在本研究中, 全部采用“强力电凝”模式. 消融功率的设定主要依据病变的部位及性质. 对恶性肿瘤的消融功率较高, 对局限于黏膜层的病变, 如疣状胃炎、胃黄色瘤, 消融功率则相对较低, 根据管壁的厚度, 胃的消融功率高于食管, 左半结肠的高于右半结肠. 本研究中, 289次治疗未发生穿孔、术后出血及狭窄. Prost *et al*^[36]报道了2例较少见的穿孔病例, 1例回肠盲端穿孔, 1例为胃底穿孔, 提醒我们除了要注意消融的功率和持续的时间外, 在治疗时还要注意原发病可能造成的消化管壁的病变(缺血、变薄弱). Farooq *et al*^[37]报道了1例胃出口梗阻的病例, 与常见的消融深度过深, 累及固有肌层, 纤维组织增生、收缩等原因无关, 而是因为7次密集消融致炎症肉芽组织过度增生引起, 这就提醒内镜医师注意消融治疗的间歇和频率, 来避免这一现象的发生. 本研究中, 有10.1%的患者出现无症状性肠壁积气, 考虑可能与治疗时氩气流量较大有关; 15.1%的患者出现腹胀, 则考虑与治疗时, 产气较多有关, 提示我们注意在治疗结束后, 充分吸引, 尽量减少气体在消化管腔的存留.

APC近年来被广泛应用于各种消化系疾病的内镜治疗, 但关于VIO APC的资料依然很少.

■应用要点
VIO APC可以安全、有效的用于各种消化系统疾病, 并可以广泛应用于内镜治疗.

■同行评价

本文采用不同功率的“强力电凝”模式,对不同消化系疾病的内镜下治疗进行了有效性及安全性分析,得出了肯定的结果,为VIO APC广泛用于多种消化系疾病常规内镜治疗提供了有益的资料。

本研究表明VIO APC可以广泛应用于各种消化系疾病的日常内镜治疗,效果显著,并发症少而轻微,较为安全。

4 参考文献

- 1 Malick KJ. Clinical applications of argon plasma coagulation in endoscopy. *Gastroenterol Nurs* 2006; 29: 386-391; quiz 392-393
- 2 Manner H, May A, Faerber M, Rabenstein T, Ell C. Safety and efficacy of a new high power argon plasma coagulation system (hp-APC) in lesions of the upper gastrointestinal tract. *Dig Liver Dis* 2006; 38: 471-478
- 3 Manner H, May A, Rabenstein T, Pech O, Nachbar L, Enderle MD, Gossner L, Ell C. Prospective evaluation of a new high-power argon plasma coagulation system (hp-APC) in therapeutic gastrointestinal endoscopy. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 397-405
- 4 Manner H, Enderle MD, Pech O, May A, Plum N, Riemann JF, Ell C, Eickhoff A. Second-generation argon plasma coagulation: two-center experience with 600 patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2008; 23: 872-878
- 5 Neneman B, Gasiorowska A, Malecka-Panas E. The efficacy and safety of argon plasma coagulation (APC) in the management of polyp remnants in stomach and colon. *Adv Med Sci* 2006; 51: 88-93
- 6 Church JM. Experience in the endoscopic management of large colonic polyps. *ANZ J Surg* 2003; 73: 988-995
- 7 Pérez Roldán F, González Carro P, Legaz Huidobro ML, Villafañez García MC, Soto Fernández S, de Pedro Esteban A, Roncero García-Escribano O, Ruiz Carrillo F. Endoscopic resection of large colorectal polyps. *Rev Esp Enferm Dig* 2004; 96: 36-47
- 8 Zlatanovic J, Wayne JD, Kim PS, Baiocco PJ, Gleim GW. Large sessile colonic adenomas: use of argon plasma coagulator to supplement piecemeal snare polypectomy. *Gastrointest Endosc* 1999; 49: 731-735
- 9 Brooker JC, Saunders BP, Shah SG, Thapar CJ, Suzuki N, Williams CB. Treatment with argon plasma coagulation reduces recurrence after piecemeal resection of large sessile colonic polyps: a randomized trial and recommendations. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 371-375
- 10 Grund KE, Storek D, Becker HD. Highly flexible self-expanding meshed metal stents for palliation of malignant esophagogastric obstruction. *Endoscopy* 1995; 27: 486-494
- 11 姜辉, 金珍成, 陈伟训. 氩等离子凝固术在食管支架置入术后再狭窄的应用. *山东医药* 2008; 48: 140-141
- 12 周旋光, 余智华, 苏媛. 内镜下氩离子凝固术治疗隆起糜烂性胃炎的疗效观察. *福建医科大学学报* 2008; 42: 371
- 13 唐彤宇, 王英凯, 王丽波. 内镜下氩离子凝固术治疗隆起糜烂性胃炎疗效分析. *中国误诊学杂志* 2008; 8: 5818-5819
- 14 李述蓬, 殷卫星. 氩离子凝固术治疗成熟型疣状胃炎38例观察. *中国内镜杂志* 2008; 14: 671-672
- 15 崔荣丽, 金珠. 胃黄色瘤临床病理分析312例. *世界华人消化杂志* 2007; 15: 646-648
- 16 张正坤, 郭进华. 胃黄色素瘤37例临床分析. *中华消化内镜杂志* 1997; 14: 263
- 17 Sagawa T, Takayama T, Oku T, Hayashi T, Ota H, Okamoto T, Muramatsu H, Katsuki S, Sato Y, Kato J,

Niitsu Y. Argon plasma coagulation for successful treatment of early gastric cancer with intramucosal invasion. *Gut* 2003; 52: 334-339

- 18 Murakami M, Nishino K, Inoue A, Takaoka Y, Iwamasa K, Murakami B, Tanabe S. Argon plasma coagulation for the treatment of early gastric cancer. *Hepatogastroenterology* 2004; 51: 1658-1661
- 19 Deprez PH, Aouattah T, Piessevaux H. Endoscopic removal or ablation of oesophageal and gastric superficial tumours. *Acta Gastroenterol Belg* 2006; 69: 304-311
- 20 Kitamura T, Tanabe S, Koizumi W, Mitomi H, Saigenji K. Argon plasma coagulation for early gastric cancer: technique and outcome. *Gastrointest Endosc* 2006; 63: 48-54
- 21 Conio M, Cameron AJ, Chak A, Blanche S, Filiberti R. Endoscopic treatment of high-grade dysplasia and early cancer in Barrett's oesophagus. *Lancet Oncol* 2005; 6: 311-321
- 22 Kawada K, Kawano T, Momma K, Fujiwara J, Nagai K, Nishikage T, Nakajima Y, Ogiya K, Tanaka K, Haruki S, Iwai T. New argon plasma coagulation method for superficial esophageal carcinoma: argon plasma coagulation-subepithelial ablation. *Digestive Endoscopy* 2007; 19: 147-152
- 23 Baumhoer D, Armbrust T, Ramadori G. Nonsurgical treatment of the primary tumor in four consecutive cases of metastasized colorectal carcinoma. *Endoscopy* 2005; 37: 1232-1236
- 24 Chau CH, Siu WT, Law BK, Tang CN, Kwok SY, Luk YW, Lao WC, Li MK. Randomized controlled trial comparing epinephrine injection plus heat probe coagulation versus epinephrine injection plus argon plasma coagulation for bleeding peptic ulcers. *Gastrointest Endosc* 2003; 57: 455-461
- 25 Iacopini F, Petruzzello L, Marchese M, Larghi A, Spada C, Familiari P, Tringali A, Riccioni ME, Gabbriellini A, Costamagna G. Hemostasis of Dieulafoy's lesions by argon plasma coagulation (with video). *Gastrointest Endosc* 2007; 66: 20-26
- 26 Shudo R, Yazaki Y, Sakurai S, Uenishi H, Yamada H, Sugawara K. Diffuse antral vascular ectasia: EUS after argon plasma coagulation. *Gastrointest Endosc* 2001; 54: 623
- 27 Herrera S, Bordas JM, Llach J, Ginès A, Pellisé M, Fernández-Esparrach G, Mondelo F, Mata A, Cárdenas A, Castells A. The beneficial effects of argon plasma coagulation in the management of different types of gastric vascular ectasia lesions in patients admitted for GI hemorrhage. *Gastrointest Endosc* 2008; 68: 440-446
- 28 Olmos JA, Marcolongo M, Pogorelsky V, Varela E, Dávalos JR. Argon plasma coagulation for prevention of recurrent bleeding from GI angiodysplasias. *Gastrointest Endosc* 2004; 60: 881-886
- 29 Villavicencio RT, Rex DK, Rahmani E. Efficacy and complications of argon plasma coagulation for hematochezia related to radiation proctopathy. *Gastrointest Endosc* 2002; 55: 70-74
- 30 Rotondano G, Bianco MA, Marmo R, Piscopo R, Cipolletta L. Long-term outcome of argon plasma coagulation therapy for bleeding caused by chronic radiation proctopathy. *Dig Liver Dis* 2003; 35: 806-810
- 31 Mörk H, Al-Taie O, Berlin F, Kraus MR, Scheurlen M. High recurrence rate of Barrett's epithelium during long-term follow-up after argon plasma

- coagulation. *Scand J Gastroenterol* 2007; 42: 23-27
- 32 Ackroyd R, Tam W, Schoeman M, Devitt PG, Watson DI. Prospective randomized controlled trial of argon plasma coagulation ablation vs. endoscopic surveillance of patients with Barrett's esophagus after antireflux surgery. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 1-7
- 33 Bright T, Watson DI, Tam W, Game PA, Astill D, Ackroyd R, Wijnhoven BP, Devitt PG, Schoeman MN. Randomized trial of argon plasma coagulation versus endoscopic surveillance for barrett esophagus after antireflux surgery: late results. *Ann Surg* 2007; 246: 1016-1020
- 34 Pereira-Lima JC, Busnello JV, Saul C, Toneloto EB, Lopes CV, Rynkowski CB, Blaya C. High power setting argon plasma coagulation for the eradication of Barrett's esophagus. *Am J Gastroenterol* 2000; 95: 1661-1668
- 35 Prost B, Poncet G, Scoazec JY, Saurin JC. Unusual complications of argon plasma coagulation. *Gastrointest Endosc* 2004; 59: 929-932
- 36 Farooq FT, Wong RC, Yang P, Post AB. Gastric outlet obstruction as a complication of argon plasma coagulation for watermelon stomach. *Gastrointest Endosc* 2007; 65: 1090-1092

编辑 李军亮 电编 何基才

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2009年版权归世界华人消化杂志

• 消息 •

2009年广东省中西医结合、中医脾胃消化病学术会议暨 国家级继续教育项目消化病进展研讨班征文通知

本刊讯 由广东省中西医结合学会脾胃消化病专业委员会, 广东省中医药学会消化病专业委员会主办的2009年脾胃消化病学术会议暨国家级继续教育项目消化病进展研讨班将于2009-09-25/27在广东省广州市召开, 现将会议征文有关事项通知如下:

1 征稿内容

中西医结合、中医治疗消化系统疾病的基础理论研究、临床经验总结、诊治的新进展, 名老中医、西医和中西医结合专家个人诊治特色总结。

2 征稿要求

论文资料务必真实可靠, 书写规范, 简明扼要, 每篇以3000字以内为宜, 并附800字左右的摘要1份; 来稿请用电脑打印, 用word软件编入, 并附软盘, 或发送电子邮件, 文稿中请注明作者姓名、单位、通讯地址、邮政编码及联系电话。截稿日期: 2009-07-30

3 交流方式

专题报告、论文宣读与讨论答疑相结合。入选论文并参会者给予记I类学分6分, 另外将择优编入《现代消化及介入诊疗》杂志。参加继续教育研讨班者另给予国家级一类学分12分。

4 投稿地址

(1)E-mail: zhangwcdn@163.com; (2)全文、摘要并附软盘寄至广东省广州市广州大道北1838号南方医院消化编辑部罗永华同志(邮编: 510105); 并注明脾胃消化病学术会议投稿。无论文者也欢迎参会或报名参加研讨班。

5 联系方式

姚永莉, 510105, 广东省广州市广州大道北1838号, 南方医院消化内科, 电话: 13189096556

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!

曹志成 英国生物医学科学研究所院士
香港伊利沙伯医院临床肿瘤科

郝纯毅 主任医师
北京肿瘤医院肿瘤外科

陈建杰 主任医师
上海中医药大学附属曙光医院(东部)肝病科

黄志勇 副教授
华中科技大学同济医院普外科

陈其奎 教授
中山大学附属第二医院消化内科

李国威 教授
西安交通大学医学院第二附属医院普通外科

陈卫昌 教授
苏州大学附属第一医院消化内科

梅林 教授
北京大学医学部生理学与病理生理学系神经调节和消化内分泌研究室

陈耀凯 副教授
中国人民解放军第三军医大学西南医院全军感染病研究所

潘兴华 副主任医师
中国人民解放军成都军区昆明总医院病理实验科

崔云甫 教授
哈尔滨医科大学第二附属医院普外一科

潘秀珍 教授
福建省立医院消化研究室

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

秦成勇 教授
山东省立医院消化内科

党双锁 教授
西安交通大学第二医院感染科

唐文富 副主任医师
四川大学华西医院中西医结合科

杜祥 教授
复旦大学附属肿瘤医院病理科

田晓峰 教授
大连医科大学附属第二医院

樊晓明 主任医师
复旦大学附属金山医院消化科

万军 主任医师
中国人民解放军总医院南楼老年消化科

冯志杰 主任医师
河北医科大学第二医院消化内科

肖恩华 教授
中南大学湘雅二医院放射教研室

高泽立 主任医师
上海交通大学医学院附属第九人民医院周浦分院消化科

姚希贤 教授
河北医科大学附属第二医院消化内科

戈之铮 教授
上海交通大学医学院附属仁济医院消化科

张军 教授
西安交通大学医学院第二附属医院消化内科

郭晓钟 教授
中国人民解放军沈阳军区总医院消化内科

张小晋 主任医师
北京积水潭医院消化内科

韩新巍 教授
河南省郑州大学第一附属医院放射科

郑鹏远 教授
郑州大学第二附属医院消化科